

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Resistência de genótipos de tomateiro à infecção com o *Tomato chlorosis virus* e tolerância à doença

Pedro Javier Mansilla Córdoba

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor em Ciências. Área de concentração:
Fitopatologia

**Piracicaba
2015**

Pedro Javier Mansilla Córdoba
Engenheiro Agrônomo

**Resistência de genótipos de tomateiro à infecção com o *Tomato chlorosis*
virus e tolerância à doença**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **JORGE ALBERTO MARQUES REZENDE**

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor em Ciências. Área de concentração:
Fitopatologia

Piracicaba
2015

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Mansilla Córdoba, Pedro Javier

Resistência de genótipos de tomateiro à infecção com o *Tomato chlorosis virus* e tolerância à doença / Pedro Javier Mansilla Córdoba. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2015.

61 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. *Bemisia tabaci* 2. *Crinivirus* 3. *Solanum lycopersicum* 4. Dano I. Título

CDD 635.642

M288r

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

À minha querida mãe Rosita,

Com amor

DEDICO

A Aline,

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, professor Dr. Jorge Alberto Marques Rezende, por ter me aceitado como parte do grupo, pela paciência, estímulo e excelente orientação.

A Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e a todos os que fazem parte dela.

A todos os professores do Departamento de Fitopatologia e Nematologia ESALQ/USP, como também de outros Departamentos, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia e Nematologia ESALQ/USP, em especial a José Edivaldo Buriola, Fabiana Nunes Wolak e Iraides Oliveira pelo apoio nos momentos necessários, e a Pedro Arthuso pelo importante apoio na execução dos trabalhos de campo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Dr. Paulo C. Tavares de Melo, o Dr. André L. Lourenção e o Eng. Agr. Thiago Teodoro Alcântara pelo fornecimento de sementes, essenciais para a execução do presente trabalho.

Aos docentes e funcionários dos diferentes departamentos do campus pela cooperação com a secagem das amostras.

À Prof. Dra. Sônia Maria de Estefano Piedade e especialmente à sua orientada MSc. Natalie Verónika Rondinel Mendoza pelo importante apoio com as análises estatísticas e nos trabalhos de campo.

Aos companheiros de laboratório: Ana Carolina Alves, Ana Mello, Arnaldo Esquivel, Carla Pelizari, David Spadotti, Débora Freitas, Júlio Barbosa, Marina Gouvêa, Renata Calegario, Rodrigo Toloy, Tatiana Mituti, Vanessa Cícera, Viviana García e Michel Vargas por todo o apoio, pela convivência e ensinamentos.

Aos meus queridos amigos que colaboraram durante o trabalho quando foi preciso: Andrea, Alejandro, Carla, Erick, Edjane, Freddy, José Carlos e Marco.

Aos demais excelentes amigos que tive a oportunidade de conhecer durante a Pós-Graduação, tanto da Fitopatologia como também de outros programas: a Laura, Edward, Esteban, Javier, Juan Carlos, Julieth, Lily, Pablo, Thony, Wilfrand, Boris e Sergio, só para mencionar alguns deles, pelos bons momentos compartilhados.

A todos os colegas e companheiros de casa pelo convívio.

A minha namorada Aline Camila Caetano e família toda pelo apoio em todo momento e grande carinho recebido.

A toda a minha família que contribuiu muito, especialmente a minha mãe e os meus irmãos, pelos conselhos e pelo carinho.

Aos meus professores e colegas de graduação na Universidad Nacional Agraria de la Selva e do Colégio Nacional Padre Abad, na minha cidade de nascença Tingo Maria, Peru.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

SUMARIO

RESUMO	9
ABSTRACT.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 DESENVOLVIMENTO	15
2.1 Revisão Bibliográfica.....	15
2.1.1 O tomateiro	15
2.1.2 O <i>Tomato chlorosis virus</i>	16
2.1.2.1 Morfologia e genoma	16
2.1.2.2 Sintomas	18
2.1.2.3 Vetores	19
2.1.2.4 Hospedeiros.....	21
2.1.2.5 Distribuição geográfica.....	23
2.1.2.6 Diagnose.....	24
2.1.2.7 Epidemiologia e controle.....	25
2.1.2.8 Melhoramento para resistência	28
2.2 Material e Métodos	29
2.2.1 Localização.....	29
2.2.2 Genótipos de tomateiro.....	30
2.2.3 Isolado do vírus.....	30
2.2.4 Colônia de <i>Bemisia tabaci</i> e aquisição do ToCV	32
2.2.5 Detecção do ToCV e sequenciamento	33
2.2.5.1 Extração de RNA total.....	33
2.2.5.2 RT-PCR	34
2.2.5.3 Sequenciamento de nucleotídeos	35
2.2.6 Avaliação da resistência dos tomateiros à infecção com o ToCV.....	35
2.2.7 Avaliação da tolerância dos tomateiros ao amarelão	36
2.2.8 Análise dos dados.....	38
2.3 Resultados.....	39
2.3.1 Identidade do ToCV	39
2.3.2 Resistência de tomateiros à infecção com o ToCV	39
2.3.2.1 Primeiro ensaio	39
2.3.2.2 Segundo ensaio	41

2.3.3	Tolerância ao amarelão no campo	42
2.3.3.1	Primeiro ensaio	42
2.3.3.2	Segundo ensaio	44
2.4	Discussão.....	47
REFERÊNCIAS.....		53

RESUMO

Resistência de genótipos de tomateiro à infecção com o *Tomato chlorosis virus* e tolerância à doença

O *Tomato chlorosis virus* (ToCV), família *Closteroviridae*, gênero *Crinivirus* é um vírus de RNA de fita simples, senso positivo, transmitido de maneira semi-persistente por espécies da família *Aleyrodidae*, dos gêneros *Bemisia* e *Trialeurodes*. Possui uma gama de hospedeiros considerável que inclui plantas domesticadas e ervas daninhas das famílias *Alzooaceae*, *Amaranthaceae*, *Apiaceae*, *Apocynaceae*, *Asteraceae*, *Plumbaginaceae*, e *Solanaceae*. No estado de São Paulo, Brasil, foi relatado pela primeira vez em 2008, causando clorose internerval nas folhas de tomateiros. A importância desta doença emergente tem incrementado nos últimos anos e, no entanto, até o momento não existem estimativas dos danos causados nem alternativas adequadas para o manejo da doença no campo. Diante disso, esse trabalho teve como objetivos (i) avaliar a resistência de genótipos de tomateiro à infecção com o ToCV, (ii) avaliar a tolerância de alguns dos genótipos à doença e (iii) estimar o dano produzido em campo protegido. Para isso, 57 genótipos, incluindo espécies selvagens, linhagens avançadas e cultivares comerciais de tomateiro foram inicialmente avaliados quanto à resistência à infecção. Plantas jovens, produzidas em bandejas de poliestireno expandido, protegidas por gaiola recoberta com tecido de voil foram inoculadas por meio da liberação massal de *B. tabaci* MEAM1 virulífera para o ToCV. A incidência de plantas infectadas por genótipo foi determinada mediante observação dos sintomas e a detecção do vírus por RT-PCR. Alguns dos genótipos também foram avaliados quanto à tolerância à doença causada pelo crinivírus. Plantas sadias e sabidamente infectadas com o ToCV foram transplantadas no campo no interior de telados protegidos com tecido de voil. As plantas foram avaliadas quanto ao peso de frutos produzidos. No fim do ensaio, todas as plantas foram cortadas na região do colo e avaliaram-se os pesos fresco e seco da parte aérea. Em dois ensaios independentes de avaliação da resistência à infecção com o ToCV por meio da liberação massal de *B. tabaci* virulífera constatou-se que em condições de livre chance de escolha dos insetos os acessos *Solanum peruvianum* LA 444-1 e *S. habrochaites* PI 127826 e PI 134417 e as linhagens avançadas IAC 14-2-49+14-2-85 (somente no primeiro ensaio) e IAC 68F-22-2-24-1 não tiveram plantas infectadas, sugerindo alto grau de resistência à infecção pelo crinivírus. Para os demais genótipos avaliados a reação das plantas à infecção com o ToCV variou de moderadamente resistente à altamente suscetível. Dois ensaios independentes para avaliar a tolerância dos diferentes genótipos de tomateiro ao amarelão causado pelo ToCV, com base no desenvolvimento e na produção das plantas mostrou resultados bastante variáveis. Os resultados desse trabalho fornecerão subsídios para futuros trabalhos de melhoramento genético para o desenvolvimento de cultivares resistentes/tolerantes ao ToCV.

Palavras-chave: *Bemisia tabaci*; *Crinivirus*; *Solanum lycopersicum*; Dano

ABSTRACT

Resistance of tomato genotypes to infection with *Tomato chlorosis virus* and tolerance to the disease

Tomato chlorosis virus (ToCV), family *Closteroviridae*, genus *Crinivirus* is a single-stranded, positive sense RNA virus, transmitted semi-persistently by species of the family *Aleyrodidae*, belonging to the genus *Bemisia* and *Trialeurodes*. ToCV infects several species including domesticated and weed plants belonging to the families *Alzooaceae*, *Amaranthaceae*, *Apiaceae*, *Apocynaceae*, *Asteraceae*, *Plumbaginaceae* and *Solanaceae*. In São Paulo, Brazil, this crinivirus was first reported in 2008, causing chlorosis in the leaves of tomato plants. The importance of this emerging disease has increased in recent years and yet, so far there are no estimates of the damage, nor suitable alternatives for the management of the disease in the field. Therefore, this study aimed to (i) evaluate the resistance of tomato genotypes to infection with ToCV, (ii) to evaluate the tolerance of some genotypes to the disease and (iii) estimate the damage produced in infected plants. Fifty seven genotypes, including wild species, hybrids and commercial tomato cultivars were initially evaluated for resistance to infection. Seedlings produced in expanded polystyrene trays protected by cage covered with voile fabric were inoculated through the mass release of ToCV viruliferous *B. tabaci* MEAM1. The incidence of infected plants per genotype was determined by observation of symptoms and virus detection by RT-PCR. Some of the genotypes were also evaluated for tolerance to the disease caused by the crinivirus. Healthy and ToCV infected plants were separately transplanted in the field, in cages protected with voile fabric. Weight of harvested fruits of the plants were evaluated. At the end of the test, all the plants were cut out and their fresh and dry weights were measured. Results from two independent trials showed that the accesses *Solanum peruvianum* LA 444-1, and *S. habrochaites* PI 127826 and PI 134417, and the hybrids IAC 14249+14285 and IAC 68F-22-2-24-1 did not have infected plants, suggesting a high degree of resistance to infection by the crinivirus. For all other genotypes the response of the plants to infection with ToCV ranged from moderately resistant to highly susceptible. Results from two independent trials to assess the tolerance of different tomato genotypes to the disease caused by ToCV, based on the development and production of the plants were widely variable. These findings provide insights for future breeding programs for the development of cultivars resistant and/or tolerant to ToCV.

Keywords: *Bemisia tabaci*; Crinivirus; *Solanum lycopersicum*; Yield loss

1 INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é, em termos econômicos, uma das culturas mais importantes no mundo. Ele representa um valor de produção de mais de 59 bilhões de dólares, ficando entre as principais *commodities*, atrás só do arroz, do trigo, da soja e competindo com a cana de açúcar. Depois da batata, o tomate é uma das hortaliças mais consumidas do mundo, sendo a Líbia, o Egito e a Grécia os países com maior consumo per-capita, mais de 100 kg/ano (BERGOUIGNOUX, 2014; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO, 2012).

O tomateiro é também uma das espécies cultivadas com mais espécies descritas de vírus infecciosos, superada apenas pelo pepino (*Cucumis sativus*) (BRUNT et al., 1996). A maior parte dos vírus que emergiu nas últimas duas décadas e que limita a produção nas regiões tropicais, subtropicais e temperadas é transmitida por espécies de aleirodídeos (“mosca branca”) dos gêneros *Bemisia* e *Trialeurodes*. A maioria desses vírus emergentes pertence aos gêneros *Begomovirus*, *Ipomovirus*, *Torradovirus* e *Crinivirus*. No gênero *Crinivirus* (família *Closteroviridae*) destacam-se o *Tomato chlorosis virus* (ToCV) e o *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV). Surtos epidêmicos causados por estes vírus são frequentes na América, Europa, África e na Ásia (GARCÍA-CANO et al., 2010; NAVAS-CASTILLO; FIALLO-OLIVÉ; SÁNCHEZ-CAMPOS, 2011). No Brasil, o ToCV foi encontrado oficialmente pela primeira vez em 2006 (BARBOSA et al., 2008) e atualmente se encontra disseminado por diversos estados produtores de tomate (BARBOSA et al., 2011) causando a doença conhecida como amarelão. O TICV ainda não foi constatado no país.

A espécie de aleirodídeo *Bemisia tabaci* biótipo B, mais recentemente referida por MEAM1, é considerada uma praga cosmopolita e uma das mais importantes invasoras do mundo. Essa característica, juntamente com a capacidade de transmitir o ToCV de maneira bastante eficiente, tornam o panorama extremamente vulnerável não só para o tomateiro, mas também para outras solanáceas suscetíveis ao patógeno.

Atualmente, não existem dados quantitativos sobre os danos à produção do tomateiro causados por esse crinivírus no Brasil. Também, não há relatos sobre alternativas de controle para doenças causadas por crinivírus em solanáceas no

Brasil. Em outros países tem sido recomendado o controle do inseto vetor e o *roguing* de plantas infectadas que podem servir como fonte de inóculo do vírus (EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION - EPPO, 2005; WINTERMANTEL, 2004). Em geral, acredita-se que o melhoramento genético é a alternativa mais eficiente no controle de doenças, porém, ainda não existem muitos avanços nesse sentido para o controle desta doença emergente causada pelo ToCV.

Diante desse quadro, os objetivos do presente trabalho de pesquisa foram:

- (i) Identificar fontes de resistência ao ToCV, transmitido por *B. tabaci* MEAM1, em genótipos melhorados, linhagens avançadas e espécies selvagens de tomateiro.
- (ii) Identificar genótipos com tolerância ao amarelão causado pelo ToCV através da avaliação em campo protegido.
- (iii) Quantificar o dano produzido pelo amarelão.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão Bibliográfica

2.1.1 O tomateiro

O centro de origem do tomateiro é a região andina do continente americano. Ele foi domesticado durante as civilizações Inca e Asteca e levado à Europa no século XVI. Atualmente é consumido no mundo todo e é uma fonte importante de compostos bioativos como licopeno, β -caroteno e vitamina C, necessários para a saúde humana (BERGOUGNOUX, 2014).

O tomateiro pertence à família *Solanaceae* que representa mais de 3.000 espécies, incluindo muitas de importância econômica como a batateira, berinjela, fumo e pimentão. O gênero *Solanum* é o maior dentro da família e compreende 1200 a 1700 espécies diferentes (BERGOUGNOUX, 2014).

Junto com as espécies selvagens mais próximas é possível reconhecer dois grupos bem diferenciados no tomateiro de acordo com a capacidade de cruzamento, o complexo *Esculentum* e o *Peruvianum*. As espécies do primeiro grupo podem hibridizar com o tomateiro cultivado e representam importantes fontes de resistência a estresses bióticos e abióticos, entre outras características. O grupo *Peruvianum* é extremamente diverso, com grande potencial para o melhoramento genético, porém, apresenta algumas barreiras para ser hibridizado com a espécie cultivada (BERGOUGNOUX, 2014). Devido a sua importância hortícola, o tomateiro tem uma longa história de melhoramento, sendo considerado atualmente como um organismo modelo (KIMURA; SINHA, 2008) e teve recentemente o genoma sequenciado (THE TOMATO GENOME CONSORTIUM, 2012).

