

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE AGRONOMIA**

**MARISTELLA DE LACERDA OLIVEIRA**

**CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA DO ISOLADO VIRAL ToId-1 E  
LEVANTAMENTO DA INCIDÊNCIA DE VIROSE EM TOMATEIRO NO  
MUNICÍPIO DE INDIANÓPOLIS**

**Uberlândia – MG  
2008**

**MARISTELLA DE LACERDA OLIVEIRA**

**CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA DO ISOLADO VIRAL ToId-1 E  
LEVANTAMENTO DA INCIDÊNCIA DE VIROSE EM TOMATEIRO NO  
MUNICÍPIO DE INDIANÓPOLIS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado  
ao curso de Agronomia, da Universidade  
Federal de Uberlândia, para obtenção do  
grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Jonas Jäger Fernandes

**Uberlândia – MG  
2008**

**MARISTELLA DE LACERDA OLIVEIRA**

**CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA DO ISOLADO VIRAL ToId-1 E  
LEVANTAMENTO DA INCIDÊNCIA DE VIROSE EM TOMATEIRO NO  
MUNICÍPIO DE INDIANÓPOLIS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado  
ao curso de Agronomia, da Universidade  
Federal de Uberlândia, para obtenção do  
grau de Engenheiro Agrônomo.

**Aprovado pela Banca Examinadora em 20 de junho de 2008**

Prof. Dr. José Magno Luz de Queiroz  
Membro da Banca

Prof. Dr. Lísias Coelho  
Membro da Banca

---

Prof. Dr. Jonas Jäger Fernandes

Orientador

## RESUMO

As doenças são uns dos principais problemas fitossanitários na cultura do tomateiro, dentre elas, as viroses são umas das mais difíceis de serem diagnosticadas no campo, devido a vários fatores como: vários vírus e suas estirpes em uma mesma área, condições ambientais prevalecentes, tipo de cultivar, dentre outros. Para a diagnose correta deve-se analisar a gama de hospedeiros diferenciais, a transmissibilidade do vírus e vários outros aspectos. Com o objetivo de caracterizar o isolado viral ToId-1 e realizar o levantamento da incidência do mosaico amarelo no município de Indianópolis, MG, foram avaliadas várias espécies da família solanácea, analisando assim, a gama de hospedeiros do isolado viral ToId-1, fazendo-se inoculação mecânica via EVT (extrato vegetal tamponado). O resultado desta inoculação mostrou que as espécies Maria pretinha, Berinjela ‘Roxa’, Pimenta ‘Dedo de moça’, Jiló ‘Tinguá’, Pimentão ‘Magali’, Tomate ‘Debora max’, tomate ‘Olympo’, tomate ‘Santa clara’, tomate ‘Jumbo’, *Datura stramonium*, *Nicotiana tabacum* ‘White burley’, *Nicotiana tabacum* ‘TNN’, *Physalis floridana*, *Chenopodium amaranthicolor*, *Chenopodium quinoa*, *Petunia hibrida*, *Chenopodium album* e *Nicotiana rustica*, pertencem a gama de hospedeiro do isolado viral ToId-1. As plantas que não apresentaram sintoma de infecção ao ToId-1 foram testadas para verificar presença de sintoma viral latente. A coleta das amostras de campo foi feita ao acaso em duas áreas no município de Indianópolis, onde foram amostradas folhas e/ou brotações de 30 a 60 plantas. Os sintomas observados em campo foram mosaico dourado, vira-cabeça, mosaico suave e plantas sem sintomas. Na primeira área havia uma porcentagem de 60% das plantas sem sintomas e 40% com mosaico dourado; já na segunda área havia 4% sem sintoma, 83% de mosaico dourado e 13% com vira-cabeça. Essas amostras foram identificadas individualmente e armazenadas a baixa temperatura (4°C), e levadas para o Laboratório de Fitopatologia e Virologia Vegetal da Universidade Federal de Uberlândia, ICIAG. As inoculações foram realizadas em casa de vegetação e os sintomas avaliados a cada 2 a 3 dias durante um mês. O resultado da inoculação das amostras de campo em plantas de tomate ‘Santa Clara’ e *N. rustica* ‘Brasília’ mostrou que dez amostras inoculadas não infectaram as plantas testadas, e a amostra A3, com sintomas de vira-cabeça no campo, causou infecção nestas plantas. Comparando-se os sintomas reproduzidos, nas plantas indicadoras inoculadas com ToId-1 e os sintomas causados pelos principais vírus do tomateiro e o modo de transmissão, verificou-se que o vírus ToId-1 deve pertencer à espécie viral do ToMV (*Tomato mosaic virus*).

**Palavras – chave:** virose; gama de hospedeiro; isolado viral.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	05
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	07
2.1 Viroses.....	07
2.2 Principais viroses do tomateiro.....	08
2.2.1 Mosaico comum do tomateiro.....	08
2.2.2 Topo-amarelo.....	10
2.2.3 Vira-cabeça.....	11
2.2.4 Mosaico do vírus y.....	12
2.2.5 Mosaico dourado.....	13
2.2.6 Mosaico amarelo do pimentão.....	14
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1 Método de inoculação.....	16
3.2 Determinação da gama de hospedeiros.....	16
3.2.1 Fonte do isolado viral.....	16
3.2.2 Preservação do isolado viral “in vivo”.....	16
3.2.3 Inoculação em plantas indicadoras.....	16
3.2.4 Determinação de infecção assintomática.....	17
3.3 Levantamento da ocorrência de virose em tomateiros no campo.....	18
3.3.1 Procedimento de amostragem, armazenamento e transporte.....	18
3.3.2 Diagnose da infecção viral em amostra foliar de tomateiro de campo.....	18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
4.1 Determinação da gama de hospedeiros do isolado viral ToId-1.....	20
4.2 Determinação de infecção assintomática.....	22
4.3 Diagnose de infecção viral em amostras foliares de tomateiro de campo.....	23
4.4 Análise da gama de hospedeiros do isolado viral ToId-1.....	24
5 CONCLUSÕES.....	27
REFERÊNCIAS.....	28

## 1 INTRODUÇÃO

O tomateiro é originário do Peru, Equador e Bolívia, foi cultivado no México, e depois levado para a Europa. Em 1554 já havia sido introduzida na Itália uma cultivar com frutos amarelados, que deu origem ao nome pomodoro. O tomate cereja (*Lycopersicum esculentum* var. *cerasiforme*) é possivelmente o ancestral mais próximo das cultivares atualmente plantadas.

O fruto do tomateiro possui em sua composição aproximadamente 93% a 95% de água. Nos 5% a 7% restantes encontram-se compostos inorgânicos, ácidos orgânicos, açucares, sólidos solúveis em álcool e outros.

A cultura do tomateiro desempenha importante papel na economia nacional despondo como o principal produto olerícola. O Brasil se destaca entre os dez maiores países produtores, sendo que em primeiro lugar está a China (AGRIANUAL, 2007).

Dentre os principais problemas que interferem na produção do tomate, estão os fitossanitários, pois as doenças são as principais responsáveis pela perda da qualidade do produto final e pela quebra de produção. Um dos problemas que atinge diretamente a produção e a qualidade dos frutos na cultura do tomate é a ocorrência de viroses. As viroses representam um dos problemas mais difíceis de serem solucionados pelos produtores devido a dificuldade de controle e às práticas agrícolas empregadas na cultura, estando entre elas a irrigação prolongada, o desbaste, as adubações maciças e a grande concentração de plantas.

A técnica de transmissão mecânica é importante no aspecto experimental para avaliação da gama de hospedeiros, avaliação da resistência de plantas a infecção pelo vírus, sendo essa transmissão realizada na presença de um tampão que estabiliza o pH do extrato vegetal e contém reagentes essenciais para impedir a degradação da partícula viral (AGRIOS, 2005).

