

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Diversidade de moscas-brancas em tomateiro (*Solanum lycopersicum*) na região metropolitana de Belo Horizonte, e evolução molecular do tomate severe rugose virus (ToSRV)

Franciely Maria Pereira de Resende
Doctor Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2024**

FRANCIELY MARIA PEREIRA DE RESENDE

Diversidade de moscas-brancas em tomateiro (*Solanum lycopersicum*) na região metropolitana de Belo Horizonte, e evolução molecular do tomate severe rugose virus (ToSRV)

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Francisco M. Z. Junior

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

R433e
2024

Resende, Franciely Maria Pereira de, 1992-

Diversidade de moscas-brancas em tomateiro (*Solanum lycopersicum*) na região metropolitana de Belo Horizonte, e evolução molecular do tomate severe rugose virus (ToSRV) / Franciely Maria Pereira de Resende. – Viçosa, MG, 2024.

1 tese eletrônica (127 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Francisco Murilo Zerbini Júnior.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Fitopatologia, 2024.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.111>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Tomato severe rugose virus - Evolução. 2. Begomovírus.
3. Mosca-branca. 4. Tomate - Doentes e pragas. I. Zerbini Júnior,
Francisco Murilo, 1966-. II. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Fitopatologia. Programa de Pós-Graduação em
Genética e Melhoramento. III. Título.

CDD 22. ed. 579.28

FRANCIELY MARIA PEREIRA DE RESENDE

Diversidade de moscas-brancas em tomateiro (*Solanum lycopersicum*) na região metropolitana de Belo Horizonte, e evolução molecular do tomate severe rugose virus (ToSRV)

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 16 de dezembro de 2024.

Assentimento:

Franciely Maria Pereira de Resende
Autora

Francisco Murilo Zerbini Junior
Orientador

Essa tese foi assinada digitalmente pela autora em 13/03/2025 às 18:25:36 e pelo orientador em 13/03/2025 às 19:25:04. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **3Z6S.799H.6GFB** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos

A Deus e Nossa Senhora, pelos momentos bons, ruins, felizes e, principalmente, por ter me dado força para superar os difíceis

À minha mãe Marisa pelo carinho, amor e apoio, por não medir esforços para me ajudar.

Ao meu pai Antônio (in memorian), que mesmo ausente sempre se fez presente, pelo apoio de sempre.

À minha irmã Fátima pelo companheirismo, cumplicidade, pela força e amor. Por ser minha inspiração.

Ao meu namorado Rafael, pelo amor, atenção e apoio incondicional. Por ser meu porto seguro durante o processo.

Sem vocês nada disso seria possível.

Aos amigos que conquistei durante esta jornada, e a todos aqueles que estiveram juntos de mim nos momentos bons e ruins, obrigada pela amizade.

Ao meu orientador, Prof. Murilo Zerbini, pela confiança, incentivo e apoio.

Aos amigos e companheiros do Laboratório de Ecologia e Evolução de Vírus.

Aos membros da banca, pela disposição e pelas contribuições que complementaram o trabalho.

À Capes, CNPq UFV, Bioagro e PPGGM, pelo suporte e oportunidade de realizar a pesquisa. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

RESENDE, Franciely Maria Pereira de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2024. **Diversidade de moscas-brancas em tomateiro (*Solanum lycopersicum*) na região metropolitana de Belo Horizonte, e evolução molecular do tomate severe rugose virus (ToSRV)**. Orientador: Francisco Murilo Zerbini Junior.

Begomovírus (família *Geminiviridae*) são responsáveis por perdas em culturas de interesse econômico, incluindo o tomateiro. A presença de um vetor eficiente é um fator ecológico primário que impulsiona a expansão da gama de hospedeiros de vírus de plantas transmitidos por artrópodes, com vetores desempenhando um papel essencial no surgimento de doenças. Begomovírus são transmitidos por moscas-brancas do complexo de espécies crípticas *Bemisia tabaci*, que possui um alto grau de diversidade inter- e intraespecífica. Com o objetivo de caracterizar a diversidade das populações de moscasbrancas na região metropolitana de Belo Horizonte, um total de 358 indivíduos foram genotipados com base na amplificação por PCR de um locus microssatélite que diferencia *Bemisia tabaci* Mediterranean (MED) e *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1). *Bemisia tabaci* MED foi a espécie predominante, enquanto *B. tabaci* MEAM1 esteve presente em níveis muito baixos. Os resultados indicaram também uma baixa incidência do begomovírus tomate severe rugose virus (ToSRV), apesar da alta infestação de mosca-branca. Objetivou-se também nesse trabalho analisar a dinâmica espaço-temporal do ToSRV em áreas cultivadas. Foram analisados 333 sequências completas de DNA-A e 129 de DNA-B, incluindo sequências determinadas neste trabalho e sequências previamente descritas a partir de diversos hospedeiros cultivados e não-cultivados e disponíveis no *GenBank*. Comparações de sequências indicaram uma alta identidade entre todos os isolados, e um baixo grau de variabilidade genética foi comprovado pelos valores de diversidade nucleotídica obtidos para os dois componentes. Uma segregação quase perfeita com base em geografia foi observada nas árvores filogenéticas baseadas no DNA-A e no DNA-B, evidenciando a estruturação dos isolados de ToSRV em 10 e 6 clados para o DNA-A e DNA-B, respectivamente. A rede filogenética inferida revelou evidências de recombinação intraespecífica para ambos os componentes, e uma análise mais detalhada identificou seis eventos de recombinação para o DNA-A e dois eventos de recombinação para o DNA-B. Análise discriminante de componentes principais (DAPC) nos mesmos conjuntos de dados confirmou a estruturação em 10 (DNA-A) e 6 (DNA-B) subpopulações. As diferenças na variabilidade genética entre os grupos inferidos filogeneticamente são consistentes com a subdivisão populacional. Em

conjunto, os resultados indicam que o ToSRV evolui localmente, de forma lenta, sem fluxo gênico/migração significativos, e a baixas taxas de substituição.