Em termos econômicos, 72% do valor das hortaliças frescas produzidas no mundo correspondem ao tomate, existindo uma produção mundial de aproximadamente 162 milhões de toneladas em uma área plantada estimada de 4,4 milhões de hectares. Os maiores produtores são a China continental, a Índia e os Estados Unidos da América e a Turquia. As maiores produtividades, no entanto, são encontradas nos países do norte da Europa como os Países Baixos e a Bélgica onde as condições climáticas não são favoráveis e a produção é realizada em condições controladas de casa-de-vegetação (BERGOUGNOUX, 2014; FAO, 2012).

O Brasil é o nono país no ranking de produção mundial (FAO, 2012), com uma área cultivada com tomateiro equivalente a 63.632 ha, com uma produção anual de 4.041.795 t e uma produtividade média nacional de 63,5 t/ha. Mais de 70% da produção no Brasil está concentrada nas regiões Centro-Oeste e Sudeste, principalmente nos estados de Goiás (32%), São Paulo (17%) e Minas Gerais (16%). O maior rendimento alcançado é encontrado no primeiro estado com mais de 79,8 t/ha, onde a produção visa principalmente à indústria (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2014).

No Estado de São Paulo, o tomate de mesa (estaqueado) é produzido principalmente na região Sul e Sudeste, enquanto o tomate para indústria (rasteiro) é produzido principalmente na região Norte e Noroeste do Estado.

Na safra agrícola 2012/2013 do estado de São Paulo foram produzidas 634.780 t de tomate envarado e 349 690 t de tomate rasteiro, cultivados em 8,6 mil ha e 4,34 mil ha, respectivamente. A produtividade melhorou em relação à safra anterior em 4,6% e 2,0%, com produtividades de 73,8 t/ha e 80,6 t/ha para o tomateiro envarado e rasteiro, respectivamente. Os municípios com maiores áreas e produções de tomateiro estaqueado e rasteiro foram Itapeva (396 mil t e 5 mil ha) e Barretos (66 mil t e 737 ha), respectivamente (ANUÁRIO INFORMAÇÕES ESTATÍSTICAS DA AGRICULTURA, 2014).

2.1.2 O *Tomato chlorosis virus*

2.1.2.1 Morfologia e genoma

O ToCV pertence ao gênero *Crinivirus*, família *Closteroviridae*. Esse vírus possui partículas filamentosas e um genoma composto por duas moléculas de RNA de fita simples, senso positivo. Essas duas moléculas de RNA, denominadas RNA1 e RNA2, são independentemente encapsidadas (KARASEV, 2000; LIU; WISLER; DUFFUS, 2000).

Isolados do ToCV dos Estados Unidos da América (WINTERMANTEL et al., 2005), da Espanha (LOZANO; MORIONES; NAVAS-CASTILLO, 2006, 2007), da Grécia (KATAYA et al., 2008) e, mais recentemente, do Brasil (ALBUQUERQUE et al., 2013) já tiveram o genoma completo sequenciado. O RNA1 possui 8595 nucleotídeos (nt) e o RNA2 possui 8247 nt. O RNA1 apresenta quatro fases abertas

de leitura (*open reading frames* - ORFs), as duas maiores codificam proteínas associadas com a replicação, enquanto o RNA2 possui nove ORFs que codificam uma variedade de proteínas associadas com a proteção do genoma, movimento, transmissão e outras funções ainda não identificadas (KARASEV, 2000; LOZANO; MORIONES; NAVAS-CASTILLO, 2006, 2007; WINTERMANTEL; WISLER, 2006; WISLER et al., 1998b). Ambos componentes genômicos codificam proteínas com atividade de supressão do silenciamento de RNA e essa é mais uma das características encontradas só no ToCV, dentre os crinivírus (CAÑIZARES; NAVAS-CASTILLO; MORIONES, 2008).

Análises filogenéticas realizadas com base nas sequências de nucleotídeos dos genes que codificam a proteína HSP70h (homóloga da “heat shock protein”) e a proteína capsidial de diversos isolados do ToCV de vários países indicaram alto nível de conservação, com 99,9 a 100% de identidade em relação aos isolados brasileiros. Análises filogenéticas usando sequências de nucleotídeos completas do RNA1 e do RNA2 de um isolado brasileiro do ToCV estão intimamente relacionadas com as sequências de nucleotídeos correspondentes a isolados do ToCV da Grécia, de Chipre e da Turquia. Esses resultados demonstram baixa variabilidade genética e sugerem que os isolados brasileiros devem ter origem a partir de uma única introdução. Tendo em conta que o ToCV não é transmitido através das sementes e a relação com o vetor é semi-persistente, o mais provável é que a introdução tenha acontecido por meio de material vegetativo infectado (ALBUQUERQUE et al., 2013; BARBOSA; REZENDE; BERGAMIN FILHO, 2013; WINTERMANTEL; WISLER, 2006).

Análises realizadas até o momento indicam que o *Sweet potato chlorotic stunt virus* e o *Cucurbit yellow stunting disorder virus* são os crinivírus filogeneticamente mais próximos ao ToCV. As sequências de amino ácidos da proteína RdRp (RNA polimerase dependente do RNA) e da proteína HSP70h apresentam o maior grau de conservação entre as proteínas de diversos crinivírus, com 70-75% de homologia (LOZANO; MORIONES; NAVAS-CASTILLO, 2006, 2007; WINTERMANTEL et al., 2005).

2.1.2.2 Sintomas

Os sintomas característicos causados pelo ToCV no tomateiro e que são comuns aos demais crinivírus aparecem normalmente após três a quatro semanas da inoculação (período de latência relativamente longo) e consistem em áreas cloróticas internervais irregulares que lembram deficiência nutricional e senescência prematura. Geralmente os sintomas iniciam nas folhas da parte inferior das plantas. Com o progresso da doença, conhecida como “amarelão” no Brasil, o amarelecimento ou clorose se intensifica lembrando a deficiência de magnésio e atinge as folhas superiores da planta. Geralmente aparecem bronzeamentos ou manchas avermelhadas e listras necróticas nas áreas cloróticas e as folhas ficam grossas e quebradiças com as margens curvadas para cima. Os frutos não apresentam sintomas, mas pode ocorrer aborto de flores. O amarelecimento da planta e perda de área fotossintética é acompanhado por uma diminuição do vigor, tendo como resultado uma redução no tamanho dos frutos que também demoram em amadurecer (DOVAS; KATIS; AVGELIS, 2002; EPPO, 2005; FORTES; MORIONES; NAVAS-CASTILLO, 2012; GARCÍA-CANO et al., 2010; KARASEV, 2000; NAVAS-CASTILLO et al., 2000; WINTERMANTEL; WISLER, 2006; WISLER et al., 1998a).

Curiosamente, os sintomas podem variar dependendo das condições ambientais da região, como também da espécie de planta infectada. Por exemplo, no pimentão (*Capsicum annuum*) os sintomas incluem alongação anormal e terminação estreita das folhas da região média da planta. Tanto nesta espécie como no tomateiro, a severidade dos sintomas e os danos ocasionados dependem do cultivar e da idade da infecção das plantas (FORTES; MORIONES; NAVAS-CASTILLO, 2012; GARCÍA-CANO et al., 2010). Existem espécies suscetíveis a esse crinivírus que são assintomáticas (WINTERMANTEL; HLADKY, 2009; WISLER et al., 1998a).

Considera-se que os crinivírus estão restritos às células associadas ao floema (GARCÍA-CANO et al., 2006) e, portanto acredita-se que os sintomas ocorrem por causa do tamponamento dos vasos pelos corpos de inclusão viral e consequente interferência no transporte dos nutrientes (WISLER; DUFFUS, 2001). No entanto, sabe-se que alguns closterovírus podem invadir células do mesófilo (KARASEV, 2000; MEDINA et al., 1999).

2.1.2.3 Vetores

A *B. tabaci* (Gennadius) (Insecta: Hemiptera: Homoptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae: Aleyrodinae) é um inseto que se alimenta do floema das plantas e vive principalmente sobre espécies herbáceas (BARRO et al., 2011). Vulgarmente conhecida como “mosca-branca” (“whitefly” em inglês) e referida no presente trabalho como aleirodídeo, é uma das pragas mais devastadoras que existe, tendo sido incluída na lista das 100 espécies invasivas mais importantes do mundo (LOWE et al., 2000). É um inseto extremamente complexo com populações que diferem na gama de hospedeiros, adaptabilidade à planta e é responsável pela transmissão de 10% das espécies de vírus conhecidas que infectam plantas (BOYKIN et al., 2007).

A espécie de *B. tabaci* MED (“*Mediterranean*”, antes biótipo Q) foi descrita pela primeira vez em 1889 como *Aleyrodes tabaci* por Gennadius a partir de aleirodídeos coletados de plantas infestadas de fumo na Grécia. Onze anos depois foi descrita no Sudeste dos Estados Unidos da América a espécie *Aleyrodes inconspicua* (atualmente a espécie “*New World*”, antes chamada de biótipo A), posteriormente transferida para o gênero *Bemisia*. Em 1936 Takahashi transferiu *A. tabaci* para o gênero *Bemisia* resultando na espécie *B. tabaci* que é mantida até hoje. Com o passar dos anos apareceu uma grande quantidade de descrições de novas espécies. Em 1963 Mound relatou num artigo clássico da área, que a progênie da mesma fêmea apresentava variações morfológicas dependendo da planta hospedeira. Isso evidenciou que na verdade muitas das espécies descritas formavam um ente só. Por isso, enquanto apareciam novas descrições de aleirodídeos, muitos pesquisadores foram sinonimizando elas, sendo a mais notável aquela realizada por Russell em 1957, que agrupou nove diferentes espécies dentro do complexo *B. tabaci*. Tudo isto criou confusão porque levou a acreditar que *Bemisia tabaci* é uma espécie só, cosmopolita, com uma enorme gama de hospedeiros e com a capacidade de transmitir uma ampla variedade de vírus (PERRING, 2001). Assim, chegou a ser considerada pela sociedade científica como “o super-inseto” (BARINAGA, 1993).

Até recentemente *B. tabaci* foi considerada um complexo de espécies, com mais de 20 biótipos descritos (PERRING, 2001). A designação das diferentes populações desse inseto se baseia principalmente na estrutura genética delas e não

nas características biológicas (BARRO et al., 2011). O limite de divergência do gene da citocromo oxidase I mitocondrial (mtCOI) de 3,5% é indicativo de espécies diferentes (DINSDALE et al., 2010). Atualmente, *B. tabaci* é considerada um complexo de 36 espécies crípticas (BARRO et al., 2011). A importância de saber e definir se *B. tabaci* é uma espécie complexa ou um complexo de espécies tem implicações práticas porque o que serve para controlar uma população, pode não controlar uma outra (TAY et al., 2012).

Na década de 80 aconteceram surtos impressionantes de aleirodídeos no sudoeste dos Estados Unidos da América que afetaram de forma severa as culturas. Isto chamou muito a atenção, uma vez que o inseto até então era considerado uma praga de menor importância no continente (a espécie do “*novo mundo*”). As diferenças biológicas e moleculares indicaram que esta era uma nova espécie introduzida e atualmente está presente em todos os países latino-americanos (TAY et al., 2012). Essa espécie nova é a MEAM1 (“*Middle East – Asia Minor 1*”, antes biótipo B) e foi relatada no Brasil por volta de 1991 no estado de São Paulo, sendo que a introdução pode ter acontecido através de plantas ornamentais (LOURENÇÃO; NAGAI, 1994).

Tanto a *B. tabaci* MEAM1 quanto a *B. tabaci* MED (“*Mediterranean*”, antes biótipo Q) são as espécies mais conhecidas por serem extremamente invasivas, possuem maior fecundidade e são mais polípagas que outras espécies. Elas também têm desenvolvido altos níveis de resistência a inseticidas. A *B. tabaci* MED já foi relatada nos Estados Unidos da América, no México (MARTINEZ-CARRILLO; BROWN, 2007), na Guatemala (BETHKE et al., 2009) e recentemente na Argentina, no Uruguai (GRILLE et al., 2011), na Costa Rica (GUEVARA-COTO et al., 2011) e no sul do Brasil, na fronteira com a Argentina e o Uruguai, infestando plantas de pimentão em casa de vegetação e batata doce no campo (BARBOSA et al., 2014).

Outras duas espécies de aleirodídeos vetoras do ToCV são *Trialeurodes abutilonea* Haldeman e *T. vaporariorum* Westwood (WINTERMANTEL; WISLER, 2006). Não existem relatos de *T. abutilonea* no Brasil. *T. vaporariorum* também é uma espécie polífaga com uma gama de hospedeiros em condições de casa-de-vegetação no Brasil de 162 espécies, pertencentes a 40 famílias (OLIVEIRA et al., 2003). *T. vaporariorum* esteve por muito tempo restrita a espécies de plantas cultivadas em casa de vegetação, mas nos últimos 20 anos tem aumentado a sua importância como praga em algumas áreas de produção em campo aberto, tendo

sido relatada a sua presença em plantas de tomate e feijão, como também em couve e aboboreira, em São Paulo, Brasil (LOURENÇÃO et al., 2008).

Ainda que os aleirodídeos possam causar danos importantes na produção, os vírus transmitidos por eles podem causar perdas economicamente mais significativas do que as causadas apenas pela alimentação do vetor (BALDIN; VENDRAMIM; LOURENÇÃO, 2005; NAVAS-CASTILLO; FIALLO-OLIVÉ; SÁNCHEZ-CAMPOS, 2011; PERRING, 2001; WINTERMANTEL, 2004).

A transmissão do ToCV é feita eficientemente de maneira semi-persistente pelos aleirodídeos *B. tabaci* MEAM1 e *T. abutilonea* e de forma menos eficiente por *T. vaporariorum* e *B. tabaci* New World. A retenção do vírus no vetor varia de 3 a 5 dias dependendo da espécie (WINTERMANTEL; WISLER, 2006). Freitas (2012) estudou os períodos de acesso à aquisição (PAA) e à inoculação (PAI) do isolado brasileiro do ToCV por *B. tabaci* MEAM1 e constatou que a eficiência de transmissão após 5 minutos de PAA foi em média 15%. Quando o PAA variou de 10 minutos a 1 h, a eficiência média de transmissão foi de aproximadamente 40%. Para um PAA de 24 h a eficiência média de transmissão foi de 100%. Quando os insetos tiveram 24 h de PAA e 5 minutos de PAI, a eficiência média de transmissão foi de 25%. Para os PAI de 10 minutos a 24 h a eficiência média de transmissão variou de 25% a 50%. A autora constatou também que *T. vaporariorum* transmitiu o isolado brasileiro do ToCV, com eficiência inferior à de *B. tabaci* MEAM1, conforme relatado por Wintermantel e Wisler (2006). O ToCV não é transmitido mecanicamente (DOVAS; KATIS; AVGELIS, 2002) ou por sementes (KARASEV, 2000).

2.1.2.4 Hospedeiros

A gama de hospedeiros do ToCV é ampla, infectando de forma natural ou experimental perto de 30 espécies de plantas pertencentes às famílias *Alzooaceae*, *Amaranthaceae*, *Apiaceae*, *Apocynaceae*, *Asteraceae*, *Plumbaginaceae*, e *Solanaceae* (EPPO, 2005; MORRIS et al., 2006; TRENADO et al., 2007; WINTERMANTEL; WISLER, 2006).

Dentre as espécies cultivadas, o ToCV foi encontrado pela primeira vez infectando naturalmente o tomateiro (WISLER et al., 1998a). A infecção natural de pimentão (*Capsicum annuum*) foi relatada na Espanha (LOZANO; MORIONES; NAVAS-CASTILLO, 2004), no Brasil (BARBOSA; TEIXEIRA; REZENDE, 2010) e na

Costa Rica (VARGAS et al., 2011), porém essa espécie não foi experimentalmente suscetível em ensaios realizados nos Estados Unidos da América (WINTERMANTEL; WISLER, 2006). Essa diferença pode estar associada a diferenças de suscetibilidade dos cultivares, segundo sugestão dos autores. O ToCV também foi encontrado infectando naturalmente batateira na Espanha e no Brasil (FORTES; NAVAS-CASTILLO, 2012; FREITAS et al., 2012). Recentemente na Grécia, duas plantas de alface (*Lactuca sativa*) que apresentavam sintomas de amarelecimento moderado e que cresciam perto de campos de tomateiro severamente infectados por ToCV, foram encontradas infectadas com esse crinivírus (ORFANIDOU et al., 2014); e nas Ilhas Canárias, Espanha, também foram encontradas naturalmente infectadas plantas de fumo utilizadas como refúgio de predadores e parasitoides em estufas de produção de tomate (FIALLO-OLIVÉ et al., 2014).