A diagnose de doenças viróticas é bastante complexa, pois a sintomatologia é afetada por diversos fatores, estirpes mais ou menos virulentas do vírus; idade da planta por ocasião da infecção; condições ambientais prevalecentes; nível de resistência da cultivar; presença de mais de um vírus na mesma planta (LOPES; SANTOS, 1994)

Portanto a identificação de doenças causadas por vírus, em condições de campo, torna-se difícil por uma série de fatores, entre eles a ocorrência de uma sintomatologia que não é bem definida, a existência de vários vírus numa mesma área e a ocorrência de estirpes diferentes de um mesmo vírus. E é nesse contexto que a identificação de uma virose deve levar em consideração, além de outros cuidados, o estudo de reações do vírus em hospedeiros

diferenciais, a transmissibilidade da doença para plantas sadias e outras propriedades biológicas e moleculares utilizadas para diagnose de fitoviroses.

Por estes motivos, este trabalho tem como objetivo a caracterização biológica do isolado viral ToId-1, e também o levantamento da incidência de viroses em tomateiro no município de Indianópolis, MG.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Viroses

Dentre os agentes fitopatogênicos, os vírus ocupam um lugar a parte, pois são parasitas intracelulares obrigatórios, com capacidade de multiplicar-se somente em células vivas de organismos superiores. Para garantir a própria multiplicação utilizam o metabolismo das células do hospedeiro.

Vírus são identificados por meio de descritores como: ciclo de hospedeiros, modo de transmissão (mecânica ou por insetos), microscopia, eletroforese, reação sorológica e análise de ácidos nucléicos (LOPES; SANTOS, 1994).

De um modo geral, as viroses de plantas são transmitidas por sementes, contato e, principalmente, por insetos, especialmente os pulgões. A semente infectada pode ser importante fonte de inoculo para epidemias, sendo que esse modo de transmissão pode levar à disseminação de vírus a longa distância, devido ao comércio nacional e internacional de sementes (ZERBINI et al., 2002).

O contato entre plantas, propiciando a passagem do vírus presente na planta doente para a planta saudável, constitui-se num fato raro, pois depende de uma série de fatores. Dentre eles, proximidade das plantas, alta concentração do vírus em plantas infectadas e a ocorrência de fatores ambientais favoráveis, principalmente ventos fortes que, promovendo o atrito entre as plantas, provoque ferimentos, possibilitando a transmissão do vírus. Estas condições podem ocorrer em viveiro de mudas envolvendo um vírus facilmente transmissível e plantas altamente suscetível (BERGAMIN et al., 1995).

O processo de infecção se inicia após a penetração do vírus na planta, etapa indispensável, uma vez que os vírus não possuem estruturas que lhes permitam penetrar por si próprios na célula hospedeira. Para que um vírus penetre no citoplasma celular é necessário superar duas barreiras físicas, a cutícula e a parede celular, o que só pode ser feito através de um ferimento natural ou provocado, através de instrumentos de corte, como canivete, tesoura.

Apesar disto, os vetores biológicos, como os insetos e nematóides cumprem com eficiência a etapa da penetração, rompendo a parede celular e na alimentação introduzem o vírus no citoplasma das células da epiderme foliar ou radicular ou no floema. Se a planta for suscetível ao vírus, este inicia o processo de multiplicação nas primeiras células infectadas, seguindo-se um processo no qual o ácido nucléico é liberado da capa protética e inicia o processo de replicação, produzindo cópias do ácido nucléico do vírus. Inicia-se o processo da

tradução transformando as informações contidas no ácido nucléico em proteínas do vírus. Finalmente ocorre o processo de montagem das partículas, após o acúmulo de quantidades de proteínas da capa e de ácido nucléico.

As viroses podem ser identificadas, principalmente pelos sintomas típicos induzidos nas folhas, dos quais o mais comum é o mosaico, mas podem ocorrer clareamento das nervuras, clorose, necrose, manchas, enrolamento das folhas, redução do crescimento entre outros. Nos frutos também podem ser observados sintomas de anéis (*Tospovirus*), manchas (*Tobamovirus*, *Potyvirus*), pontuações necróticas, endurecimento, deformação, redução do tamanho, ausência de sementes.

Entretanto, a tarefa não é fácil, pois os sintomas podem ser confundidos com aqueles causados por outros patógenos e também, pelos sintomas causados pelas deficiências nutricionais, além da ocorrência no campo de plantas com ausência de sintomas, isto é, hospedeiras latentes. Assim, uma identificação segura requer o uso de testes que devem ser realizados em laboratório.

No Brasil, já foram identificadas diferentes viroses limitantes para a cultura do tomate, principalmente as espécies de vírus pertencentes ao gênero *Tospovirus*, *Begomovirus*, *Tobamovirus* e *Potyvirus*, sendo importante ressaltar que estes podem ocorrer em infecções mistas, o que pode significar a presença de duas ou mais espécies de vírus nas plantas ou ainda os vírus podem se suceder na cultura, a cada ano, causando graves epidemias. Além disso, outras viroses de menor importância também foram relatadas em nosso país (KUROZAWA; PAVAN, citado por KIMATI. et al., 1997).

## **2.2 Principais viroses do tomateiro**

### **2.2.1 Mosaico comum do tomateiro**

O ToMV (*Tomato mosaic virus*) pertence ao gênero *Tobamovirus*, cuja espécie típica é o TMV. É o vírus mais disseminado na cultura do tomateiro, facilmente transmitido por contato e através de tratos culturais. Os sintomas podem variar devido à interação das diferentes estirpes de vírus com as plantas hospedeiras. Existem numerosas estirpes do vírus, que causam diversos tipos de mosaico sendo, um dos mais freqüentes, a presença de áreas verde-claras ao lado de outras verde-escuras, enrugamento, redução e curvatura dos folíolos para baixo. Além disso, pode ocorrer redução do porte da planta e alterações na cor dos frutos.

Os sintomas da virose são em grande extensão influenciada pela temperatura, durações do dia, intensidade luminosa, idade da planta, estirpe do vírus e cultivar de tomate (HOLLINGS; HUTTINGS, 1976).

A gama de hospedeiros do ToMV é relativamente ampla, incluindo muitas espécies de solanáceas e a maioria das espécies testadas nas famílias Aizoaceae, Amaranthaceae, Chenopodiaceae e Scrophulariaceae. *Nicotiana glutinosa* é amplamente usada no diagnóstico de infecção por ToMV, reagindo com lesões locais necróticas. A transmissão da virose é via mecânica, principalmente por meio de operações manuais de transplante, amarração, desbrota, e colheita, bem como por meio de contato de implementos agrícolas e roupas contaminadas, além do contato entre plantas infectadas e sadias (LOPES; SANTOS, 1994).

ToMV é transmitido por meio de sementes, o que dá origem a focos de infecção que se propagam em virtude do manuseio das mudas na sementeira. O vírus está presente na mucilagem externa, tegumento e algumas vezes no endosperma das sementes de tomate, mas aparentemente não se encontra dentro do embrião. (HOLLINGS; HUTTINGA, 1976; CANER et al., 1990).

O ToMV pode permanecer nos restos culturais por períodos variável, dependendo da característica do solo em relação a seu teor de umidade. Em solos secos, os restos culturais de folhas podem permanecer infectantes por dois anos, mas em solos úmidos há perda da infecciosidade dentro de um mês (ZITTER, 1991).

Geralmente é impossível eliminar todos os restos culturais. Portanto, uma alternativa é o cultivo do tomate em sacos plásticos com composto, desta forma se previne que as raízes das plantas jovens penetrem no solo infectado (WALKEY, 1985).

As sementeiras devem ficar distantes de plantas infectadas com ToMV, diminuindo-se ao máximo o manuseio das mudas, por meio da formação de mudas em bandejas ou em copinhos (MAFFIA et al., 1980). Outras medidas de controle são: plantar cultivares resistentes e desinfetar as ferramentas após cada operação, mergulhando-as numa solução concentrada de detergente;

Em 1982, foi estudada, mediante o teste de microprecipitina, a incidência do mosaico comum em um município do triângulo mineiro e dois da Z. Da Mata, compreendendo respectivamente 8 e 12 propriedades. Foram amostrados até 10% das plantas de cada tomatal visitado, tendo sido estudadas plantações com até 30.000 tomateiros. Em Muriaé e S. João do Manhaçu, na Z. Da Mata, a virose está presente em dois dos doze tomatais, em 5 a 6% das amostras, e em Uberlândia, em três das oito plantações, em 19,5, 26,7, e 73,8% das amostras. O estudo relaciona a incidência do mosaico comum com as práticas culturais,

rotação, procedência e tratamento das sementes (FERNANDES et al., 1983).