Entre as ervas daninhas hospedeiras do ToCV tem-se a *Physalis ixocarpa* e *P. peruviana* descritas em Portugal (TRENADO et al., 2007), *P. angulata* no Brasil (FONSECA et al., 2013), *Solanum nigrum* na Espanha, *S. nigrum* e *Datura stramonium* em Portugal e *S. nigrescens* e *D. stramonium* no México (ALVAREZ-RUIZ et al., 2007; FONT et al., 2004; LOURO et al., 2000). A erva anual *Anthriscus cerefolium*, também usada na culinária, é suscetível experimentalmente (MORRIS et al., 2006). Solórzano-Morales et al. (2011) detectaram o ToCV infectando de forma natural as ervas daninhas *Ruta chalepensis* (*Rutaceae*), *Phytolacca icosandra* (*Phytolacaceae*), *Plantago major* (*Plantaginaceae*), e *Brassica* sp. (*Brassicaceae*), como também uma única planta de *Cucurbita moschata* (*Cucurbitaceae*), todas crescendo de forma adjacente a viveiros de tomateiro na Costa Rica. Também foi descrita como hospedeira a planta ornamental zínia, em Taiwan (TSAI et al., 2004). Recentemente, Orfanidou et al., (2014) analisou 1237 amostras de ervas-daninhas pertencentes a 44 espécies e 26 famílias botânicas, coletadas de campos de produção de tomateiro, ou perto deles, e encontrou que 2,2% delas estavam infectadas com o ToCV. É importante salientar que a maioria das amostras positivas para o vírus eram assintomáticas. Tudo isto tem aumentado de forma notável a importância das ervas daninhas como fonte do vírus e possível implicação na epidemiologia da doença. As evidências indicam que a gama de hospedeiros do ToCV é maior do que o relatado até agora e pode continuar se expandindo à outras espécies (ORFANIDOU et al., 2014).

Como o ToCV, da mesma forma que os demais crinivírus, não é transmitido através da semente, a importância das ervas-daninhas anuais ou perenes, sintomáticas ou não como hospedeiras do vírus é grande, já que podem ser responsáveis pela continuidade da fonte de inóculo entre um e outro ciclo de produção (KARASEV, 2000).

2.1.2.5 Distribuição geográfica

O ToCV foi relatado pela primeira vez em 1996 em tomateiros crescendo em casa de vegetação na Florida, nos Estados Unidos da América, causando pelo menos desde o ano de 1989, uma síndrome conhecida como amarelecimento foliar (SIMONE et al., 1996; WISLER et al., 1998b). Desde então, o ToCV já foi relatado em mais de 20 países: Portugal (LOURO; ACCOTTO; VAIRA, 2000), Espanha (NAVAS-CASTILLO et al., 2000), Itália (ACCOTTO et al., 2001), África do Sul (JONES, 2001), Porto Rico (WINTERMANTEL et al., 2001), Grécia (DOVAS; KATIS; AVGELIS, 2002), Marrocos (HANAFI, 2002), Ilhas Canarias (FONT; VAIRA; ACCOTTO, 2003), Taiwan (TSAI et al., 2004), Israel (SEGEV et al., 2004), França (DALMON et al., 2005), Líbano (ABOU-JAWDAH et al., 2006), (DELATTE et al., 2006), Chipre (PAPAYIANNIS et al., 2006), México (ALVAREZ-RUIZ et al., 2007), Turquia (ÇEVİK; ERKIS, 2008), Cuba (MARTÍNEZ-ZUBIAUR et al., 2008), Ilhas Reunião e Ilhas Mayotte (MASSÉ et al., 2008), Costa Rica (CASTRO et al., 2009), Ilhas Maurício (LETT et al., 2009), Japão (HIROTA et al., 2010) e Sudão (FIALLO-OLIVÉ et al., 2011).

Em território brasileiro o ToCV foi primeiramente detectado em tomateiro em 2008 na região de Sumaré, São Paulo (BARBOSA et al., 2008). É possível, no entanto, que o closterovírus encontrado em tomateiros na região de Campinas, SP, em 1998, causando sintomas semelhantes aos descritos para o ToCV e transmitido pela *B. tabaci*, já fosse o próprio ToCV (PAVAN; MELLO; SITOLIN, 1999). Posteriormente o ToCV foi constatado também em tomateiros nos estados da Bahia, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais e Rio de Janeiro (BARBOSA et al., 2011). Também foi detectado nos Estados de Santa Catarina e Pernambuco (Dr. Ricardo Gioria, informação pessoal). Em plantas de pimentão esse vírus foi detectado em 2010, também no Estado de São Paulo (BARBOSA; TEIXEIRA; REZENDE, 2010), enquanto que em batateira foi encontrado pela primeira vez em amostras

provenientes do estado de Goiás (FREITAS et al., 2012). Isso mostra que trata-se de um vírus em expansão no país, tal como já aconteceu em outros países como a Grécia, sendo que a disseminação é atribuída ao incremento da população e expansão do vetor (WINTERMANTEL et al., 2008), ao movimento de material vegetativo de regiões afetadas, como também não deve ser descartada a implicação dos frutos infectados na disseminação do vírus (ORFANIDOU et al., 2014).

2.1.2.6 Diagnose

A diagnose com base nos sintomas produzidos pelos crinivírus em geral é complicada porque podem ser facilmente confundidos com aqueles causados por problemas fisiológicos ou nutricionais, senescência natural e fitotoxicidade por produtos agrícolas (EPPO, 2005; WISLER; DUFFUS, 2001; WISLER et al., 1998a, 1998b). Ainda, o fato de os sintomas induzidos pelo ToCV aparecerem de forma tardia (WISLER; DUFFUS, 2001) faz com que a diagnose seja muitas vezes tarde demais, piorando o panorama.

Pela sintomatologia é impossível diferenciar a infecção do tomateiro por ToCV com a de outro crinivírus, o TICV, ainda não constatado no Brasil. No entanto, existem hospedeiras diferenciais do ToCV como *N. glutinosa* e *Gomphrena globosa* que não são hospedeiras do TICV (DUFFUS; LIU; WISLER, 1996; WINTERMANTEL; WISLER, 2006). Ainda, ambas as espécies de crinivírus podem ser diferenciadas pelos sintomas produzidos em *N. clevelandii* e *N. benthamiana*, sendo que ambos induzem uma clorose internerval, mas o TICV também induz manchas necróticas (WISLER et al., 1998b).

Adicionalmente, o TICV e o ToCV podem ser diferenciados e identificados de acordo com as diferenças na capacidade de transmissão por diferentes espécies de aleyrodídeos. O ToCV, conforme mencionado anteriormente é transmitido por *B. tabaci* MEAM1, New World e MED, *T. abutilonea* e *T. vaporariorum*, enquanto o TICV é transmitido apenas por *T. vaporariorum* (DUFFUS; LIU; WISLER, 1996; WISLER et al., 1998a).

Os métodos moleculares como a Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) e a hibridização do ácido nucléico são os mais usados por serem altamente eficientes na detecção e diferenciação de crinivírus e cada um

deles oferece vantagens únicas na diagnose (WINTERMANTEL; HLADKY, 2010; WINTERMANTEL, 2004).

2.1.2.7 Epidemiologia e controle

Na Europa as doenças causadas pelo ToCV e o TICV são chamadas de amarelecimento do tomateiro (*Tomato yellowing disease*, TYD). Aparentemente, a epidemiologia dessas doenças é bastante influenciada pelas espécies vetoras envolvidas (WINTERMANTEL; WISLER, 2006). Assim, na maior parte dos países da região do Mediterrâneo, onde predomina *B. tabaci* MED, o ToCV é o vírus associado ao TYD de forma predominante (DALMON et al., 2009; LOURO; ACCOTTO; VAIRA, 2000; NAVAS-CASTILLO; FIALLO-OLIVÉ; SÁNCHEZ-CAMPOS, 2011; PAPAYIANNIS et al., 2006). Já na Grécia, onde predomina *T. vaporariorum*, é o único país onde predomina o TICV (DOVAS; KATIS; AVGELIS, 2002). Além disso, os vetores também podem ser os moduladores da gama de hospedeiros desses vírus (ORFANIDOU et al., 2014).

A incidência de plantas infectadas com o ToCV é bastante variável, conforme constatado em diferentes países. No Sudeste da Espanha foram encontradas incidências maiores do que 30% de plantas sintomáticas num levantamento realizado no ano 1999 (NAVAS-CASTILLO et al., 2000). Entre os anos de 2006 e 2009 encontraram-se incidências de 27-63% em Málaga, 16-38% em Murcia e 18-27% em Almería, enquanto em Málaga foram encontradas plantas infectadas de pimentão, com incidências de 8,2-10,9%, além de apenas uma amostra infectada (0,3%) em Almería. Os cultivares de pimentão exibem diferenças em suscetibilidade, com incidências de 53 a 100% (FORTES; MORIONES; NAVAS-CASTILLO, 2012). No mesmo país, a incidência do ToCV em tomateiro produzido em casa de vegetação alcançou 100% antes dos cinco meses após o transplante, dependendo do tipo de cobertura (VELASCO et al., 2008). Na Grécia, Dovas; Katis e Avgelis, (2002) inspecionaram 61 plantios de tomateiro, em casa de vegetação e campo e constataram que o TICV estava presente em 53 plantações (87%), enquanto o ToCV foi detectado em apenas 10 (16%). De 183 amostras de tomateiro analisadas por RT-PCR o TICV foi detectado em 164, enquanto o ToCV estava presente em apenas 25. Estudos mais recentes conduzidos na Grécia, analisando amostras de tomates, outras espécies cultivadas e plantas daninhas confirmaram a

predominância do TICV que poderia estar associada ao tipo de vetor predominante no país. De um total de 114 amostras de tomateiros analisadas o TICV foi detectado em 62,5% e o ToCV em 20,5% (ORFANIDOU et al., 2014). Já no Brasil, Barbosa *et al.* (2008) relataram incidências bastante baixas de ToCV, de 0,25 a 3,42%, enquanto Calaça (2011) confirmou incidências de 0,38 a 2,48% na mesma região, em épocas diferentes do ano. No último caso, as maiores incidências foram encontradas nas periferias das lavouras e aparentemente a principal fonte de inóculo seria externa. É importante salientar que os campos avaliados por Calaça (2011) receberam no mínimo uma aplicação de inseticida por semana.

O ToCV pode ser disseminado em mudas infectadas no comércio internacional (NAVAS-CASTILLO et al., 2000). Mesmo entre regiões o transporte de mudas infectadas pode ajudar na disseminação do ToCV (ORFANIDOU et al., 2014). Na Espanha foi observada uma associação entre os surtos do amarelão e a disseminação de *B. tabaci* durante o verão (NAVAS-CASTILLO et al., 2000). Já a disseminação natural do vírus a longa distância pela migração de vetores virulíferos é considerada de menor importância. No entanto, insetos virulíferos poderiam ser transportados a longas distâncias junto com plantas hospedeiras ou não hospedeiras do vírus (EPPO, 2005).

O efeito do ToCV na produção das plantas ainda não foi avaliado de maneira quantitativa (EPPO, 2005; FORTES; MORIONES; NAVAS-CASTILLO, 2012) com exceção do pimentão. Nessa última espécie encontraram-se diferenças significativas de 45-75% na produção entre as plantas infectadas e as plantas saudas. O dano causado esteve relacionado com o tamanho e o número de frutos. Ademais, foi encontrada correlação positiva entre a resistência, em termos de incidência do ToCV, e a tolerância, estimada pela redução da produção e altura das plantas dos genótipos avaliados (FORTES; MORIONES; NAVAS-CASTILLO, 2012). É possível que os cultivares comerciais de tomate também reajam de forma diferente ao amarelão, ainda que até o momento não tenham sido relatadas diferenças na incidência do ToCV, e a necessidade da sua avaliação para futuros programas de melhoramento já foi apontada por Navas-Castillo et al. (2000).

Quando dois ou mais vírus infectam uma planta simultaneamente pode acontecer interação entre eles, de forma que aumenta a concentração de um ou mais desses vírus. O ToCV pode interagir com outros vírus da mesma família ou vírus distintos. Por exemplo, em batata doce o crinivírus *Sweet potato chlorotic stunt*

virus (SPCSV) interage de forma sinérgica com o potyvírus *Sweet potato feather mottle virus* (SPFMV) causando uma nova doença derivada da quebra de resistência das plantas ao potyvírus, que acaba apresentando uma maior replicação. O ToCV apresenta sinergia com o tospovírus *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) quando inoculado simultaneamente, aumentando o título viral do ToCV, enquanto a concentração do TSWV apresenta-se estável. O peso fresco dos tomateiros infectados com ambos os vírus é duas e três vezes menor do que quando infectados somente com o tospovírus ou o crinivírus, respectivamente. Por outro lado, em plantas resistentes a tospovírus, essa resistência é quebrada quando o ToCV infecta a planta 10 dias antes que o tospovírus. Em ambos os casos é provável que o fenômeno aconteça pela supressão do silenciamento gênico por parte de ambos os vírus (GARCÍA-CANO et al., 2006).

A erradicação dos vírus está fora de questão na maioria dos casos por ser difícil, senão impossível (WINTERMANTEL; HLADKY, 2010). Medidas como barreiras físicas (telas) para proteger as culturas dos vetores, o controle químico desses vetores, datas de plantio apropriadas que não coincidam com a biologia do inseto vetor, o *roguing* ou erradicação de tomateiros infectados com o ToCV, de ervas daninhas e outros possíveis hospedeiros do vírus como do vetor, como também o uso de variedades resistentes quando disponíveis são comumente recomendadas para o manejo de doenças causadas por vírus transmitidos por aleirodídeos (EPPO, 2005; ORFANIDOU et al., 2014).

Atualmente o controle do ToCV é essencialmente preventivo e se baseia no controle dos vetores. O problema com o controle químico é que *B. tabaci* desenvolve resistência muito rapidamente a todos os grupos de inseticidas e, portanto, é necessária a utilização de estratégias como rotações de inseticidas (EPPO, 2005). Porém, os inseticidas não são muito eficientes para controlar doenças causadas por vírus, já que estes podem ser transmitidos antes de o inseto morrer pela aplicação do produto. Ainda, a incubação dos crinivírus é demorada, aparecendo os sintomas entre 3 a 4 semanas após a infecção, de forma que, a doença pode estar já bastante espalhada antes de as medidas de controle serem implementadas (WINTERMANTEL, 2004).

2.1.2.8 Melhoramento para resistência

O controle através do uso de cultivares resistentes é uma das formas mais econômicas e efetivas de controlar doenças virais. De acordo com Cooper e Jones (1983), Hull (2014) e Walkey (1991) a resistência e a suscetibilidade denotam os extremos de uma escala que abrange os efeitos de um indivíduo infectável nos processos de infecção, replicação e invasão sistêmica do vírus. A tolerância é definida como uma resposta do hospedeiro à doença correspondente à expressão de sintomas fracos ou desprezíveis, mas com concentração e movimentação do vírus dentro da planta aproximadamente iguais aos de uma planta suscetível. A tolerância tem reflexo no desenvolvimento e na produção da planta. A imunidade, que é a ausência completa de infecção pode ser considerada como resistência do tipo “não hospedeiro” e ocorre quando o vírus não se replica em protoplastos, nem em células da planta, mesmo naquelas inicialmente inoculadas. A maioria das espécies vegetais é imune à infecção pela maioria dos vírus.

Na prática existe ainda um conceito conhecido como resistência de campo que consiste na resistência aparente sob condições naturais, enquanto sob condições experimentais a planta pode ser suscetível. Ela pode acontecer devido a baixos níveis de inoculo ou por outras causas desconhecidas (WALKEY, 1991).

Entre outros conceitos, temos aquela de Rubio et al. (2003) que define resistência como uma característica do hospedeiro pela qual a infecção do vírus é impedida, enquanto a tolerância é uma característica do hospedeiro que permite a ele suportar a infecção viral sistêmica, mas os sintomas produzidos são menos severos do que nas plantas mais sensíveis. Outros autores consideram como resistentes às plantas que após a inoculação não apresentam sintomas nem vírus detectável, e como tolerantes aquelas que são assintomáticas, porém o vírus pode ser detectado (VIDAVSKY; CZOSNEK, 1998; ZAKAY et al., 1991).

Em contraposição aos begomovírus, ainda não existe disponibilidade de cultivares de tomateiro resistentes ao crinivírus ToCV (HANSSEN; LAPIDOT; THOMMA, 2010). Em casos como este é necessário testar cultivares comerciais disponíveis e linhas melhoradas ou acessos, expondo-os ao vírus. Em caso de sucesso, os cultivares com resistência ou tolerância podem ser recomendados. Caso contrario, o próximo passo é testar espécies exóticas e selvagens. Nesse caso, o programa de melhoramento é longo tendo entre várias dificuldades a obtenção de

descendência fértil dos cruzamentos e que estas possuam as características agronômicas esperadas (SEGEREN et al., 1993a; WALKEY, 1991).

Recentemente García-Cano et al. (2010) identificaram na Espanha fontes de resistência nas linhagens 802-11-1 e 821-13-1, derivadas da população IAC CN RT (proveniente da hibridização interespecífica de *Solanum lycopersicum* x *S. peruvianum*) e LA1028 (*S. chmielewskii*), respectivamente. A resistência está associada à redução da concentração do vírus nos tecidos das plantas e na expressão dos sintomas.

Apesar de já ter sido bastante criticada por representar uma fonte potencial de vírus, a resistência parcial tem sido bastante usada em programas de melhoramento, em parte, porque às vezes é o único tipo de proteção disponível, mas também porque ela pode ser mais duradoura do que no caso do uso da resistência total, que muitas vezes depende de um gene só e é de baixo espectro.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Localização

Os ensaios foram conduzidos no período de julho de 2012 até abril de 2014, sob condições de campo protegido e casa de vegetação, no campo de experimentação do Departamento de Fitopatologia e Nematologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP.

A análise do solo foi realizada antes dos ensaios no campo para uniformizar a condição nutricional de todo o campo de experimentação. Esses dados também podem servir como referência para futuros trabalhos de avaliação de tolerância de tomateiros ao amarelão causado pelo ToCV (Tabela 1).

Realizou-se uma aplicação corretiva de sulfato de amônia e bórax em doses de 1.500 a 2.000 Kg.ha⁻¹ e 30 Kg.ha⁻¹, respectivamente. Uma vez que a saturação de bases (V) foi superior ao convencionalmente recomendado para o tomateiro e o valor do magnésio ficou acima de 9 mmol_c /dm³ que é o mínimo esperado, não foi realizada a calagem.

Tabela 1 – Resultados da análise do solo

Característica	Resultados	Característica	Concentração
pH (1)	5,7	CTC	132,7 mmolc/dm ³
P	378 mg/dm ³	V	132,7%
S	9 mmolc/dm ³	m	81%
K	8,7 mmolc/dm ³	Micronutrientes	Concentração
Ca	76 mmolc/dm ³	B	0,33 mg/dm ³
Mg	23 mmolc/dm ³	Cu	10 mg/dm ³
Al	0 mmolc/dm ³	Fe	49 mg/dm ³
H+Al	25 mmolc/dm ³	Mn	38,1 mg/dm ³
SB	107,8 mmolc/dm ³	Zn	23 mg/dm ³

(1) Determinado pelo método do CaCl₂

2.2.2 Genótipos de tomateiro

Os genótipos de tomateiro utilizados no estudo foram obtidos de uma coleção de sementes do Prof. Dr. Paulo C. Tavares de Melo, do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ-USP (NI 1 a 27 da Tabela 2).

Também foram obtidas sementes de algumas espécies selvagens e algumas linhagens avançadas de tomateiro desenvolvidos pelo Dr. Hiroshi Nagai, do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), por meio do Dr. André L. Lourenção, também do IAC (Tabela 2, NI 10 e 28 a 38). Foram obtidos ainda, sementes de cultivares utilizados atualmente pelos produtores, através do Eng. Agr. Thiago Teodoro Alcântara, da Agristar do Brasil Ltda (Tabela 2, NI 39 a 57).

2.2.3 Isolado do vírus

O isolado do ToCV utilizado foi obtido em 2006 a partir de plantas de tomateiro na região de Sumaré, no Estado de São Paulo (BARBOSA et al., 2008), e o genoma completo foi sequenciado recentemente e encontra-se disponível no GenBank, com os números de acesso JQ952600 e JQ952601 para os RNA1 e RNA2, respectivamente (ALBUQUERQUE et al., 2013). O isolado foi mantido em plantas da mesma espécie como também em *Gomphrena globosa* e *Nicotiana glauca*, em casa de vegetação, no Departamento de Fitopatologia e Nematologia da ESALQ.

Tabela 2 – Relação de tomateiros usados para avaliações de resistência à infecção com o ToCV e de tolerância ao amarelão causado por esse crinivírus

(continua)

NI (1)	Nome	Grupo Varietal	Hábito de Crescimento
1	Kada	Santa Cruz	Indeterminado
2	Viradouro	Saladete	Determinado
3	Saturno	Italiano	Indeterminado
4	HTX-01	Santa Cruz	Indeterminado
5	HTV0601TH	Saladete	Determinado
6	Santa Clara	Santa Cruz	Indeterminado
7	Katia	Saladete	Determinado
8	HTX-11	Santa Cruz	Indeterminado
9	Débora Max	Santa Cruz	Indeterminado
10	<i>Solanum peruvianum</i> LA 462	–	–
11	HTV8022	Saladete	Determinado
12	Mercúrio	Saladete	Determinado
13	Plutão	Italiano	Indeterminado
14	Júpiter	Italiano	Indeterminado
15	Caline IPA-6	Saladete	Determinado
16	São Sebastião	Santa Cruz	Indeterminado
17	Botu 13L	Saladete	Determinado
18	UNAPAL Maravilla	Santa Cruz	Indeterminado
19	Avalon	Santa Cruz	Indeterminado
20	Sahel	Italiano	Indeterminado
21	STV-1 (CGT 92)	Saladete	Determinado
22	Forty Ty	Saladete	Indeterminado
23	Tucson	Saladete	Indeterminado
24	Netuno	Italiano	Indeterminado
25	Alambra	Saladete	Indeterminado
26	Dominador Ty	Saladete	Indeterminado
27	Paron	Saladete	Indeterminado
28	<i>S. pimpinellifolium</i> LA 722	–	–
29	<i>S. pimpinellifolium</i> LA 1335	–	–
30	<i>S. habrochaites</i> PI 134418	–	–
31	<i>S. peruvianum</i> LA 371	–	–
32	<i>S. peruvianum</i> LA 444-1	–	–
33	<i>S. pimpinellifolium</i> PI 126931	–	–
34	<i>S. habrochaites</i> PI 127826	–	–
35	<i>S. habrochaites</i> PI 134417	–	–
36	IAC CN RT F5	–	–

NI (1)	Nome	Grupo Varietal	Hábito de Crescimento
37	IAC 68F 22-2-24-1	–	–
38	IAC 14-2-49 + 14-2-85	–	–
39	Alambra	Saladete	Indeterminado
40	AP 533	Saladete	Determinado
41	Caribe	Italiano	Indeterminado
42	Carina Ty	Santa Cruz	Indeterminado
43	Centenario	Italiano	Indeterminado
44	Ellen	Saladete	Indeterminado
45	Fusion	Saladete	Indeterminado
46	Gault	Saladete	Indeterminado
47	Gladiador	Saladete	Indeterminado
48	HMX 7885	Saladete	Determinado
49	Pegasus	Santa Cruz	Indeterminado
50	Pizzadoro	Italiano	Indeterminado
51	Predador	Saladete	Indeterminado
52	Serato	Saladete	Indeterminado
53	Tyna	Italiano	Indeterminado
54	UG 8169	Saladete	Determinado
55	Vento	Saladete	Indeterminado
56	Débora Pto	Santa Cruz	Indeterminado
57	Forty Ty	Saladete	Indeterminado

⁽¹⁾ NI: Número de identificação

2.2.4 Colônia de *Bemisia tabaci* e aquisição do ToCV

A transmissão do vírus foi realizada utilizando adultos de *B. tabaci* MEAM1, vetor natural predominante no Brasil. Para isso, colônias desse aleirodídeo foram criadas em plantas de couve-flor dentro de gaiolas artesanais a prova de insetos, mantidas em casa de vegetação.

O manuseio dos insetos foi feito com aspirador bucal construído com um tubo de centrífuga tipo Falcon de 50 ml, uma ponteira de micropipeta de 1000 µl e uma mangueira plástica de 30 cm x 1/4" de espessura contendo um filtro. A ponteira foi fixada em um orifício no tubo Falcon e a mangueira com o filtro foi encaixada em um orifício oposto ao da ponteira. Insetos virulíferos foram obtidos por meio do

confinamento em folhas de plantas infectadas acondicionadas nos tubos tipo Falcon dos aspiradores bucais. O PAA do vírus foi de 24 h. Depois disso os insetos foram usados para as inoculações de tomateiros conforme os objetivos dos ensaios descritos adiante.

Alternativamente, para os ensaios para determinar a tolerância, os insetos virulíferos foram obtidos por meio do confinamento em plantas de tomate infectadas com o ToCV, mantidas em gaiola protegida com voil. Nesse caso, o manuseio dos insetos virulíferos foi realizado usando o aspirador bucal modificado, que dispensa o tubo Falcon e a ponteira vai inserida diretamente na mangueira plástica.

2.2.5 Detecção do ToCV e sequenciamento

2.2.5.1 Extração de RNA total

As amostras utilizadas para a extração do RNA foram obtidas das folhas inferiores das plantas. Nos casos em que essas folhas não eram apropriadas por apresentar senescência as amostras foram obtidas das folhas superiores.

A extração do RNA total de folhas de tomateiros foi realizada com Trizol® Reagent (Invitrogen), seguindo as recomendações do fabricante. Dois discos foliares foram acondicionados no interior de tubo de microcentrífuga de 1,5 mL, congelados com nitrogênio líquido e macerados com o auxílio de pistilos plásticos. Em seguida foi adicionado 1 mL de Trizol® Reagent, de forma que o peso da amostra correspondesse a menos de 10% do volume total da solução. Após agitação vigorosa e repouso de 5 minutos à temperatura ambiente foram acrescentados 200 µL de clorofórmio em cada tubo. Após agitação e repouso de aproximadamente 5 minutos a suspensão foi centrifugada a 12.000 g durante 15 minutos, a 4°C. Da fase aquosa (sobrenadante) foram retirados 400 µL e transferidos a um novo tubo. O mesmo volume de isopropanol foi adicionado aos tubos e após misturar mediante agitação, eles foram armazenados a -20 °C entre 2 e 24 horas. Após esse período centrifugou-se a 12.000 g por 10 minutos para precipitar o RNA total. O sobrenadante foi descartado e o precipitado que fica retido no fundo foi lavado adicionando 1 mL de etanol a 75% e centrifugando novamente a 7.500 g durante 5 minutos. O etanol foi descartado e os tubos foram secados numa secadora a vácuo ou numa capela de exaustão, tomando-se cuidado para evitar o

ressecamento excessivo. O precipitado foi dissolvido em 20 µL de água tratada com DEPC (para inibir RNases). Junto com as amostras, procurou-se sempre realizar a extração do RNA de uma planta sabidamente infectada com o ToCV (controle positivo), como também de uma planta não infectada (controle negativo).

2.2.5.2 RT-PCR

A amplificação do RNA viral foi realizada com o método de uma etapa só, do inglês “one-step”, em contraposição ao “nested” RT-PCR descrito por Dovas, Katis e Avgelis (2002). Para isso, 3 µL do RNA total foram adicionados a 22 µL de uma mistura de reagentes. Esses reagentes, com as respectivas concentrações finais, foram: tampão da enzima Taq DNA polimerase (1X); desoxinucleosídeos trifosfatados (dNTP's - 0,15 mM); MgCl₂ (1,6 mM); os oligonucleotídeos iniciadores específicos ToC-5 (5'-GGT TTG GAT TTT GGT ACT ACA TTC AGT-3') e ToC-6 (5'-AAA CTG CCT GCA TGA AAA GTC TC-3') (0,64 µM cada); 1 unidade da enzima AMV e 1,5 unidades da enzima Taq DNA polimerase. O volume final foi completado com água livre de RNases (tratada com DEPC).

Os primers Toc-5 e Toc-6 flanqueiam uma região do gene homólogo da heat shock protein (HSP-70) que é uma região altamente conservada nos crinivírus (DOVAS; KATIS; AVGELIS, 2002).

O regime do termociclador foi de 42°C por 30 min, 95°C por 1 min, seguido de 40 ciclos de 95°C por 20 s, 60°C por 15 s, 72°C por 10 s e um período final de 2 min a 72°C. A separação dos fragmentos amplificados foi feita através de eletroforese em gel de agarose a 1% contendo SYBR® Safe DNA gel Stain por cerca de 40 minutos. Os fragmentos de DNA de 463 pb (pares de bases) amplificados foram visualizados em transiluminador de luz UV e as imagens foram arquivadas.

A confirmação da infecção das plantas por RT-PCR foi sempre realizada a partir dos 30 dias após a inoculação (DAI), tanto das plantas fonte de inóculo como das plantas dos diferentes genótipos avaliados. A ausência de infecção nas plantas não inoculadas (sadias) foi confirmada da mesma maneira.

2.2.5.3 Sequenciamento de nucleotídeos

Para confirmar a identidade do ToCV, os produtos da RT-PCR de algumas amostras representativas foram purificados mediante o kit de purificação Wizard® SV Gel e PCR Clean-up System (Promega) ou PureLink™PCR Purification Kit (Invitrogen), segundo o protocolo de cada fabricante. Os amplicons purificados foram quantificados esperando uma concentração mínima de 50 ng de DNA/μL e mantidos em freezer a -20°C. Estes amplicons foram expedidos juntamente com os oligonucleotídeos iniciadores específicos para a MacroGen Korea, localizada em Seoul, Korea, onde foi realizado o sequenciamento direto de nucleotídeos. Os resultados dos sequenciamentos foram transmitidos de forma on-line através da página web da empresa (disponível em: <http://dna.macrogen.com/eng/>) e a qualidade das sequências foi analisada pelo Electropherogram Quality Analysis da Embrapa (Disponível em: <http://bioinformatica.cenargem.embrapa.br/phph/>). As sequências obtidas foram comparadas com outras sequências disponíveis no *Genbank* mediante o programa BLASTn (ALTSCHUL, 1997) disponível na página web da National Center for Biotechnology – NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

2.2.6 Avaliação da resistência dos tomateiros à infecção com o ToCV

O primeiro ensaio para avaliação da resistência de tomateiros à infecção com o ToCV foi conduzido com os primeiros 38 genótipos da Tabela 1, no período de 14 de janeiro a 26 de abril de 2013. O segundo ensaio foi conduzido com os últimos 27 genótipos da Tabela 1 correspondente aos números 31 a 57, incluindo do sexto ao décimo genótipo da mesma tabela, no período de 24 de janeiro a 24 de abril de 2014.