### 2.2.2 Topo-amarelo

O topo amarelo ocorre com bastante frequência no Brasil e pode causar grandes perdas, especialmente se a infecção ocorrer em plantas jovens. O primeiro local onde a doença foi relatada assumindo importância econômica foi na Austrália (ZITTER, 1991).

TYTV é um vírus pertencente ao gênero Luteovirus, e contém RNA como material genético. Tem preferência pelos tecidos do floema, ocorrendo em baixa concentração nos tecidos de suas hospedeiras (HASAN; THOMAS, 1984).

TYTV tem uma gama de hospedeiros limitada, a qual inclui, principalmente, espécies das famílias Solanaceae, Amaranthaceae e Cruciferae. (MAFFIA et al., 1980; BORGES; NETO et al., 1994; LOPES; SANTOS, 1994; ZITTER, 1991). É transmitido por afídeos, principalmente *Myzus persicae*, de forma persistente (LOPES; SANTOS, 1994).

O período de aquisição mínimo é uma hora, aumentando a eficiência de transmissão quando o período de aquisição é estendido para 48 horas. É requerido um período de incubação de 48 horas, antes que o afídeo passe a transmitir o vírus. Não há evidência de replicação do TYTV no afídeo (não propagativo). TYTV não é transmitido mecanicamente ou por semente (ZITTER, 1991). Plantas infectadas com o vírus do topo amarelo desenvolvem sintomas 14 a 21 dias após inoculação.

Os sintomas apresentam como clorose nas margens das folhas mais jovens, que provocam o seu enrolamento. O amarelecimento da planta progride de cima para baixo, e as folhas terminam por apresentar um enrolamento acentuado, assumindo a forma de pequenas colheres (LOPES; SANTOS, 1994). Ocorre, como regra geral, abortamento nas inflorescências produzidas subsequentemente à infecção, além de acentuada redução no número e tamanho dos frutos.

Em geral, a doença é mais séria no período mais seco do ano, época correspondente às maiores populações dos afídeos vetores (MAFFIA et al., 1980). Os sintomas durante os meses de inverno podem ser confundidos com injúrias causadas por inseticidas.

A destruição de ervas daninhas hospedeiras dos vírus (maria-preinha e *Datura stramonium*) localizadas próximas aos campos de produção reduz o inóculo primário. A produção de mudas em viveiros situados longe de campos de hospedeiros dos vírus ou em estufas com telas à prova de afídeos, é recomendada. O uso de inseticidas sistêmicos para eliminar afídeos vetores também evita que a doença espalhe na cultura.

### 2.1.3 Vira – cabeça

Vírus do gênero Tospovius vêm sendo considerados agentes causais de uma das doenças mais importantes da cultura, acarretando enormes prejuízos econômicos. A gama de hospedeiros destes vírus é extremamente ampla, incluindo importantes plantas ornamentais, frutíferas e hortaliças. Danos em cultivos comerciais podem ser extremamente altos, com incidência em torno de 50 a 90%, principalmente entre novembro e abril, período mais favorável à proliferação do tripe vetor (KUROZAWA; PAVAN, citado por KIMATI et al., 1997).

O agente causal do vira-cabeça foi inicialmente identificado como *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), tido como única espécie representante do gênero tospovírus, da família Bunyviridae. Contudo, com base em comparações das propriedades sorológicas, da sequência de nucleotídeos dos RNAs que codificam a nucleoproteína (N) e da reação de diferentes hospedeiros, foram propostas três novas espécies para o gênero, que são *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV), *Groundnut ring spot virus* (GRSV) e *Impatiens necrotic spot virus* (INSV), das quais apenas a última ainda não foi detectada no Brasil. (KUROZAWA; PAVAN, citado por KIMATI et al., 1997).

A transmissão do vírus ocorre de maneira circulativa propagativa, que adquirido por larvas de tripes de 1º ínstare durante a alimentação em plantas hospedeiras infectadas, é transmitido por tripes adultos quando se alimentam em plantas sadias (WIJKAMP et al., 1993).

Os sintomas do vira-cabeça em tomateiro são variáveis, em função principalmente da espécie do vírus presente, da idade em que a planta foi infectada, da cultivar plantada e das condições climáticas. Um nanismo é sempre observado, sendo tanto mais intenso quanto mais cedo a planta for infectada. Os folíolos das folhas do ponteiro tomam um aspecto bronzeado e/ou arroxeados e apresentam pontos necróticos que podem formar pequenos anéis. Frequentemente toda a planta fica necrosada e morre. Plantas com sintomas típicos do vira-cabeça podem produzir frutos aparentemente sadios, porém de menor tamanho. Entretanto, a maioria dos frutos atacados ainda não maduros desenvolve áreas cloróticas ou necróticas irregulares, que podem ser confundidas com as produzidas pela requeima (*Phytophthora infestans*), a não ser pela deformação e pelos anéis nos frutos maduros, que normalmente formam-se no caso do vira-cabeça (LOPES; SANTOS, 1994).

Para o controle, recomenda-se, na fase de pré-plantio, rotação com espécies não-susceptíveis como milho e couve-flor; escolha de local apropriado, evitando o plantio adjacente

a lavouras suscetíveis ao patógeno; eliminação de hospedeiros alternativos do vetor. Na fase de desenvolvimento da cultura, recomenda-se plantio do tomateiro fora da época quente e úmida do ano, onde a incidência do vetor é maior; plantio, quando possível, em áreas de maior altitude; uso de mudas sadias; aplicação regular de inseticidas granulados e sistêmicos complementares; plantio de barreiras vivas com milho ou crotalaria ao redor da lavoura, dificultando a migração do tripe-vetor. Na fase de pós-colheita, recomenda-se o alqueive de áreas com alta incidência da doença (KUROZAWA; PAVAN, citado por KIMATI et al., 1997).

#### 2.1.4 Mosaico do vírus y

É uma virose causada pelo *Potato virus Y* (PVY) e comum na cultura do tomateiro em épocas frias e secas do ano. O vírus é cosmopolita e causa danos consideráveis em lavouras de solanaceas, embora tenha uma gama restrita de hospedeiros (KUROZAWA; PAVAN, citado por KIMATI et al., 1997). Em condições experimentais, hospedeiros suscetíveis são encontrados nas famílias botânicas: Chenopodiaceae, Commelinaceae, Solanaceae, exemplos: *Capsicum annuum*, *Capsicum frutescens*, *Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium quinoa*, *Lycium*, *Lycopersicon esculentum*, *Nicotiana glutinosa*, *Nicotiana tabacum*, *Physalis floridana*, *Solanum chacoense*, *Solanum demissum*, *Solanum tuberosum*, *Tinantia erecta*. Já hospedeiros não suscetíveis encontrados na família Solanaceae podem ser destacado a *Datura stramonium* (EDWARDSON, 1974b citado por ICTVdB, 2006a; HORVÁTH, 1979, citado por ICTVdB, 2006a).

Uma das características do PVY é apresentar diversas estirpes. Estudos realizados no estado de São Paulo mostraram que a estirpe Y<sup>w</sup> é a predominante, ocorrendo em pimentão e pimenta, mas não ocorre em batateira e tomateiro. A estirpe Y<sup>c</sup>, comum em batateira, não ocorre no tomateiro. Há também, dentro da estirpe Y<sup>w</sup>, variantes como a Y<sup>f</sup>, que provocam sintomas mais severos no tomateiro, e a Y<sup>wrio</sup>, predominante no estado do Rio de Janeiro. (KIMATI et al., 1997).

Seu principal meio de disseminação é através de insetos. Os insetos envolvidos na transmissão são os pulgões, de modo não-persistente, não requer vírus auxiliar e pode facilitar a transmissão de outros vírus (*Potato aucuba mosaic virus*), sendo que desses pulgões o mais eficiente é o *Myzus persicae*, da ordem Hemipterae família Aphididae. (KENNEDY et al., 1962 citado por ICTVdB, 2006a; VAN HOOF, 1980 citado por ICTVdB, 2006a).