A semeadura foi realizada em bandejas de poliestireno expandido de 72 células contendo substrato de casca de pinus. Foram produzidas 12 mudas por genótipo. As bandejas foram regadas diariamente e protegidas por uma gaiola coberta com um tecido a prova de insetos (voil). As liberações massais de aleirodídeos virulíferos foram realizadas quando 50% das plantas tinham três ou quatro folhas verdadeiras, aos 38 e 25 dias após a semeadura (DAS) no primeiro e segundo ensaio, respectivamente. As liberações foram realizadas diariamente durante um período de 10 dias, na proporção final de 20 insetos por planta. Um dia

após a última liberação as plantas foram pulverizadas com inseticidas com ingredientes ativos espiromesifeno e piriproxifem. Em seguida elas foram transplantadas para vasos de alumínio contendo uma mistura de terra, areia e matéria orgânica esterilizada na relação 2:1:1, em número de duas plantas por vaso. A confirmação da infecção foi realizada por sintomatologia a partir de 30 dias após a primeira inoculação com liberação de aleirodídeos. Os resultados foram confirmados mediante a RT-PCR. A incidência dos genótipos infectados foi calculada segundo a fórmula:

$$I(\%) = \frac{PI \times 100}{N}$$

Onde I: incidência de plantas infectadas; PI: número de plantas infectadas; N: número total de plantas do genótipo.

De acordo com a porcentagem de plantas infectadas os genótipos foram classificados em altamente resistentes (0-10%), moderadamente resistentes (11-30%), suscetíveis (31-60%) e altamente suscetíveis (61-100%).

2.2.7 Avaliação da tolerância dos tomateiros ao amarelão

No primeiro ensaio para avaliação de tolerância de tomateiros ao amarelão causado pelo ToCV foram utilizados os primeiros seis genótipos da Tabela 1; no segundo ensaio foram avaliados a partir do genótipo número 7 até o número 23 da mesma tabela, incluindo o quinto genótipo da relação (HTV0601TH), também avaliado no primeiro ensaio de tolerância.

No primeiro ensaio a semeadura das plantas foi realizada no dia 14 de julho de 2012, a inoculação foi realizada 25 DAS, o transplante em campo foi realizado 30 DAS e as plantas foram conduzidas até os 130 DAS. No segundo ensaio a semeadura foi realizada no dia 26 de fevereiro de 2013, a inoculação foi realizada aos 24 DAS, o transplante em campo sete dias depois e as plantas foram conduzidas até os 112 DAS.

As mudas de tomateiro dos diferentes genótipos foram produzidas em casa de vegetação em vasos de alumínio contendo substrato de terra, areia e matéria orgânica na relação 2:1:1. Foram semeadas três sementes por vaso, mas foi mantida só uma planta por vaso.

Os aleirodídeos virulíferos foram confinados em mudas individuais de tomateiros dos diferentes genótipos, protegidas com copos plásticos de 700 ml e 15 cm de altura. A base do copo foi coberta com o próprio substrato do vaso. Esses copos foram confeccionados de forma a permitir a passagem de ar através de uma janela coberta com “voil”. Os insetos foram repassados aos copos, mediante o aspirador bucal modificado, através de um orifício que posteriormente foi fechado com algodão. Foram liberados 40 insetos por planta e o PAI foi de 24 h.

As plantas foram inoculadas com o ToCV no estágio de três a quatro folhas verdadeiras. A mesma quantidade de plantas sadias (não inoculadas com o ToCV) de cada genótipo foi utilizada como controle. Essas plantas também foram protegidas com copos plásticos, neste caso antes da exposição por 24 h à aleirodídeos livres de vírus. Depois de 24 horas, todas as plantas foram transplantadas em dois telados do campo, separadamente.

Os telados foram construídos com mourões e sarrafos de madeira numa área de 45 m² cada um. Para o isolamento foi utilizado voil visando impedir a entrada de aleirodídeos e outros artrópodes vetores de diferentes vírus. Cada um dos telados tinha 2 m de altura, 6 m de largura e 7,5 m de comprimento (Figura 1).



Figura 1 – Telados para plantios de tomateiros sadios e infectados com o ToCV para avaliação de tolerância ao amarelão no campo

O transplante foi realizado em covas de 15 x 15 x 15 cm, adubadas previamente com sulfato de amônia, borax e matéria orgânica. A distribuição das plantas foi ao acaso, o espaçamento foi de 0,5 x 1 m e foi conduzida uma planta por cova.

O controle de ervas daninhas foi realizado manualmente a partir do transplante das mudas no interior dos telados. A rega foi realizada diariamente de forma manual na base de cada planta utilizando um aspersor acoplado a uma mangueira. As plantas foram tutoradas com estacas de bambu e desbrotadas frequentemente.

Quarenta dias após o transplante no campo foram colhidas amostras de folhas de cada uma das plantas para análise da presença do vírus por RT-PCR.

O peso total de frutos colhidos de cada planta foi registrado durante e no final da execução dos ensaios. Ao fim do experimento foi realizada a remoção de cada uma das plantas para a avaliação do peso fresco e peso seco. Os galhos e folhas de cada planta foram separados e cortados em partes menores com ajuda de uma tesoura de podar para facilitar o seu acondicionamento em sacos de papel adequadamente identificados. O material vegetal foi pesado individualmente (peso fresco) e secado em estufa a 65°C durante uma semana ou até que as amostras não apresentassem perda de peso perceptível de um dia para outro. As amostras foram novamente pesadas para a obtenção do peso seco.

2.2.8 Análise dos dados

Todos os dados obtidos foram submetidos a análises exploratórias tais como: normalidade de dados, independência dos erros e homogeneidade de variância.

Para os ensaios de avaliação da resistência à infecção com o ToCV foi realizada uma análise estatística descritiva.

Para os ensaios de tolerância à doença em campo foi realizada uma análise estatística utilizando uma anova e posteriormente comparações múltiplas mediante o teste de Tuckey. Para essa análise foi adotado um delineamento inteiramente casualizado (DIC) onde foram comparadas as plantas sadias com as plantas infectadas pelo ToCV para cada genótipo, totalizando 23 análises individuais. O número de repetições para cada genótipo foi de cinco e quatro, para o primeiro e segundo ensaio, respectivamente. Essa diferença foi devido à perda de unidades experimentais (plantas) por causa de infecções com o tospovírus *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV) e o oomiceto *Phytophthora infestans*.

A análise estatística foi efetuada com as plataformas SAS e principalmente RStudio.

2.3 Resultados

2.3.1 Identidade do ToCV

Os resultados da comparação das sequências de nucleotídeos de três *amplicons* do RNA2 do ToCV com aquelas disponíveis no *Genebank* do NCBI, acessos AY903448 (EUA), DQ136143 (Espanha), EU284744 (Grécia), EU868927, JQ288896, JQ288897, JQ288898 (Brasil), indicaram 98 a 100% de identidade do isolado recuperado de algumas plantas de tomate testadas nos diferentes ensaios.

2.3.2 Resistência de tomateiros à infecção com o ToCV

2.3.2.1 Primeiro ensaio

Os resultados do primeiro ensaio de resistência à infecção estão na Tabela 3.

Tabela 3 – Reação de plantas de tomateiro à infecção com o ToCV com base na expressão de sintomas e RT-PCR

(continua)		
Genótipo	Plantas infetadas/inoculadas	Incidência da infecção (%)
IAC 14-2-49 + 14-2-85	0/11	0
Forty Ty	0/10	0
IAC 68F-22-2-24-1	0/7	0
<i>S. peruvianum</i> LA 444-1	0/4	0
<i>S. habrochaites</i> PI 127826	0/4	0
<i>S. habrochaites</i> PI 134417	0/4	0
<i>S. peruvianum</i> LA 462	1/4	25
Santa Clara	2/6	33
Dominador Ty	4/10	40
<i>S. habrochaites</i> PI 134418	2/5	40
IAC CN RT F5	2/5	40
<i>S. peruvianum</i> LA 371	3/7	43
Alambra	5/11	45
Katia	3/6	50
Tucson	6/11	55
Saturno	5/9	56
<i>S. pimpinellifolium</i> LA 1335	4/7	57

Tabela 3 – Reação de plantas de tomateiro à infecção com o ToCV com base na expressão de sintomas e RT-PCR

Genótipo	Plantas infectadas/inoculadas	(conclusão)
		Incidência da infecção (%)
Paron	6/10	60
Viradouro	8/11	73
Débora Max	8/11	73
Júpiter	6/8	75
<i>S. pimpinellifolium</i> LA 722	6/8	75
Plutão	9/11	82
<i>S. pimpinellifolium</i> PI 126931	5/6	83
São Sebastião	6/7	86
Netuno	6/7	86
Kada	7/8	88
STV-1 (CGT 92)	8/9	89
HTX-01	8/9	89
Botu 13L	9/10	90
Avalon	9/10	90
Caline IPA-6	8/8	100
UNAPAL Maravilla	8/8	100
Sahel	8/8	100
HTV8022	7/7	100
HTV0601TH	7/7	100
Mercúrio	6/6	100
HTX-11	6/6	100

Os genótipos que apresentaram alta resistência à infecção por não terem plantas infectadas com o ToCV foram espécies selvagens e linhagens avançadas do IAC. As espécies selvagens resistentes foram: *Solanum peruvianum* LA 444-1; *S. habrochaites* PI 127826; *S. habrochaites* PI 127826 e PI 134417. As linhagens avançadas resistentes derivadas da hibridização de *S. lycopersicum* x *S. peruvianum* foram: IAC 14-2-49+14-2-85 e IAC 68F 22-2-24-1. A linhagem avançada IAC CN RT F5 não apresentou o mesmo nível de resistência à infecção. *S. peruvianum* LA-462 foi moderadamente resistente à infecção. Para os demais genótipos a reação das plantas à infecção com o ToCV variou de suscetível à altamente suscetível. O cultivar Forty Ty foi uma exceção, comportando-se como altamente resistente, com 0% de plantas infectadas. Por outro lado, as três linhagens da espécie selvagem *S. pimpinellifolium* apresentaram-se suscetíveis à infecção.

2.3.2.2 Segundo ensaio

Os resultados do segundo ensaio de resistência à infecção estão na Tabela 4.

Tabela 4 – Reação de plantas de tomateiro à infecção com o ToCV com base na expressão de sintomas e RT-PCR

Genótipo	Plantas infetadas/inoculadas	Incidência da infecção (%)
<i>S. peruvianum</i> LA 444-1	0/12	0
<i>S. habrochaites</i> PI 134417	0/11	0
<i>S. peruvianum</i> LA 371	0/10	0
IAC 68 F-22-2-24-1	0/9	0
<i>S. habrochaites</i> PI 127826	0/4	0
IAC CN RT F5	1/9	11
HTX-11	5/8	63
<i>S. peruvianum</i> LA 462	2/3	67
UG 8169	8/11	73
Alambra	9/12	75
Caribe	9/12	75
Forty	9/12	75
Vento	8/10	80
Carina Ty	10/12	83
Serato	10/12	83
HMX 7885	10/11	91
Predador	11/12	92
Gault	12/12	100
Gladiador	12/12	100
Débora Pto	12/12	100
Santa Clara	11/11	100
Ellen	11/11	100
Pegasus	11/11	100
Centenario	10/10	100
Fusion	10/10	100
Tyna	10/10	100
<i>S. pimpinellifolium</i> PI 126931	9/9	100
AP 533	9/9	100
Katia	6/6	100
Débora Max	6/6	100
Pizzadoro	3/3	100
IAC 14-2-49 + IAC 14-2-85	2/2	100

Neste segundo ensaio de avaliação da resistência alguns genótipos foram reavaliados e parte deles exibiu o mesmo comportamento do ensaio anterior. As espécies selvagens *S. peruvianum* LA 444-1, *S. habrochaites* PI 127826 e PI 134417 e a linhagem avançada IAC 68F-22-2-24-1 mais uma vez comportaram-se como altamente resistentes à infecção. Por outro lado, a linhagem avançada IAC CN RT F5 e *S. peruvianum* LA371 que tiveram 40% e 43% de plantas infectadas no primeiro ensaio (Tabela 3) comportaram-se neste ensaio como resistentes e altamente resistentes, respectivamente. Todos os demais genótipos comportaram-se como altamente suscetíveis, incluindo a linhagem avançada IAC 14-2-49+14-2-85 e o cultivar Forty Ty com 75 e 100% de plantas infectadas, respectivamente, comportamento diferente do primeiro ensaio.

A confirmação da infecção de cada planta em ambos os ensaios foi feita por RT-PCR.

2.3.3 Tolerância ao amarelão no campo

2.3.3.1 Primeiro ensaio

No primeiro ensaio foram comparados o desenvolvimento e a produção de seis genótipos de tomateiros infectados e não infectados com o ToCV.

Os resultados de desenvolvimento das plantas infectadas e não infectadas com o ToCV com base no peso fresco, peso seco e produção de frutos estão apresentados nas tabelas 5, 6 e 7, respectivamente.

Neste ensaio, somente os cultivares Kada e Saturno apresentaram diferença significativa na produção de frutos produzidos por plantas sadias e infectadas. Porém as reduções na produção foram de 47,7 e 51,8%, respectivamente. O genótipo HTV0601TH foi o que apresentou, em valor absoluto, menor dano quando as plantas foram infectadas com o ToCV. O desenvolvimento das plantas infectadas de HTV0601TH, considerando-se a matéria fresca, foi 15% menor do que o das plantas sadias. A produção de frutos foi reduzida em 21%. Porém, esse genótipo foi altamente suscetível à infecção com o ToCV (Tabela 3).

Tabela 5 – Pesos médios (g) da matéria fresca de plantas de seis genótipos de tomateiros sadios e infectados com o ToCV e respectiva redução no desenvolvimento (dano)

Genótipos	Sadio		Infectado		Dano (%)
Kada	4490,3	a	2655,2	b	40,9
HTV0601TH	3909,6	a	3329,8	a	14,8
Saturno	3307,6	a	985,8	b	70,2
Santa Clara	3279,8	a	2201,0	a	32,9
HTX-01	3087,2	a	2045,6	a	33,7
Viradouro	396,6	a	352,2	a	11,2

Nota: 1 Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem pelo teste de Tuckey com probabilidade de 5%
 2 O coeficiente de variabilidade na comparação entre as médias dos genótipos sadios e infectados foi de 62,6%

Tabela 6 – Pesos médios (g) da matéria seca de plantas de seis genótipos de tomateiros sadios e infectados com o ToCV e respectiva redução no desenvolvimento (dano)

Genótipos	Sadio		Infectado		Dano (%)
Kada	520,0	a	337,0	b	35,2
HTV0601TH	384,8	a	331,8	a	13,8
Saturno	380,2	a	123,3	b	67,6
Santa Clara	347,0	a	252,0	a	27,4
HTX-01	297,2	a	229,6	a	22,7
Viradouro	45,4	a	43,6	a	4,0

Nota: 1 Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem pelo teste de Tuckey com probabilidade de 5%
 2 O coeficiente de variabilidade na comparação entre as médias dos genótipos sadios e infectados foi de 16,8%

Tabela 7 – Pesos médios (g) de frutos colhidos de plantas de seis genótipos de tomateiros sadios e infectados com o ToCV e respectiva redução na produção (dano)

Genótipos	Sadio		Infectado		Dano (%)
Kada	4415,0	a	2309,0	b	47,7
Saturno	4004,3	a	1931,3	b	51,8
HTX-01	3537,4	a	1921,8	a	45,7
Santa Clara	2975,4	a	1753,2	a	41,1
HTV0601TH	2938,8	a	2310,2	a	21,4
Viradouro	1567,2	a	1169,2	a	25,4

Nota: 1 Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem pelo teste de Tuckey com probabilidade de 5%
 2 O coeficiente de variabilidade na comparação entre as médias dos genótipos sadios e infectados foi de 41,7%

2.3.3.2 Segundo ensaio

Os resultados de desenvolvimento das plantas sadias e infectadas com o ToCV, com base no peso fresco, peso seco e produção de frutos estão apresentados nas tabelas 8, 9 e 10, respectivamente.