O tomateiro pode ser infectado somente por PVY, por infecção mista com o vírus

“etch” do fumo, ou com o TMV. Plantas duplamente infectadas nos estádios iniciais raramente produzem frutos comercializáveis. O sintoma mais comum é um mosaico leve nas folhas mais novas, com as nervuras apresentando uma coloração verde-escura. Quando o ataque é mais intenso, os folíolos podem apresentar áreas necróticas marrom-escuras. Ocorre pouca redução do tamanho das plantas, que produzem menos e frutos menores. Estes, porém, não apresentam sintomas típicos da doença. Nas folhas os sintomas são bastante similares aos do mosaico (ToMV) (MAFFIA et al., 1980; LOPES; SANTOS, 1994).

No campo, os folíolos terminais podem apresentar necrose severa e em muitos casos todos os folíolos são afetados. Folhas subsequentemente formadas exibem rugosidade suave, pequena deformação e mosqueado tênue. Folíolos de plantas infectadas há mais tempo são enroladas para baixo e com pecíolos arqueados (ZITTER, 1991).

O controle é obrigatoriamente preventivo. Sob condições de alta incidência de afídeos, as plantas devem ser protegidas com telado durante o período que vai da semeadura até 15 dias após o transplante. Sementeiras, canteiros e plantações definitivas de tomateiro devem ser isoladas de plantações de pimentão, pimenta, hortas, jardins e plantios mais velhos de tomateiro. O controle de insetos vetores deve ser feito na fase de canteiro e campo, através de pulverizações sistemáticas com óleo mineral ou aplicação de granulados no solo. O uso de cultivares resistentes, tais como o Ângela, constitui uma maneira eficiente de controle (KIMATI et al., 1997).

### **2.1.5 Mosaico Dourado**

A doença causada pelo TGMV (*Tomato golden mosaic virus*) foi primeiramente relatada por Costa et al. (1975) e ocorre amplamente em áreas tropicais do Brasil (BUCK; COUTTS, 1985). Um germinivírus que induz sintomas semelhantes, porém distamente relacionado a outros germinivírus de tomate até então caracterizados, é relatado por Ribeiro et al. (1994), ocorrendo no Distrito federal.

As partículas do vírus contém dois tipos diferentes de DNA, denominados A e B, de fita simples e circular. Há o germinivírus (TYLCV-tomato yellow leaf curl virus) com um único DNA(monopartido) infectando tomateiro (MICHELSON et al., 1994).

Todas as espécies hospedeiras do TGMV conhecidas pertencem à família Solanaceae e incluem *Datura stramonium*, *Nicotiana benthamiana*, *N. Clevelandii*, *N. Glutinosa*, *N. tabacum* ‘Samsun NN’, *Nicandra sp.* e *Physalis sp.* (BUCK; COUTTS, 1985).

A mosca branca se reproduz mais facilmente nas épocas secas, pois as chuvas fortes e

constantes reduzem a população dessa praga. No Brasil, em 1975, Costa et al. descreveram seis geminivírus causando mosaico dourado em tomateiro no estado de São Paulo. As partículas de um desses vírus foram purificadas, e o vírus foi denominado *Tomato golden mosaic virus* (TGMV) (MATYIS et al., 1975).

Em Minas gerais, no ano de 1996, a ocorrência de geminivírus em tomateiro foi registrada em duas localidades distantes entre si em aproximadamente 500 km (Figura 01): os municípios de Uberlândia e de Igarapé, localizadas na região do Triângulo Mineiro e no cinturão verde de Belo Horizonte, respectivamente (REZENDE et al., 1996; ZERBINI et al., 1996). O estudo do isolado coletado em Igarapé demonstrou tratar-se de uma nova espécie de geminivírus, denominada *Tomato chlorotic mottle virus* (TCMV) (AMBROZEVÍCIUS et al., 2002). As perdas causadas pela infecção com o complexo de geminivírus de Uberlândia em cultivos protegidos de tomateiro foram estimados em 90% da produção de frutos (FILGUEIRA et al., 1996).

A transmissão mecânica do TGMV de tomateiro para tomateiro tem sido efetuada com extrema dificuldade, e somente 1,6% das plantas inoculadas tornam-se infectadas(BUCK; COUTTS, 1985). A enxertia é outra forma de transmissão relatada ( RIBEIRO et al., 1994). Os sintomas começam nas folhas mais novas do tomateiro, sob a forma de amarelecimento das nervuras. A planta mais nova é mais suscetível e apresenta mosaico amarelo, tendo as folhas coloração verde e amarela. Outro sintoma é o enrolamento dos folíolos de toda a planta, além de pouca floração e frutos com áreas descoloridas (LOPES; SANTOS, 1994; RIBEIRO et al., 1994).

### **2.1.6 Mosaico amarelo do pimentão**

Os materiais de tomate utilizados atualmente são, aparentemente, infectados por PepYMV. O potencial de danos para à produção de tomate causada por isolados de PepYMV, conforme relatado em regiões produtoras do Espírito Santo, é alto (ÁVILA et al., 2004).

Acredita-se que os isolados de PepYMV estejam ocupando o nicho que antigamente era ocupado pelos isolados de PVY. A partir da introdução de variedades resistentes(LOURENÇAO et al., 2005), o PVY teve sua importância diminuída, dando lugar ao novo potyvírus identificado em 2002 infectando pimentões e pimenta (INOUE-NAGATA et al., 2002)

Uma análise de amostras foliares do tomateiro para detecção dos vírus de maior

importância no Distrito Federal foi realizada utilizando-se a técnicas de PCR DAS-ELISA. Em um total de 54 amostras avaliadas, o vírus mais prevalente foi o PepYMV, um potyvírus responsável por sérias perdas em áreas de produção de pimentão no Brasil. Este resultado reforça a crescente importância desse vírus na produção de tomate. Os sintomas causados por PepYMV são muito similares por aqueles causados por begomovírus. Portanto, é recomendado que uma técnica de detecção apropriada seja utilizada em adição à avaliação visual de sintomas. (DIANESE et al., 2008)

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação e no Laboratório de Fitopatologia e Virologia Vegetal (LAVIV) do ICIAG, ambos localizados no Campus Umuarama, na Universidade Federal de Uberlândia.

#### **3.1 Método de inoculação**

As folhas de tomateiro com sintoma de infecção viral foram maceradas em almofariz, a frio, na presença de tampão de fosfato 0,1 M, pH 8,2 contendo sulfito de sódio a 0,1% na proporção de 1:5 (peso/volume). A inoculação procedeu-se em folhas jovens de plântulas indicadoras, e estas foram mantidas em casa de vegetação após inoculação.

#### **3.2 Determinação da gama de hospedeiro**

##### **3.2.1 Fonte do isolado viral**

O isolado viral foi obtido a partir do enraizamento, em casa de vegetação, do ápice de plantas de tomateiro com sintomas de mosaico comum coletadas no município de Indianópolis, Minas Gerais, pelo agrônomo Carlos E. Tucci e encaminhado ao LAVIV, sendo este isolado viral denominado no trabalho de ToId-1(Tomate-Indianópolis-1).

##### **3.2.2 Preservação do isolado viral “in vivo”**

As partículas de vírus presentes em folhas de tomateiro com sintomas de mosaico comum pela infecção com o isolado ToId-1, foram inoculadas via extrato vegetal tamponado (EVT), em plantas de tomate, com 2 a 3 folhas para manutenção e multiplicação do isolado viral. Para comparação cultivou-se 1 a 2 plantas controles sem inoculação nas mesmas condições.

##### **3.2.3 Inoculação em plantas indicadoras**

Para determinar a gama de hospedeiros do isolado viral ToId-1, bem como avaliar os sintomas causados, efetuou-se a inoculação mecânica do isolado viral ToId-1 em várias

espécies da família solanácea, as quais foram: *N. physaloides*, Maria pretinha, *N. tabacum* 'TNN, *N. tabacum* 'White burley', *Physalis floridana*, *C. amaranthicolor*, *C. quinoa*, *C. album*, *D. stramonium*, *Petunia hibrida*, pimentão 'Casca dura ikeda', berinjela 'Roxa', pimenta 'Dedo de moça', jiló 'Tinguá', alface, abobrinha 'Caserta', pepino, pimentão 'Magaly', pimenta 'Malagueta' e Tomate 'Débora max', 'Olympo', 'Sta. Clara' e 'Jumbo'. O inóculo foi preparado pela maceração de folhas de tomate com sintomas de infecção viral pelo isolado ToId-1, conforme citado no item 3.1.