Tabela 8 – Pesos médios (g) da matéria fresca de plantas de 17 genótipos de tomateiros sadios e infectados com o ToCV e respectiva redução no desenvolvimento (dano)

Genótipos	Sadio		Infectado		Dano (%)
HTX-11	1549,1	a	942,6	b	39,2
Forty Ty	1401,8	a	967,5	a	31,0
Débora Max	1262,4	a	354,8	b	71,9
Júpiter	1207,8	a	688,5	b	43,0
HTV0601TH	1207,1	a	628,5	b	47,9
Plutão	1166,8	a	718,4	b	38,4
Avalon	965,5	a	747,6	a	22,6
Sahel	917,1	a	480,8	b	47,6
<i>S. peruvianum</i> LA 462	794,2	a	560,8	a	29,4
São Sebastião	791,0	a	410,5	a	48,1
HTV8022	787,9	a	489,1	a	37,9
UNAPAL Maravilla	733,5	a	750,9	a	-2,4
STV-1 (CGT 92)	587,0	a	299,8	a	48,9
Caline IPA-6	567,2	a	330,5	a	41,7
Mercúrio	371,5	a	495,9	a	-33,5
Katia	330,5	a	452,6	a	-36,9
Botu 13L	317,2	a	307,9	a	2,9

Nota: 1 Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem pelo teste de Tuckey com probabilidade de 5%
 2 O coeficiente de variabilidade na comparação entre as médias dos genótipos sadios e infectados foi de 8,9%

Tabela 9 – Pesos médios (g) da matéria seca de plantas de 17 genótipos de tomateiros sadios (azul) e infectados com o ToCV e respectiva redução no desenvolvimento (dano)

Genótipos	Sadio		Infectado		Dano (%)
HTX-11	208,8	a	123,7	a	40,8
Forty Ty	197,4	a	135,3	b	31,5
Júpiter	178,9	a	94,2	b	47,3
HTV0601TH	173,2	a	100,2	b	42,1
Débora Max	170,5	a	69,8	b	59,1
Plutão	168,6	a	108,2	a	35,8
Avalon	144,8	a	116,5	b	19,6
Sahel	140,7	a	85,3	a	39,3
S. peruvianum LA 462	124,7	a	102,3	a	18,0
UNAPAL Maravilla	119,6	a	123,0	b	-2,8
São Sebastião	118,9	a	77,5	a	34,9
HTV8022	114,0	a	86,8	a	23,8
STV-1 (CGT 92)	95,4	a	65,9	a	30,9
Caline IPA-6	92,4	a	69,2	a	25,2
Mercúrio	82,0	a	88,4	a	-7,8
Katia	70,8	a	80,7	a	-13,9
Botu 13L	68,4	a	67,5	a	1,4

Nota: 1 Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem pelo teste de Tuckey com probabilidade de 5%
 2 O coeficiente de variabilidade na comparação entre as médias dos genótipos sadios e infectados foi de 8%

Tabela 10 – Pesos médios (g) de frutos colhidos de plantas de 17 genótipos de tomateiros sadios e infectados com o ToCV e respectiva redução na produção (dano)

Genótipos	Sadio		Infectado		Dano (%)
S. peruvianum LA 462	2530,5	a	1437,3	b	43,2
Sahel	2485,0	a	1701,5	b	31,5
Forty Ty	1930,3	a	1932,0	a	-0,1
Avalon	1830,8	a	1360,0	a	25,7
UNAPAL Maravilla	1821,8	a	1753,3	a	3,8
Júpiter	1668,3	a	1418,8	a	15,0
Mercúrio	1576,0	a	1203,0	a	23,7
HTV0601TH	1574,3	a	1246,0	a	20,9
Débora Max	1492,3	a	763,5	b	48,8
Plutão	1305,0	a	1301,8	a	0,2
São Sebastião	1270,3	a	1038,3	a	18,3
Botu 13L	1231,3	a	1214,5	a	1,4
Katia	1149,0	a	1119,3	a	2,6
HTV8022	1121,8	a	1215,8	a	-8,4
HTX-11	1117,5	a	746,8	a	33,2
STV-1 (CGT 92)	877,3	a	836,3	a	4,7
Caline IPA-6	823,0	a	922,0	a	-12,0

Nota: 1 Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem pelo teste de Tuckey com probabilidade de 5%
 2 O coeficiente de variabilidade na comparação entre as médias dos genótipos sadios e infectados foi de 39,4%

Neste ensaio, poucos foram os genótipos que apresentaram diferença estatística significativa em relação à produção de plantas sadias e infectadas. No entanto, considerando-se apenas os valores absolutos, os genótipos que se destacaram com menor dano na produção quando infectados com o ToCV foram: Forty Ty; Plutão; Botu 13L; Katia e UNAPAL Maravilla. Para os genótipos HTV8022 e Caline IPA-6, apesar da baixa produtividade apresentada em relação aos demais genótipos, as plantas infectadas produziram mais do que as sadias. Não houve correlação direta entre a produção e o peso da matéria fresca.

2.4 Discussão

Um dos primeiros trabalhos, senão o único, de identificação de fontes de resistência genética ao ToCV, bem como de caracterização da resistência foi o de García-Cano et al. (2010). Esses autores avaliaram a resistência de 247 genótipos de tomateiro, entre cultivares e espécies selvagens, à infecção natural com o ToCV no campo, na Espanha. Somente quatro acessos foram selecionados como resistentes com base na expressão de sintomas: *S. chmielewskii* LA1028; *S. chilense* LA2750; *S. corneliomulleri* PI 126440 e a linhagem avançada IAC CN RT derivada da hibridização de *S. lycopersicum* x *S. peruvianum*. Plantas desses acessos foram posteriormente avaliadas em condições de casa de vegetação, através da inoculação com *B. tabaci*. Somente os acessos *S. chmielewskii* LA1028 e a linhagem avançada IAC CN RT exibiram alto nível de resistência ao ToCV. Plantas da linhagem 802-11-1, obtidas após dois ciclos de autopolinização de plantas da linhagem avançada IAC CN RT, não exibiram sintomas 131 dias após a inoculação e o ToCV foi detectado em apenas uma planta aos 90 dias após a inoculação.

A avaliação da resistência com base somente na expressão de sintomas não é segura, pois as reações das plantas podem variar de um ano para outro, segundo as condições ambientais, e é sabido que muitas vezes as espécies selvagens apresentam sintomas mais fracos que as plantas cultivadas (ZAKAY et al., 1991). É por isso que no presente trabalho, além dos sintomas foi utilizada a RT-PCR para confirmar a presença/ausência do vírus nas plantas inoculadas.

Nos dois ensaios de avaliação da reação dos diferentes genótipos à infecção com o isolado brasileiro do ToCV, por meio da liberação massal de *B. tabaci* virulífera, constatou-se que em condições de livre chance de escolha dos insetos as espécies selvagens *Solanum peruvianum* LA 444-1, *S. peruvianum* LA 371 (somente no segundo ensaio) e *S. habrochaites* PI 127826 e PI 134417 e as linhagens avançadas IAC 14-2-49+14-2-85 (somente no primeiro ensaio) e IAC 68F-22-2-24-1 não tiveram plantas infectadas, sugerindo alto grau de resistência à infecção pelo crinivírus. Apesar da alta pressão de inóculo, como os insetos tiveram livre chance de escolha entre os diferentes genótipos, não se pode descartar a possibilidade de que, em alguns casos, a ausência de infecção possa estar associada à não preferência de *B. tabaci* MEAM1 pelas plantas desses genótipos. Por exemplo, já foi

relatado que as linhagens PI 134417 e PI 127826 possuem resistência a *B. tabaci* MEAM1, enquanto LA 371 apresenta resistência moderada (BALDIN; VENDRAMIM; LOURENÇÃO, 2005). É necessário avaliar a resistência desses genótipos à infecção com o ToCV com o confinamento de insetos virulíferos nas plantas ou por meio de enxertia em tomateiro infectado com o crinivírus.

A linhagem avançada IAC 14-2-49+14-2-85 e o acesso *S. peruvianum* LA 371 exibiram reações diferentes, tendo plantas infectadas em um ensaio e nenhuma planta infectada no outro ensaio. Os acessos *S. habrochaites* PI 127826 e PI 134417 em teste de seleção para resistência ao ToCV na Espanha, por meio da exposição das plantas à infecção natural, não exibiram a mesma resposta encontrada no presente trabalho. Lá as plantas foram infectadas e exibiram sintomas de amarelecimento e enrolamento foliar. Plantas de *S. habrochaites* PI 134417 também exibiram necrose foliar (GARCÍA-CANO et al., 2010).

A linhagem avançada IAC-CN RT F5 (*S. lycopersicum* x *S. peruvianum* LA 444-1), que apresentou resposta variável à infecção com o ToCV, pode ter a mesma origem daquela estudado por García-Cano et al. (2010) na Espanha onde comportou-se como altamente resistente, mas não imune ao crinivírus. Naquele trabalho os autores constataram que as plantas da linhagem avançada IAC CN RT não exibiram sintomas e o vírus foi detectado tardiamente em apenas uma planta inoculada por meio do vetor. No entanto, ensaios de enxertia de plantas sadias da linhagem avançada em plantas de *S. lycopersicum* cv. Moneymaker infectadas com o ToCV indicaram que a resistência ocorre no movimento sistêmico do vírus. Tentativas de cruzamentos da linhagem 802-11-1, originária de dois ciclos de autopolinização de plantas da linhagem avançada IAC CN RT, com *S. lycopersicum* cv. Moneymaker, para estudos da herança da resistência, falharam devido às barreiras encontradas no cruzamento. No presente trabalho, somente três de 14 plantas inoculadas dessa linhagem avançada foram infectadas. Por sua vez, o acesso *S. peruvianum* LA 444-1, um dos parentais dessa linhagem avançada, comportou-se como altamente resistente à infecção com o ToCV em teste com livre chance de escolha do vetor. Há necessidade de confirmar a resistência dessa linhagem em teste sem chance de escolha do vetor. Essa linhagem avançada também apresenta resistência à traça do tomateiro (*Tuta absoluta*) (Lourenção, A. L., comunicação pessoal) e a begomovírus (Melo, P.C.T., comunicação pessoal).

A linhagem LA 444-1 de *S. peruvianum* já foi bastante explorada em outros estudos de seleção de genótipos para resistência à pragas e doenças do tomateiro no Brasil. Lourenção, Nagai e Zullo (1984) relataram que os acessos NAV 29 e NAV 115, na verdade LA 444-1 e LA 371 respectivamente (Lourenção, A. L., comunicação pessoal), apresentaram-se como altamente promissoras fontes de resistência à traça do tomateiro, fato que foi confirmado por Segeren et al. (1993a). Posteriormente, através da técnica da cultura *in vitro* de embriões imaturos para superar a incompatibilidade em hibridizações, foi possível obter linhagens híbridas entre *S. lycopersicum* e *S. peruvianum* (SEGEREN et al., 1993a, 1993b) para explorar características de resistência a pragas e doenças. A linhagem LA 444-1 de *S. peruvianum* também se revelou resistente ao tospovírus *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) em testes de exposição em campo durante sete anos consecutivos (LOURENÇÃO et al., 1997, 1999; SEGEREN et al., 1993b). Acrescenta-se ainda que a linhagem LA 444-1 apresentou alto nível de resistência ao begomovírus *Tomato yellow vein streak virus* (TYVSV) (MATOS et al., 2003) e ao potyvírus *Potato virus Y*, estirpe PVY^o (LOURENÇÃO et al., 2005).

Para os demais genótipos avaliados no presente trabalho a reação das plantas à infecção com o ToCV variou de moderadamente resistente à altamente suscetível, de acordo com o critério de classificação estabelecido neste trabalho. No primeiro ensaio, os cultivares Forty Ty e Dominador Ty, que possuem gene de resistência a begomovírus como o *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), que não ocorre no Brasil, comportaram-se como altamente resistente e suscetível à infecção, com 0% e 40% de plantas infectadas, respectivamente. No segundo ensaio, com sementes de outra origem, o cultivar Forty Ty comportou-se como altamente suscetível. Mais uma vez é necessário mencionar que esses resultados devem ser tomados com precaução, considerando que apesar da alta pressão de infestação, o vetor teve livre chance de escolha durante o processo de inoculação. No ensaio para avaliação da tolerância ao amarelão causado pelo ToCV constatou-se que todas as plantas do cultivar Forty Ty, quando inoculadas sem chance de escolha do vetor, foram infectadas. Novas avaliações de plantas de esse cultivar, de acordo com a origem das sementes, são necessárias para esclarecer esse resultado contraditório.

Também foram moderadamente resistentes à infecção *S. habrochaites* PI 134418, *S. peruvianum* LA 462 e *S. peruvianum* LA 371. O acesso LA 462 de *S. peruvianum* apresenta resistência ao TYLCV (o DNA do vírus não é detectável e não

aparecem sintomas) e provavelmente também tolerância (as plantas são assintomáticas, mas o vírus é detectável) (VIDAVSKY; CZOSNEK, 1998). Os três acessos de *S. pimpinellifolium* avaliados no presente trabalho apresentaram-se suscetíveis à infecção.

Esses resultados aparentemente contraditórios já foram relatados por García-Cano et al. (2010). Naquele trabalho foram encontrados alguns genótipos resistentes à infecção natural em campo que se revelaram suscetíveis sob condições de casa de vegetação. A razão disso seria a diferença de pressão de inóculo em ambos os ensaios, sendo que em casa de vegetação os aleirodídeos virulíferos foram confinados nas plantas. No presente trabalho, a metodologia foi inversa. O confinamento dos insetos para o PAI foi realizado para os ensaios de avaliação da tolerância e a inoculação com livre chance de escolha foi realizada nos ensaios de avaliação da resistência à infecção.

O tipo da resistência encontrada nos melhores genótipos não foi determinado no presente trabalho. Sabe-se, no entanto que a resistência da linha avançada IAC CN RT (*S. lycopersicum* x *S. peruvianum* LA 444-1) ao ToCV, caracterizada por García-Cano et al. (2010), está associada à movimentação sistêmica do vírus. Considerando-se a baixa diversidade genética dos isolados brasileiros do ToCV e o alto grau de identidade com isolados de outros países (ALBUQUERQUE et al., 2013; BARBOSA; REZENDE; BERGAMIN FILHO, 2013) acredita-se que essa linha avançada poderá ser de grande valor para programas de melhoramento genético do tomateiro no Brasil, pois o parental *S. peruvianum* LA 444-1, além da resistência ao ToCV, também mostrou-se resistente à traça do tomateiro; ao TSWV (SEGEREN et al., 1993b), ao TYVSV (MATOS et al., 2003) e ao PVY^o (LOURENÇÃO et al., 2005).

Os ensaios para avaliar a tolerância de diferentes genótipos de tomateiro ao amarelão causado pelo ToCV, com base no desenvolvimento e na produção das plantas mostraram resultados bastante variáveis. No primeiro ensaio, constatou-se que o efeito do ToCV no desenvolvimento das plantas, com base no peso da matéria fresca variou de 11 – 70% (Tabela 5). Considerando-se a produção, a redução do peso dos frutos colhidos das plantas infectadas variou de 21 a 52 %, quando comparados com os das plantas sadias, indicando o grande potencial de dano que esse crinivírus pode acarretar ao tomateiro quando infectado ainda jovem. O cultivar HTV0601TH, apesar de não ter sido dos mais produtivos, foi o que apresentou menor redução (21%) na produção das plantas infectadas, quando comparada com a das

plantas sadias. A melhor produção pode estar associada com o menor efeito do ToCV no desenvolvimento das plantas (redução de 15% da matéria fresca). Curiosamente, Araújo (2013) encontrou que este híbrido foi o mais produtivo em uma avaliação envolvendo outros 13 cultivares de tomate de mesa, tanto comerciais quanto experimentais. O cultivar Kada, usado como padrão nesse ensaio, teve redução de 41% na matéria fresca e de 48% na produção de frutos.