As plantas testes e/ou indicadoras foram semeadas em vasos plásticos em casa de vegetação, sendo que foram adubadas semanalmente com 0,3 a 0,5 g/vaso de torta de mamona e 1,5 g/vaso de sulfato de magnésio. A adubação mineral foi feita de 15 em 15 dias com, 5 g/vaso de macro e micronutrientes (15%N, 15% P2O5, 20% K2O, 1,1% Ca, 4% S, 0,4% Mg, 0,05% Zn, 0,05% B, 0,1% Fe, 0,03% Mn). A irrigação foi realizada diariamente com aproximadamente 35 ml de água/vaso. O substrato utilizado continha solo, vermiculita, húmus de minhoca, areia lavada na proporção de (4:1:1:2) respectivamente.

Em cada tratamento havia de cinco a seis plantas, sendo que após a germinação foram mantidas com 2 a 3 plantas por vaso, as quais, foram submetidas à inoculação com o isolado viral ToId-1 no estádio de 2 a 3 folhas bem desenvolvidas.

Para controle experimental, algumas espécies não foram inoculadas, sendo mantidas no mesmo ambiente, cultivadas com os mesmos tratos culturais aplicados às outras plantas.

Os sintomas foram observados a cada 2 a 3 dias, durante 30 dias, anotando-se os tipos de sintomas.

Em todos os ensaios foram determinados o número de plantas com presença ou ausência de sintomas de mosaico nas plantas.

### **3.2.4 Determinação de infecção assintomática**

Os testes de retroinoculação são realizados para verificação quanto a plantas com sintomas de infecção viral latente, confirmando a presença ou ausência de plantas assintomáticas, tanto em relação a sintomas locais quanto a sintomas sistêmicos.

Considerando as espécies que mesmo inoculadas não apresentaram sintomas, foram selecionada algumas plantas destas ao acaso e fez-se o macerado de suas folhas em plantas de tomate, servindo como inóculo para avaliação quanto a ocorrência de infecção viral latente, procedendo-se com a inoculação em algumas cultivares de tomate suscetíveis para verificação da existência de plantas assintomáticas.

Além disto, algumas espécies que apresentaram-se suscetíveis com sintomas locais, como por exemplo, lesão necrótica ou clorótica, também, foram selecionadas ao acaso, fazendo-se um macerado das folhas jovens, servindo como inóculo para reprodução do sintoma original, como também para descartar a possibilidade de contaminação por uma outra virose, procedendo-se a retroinoculação em plantas de tomate suscetíveis.

### **3.3 Levantamento da ocorrência de viroses em tomateiro no campo**

Amostras de plantas de tomate foram coletadas no município de Indianópolis-MG, em duas lavouras, sendo uma em fim de colheita e a outra em estágio de três pences de tomate, em março de 2007.

As cultivares amostradas foram tomate 'Débora Max' e Longa Vida (Carmem). Determinou-se visualmente nas plantas coletadas nestas áreas a ocorrência de sintomas de mosaico dourado, vira cabeça, plantas com deformações no limbo foliar, sintomas de mosaico comum, ou a ausência de sintomas de virose.

#### **3.3.1 Procedimento de amostragem, armazenamento e transporte**

Foram elaboradas dez seqüências, sendo que cada uma delas continha vinte números, dos quais, foram sorteados 10 para cada seqüência. Para coleta das amostras procedeu-se à seleção ao acaso de três seqüências para cada área.

A seleção das plantas foi feita ao acaso, com base numa seqüência aleatória de números, sendo coletadas uma ou duas folhas e/ou brotações de cada. As amostras foram identificadas como A1, A2, A3, A4, A5, B1, B2, B3, B4, B5 e B6, respectivamente para a 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> propriedade. As amostras foram identificadas individualmente, resfriadas a aproximadamente 4°C e transportadas para o LAVIV em Uberlândia, MG.

#### **3.3.2 Diagnose da infecção viral em amostra foliar de tomateiro de campo**

Cada amostra foi inoculada em plantas indicadoras na casa de vegetação para a avaliação da transmissibilidade do isolado viral contido em cada amostra e observação dos sintomas em casa de vegetação.

Estas amostras foram submetidas ao teste de transmissão mecânica pela inoculação do macerado de suas folhas em plantas de tomate cv. Santa clara e *Nicotiana rustica*, cv. Brasília,

no estágio de 3 a 4 folhas. Todas as plantas inoculadas foram mantidas em condições de casa-de-vegetação, e avaliadas pela observação e descrição dos sintomas a cada 2 a 3 dias, até 40 dias após a inoculação

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Determinação da gama de hospedeiros do isolado viral ToId-1

Na Tabela 01 são apresentados os resultados dos testes de gama de hospedeiros dos ensaios de inoculação do isolado ToId-1:

**TABELA 01** Gama de hospedeiro - Reação das espécies indicadoras inoculadas com o isolado viral ToId-01, LAVIV, UFU, Uberlândia-MG.

PLANTA INDICADORA	REP 01(*/**)	REP 02(*/**)	SINTOMAS
Maria pretinha	(0/3)	(3/3)	Mos
Berinjela 'Roxa'	(0/11)	(1/11)	Mos intenso nas folhas inoculadas, Nan
Pimenta 'Dedo de moça'	(3/3)	(3/3)	LLN
Jiló 'Tinguá'	(12/12)	(8/12)	LLN com anéis em todas as plantas; Nec, SISis
Alface	(0/14)		SSin
Abobrinha 'Caserta'	(0/11)		SSin
Pepino	(0/12)		SSin
Pimentão 'Magaly'	((1/2)		Nef, Rcp
Pimenta 'Malagueta'	(0/5)		SSin
Tomate 'Débora max'	(2/2)		AmN,MosA,Def, ELF
Tomate 'Olympo'	(2/2)		MosA, Nan, Def severa
Tomate 'SantaClara'	(2/2)		AmN, MosA e pouca Def
Tomate 'Jumbo'	(3/3)		Leve AmN, Def, Rcp e Mos
<i>Datura stramonium</i>	(8/8)	(8/8)	LLN
<i>Nicandra physaloides</i>	(0/1)		SSin
<i>Nicotiana tabacum</i> 'TNN'	(4/4)		LLN
<i>N. tabacum</i> 'white burley'	(2/2)		LLN
<i>Physalis floridana</i>	(8/8)	(8/8)	Mos, Def, Rcp, Rcf
<i>Chenopodium amaranthicolor</i>	(10/10)	(11/11)	LLN, SISis
<i>C. quinoa</i>	(10/10)	(10/10)	LLC, CISis
<i>Petunia hibrida</i>	(8/8)	(8/8)	Mos, Rcp, Nec (LLN)
<i>Chenopodium album</i>	(4/5)		LLN
<i>Nicotiana rustica</i>	(4/4)		LLC e LLN

(\*) - Número de plantas com sintomas/ (\*\*) - Número de plantas inoculadas

**Sintomas:** LLN (lesão local necrótica); LLC (lesão local clorótica); Mos (mosaico); Def (deformação foliar); Rcp (redução do crescimento da planta e do limbo); Rcf (redução do crescimento foliar); AmN (amarelecimento das nervuras); Nan (nanismo); MosA (mosaico amarelo); Nec (necrose); SISis( sem infecção sistêmicas); ELF (enrolamento do limbo foliar); CISis ( com infecção sistêmica)

Segundo Agrios (2005), a técnica de transmissão mecânica é importante no aspecto experimental para avaliação da gama de hospedeiros, avaliação da resistência de plantas a infecção pelo vírus, sendo essa transmissão realizada na presença de um tampão que estabiliza o PH do extrato vegetal e contém reagentes essenciais para impedir a degradação da partícula viral.