No segundo ensaio de tolerância ao amarelão causado pelo ToCV, onde um maior número de genótipos foi avaliado, constatou-se mais uma vez que na maioria dos casos não houve diferença estatística significativa entre o desenvolvimento (matéria fresca) e a produção das plantas infectadas vs sadias. Embora para dois genótipos (HTV8022 e Caline IPA-6) a produção de frutos tenha sido superior nas plantas infectadas, quando comparada com as das respectivas plantas sadias, para os demais a redução na produção provocada pela infecção precoce com o ToCV variou de 0% (Forty Ty) a 49% (Debora Max), sendo esse último usado como controle neste ensaio. Debora Max também teve a maior redução na matéria fresca (72%) provocada pelo ToCV.

A aparição dos sintomas que acontece aproximadamente a partir dos 30 dias após a inoculação, aparentemente coincide com o início da redução no crescimento da planta causada pela infecção. García-Cano *et al.* (2006) não encontrou diferenças significativas no peso da matéria fresca entre as plantas infectadas e não infectadas. O momento da inoculação foi aproximadamente o mesmo do presente trabalho; porém, a avaliação realizada por aqueles autores foi aos 30 dias após a inoculação do vírus, enquanto no presente trabalho, onde sim foram encontradas diferenças significativas em alguns genótipos, a avaliação foi realizada no final da condução dos experimentos.

É importante salientar a importância da idade em que as plantas foram inoculadas, tanto para os ensaios de avaliação de resistência, quanto de tolerância. Em ambos os casos, com exceção do primeiro ensaio de avaliação da resistência, as inoculações foram realizadas aproximadamente aos 25 DAS. As primeiras infecções no campo normalmente acontecem mais tarde (CALAÇA, 2011) e é um fato conhecido que as plantas são menos tolerantes ou resistentes a patógenos biotróficos quando jovens, quando comparadas com as plantas adultas ou mais velhas (VELASCO *et al.*, 2008). No entanto, Lapidot *et al.*, (1997) constataram a manifestação da resistência ao TYLCV em plantas de tomate submetidas às

inoculações no estágio de uma folha verdadeira. Outra questão a se ter em conta é a incidência de 100% do amarelão nos ensaios de avaliação da tolerância neste trabalho. Em condições naturais de produção a incidência pode não ser tão alta e, portanto, existe a possibilidade de os genótipos que exibiram alguma tolerância ao amarelão no presente trabalho apresentem um comportamento mais aceitável na prática.

O controle de várias doenças de vírus do tomateiro em diversos países, inclusive no Brasil, tem sido alcançado de forma relativamente adequada através de cultivares resistentes e/ou tolerantes. É o caso, por exemplo, da doença do vira-cabeça (tospovírus) onde há décadas já se conhecem fontes de resistência como as linhagens obtidas no IAC (LOURENÇÃO et al., 1997, 1999; ZIJL; BOSCH; COETZEE, 1986) derivadas de cruzamentos entre o cultivar Stevens que foi desenvolvido na África do Sul a partir de *S. peruvianum* e *S. lycopersicum* (Stevens, citado por STEVENS; SCOTT; GERGERICH, 1992). Outro caso é o desenvolvimento de híbridos resistentes à begomovírus que também são transmitidos por *B. tabaci* (MATOS et al., 2003) e ao PVY^o (LOURENÇÃO et al., 2005). No caso do amarelão causado pelo ToCV, acredita-se que essa mesma linha de abordagem do problema terá que ser adotada. Os resultados desse trabalho, juntamente com os obtidos por García-Cano et al. (2010) apontam fontes de resistência a esse vírus que podem ser utilizadas em programas de melhoramento genético.

REFERÊNCIAS

- ABOU-JAWDAH, Y.; EL MOHTAR, C.; ATAMIAN, H.; SOBH, H. First report of *Tomato chlorosis virus* in Lebanon. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 90, n. 3, p. 378–378, 2006.
- ACCOTTO, G.P.; VAIRA, A.M.; VECCHIATI, M.; FINETTI SIALER, M.M.; GALLITELLI, D.; DAVINO, M. First report of *Tomato chlorosis virus* in Italy. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 85, n. 11, p. 1208, 2001.
- ALBUQUERQUE, L.C.; VILLANUEVA, F.; RESENDE, R.O.; NAVAS-CASTILLO, J.; BARBOSA, C.; INOUE-NAGATA, A.K. Molecular characterization reveals Brazilian *Tomato chlorosis virus* to be closely related to a Greek isolate. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, n. 4, p. 332–336, 2013.
- ALTSCHUL, S. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, Oxford, UK, v. 25, n. 17, p. 3389–3402, 1997.
- ALVAREZ-RUIZ, P.; JIMENEZ, C.G.; LEYVA-LÓPEZ, N.E.; MÉNDEZ-LOZANO, J. First report of *Tomato chlorosis virus* infecting tomato crops in Sinaloa, Mexico. **Plant Pathology**, Hoboken, v. 56, n. 6, p. 1043, 2007.
- ANUÁRIO INFORMAÇÕES ESTATÍSTICAS DA AGRICULTURA. **Anuário IEA 2013**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 120, 2014.
- ARAÚJO, J. C. de. **Bioprospecção de genótipos de tomate de mesa (*Solanum lycopersicum* L.) com potencial de adaptação ao sistema de cultivo orgânico**. 2013. 112 p. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.
- BALDIN, E.L.L.; VENDRAMIM, J.D.; LOURENÇÃO, A.L. Resistência de genótipos de tomateiro à mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 435–441, 2005.
- BARBOSA, J.C.; COSTA, H.; GIORIA, R.; REZENDE, J.A.M. Occurrence of *Tomato chlorosis virus* in tomato crops in five Brazilian states. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 36, n. 4, p. 256–258, 2011.
- BARBOSA, J.C.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. Low genetic diversity suggests a single introduction and recent spread of *Tomato chlorosis virus* in Brazil. **Journal of Phytopathology**, Hoboken, v. 161, n. 11-12, p. 884–886, 2013.
- BARBOSA, J.C.; TEIXEIRA, A.P.M.; MOREIRA, A.G.; CAMARGO, L.E.A.; BERGAMIN FILHO, A.; KITAJIMA, E.W.; REZENDE, J.A.M. First report of *Tomato chlorosis virus* infecting tomato crops in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 92, n. 12, p. 1709, 2008.
- BARBOSA, J.C.; TEIXEIRA, L.D.D.; REZENDE, J.A.M. First report on the susceptibility of sweet pepper crops to *Tomato chlorosis virus* in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 94, n. 3, p. 374, 2010.

BARBOSA, L.D.F.; YUKI, V.A.; MARUBAYASHI, J.M.; DE MARCHI, B.R.; PERINI, F.L.; PAVAN, M.A.; BARROS, D.R. de; GHANIM, M.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J.; KRAUSE-SAKATE, R. First report of *Bemisia tabaci* Mediterranean (Q biotype) species in Brazil. **Pest Management Science**, Hoboken. doi: 10.1002/ps.3909, 2014.

BARINAGA, M. Is devastating whitefly invader really a new species? **Science**, Washington, DC, v. 259, n. 5091, p. 30–30, 1993.

BARRO, P.J. de; LIU, S.S.; BOYKIN, L.M.; DINSDALE, A.B. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 56, p. 1–19, 2011.

BERGOUGNOUX, V. The history of tomato: from domestication to biopharming. **Biotechnology Advances**, Oxford, UK, v. 32, n. 1, p. 170–189, 2014.

BETHKE, J.A.; BYRNE, F.J.; HODGES, G.S.; MCKENZIE, C.L.; SHATTERS JÚNIOR, R.G. First record of the Q biotype of the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, in Guatemala. **Phytoparasitica**, Dordrecht, v. 37, n. 1, p. 61–64, 2009.

BOYKIN, L.M.; SHATTERS JUNIOR, R.G.; ROSELL, R.C.; MCKENZIE, C.L.; BAGNALL, R.A.; DE BARRO, P.; FROHLICH, D.R. Global relationships of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) revealed using Bayesian analysis of mitochondrial COI DNA sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, San Diego, v. 44, n. 3, p. 1306–1319, 2007.

BRUNT, A.A.; CRABTREE, K.; DALLWITZ, M.J.; GIBBS, A.J.; WATSON, L.; ZURCHER, E.J. (Ed.). **Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database**. Disponível em: <<http://pvo.bio-mirror.cn/famindex.htm>>. Acesso em: 24 maio 2014.

CALAÇA, H.A. **Dinâmica temporal e espacial da virose causada por *Tomato chlorosis virus* (ToCV) em tomateiro**. 2011. 101 p. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

CAÑIZARES, M.C.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E. Multiple suppressors of RNA silencing encoded by both genomic RNAs of the crinivirus, *Tomato chlorosis virus*. **Virology**, San Diego, v. 379, n. 1, p. 168–174, 2008.

CASTRO, R.M.; HERNANDEZ, E.; MORA, F.; RAMIREZ, P.; HAMMOND, R.W. First report of *Tomato chlorosis virus* in tomato in Costa Rica. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 93, n. 9, p. 970, 2009.

ÇEVİK, B.; ERKİS, G. First report of *Tomato chlorosis virus* in Turkey. **Plant Pathology**, Hoboken, v. 57, n. 4, p. 767, 2008.

COOPER, J.I.; JONES, A.T. Responses of plants to viruses: proposals for the use of terms. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 73, n. 2, p. 127–128, 1983.

DALMON, A.; BOUYER, S.; CAILLY, M.; GIRARD, M.; LECOQ, H.; DESBIEZ, C.; JACQUEMOND, M. First report of *Tomato chlorosis virus* and *Tomato infectious chlorosis virus* in tomato crops in France. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 89, n. 11, p. 1243, 2005.

DALMON, A.; FABRE, F.; GUILBAUD, L.; LECOQ, H.; JACQUEMOND, M. Comparative whitefly transmission of *Tomato chlorosis virus* and *Tomato infectious chlorosis virus* from single or mixed infections. **Plant Pathology**, Hoboken, v. 58, n. 2, p. 221–227, 2009.

DELATTE, H.; NAZE, F.; COTTINEAU, J.S.; LEFEUVRE, P.; HOSTACHY, B.; REYNAUD, B.; LETT, J.M. Occurrence of *Tomato chlorosis virus* on tomato in Reunion Island. **Plant Pathology**, Hoboken, v. 55, n. 2, p. 289, 2006.

DINSDALE, A.; COOK, L.; RIGINOS, C.; BUCKLEY, Y.M.; DE BARRO, P. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase 1 to identify species level genetic boundaries. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 103, n. 2, p. 196–208, 2010.

DOVAS, C.I.; KATIS, N.I.; AVGELIS, A.D. Multiplex detection of criniviruses associated with epidemics of a yellowing disease of tomato in Greece. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 86, n. 12, p. 1345–1349, 2002.

DUFFUS, J.E.; LIU, H.; WISLER, G.C. *Tomato infectious chlorosis virus* - a new clostero-like virus transmitted by *Trialeurodes vaporariorum*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 102, p. 219–226, 1996.

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION. Data sheets on quarantine pests - *Tomato chlorosis crinivirus*. **Bulletin OEPP/EPPO**, Paris, n. 35, p. 439–441, 2005.

FIALLO-OLIVÉ, E.; ESPINO, A.I.; BOTELLA-GUILLÉN, M.; GÓMEZ-GONZÁLEZ, E.; REYES-CARLOS, J.A.; NAVAS-CASTILLO, J. Tobacco: A New Natural Host of *Tomato chlorosis virus* in Spain. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 98, n. 8, p. 1162–1162, 2014.

FIALLO-OLIVÉ, E.; HAMED, A.A.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J. First report of *Tomato chlorosis virus* infecting tomato in Sudan. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 95, n. 12, p. 1592, 2011.

FONSECA, M.E.N.; BOITEUX, L.S.; ABREU, H.; NOGUEIRA, I.; PEREIRA-CARVALHO, R.C. *Physalis angulata*: A new natural host of *Tomato chlorosis virus* in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 97, n. 5, p. 692–692, 2013.

FONT, M.I.; JUÁREZ, M.; MARTÍNEZ, O.; JORDÁ, C. Current status and newly discovered natural hosts of *Tomato infectious chlorosis virus* and *Tomato chlorosis virus* in Spain. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, n. 1, p. 82, 2004.

FONT, M.; VAIRA, A.; ACCOTTO, G. Amarilleos en los cultivos de tomate asociados a *Tomato chlorosis virus* (ToCV) y *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV) en España. **Boletín de Sanidad Vegetal**, Madrid, v. 29, p. 109–121, 2003.

FAO. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/>>. Acesso em: 16 dez. 2014.

FORTES, I.M.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J. *Tomato chlorosis virus* in pepper: prevalence in commercial crops in southeastern Spain and symptomatology under experimental conditions. **Plant Pathology**, Hoboken, v. 61, n. 5, p. 994–1001, 2012.

FORTES, I.M.; NAVAS-CASTILLO, J. Potato, an experimental and natural host of the crinivirus *Tomato chlorosis virus*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 134, n. 1, p. 81–86, 2012.

FREITAS, D.M.S. **Tomato severe rugose virus (ToSRV) e Tomato chlorosis virus (ToCV):** relações com a *Bemisia tabaci* biótipo B e eficiência de um inseticida no controle da transmissão do ToSRV. 2012. 74 p. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

FREITAS, D.M.S.; NARDIN, I.; SHIMOYAMA, N.; SOUZA-DIAS, J.A.C.; REZENDE, J.A.M. First report of *Tomato chlorosis virus* in potato in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 96, n. 4, p. 593, 2012.

FROHLICH, D.R.; TORRES-JEREZ, I.; BEDFORD, I.D.; MARKHAM, P.G.; BROWN, J.K. A phylogeographical analysis of the *Bemisia tabaci* species complex based on mitochondrial DNA markers. **Molecular Ecology**, Hoboken, v. 8, n. 10, p. 1683–1691, 1999.

GARCÍA-CANO, E.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; FERNÁNDEZ-MUÑOZ, R. Resistance to *Tomato chlorosis virus* in wild tomato species that impair virus accumulation and disease symptom expression. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 100, n. 6, p. 582–592, 2010.

GARCÍA-CANO, E.; RESENDE, R.O.; FERNÁNDEZ-MUÑOZ, R.; MORIONES, E. Synergistic interaction between *Tomato chlorosis virus* and *Tomato spotted wilt virus* results in breakdown of resistance in tomato. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, n. 11, p. 1263–1269, 2006.

GRILLE, G.; GAUTHIER, N.; BUENAHORA, J.; BASSO, C.; BONATO, O. First report of the Q biotype of *Bemisia tabaci* in Argentina and Uruguay. **Phytoparasitica**, Dordrecht, v. 39, n. 3, p. 235–238, 2011.

GUEVARA-COTO, J.A.; BARBOZA-VARGAS, N.; HERNANDEZ-JIMENEZ, E.; HAMMOND, R.W.; RAMIREZ-FONSECA, P. *Bemisia tabaci* Biotype Q is present in Costa Rica. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 131, n. 2, p. 167–170, 2011.

HANAFI, A. First report of *Tomato chlorosis crinivirus* in Morocco. **EPPO Global Database**, Paris, v. 80, n. 5, p. 4, 2002.

HANSEN, I.M.; LAPIDOT, M.; THOMMA, B.P.H.J. Emerging viral diseases of tomato crops. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Saint Paul, v. 23, n. 5, p. 539–548, 2010.