A inoculação do isolado viral ToId-01 nas 23 plantas testes e/ou indicadoras (Tabela 01) para avaliação da gama de hospedeiros, evidenciou que as espécies Maria pretinha, berinjela ‘Roxa’, pimenta ‘Dedo de moça’, jiló ‘Tinguá’, pimentão ‘Magaly’, tomate ‘Débora Max’, ‘Olympo’, ‘Jumbo’ e ‘Santa clara’, *D. stramonium*, *N. tabacum* ‘TNN’, *N. tabacum* ‘White burley’, *Physalis floridana*, *C. amaranthicolor*, *C. quinoa*, *Petunia hibrida*, *C. album* e *N. rustica*, mostraram-se suscetíveis ao isolado ToId-1. Algumas destas espécies como, Maria pretinha, *D. stramonium*, *Physalis floridana*, podem servir como reservatório deste vírus, constituindo fonte de inoculo para culturas implantadas, dificultando o controle desse vírus em condições de campo.

As plantas como *N. physaloides*, alface, jiló ‘Tinguá’, pimenta ‘Dedo de moça’, abobrinha ‘Caserta’, pepino e pimenta ‘Malagueta’, não apresentaram sintomas visuais (Tabela 01), e foram testadas, realizando-se a retroinoculação das mesmas em cultivares de tomate para verificação de infecção viral latente.

Espécies com sintomas locais foram selecionadas ao acaso, para realizar a inoculação com o macerado de suas folhas jovens com a intenção de reproduzir os sintomas do isolado original e descartar a possibilidade de contaminação com outros vírus.

Observa-se que o isolado viral ToId-01 possui facilidade de ser transmitido mecanicamente, o que indica que ele pode pertencer a espécies virais que tenham a mesma facilidade de serem transmitidos mecanicamente.

Segundo Kurozawa e Pavan (1997), os tospovírus podem ser transmitidos mecanicamente pelo extrato de plantas infectadas. O ToMV é facilmente transmitido por contato ou por operações culturais (transplantio, desbrota, amarrio, etc).

De acordo com Kurozawa e Pavan (1997), o vírus PVY, parece não ser transmitido por semente e dificilmente por contato mecânico, sendo seu principal meio de disseminação os insetos. Segundo Zitter (1991), o vírus TYTV (topo amarelo) não é transmitido mecanicamente ou por semente. Buck e Coutts (1985), afirmam que a transmissão mecânica do TGMV (germinivírus) de tomate para tomate tem sido efetuada com extrema dificuldade.

Portanto, considerando estas citações acima, as chances do isolado viral ToId-1 pertencer às espécies virais do tospovírus ou ToMV são maiores do que às espécies virais tais

como PVY, TYTV e TGMV.

#### 4.2 Determinação de infecção assintomática

A Tabela 02 apresenta os resultados das retroinoculações, sendo elas realizadas nas seguintes datas, 27/09/2006; 25/10/2006; 24/11/2006, respectivamente, para a primeiro, segundo e terceiro teste de retroinoculação. As cultivares de tomate utilizadas em cada teste foram ‘Sta Cruz Kada’, ‘Jumbo’, e ‘Sta clara’, respectivamente.

Tabela 02: Teste de retroinoculação de plantas indicadora da gama de hospedeiro em tomateiro (*Lycopersicum esculentum*), LAVIV, UFU, Uberlândia-MG.

Teste	Fonte de inóculo		Tomateiro		
	Indicadora	Sintomas	Cultivar	Quant. (*/**)	Sintoma
Primeiro	<i>Nicandra physaloides</i>	SSin	Santa Cruz Kada	(2/2)	Mos
Segundo	Alface	SSin	‘Jumbo’	(0/2)	SSin
	Jiló ‘Tinguá’	Mos e nec		(0/1)	SSin
	Jiló ‘Tinguá’	SSin		(0/2)	SSin
	Pimenta ‘Dedo de moça’	SSin		(0/2)	SSin
	Abobrinha ‘Caserta’	SSin		(0/2)	SSin
	Pepino	SSin		(0/2)	SSin
Terceiro	Berinjela ‘Roxa’	1 planta com Mos	‘Santa clara’	(2/2)	MosD, Def e Encr
	Pimentão ‘Magaly’	1 planta com nec		(2/2)	MosD, Def e Encr
	Pimenta ‘Malagueta’	SSin		(0/2)	SSin

(\*/\*\*) - Número de plantas com sintomas/Número de plantas inoculadas

**Sintomas:** MosD (mosaico dourado); Def (deformação do limbo foliar); Encr (encrespamento); SSin (sem sintoma); Mos (mosaico); Nec (necrose).

Em relação a espécie *N. physaloides* que não apresentou sintomas locais e sistêmicos quando inoculada com o isolado viral ToId-1, ao realizar a retroinoculação do macerado de suas folhas jovens em planta de tomate, cv. Santa cruz kada (Tabela 02), observou-se sintomas de mosaico nesta planta indicadora; esse resultado confirma que a espécie *N. physaloides* é uma planta assintomática.

As outras espécies como alface, jiló ‘Tinguá’, pimenta ‘Dedo de moça’, abobrinha ‘Caserta’ e pimenta ‘Malagueta’, que também não apresentaram sintomas quando inoculadas com o isolado ToId-1, foram testadas fazendo-se o macerado de suas folhas jovens para

inoculação em tomate ‘Jumbo’ (Tabela 02), e verificou-se que não foi reproduzido sintomas nesta planta indicadora. Esse fato mostra que essas espécies não tinham sintomas sistêmicos, isto sugere que estas plantas não pertencem a gama de hospedeiros do ToId-1. Porém não é possível afirmar que as mesmas não são assintomáticas quanto a sintomas locais, pois não foram usadas as folhas que foram inoculadas com o vírus ToId-01(folhas mais velhas) para o teste.

#### 4.3 Diagnose da infecção viral em amostras foliares de tomateiro de campo

Na Tabela 03 é mostrado os resultados do teste de transmissão mecânica realizados com as amostras foliares de tomateiro de campo, com seus respectivos sintomas, as quais foram inoculadas em plantas de tomate, cv. Santa Clara e em *Nicotiana rustica*, cv. Brasília.

**TABELA 03.** Resultados das inoculações das amostras de campo em plantas teste, LAVIV, UFU, Uberlândia-MG.

Código	AMOSTRA Sintomas de campo	TOMATE, CV. STA CLARA		<i>N. rustica</i> , CV. BRASÍLIA	
		Quant. (*/***)	Sintomas	Quant. (*/***)	Sintomas
A1	Mos suave, sem Def	(0/1)	SSin	(0/2)	SSin
A2	MosD, com Def	(0/1)	SSin	(0/2)	SSin
A3	vira-cabeça	(1/1)	Mos suave	(2/2)	NecSis
A4	MosD, Am, pouca Def	(1/1)	SSin	(0/2)	SSin
A5	Mos suave,sem Def	(0/1)	SSin	(0/2)	SSin
B1	AmN e entre elas	(1/1)	SSIn	(0/2)	SSin
B2	MosD, Def, Rcp	(0/1)	SSin	(0/2)	SSin
B3	MosD, Rcp	(1/1)	SSin	(0/2)	SSin
B4	MosD e vira-cabeça	(0/1)	SSin	(0/2)	SSin
B5	MosD, Def, Rcp	(0/1)	Ssin	(0/2)	SSin
B6	MosD, Def, Rcp	(0/1)	SSin	(0/2)	Ssin

(\*/\*\*\*) - Número de plantas com sintomas/Número de plantas inoculadas

**Sintomas:** MosD (mosaico dourado); Def (deformação foliar); Rcp (redução do crescimento da planta); Mos (mosaico); SSin (sem sintoma); AmN (amarelecimento das nervuras); Nec (necrose); NecSis (necrose sistêmica)

Foi encontrada na primeira área uma porcentagem de 60% das plantas sem sintomas e 40% com sintomas de mosaico dourado; Já na segunda área eram 4% de plantas sem sintomas, 83% com mosaico dourado e 13% com sintomas de vira-cabeça.

Amostras que continham mosaico dourado (A2, A4, B2, B3, B4, B5, B6); As amostras (A1 e A5) tinham sintomas de mosaico suave, sem deformação do limbo foliar; A única que continha sintomas somente de vira-cabeça foi a (A3); A amostra (B1) possuía amarelecimento das nervuras e entre elas.

Na Tabela 03, estão às amostras de campo, sendo cada uma com seus respectivos sintomas. As amostras A1, A2, A4, A5, B1, B2, B3, B4, B5 e B6, quando inoculadas em plantas de tomate, cv. Santa Clara e *N. rustica*, cv Brasília não reproduziram sintomas. Tais resultados podem ser devido a fatores como: as plantas estavam sadias e com sintomas de deficiência nutricional, os isolados virais contidos nessas amostras não possuem a característica de serem transmitidos mecanicamente; ou porque a eficiência de transmissão mecânica do vírus presente na amostra é muito baixa e o número de plantas testadas não foi o suficiente para a transmissão.

A amostra A3 (Tabela 03), que apresentava sintomas de vira-cabeça, ao realizar a inoculação do extrato da mesma em plantas de tomate, cv. Santa Clara e *N. rustica*, cv. Brasília obteve-se resultados diferentes das outras amostras, sendo que a planta teste tomate, cv. Santa Clara apresentou um leve mosaico em suas folhas e a espécie *N. rustica*, cv. Brasília reproduziu uma necrose que se espalhou por toda a planta. Este resultado está de acordo com os autores Kurozawa e Pavan (citado por Kimati. et al., 1997), onde afirmam que os tospovírus podem ser transmitidos mecanicamente pelo extrato vegetal de plantas infectadas. Ao comparar os sintomas causados pela amostra A3 (Tabela 03) em *N. rustica* com os sintomas reproduzidos na mesma planta indicadora, pelo isolado viral ToId-01 (Tabela 01), pode-se perceber que esses vírus não fazem parte da mesma espécie viral pois, o isolado provocou lesões locais necróticas em *N. rustica* e a amostra A3, que continha sintomas de vira-cabeça provocou uma necrose generalizada nesta planta teste.

Pelos sintomas observados nas amostras de campo, pelos resultados que essas reproduziram nas plantas testes, bem como pela dificuldade de transmissão mecânica desses vírus, fica evidente que não havia a presença do isolado viral ToId-1 nas plantas destas áreas, na época em que foram coletadas essas amostras.

#### **4.4 Análise da gama de hospedeiros do isolado viral ToId-1**

Na Tabela 4 encontram-se os sintomas causados pelos principais vírus que infectam o tomateiro quando inoculados em plantas indicadoras, comparando-os com os sintomas causados pelo isolado viral ToId-1 inoculado nas mesmas.

**TABELA 4:** Sintomas das principais viroses do tomateiro comparados aos sintomas reproduzidos pelo isolado viral ToId-01, LAVIV, UFU, Uberlândia-MG.

Plantas Indicadoras	ToMV <sup>1</sup>	TMV <sup>2</sup>	PVY <sup>3</sup>	TSWV <sup>4</sup>	ToId-1
<i>Nicotiana tabacum</i> , cv. <i>White burley</i>	LLN, sem infecção sistêmica; certos isolados colonizam sistematicamente	Folhas novas com nervuras claras; infecção sistêmica, seguida por Mos e Def.	Clareamento das nervuras, e mosquitoado sistêmicos	Sem informação	LLN
<i>N. rustica</i>	LLN	Mosquitoado e necrose	Sem informação	Manchas cloróticas, clareamento das nervuras e Mos	LLN
<i>D. stramonium</i>	LLN, sem infecção sistêmica	Susceptível experimentalmente	imune	Sem informação	LLN
<i>Chenopodium quinoa</i>	LLN ou LLC, causando mosquitoados; sintomas sistêmicos variam de severos a assintomáticos	LLN	LLN	LLN	LLC, infecção sistêmica
<i>C. amaranthicolor</i>	Idem ao <i>C. quinoa</i>	LLN	LLN	LLN	LLN, sem infecção sistêmica
<i>Physalis floridana</i>	Susceptível experimentalmente	Susceptível experimentalmente	LLN	LLN, Mos	Mos, def, Rcp, Rcf
<i>Lycopersicum esculentum</i>	Mos, com manismo no inverno	Sem informação	Mosquitoado suave	Bronzeamento e mosquitoado	MosA, Rcp e Def
<i>Nicandra physaloides</i>	Susceptível experimentalmente		LLN		Infecção assintomática
<i>Petunia hibrida</i>	LLN	Não suscetível experimentalmente	Sem informação	LLN	Mos, Rcp, Nec

(<sup>1</sup>) **ToMV**-*Tomato mosaic virus* (Hollings e Huttinga, 1976. ICTVdB Management, 2006b)

(<sup>2</sup>) **TMV**-*Tabacco virus* Zaitlin e Israel, 1975. ICTVdB Management 2006c)

(<sup>3</sup>) **PVY**-*Potato virus Y* (Delgado-Sanchez e Grogan, 1970. ICTVdB Management 2006a)

(<sup>4</sup>) **TSWV**- *Tomato spotted wilt virus*; (de Ávila, et all, 1993)

**Sintomas:** LLN (lesão local necrótica); LLC (lesão local clorótica); Mos (mosaico); Def (deformação foliar); Rcp (redução do crescimento da planta e do limbo); Rcf (redução do crescimento foliar); MosA (mosaico amarelo); Nec (necrose);

Em relação à Tabela 04 a qual compara os sintomas das principais viroses do tomateiro com os sintomas do isolado original ToId-1 em plantas indicadoras, mostra que através da espécie *D. stramonium* pode-se dizer que o vírus ToId-01 não pertence à espécie viral PVY (mosaico y) pois, essa planta é imune ao vírus PVY mas é suscetível ao isolado viral ToId-1. O mesmo ocorre para a espécie *Petúnia híbrida* em relação ao vírus TMV, pois essa espécie não é suscetível experimentalmente ao TMV e foi suscetível ao vírus ToId-1 com sintomas de mosaico, redução do crescimento da planta e necrose.

As espécies *C. amaranthicolor* e *C. quinoa*, não possuem sintomas característicos que ajudem a diferenciar os vírus encontrados na Tabela 04, pois os sintomas são iguais para todas as espécies virais.

Segundo Hollings e Huttinga (1976) a maioria das hospedeiras suscetíveis ao ToMV reage produzindo lesões locais necróticas (LLN), algumas vezes seguidas por mosaico ou mosqueado sistêmico e necrose. Portanto ao comparar os sintomas causados pelo ToMV na maioria das espécies indicadoras na Tabela 04 e os sintomas causados pelo ToId-1, percebe-se a semelhança desses dois vírus. As espécies que evidenciam essa semelhança são: *N. tabacum*, cv. White burley, *N. rustica*, *D. stramonium*, *N. physaloides* e *L. esculentum*, sendo que destas citadas as quatro primeiras apresentaram lesões locais necróticas, o que concorda com a afirmação dos autores Hollings e Huttinga (1976).

## 5 CONCLUSÕES

Os sintomas observados nas plantas indicadoras inoculadas com o isolado viral ToId-1, indicam que ele pertence a espécie viral *Tomato mosaic virus* (ToMV).

As plantas *Nicotiana tabacum*, cv. White burley e cv. TNN, *N. rustica*, *Datura stramonium*, *Chenopodium amaranthicolor*, *C. quinoa*, *Licopersicum esculentum*, *Physalis floridana*, *Nicandra physaloides*, maria pretinha, berinjela ‘Roxa’, jilo ‘Tingua’ *Petunia hybrida* pertencem a gama de hospedeiro do isolado ToId-1

Espécies como alface, abobrinha ‘Caserta’, pepino e pimenta ‘Malagueta’, não apresentaram sintomas quando inoculadas com o isolado ToId-01; Porém não ficou comprovado se essas espécies são assintomáticas em relação a infecção nas folhas inoculadas (sintomas locais), mas fica evidente que não são assintomáticas quanto a infecção sistêmica.

No teste de transmissão mecânica, usando-se a técnica de EVT, as amostras coletadas no campo, mostrou que os sintomas observados nas plantas de tomate no campo (vira-cabeça, mosaico dourado e mosaico amarelo), não são causados pelo vírus facilmente transmitidos mecanicamente ou representa deficiência nutricional ou toxicidade de insetos.

As plantas alface, abobrinha ‘Caserta’, pepino, pimenta ‘Malagueta’, não apresentaram sintomas de infecção local nem sistêmica e provavelmente não pertencem a gama de hospedeiros do ToId-1.