- HIROTA, T.; NATSUAKI, T.; MURAI, T.; NISHIGAWA, H.; NIIBORI, K.; GOTO, K.; HARTONO, S.; SUASTIKA, G.; OKUDA, S. Yellowing disease of tomato caused by *Tomato chlorosis virus* newly recognized in Japan. **Journal of General Plant Pathology**, Tóquio, v. 76, n. 2, p. 168–171, 2010.
- HULL, R. **Plant Virology**. 15th ed. Boston: Academic Press, 2014.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Levantamento sistemático da produção agrícola: pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. **IBGE**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 4, p. 1–85, 2014.
- JONES, D.R. Pest risk analysis. **EPPO Bulletin**, Paris, v. 31, n. 4, p. 479–480, 2001.
- KARASEV, A. Genetic diversity and evolution of closteroviruses. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 38, p. 293–324, 2000.
- KATAYA, A.R.A.; STAVRIDOU, E.; FARHAN, K.; LIVIERATOS, I.C. Nucleotide sequence analysis and detection of a Greek isolate of *Tomato chlorosis virus*. **Plant Pathology**, Hoboken, v. 57, n. 5, p. 819–824, 2008.
- KIMURA, S.; SINHA, N. Tomato (*Solanum lycopersicum*): A model fruit-bearing crop. **Cold Spring Harbor Protocols**, New York, v. 3, n. 11, p. 1–9, 2008.
- LAPIDOT, M.; FRIEDMANN, M.; LACHMAN, O.; YEHEZKEL, A.; NAHON, S.; COHEN, S.; PILOWSKY, M. Comparison of resistance level to *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* among commercial cultivars and breeding lines. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 81, n. 12, p. 1425–1428, 1997.
- LETT, J.M.; HOAREAU, M.; REYNAUD, B.; SAISON, A.; HOSTACHY, B.; LOBIN, K.; BENIMADHU, S.P. First report of *Tomato chlorosis virus* in tomato on Mauritius Island. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 93, n. 1, p. 111, 2009.
- LOURENÇÃO, A.L.; ALVES, A.C.; FUGI, C.G.Q.; MATOS, E.S. Outbreaks of *Trialeurodes vaporariorum* (West.) (Hemiptera: Aleyrodidae) under field conditions in the State of São Paulo, Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 37, n. 1, p. 89–91, 2008.
- LOURENÇÃO, A.L.; NAGAI, H. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no estado de São Paulo. **Bragantia**, Campinas, v. 53, n. 1, p. 53–59, 1994.
- LOURENÇÃO, A.L.; NAGAI, H.; SIQUEIRA, W.J.; MELO, A.M.T. de; USBERTI FILHO, J.A.; FONTE, L.C. Da; MELO, P.C.T. De. Resistência de linhagens avançadas de tomateiro a tospovírus. **Bragantia**, Campinas, v. 58, n. 2, p. 293–303, 1999.
- LOURENÇÃO, A.L.; NAGAI, H.; SIQUEIRA, W.J.; USBERTI-FILHO, J.A.; MELO, A.M.T. de. Seleção de tomateiros resistentes a tospovírus. **Bragantia**, Campinas, v. 56, n. 1, p. 21–31, 1997.
- LOURENÇÃO, A.L.; NAGAI, H.; ZULLO, M. A.T. Fontes de resistência a *Scrobipalpus absoluta* (Meyrick, 1917) em tomateiro. **Bragantia**, Campinas, v. 43, n. 2, p. 569–577, 1984.

LOURENÇÃO, A.L.; SIQUEIRA, W.J.; MELO, A.M.T.; PALAZZO, S.R.L.; MELO, P. C.T.; COLARICCIO, A. Resistência de cultivares e linhagens de tomateiro a *Tomato chlorotic spot virus* e a *Potato virus Y*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 6, p. 609–614, 2005.

LOURO, D.; ACCOTTO, G.P.; VAIRA, A.M. Occurrence and diagnosis of *Tomato chlorosis virus* in Portugal. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 106, n. 6, p. 589–592, 2000.

LOURO, D.; VAIRA, A.M.; ACCOTTO, G.P.; VICENTE, M.; NOLASCO, G. The emergence of criniviruses in Portugal. In: CONGRESS OF THE EUROPEAN FOUNDATION FOR PLANT PATHOLOGY EFPP: Biodiversity in Plant Pathology, 5, 2000. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, p. 51, 2000.

LOWE, S.; BROWNE, M.; BOUDJELAS, S.; DE POORTER, M. **100 of the world's worst invasive alien species**: A selection from the global invasive species database. The Invasive Species Specialist Group (ISSG), 2000. p. 12.

LOZANO, G.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J. First report of Sweet Pepper (*Capsicum annuum*) as a natural host plant for *Tomato chlorosis virus*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, n. 2, p. 224, 2004.

LOZANO, G.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J. Complete nucleotide sequence of the RNA2 of the crinivirus tomato chlorosis virus. **Archives of Virology**, Vienna, v. 151, n. 3, p. 581–587, 2006.

LOZANO, G.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J. Complete sequence of the RNA1 of a European isolate of tomato chlorosis virus. **Archives of Virology**, Vienna, v. 152, n. 4, p. 839–841, 2007.

MARTINEZ-CARRILLO, J.L.; BROWN, J.K. Note: First report of the Q biotype of *Bemisia tabaci* in Southern Sonora, Mexico. **Phytoparasitica**, Dordrecht, v. 35, n. 3, p. 282–284, jun. 2007.

MARTÍNEZ-ZUBIAUR, Y.; FIALLO-OLIVÉ, E.; CARRILLO-TRIPP, J.; RIVERA-BUSTAMANTE, R. First report of *Tomato chlorosis virus* infecting tomato in single and mixed infections with *Tomato yellow leaf curl virus* in Cuba. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 92, n. 5, p. 836, 2008.

MASSÉ, D.; LEFEUVRE, P.; DELATTE, H.; ABDOUL KARIME, A.L.; HOSTACHY, B.; REYNAUD, B.; LETT, J.M. *Tomato chlorosis virus*: first report in Mayotte Island. **Plant Pathology**, Hoboken, v. 57, n. 2, p. 388, 2008.

MATOS, E.S.; SIQUEIRA, W.J.; LOURENÇÃO, A.L.; MELO, A.M.T.; SAWAZAKI, H.E.; SOUZA-DIAS, J.A.C.; COLARICCIO, A. Resistência de genótipos de tomateiro a um isolado de geminivírus do cinturão verde de Campinas, São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 2, p. 159–165, 2003.

MEDINA, V.; PEREMYSLOV, V.; HAGIWARA, Y.; DOLJA, V. Subcellular localization of the HSP70-homolog encoded by beet yellows closterovirus. **Virology**, San Diego, v. 260, p. 173–181, 1999.

- MORRIS, J.; STEEL, E.; SMITH, P.; BOONHAM, N.; SPENCE, N.; BARKER, I. Host range studies for *Tomato chlorosis virus*, and *Cucumber vein yellowing virus* transmitted by *Bemisia tabaci* (Gennadius). **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 114, n. 3, p. 265–273, 2006.
- NAVAS-CASTILLO, J.; CAMERO, R.; BUENO, M.; MORIONES, E. Severe yellowing outbreaks in tomato in Spain associated with infections of *Tomato chlorosis virus*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 84, n. 8, p. 835–837, 2000.
- NAVAS-CASTILLO, J.; FIALLO-OLIVÉ, E.; SÁNCHEZ-CAMPOS, S. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 49, p. 219–248, 2011.
- OLIVEIRA, M.R. DE; AMANCIO, E.; LAUMANN, R.A.; GOMES, L. de O. Natural enemies of *Bemisia tabaci* (Gennadius) B biotype and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Brasília, Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 151–154, 2003.
- ORFANIDOU, C.G.; DIMITRIOU, C.; PAPAYIANNIS, L.C.; MALIOGKA, V.I.; KATIS, N.I. Epidemiology and genetic diversity of criniviruses associated with tomato yellows disease in Greece. **Virus Research**, Amsterdam, v. 186, p. 120–9, 2014.
- PAPAYIANNIS, L.C.; IOANNOU, N.; DOVAS, C.I.; MALIOGKA, V.I.; KATIS, N.I. First report of *Tomato chlorosis virus* on tomato crops in Cyprus. **Plant Pathology**, Hoboken, v. 55, n. 4, p. 567, 2006.
- PAVAN, M.A.; MELLO, P.S.T.; SITOLIN, I. Caracterização parcial de um closterovirus infectando tomateiro na região de Campinas, SP. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, p. 25–37, 1999, Suplemento.
- PERRING, T.M. The *Bemisia tabaci* species complex. **Crop Protection**, Oxford, UK, v. 20, n. 9, p. 725–737, 2001.
- RUBIO, L.; HERRERO, J.R.; SARRIÓ, J.; MORENO, P.; GUERRI, J. A new approach to evaluate relative resistance and tolerance of tomato cultivars to begomoviruses causing the tomato yellow leaf curl disease in Spain. **Plant Pathology**, Hoboken, v. 52, n. 6, p. 763–769, dez. 2003.
- SEGEREN, M.I.; SIQUEIRA, W.J.; LOURENÇÃO, A.L.; SONDAHL, M.R.; MEDINA FILHO, H.P.; NAGAI, H. Tomato Breeding: 2. Characterization of F1 and F2 Hybrid Progenies of *Lycopersicon esculentum* x *L. peruvianum* and screening for virus and insect resistance. **Revista Brasileira de Genética**, Riberirão Preto, v. 16, n. 3, p. 773–783, 1993.
- SEGEREN, M.I.; SONDAHL, M.R.; SIQUEIRA, W.J.; MEDINA FILHO, H.P.; NAGAI, H.; LOURENÇÃO, A.L. Tomato breeding: 1. Embryo rescue of interspecific hybrids between *Lycopersicon esculentum* Mill. and *L. peruvianum* (L.) Mill. **Revista Brasileira de Genética**, Riberirão Preto, v. 16, n. 2, p. 367–380, 1993.
- SEGEV, L.; WINTERMANTEL, W.M.; POLSTON, J.E.; LAPIDOT, M. First report of *Tomato chlorosis virus* in Israel. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, n. 10, p. 1160, 2004.

SIMONE, G.W.; HOCHMUTH, R.C.; WISLER, G.C.; DUFFUS, J.E.; LIU, H.Y.; LI, R.H. New whitefly-vectored closterovirus of tomato in Florida. In: VAVRINA, C.S. (Ed) *Tomato Institute Proceedings*... Gainesville: University of Florida, 1996. p. 71–74.

SOLÓRZANO-MORALES, A.; BARBOZA, N.; HERNÁNDEZ, E.; MORA-UMAÑA, F.; RAMÍREZ, P.; HAMMOND, R.W. Newly Discovered Natural Hosts of *Tomato chlorosis virus* in Costa Rica. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 95, n. 4, p. 497, 2011.

STEVENS, M.R.; SCOTT, S.J.; GERGERICH, R.C. Inheritance of a gene for resistance to *tomato spotted wilt virus* (TSWV) from *Lycopersicon peruvianum* Mill. **Euphytica**, Dordrecht, v. 59, p. 9–17, 1992.

TAY, W.T.; EVANS, G.A.; BOYKIN, L.M.; DE BARRO, P.J. Will the real *Bemisia tabaci* please stand up? **PloS ONE**, San Francisco, CA, v. 7, n. 11, p. e50550, 2012.

THE TOMATO GENOME CONSORTIUM. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. **Nature**, London, v. 485, n. 7400, p. 635–641, 2012.

TRENADO, H.P.; FORTES, I.M.; LOURO, D.; NAVAS-CASTILLO, J. *Physalis ixocarpa* and *P. peruviana*, new natural hosts of *Tomato chlorosis virus*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 118, n. 2, p. 193–196, 2007.

TSAI, W.S.; SHIH, S.L.; GREEN, S.K.; HANSON, P.; LIU, H.Y. First report of the occurrence of *Tomato chlorosis virus* and *Tomato infectious chlorosis virus* in Taiwan. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, n. 3, p. 311, 2004.

VARGAS, J.A.; HAMMOND, R.; HERNÁNDEZ, E.; BARBOZA, N.; MORA, F.; RAMÍREZ, P. First report of *Tomato chlorosis virus* infecting sweet pepper in Costa Rica. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 95, n. 11, p. 1482, 2011.

VELASCO, L.; SIMÓN, B.; JANSSEN, D.; CENIS, J.L. Incidences and progression of tomato chlorosis virus disease and tomato yellow leaf curl virus disease in tomato under different greenhouse covers in southeast Spain. **Annals of Applied Biology**, Hoboken, v. 153, n. 3, p. 335–344, 2008.

VIDAVSKY, F.; CZOSNEK, H. Tomato breeding lines resistant and tolerant to *Tomato yellow leaf curl virus* issued from *Lycopersicon hirsutum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 88, n. 9, p. 910–914, 1998.

WALKEY, D.G.A. Control through resistant cultivars. In: _____ (Ed.). **Applied Plant Virology**. Amsterdam: Springer-Science+Business Media, B.V., 1991, chap. 10, p.244–269.

WINTERMANTEL, W.; HLADKY, L. A new expanded host range of Cucurbit yellow stunting disorder virus includes three agricultural crops. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 93, n. 10, p. 685–690, 2009.

WINTERMANTEL, W.M. Emergence of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) transmitted criniviruses as threats to vegetable and fruit production in North America. **The American Phytopathological Society**, Saint Paul, Disponível em: < <http://www.apsnet.org/publications/apsnetfeatures/Pages/default.aspx>>. Acesso em: 28 ago 2012.

WINTERMANTEL, W.M.; CORTEZ, A.A.; ANCHIETA, A.G.; GULATI-SAKHUJA, A.; HLADKY, L.L. Co-infection by two criniviruses alters accumulation of each virus in a host-specific manner and influences efficiency of virus transmission. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 98, n. 12, p. 1340–1345, 2008.

WINTERMANTEL, W.M.; HLADKY, L.L. Methods for detection and differentiation of existing and new crinivirus species through multiplex and degenerate primer RT-PCR. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 170, n. 1/2, p. 106–14, 2010. Elsevier B.V.

WINTERMANTEL, W.M.; POLSTON, J.E.; ESCUDERO, J.; PAOLI, E.R. First report of *Tomato chlorosis virus* in Puerto Rico. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 85, n. 2, p. 228, 2001.

WINTERMANTEL, W.M.; WISLER, G.C. Vector specificity, host range, and genetic diversity of *Tomato chlorosis virus*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 90, n. 6, p. 814–819, 2006.

WINTERMANTEL, W.M.; WISLER, G.C.; ANCHIETA, A.G.; LIU, H.Y.; KARASEV, A.V.; TZANETAKIS, I.E. The complete nucleotide sequence and genome organization of *tomato chlorosis virus*. **Archives of Virology**, Vienna, v. 150, n. 11, p. 2287–2298, 2005.

WISLER, G.C.; DUFFUS, J.E. Transmission properties of whitefly-borne criniviruses and their impact on virus epidemiology. In: HARRIS, K.F.; SMITH, O.P.; DUFFUS, J.E. (Ed.). **Virus-insect-plant interactions**. San Diego, Academic Press, 2001. chap. 15, p. 293–308.

WISLER, G.C.; DUFFUS, J.E.; LIU, H.; LI, R.H. Ecology and epidemiology of whitefly-transmitted closteroviruses. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 82, n. 3, p. 270–280, 1998a.

WISLER, G.C.; LI, R.H.; LIU, H.Y.; LOWRY, D.S.; DUFFUS, J.E. *Tomato chlorosis virus*: a new whitefly-transmitted, phloem-limited, bipartite closterovirus of tomato. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 88, n. 5, p. 402–409, 1998b.

ZAKAY, Y.; NAVOT, N.; ZEIDAN, M.; KEDAR, N.; RABINOWITCH, H.; CZOSNEK, H.; ZAMIR, D. Screening Lycopersicon accessions for resistance to TYLCV. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 75, p. 279–281, 1991.

ZIJL, J.J.B.van; BOSCH, S.E.; COETZEE, C.P.J. Breeding tomatoes for processing in South Africa. **Acta Horticulturae**, Leuven, p. 69–76, 1986.