A inoculação em plantas de tomate do extrato vegetal das folhas de tomateiro das amostras coletadas no campo em plantas teste indicaram que este vírus não ocorria em plantas de tomate na região onde o isolado ToId-01 foi coletado no ano anterior.

## REFERÊNCIAS

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology.** 5<sup>a</sup> ed. New York. Academic Press, inc. 2005.929 p.

AMBROZEVÍCIUS, L.P.; CALEGARIO, R.F.; FONTES, E.P.B.; CARVALHO, M.G.; ZERBINI, F.M. Diversidade genética de begomovirus infectando o tomateiro e plantas daninhas no Sudeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n 4, p. 372-377, 2002.

BERGAMIN-FILHO, A.; KIMATI, H; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**, v. 1. São Paulo, Editora CERES, 3<sup>a</sup> Ed. 919 p. 1995.

BORGES NETO, C.R.; CUPERTINO, F.P.; SILVA, A.M.R.; DUSI, A.N.; COSTA, C.L. Transmissão do vírus do topo amarelo do tomateiro pelo pulgão vermelho do fumo, *Myzus nicotianae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 19, p.307. 1994.

BUCK, K.W.; COUTTS, R.H.A. Tomato Golden mosaic virus. **CMI/AAB description of plant viruses**. Perthshire, United Kingdon, n. 303, p.1-6. 1985.

CANER. J.; COLARICCIO; A.; CHAGAS, C.M.; ALBA, A.P.C.; VICENTE, M. Identificação de um isolado do vírus do mosaico do tomateiro (ToMV) no estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.15, p.347-350. 1990.

De ÁVILA A.C., INOUE-NAGATA, A.K., COSTA. H., BOITEUX, L.S., NEVES, L.O.Q., PRATES, R.S., BERTINI, L.A. Ocorrência de viroses em tomate e pimentão na região serrana do estado de Espírito Santo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v.2, p. 655-658, 2004.

De ÁVILA, A.C.; HAAN, P.; SMEETS, M.L.L.; RESENDE, R.O.; KITAJIMA, E.W.; GOLDBACH, R.W.; PETERS, D. Distinct levels of relationships between tospovirus isolates. **Archives of Virology**, New York, v. 128, n.3-4, p. 211-227, 1993

DELGADO-SANCHEZ, S; GROGAN, R.G. **Potato Virus Y. C.M.I/A.A.B. Descriptions of Plant Viruses**, Perthshire, United Kingdon, n. 37, 5 p, october 1970.

DIANESE, E.C.; RESENDE, R.O.; INOUE-NAGATA, A.K. Alta incidência de *Pepper yellow mosaic virus* em tomateiro em região produtora no Distrito Federal. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v. 33, n. 1, p. 67-68, 2008

FERNANDES, J.J., CARVALHO, G. M., ALMEIDA G. E.,Distribuição do Mosaico Comum em Tomatais de duas regiões produtoras de Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF., v.8, n.3, p.625. 1983.

FILGUEIRA, F.A.R., FERNANDES, J.J., REZENDE, E.A., ZERBINI, F.M., ZAMBOLIM, E.M., GILBERTSON, R.L. Geminivirus in plurilocular tomato cultivars grown under plastic greenhouse conditions in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **FIRST INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE PROCESSING TOMATO AND FIRST INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TROPICAL TOMATO DISEASES**. Recife, *Anais...*, 1996.

HASAN, S.; THOMAS, P.E. Etiological distinctions between Tomato yellow top vírus and Potatot leafroll and beet western yellows viruses. **Plant Disease**, St. Paul, v.68. p.684-685. 1984.

HOLLINGS, M; HUTTINGA, H. Tomato mosaic virus. **C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses**, september 1976. Nº 156. 6 p.

HUTTINGA, H.; RAST, Th.B. Tomato mosaic tobamovirus. IN: BRINT, A.A.; CRABTREE, K.; DALLWITZ, M.J.; GIBBS, A.J.; WATSON, L. (Ed.). **Viruses of Plant: Descriptions and Lists from the VIDE Database**. CAB International. UK. 1997. 1484 p.

ICTVdB Management (2006)a. 00.057.0.01.001. **Potato virus Y**. In: *ICTVdB - The Universal Virus Database*, version 4. BÜCHEN-OSMOND, C. (Ed), Columbia University, New York, USA. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/>, acesso dia 28/03/08

ICTVdB Management (2006)b. 00.071.0.01.012. **Tobacco mosaic virus**. In: *ICTVdB - The Universal Virus Database*, version 4. BÜCHEN-OSMOND, C. (Ed), Columbia University, New York, USA <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/index.htm>, acesso 04/04/2008, 15:57h

ICTVdB Management (2006)c. 00.071.0.01.013. **Tomato mosaic virus**. In: *ICTVdB - The Universal Virus Database*, version 4. BÜCHEN-OSMOND, C. (Ed), Columbia University, New York, USA <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/index.htm>, acesso em 04/04/008, 15:55h

INOU-NAGATA, A.K.; FONSECA, M.E.N.; RESENDE, R.O.; BOITEUX, L.S.; MONTE, D.C.; DUSI, N.A.; de ÁVILA, A.C.; VAN DER VLUGT, R.A.A. Pepper yellow mosaic virus, a new potyvirus in swipecpper, *Capsicum annum*. **Archives of Virology**, New York, v.147, p.849-855. 2002.

KIMATI, H.; AMORIM, L.A; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia**: doenças de plantas cultivadas. 2<sup>a</sup>. ed. V. 1. São Paulo: Agronômica Ceres Ltda, 774 p, 1997.

LOPES, C.A.; SANTOS, J.R.M. **Doenças do tomateiro**. Brasília; DF; Embrapa- SPI. 1994. 37-43 p.

LOURENÇO, A.L.; SIQUEIRA, W.I.; 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 vírus* e a *Potato vírus y*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF., v.30, p.609-614. 2005.

MAFFIA. L.A.; MARTINS, M.C. del P.; MATSUOKA. K. Doenças do tomateiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.6, n.66, p.42-60. 1980.

MATYIS, J.C.; SILVA, D.M.; OLIVEIRA, A.R.; COSTA, A.S. Purificação e morfologia do vírus do mosaico dourado do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu ,v. 1, p. 267-274, 1975.

MICHELSON, I.; ZAMIR, D.; CZOSNEK, H. Accumulation and translocation of Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) in a *Lycopersicon esculentum* breeding line containing the *L. chilense* TYLCV tolerance gene Ty-1. **Phytopathology**, St. Paul, v.84, p.928-933. 1994.

RIBEIRO, S.G.; MELLO, L.V.; BOITEUX, L.S.; KITAJIMA, E.W.; FARIA, J.C. Tomato infection by a geminivirus in the Federal District, Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF., v.19, p.330. 1994.

WALKEY, D.G.A. **Applied Plant Virology**. London: Heinemann. 1985. 329p.

WIJ. KAMP, I. **Vírus-vector relationships in the transmission of tospoviruses**. Wageningen, Wageningen Agricultural University. 1995. 143 f. Tese doutoramento (Fitopatologia). Wageningen, 1995.

ZAITLIN, M.; ISRAEL, H.W. Tobacco mosaic virus (Type strain). **C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses**, october 1975. N. 151. 5 p..

ZAMBOLIM, L.; RIBEIRO, F.X; COSTA, H. **Controle de doenças de plantas**. Viçosa: ed. Suprema Gráfica e Editora Ltda, 2000. p. 843-868.

ZERBINI JR., F.M.; CARVALHO, M.G.; MACIEL-ZAMBOLIM, E. **Introdução à Virologia Vegetal**. Editora-UFV, Viçosa-MG, 145 p. 2002. (Apostila)

ZERBINI, F.M.; MACIEL-ZAMBOLIM, E.; FERNANDES, J.J.; GILBERTSON, R.L.; CARRIJO, I.V. Um novo geminivirus isolado de tomateiro (*L. esculentum* L.) em Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF., v. 21(Suplemento), p.430, 1996.

ZITTER, T.A. Diseases Caused by viruses. In: JONES, J.B.; JONES, J.P.; STALL., R.E.; ZITTER, T.A. (ed.). **Compendium of tomato diseases**. St. Paul: APS Press. 1991. p. 31-42.