Palavras-chave: variabilidade genética; ToSRV; recombinação

ABSTRACT

RESENDE, Franciely Maria Pereira de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2024. **Diversity of whiteflies in tomato (*Solanum lycopersicum*) in the metropolitan region of Belo Horizonte, and molecular evolution of tomato severe rugose virus (ToSRV)**. Adviser: Francisco Murilo Zerbini Junior.

Begomoviruses (family *Geminiviridae*) are responsible for losses in crops of economic interest, including tomato. The presence of an efficient vector is a primary ecological factor driving the expansion of the host range of arthropod-borne plant viruses, with vectors playing an essential role in disease emergence. Begomoviruses are transmitted by whiteflies of the cryptic species complex *Bemisia tabaci*, which has a high degree of interand intraspecific diversity. In order to characterize the diversity of whitefly populations in the metropolitan region of Belo Horizonte, a total of 358 individuals were genotyped based on PCR amplification of a microsatellite locus that differentiates *B. tabaci* Mediterranean (MED) and *B. tabaci* Middle East-Asia Minor (MEAM1). *Bemisia tabaci* MED was the predominant species, while *B. tabaci* MEAM1 was present at very low levels. The results also indicated a low incidence of tomato severe rugose virus (ToSRV), despite the high infestation of whiteflies. The aim of this study was also to analyze the spatiotemporal dynamics of ToSRV in cultivated areas. A total of 333 complete DNA-A and 129 DNA-B sequences were analyzed, including sequences determined in this study and previously described sequences from several cultivated and non-cultivated hosts and available in *GenBank*. Sequence comparisons indicated a high identity among all isolates, and a low degree of genetic variability was confirmed by the nucleotide diversity values obtained for both components. An almost perfect segregation based on geography was observed in the phylogenetic trees based on DNA-A and DNA-B, evidencing the structuring of ToSRV isolates into 10 and 6 clades for the DNA-A and the DNA-B, respectively. The inferred phylogenetic network revealed evidence of intraspecific recombination for both components, and further analysis identified six recombination events for the DNA-A and two recombination events for the DNA-B. Discriminant analysis of principal components (DAPC) on the same datasets confirmed the structuring into 10 (DNA-A) and 6 (DNA-B) subpopulations. Differences in genetic variability between the phylogenetically inferred groups are consistent with population subdivision. Taken together, the results indicate that ToSRV evolves locally, slowly, without significant gene flow/migration, and at low substitution rates.

Keywords: genetic variability; ToSRV; recombination

SUMÁRIO

Introdução Geral	9
Capítulo 1. Diversidade de moscas-brancas (<i>Bemisia</i> spp.), vetoras de begomovírus, em tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>) na região metropolitana de Belo Horizonte.....	18
Resumo	20
Abstract.....	21
Introdução	22
Material e Métodos	25
Resultados.....	28
Discussão	30
Referências.....	32
Legendas das figuras.....	38
Capítulo 2. Evolução molecular do tomato severe rugose virus (ToSRV).....	45
Resumo	47
Abstract.....	48
Introdução	49
Material e Métodos	52
Resultados e Discussão.....	58
Referências.....	68
Legendas das figuras.....	89
Conclusões gerais	127

INTRODUÇÃO GERAL

O tomateiro (*Solanum lycopersicum*) está entre as hortaliças mais economicamente e socialmente essenciais em todo o mundo. No Brasil, a produção anual é de cerca de 4,1 milhões de toneladas, conforme dados de 2024 (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2024). Essa produção destaca o país como um dos principais produtores globais, refletindo a importância do tomate na economia agrícola brasileira e na alimentação da população.

Um dos maiores desafios desse setor está relacionado à incidência de doenças, que representam uma ameaça significativa à segurança alimentar global, comprometendo as lavouras nacionais e mundiais, além de representar grandes perdas de lucro para o setor agrícola (Strange & Scott, 2005). Os efeitos destas desordens variam desde sintomas leves até epidemias nas quais grandes áreas plantadas para a produção de alimentos são destruídas. Em termos biológicos, as doenças são difíceis de serem controladas porque as populações de patógenos são variáveis no tempo e no espaço.

Os vírus são considerados um dos patógenos de plantas mais devastadores, sendo superados apenas pelos fungos no número de doenças em culturas agrícolas e nos seus impactos socioeconômicos (Nicaise, 2014). Os vírus podem causar perdas no rendimento das culturas superiores a 60%, e devido à natureza intracelular obrigatória de seu parasitismo, as medidas de controle são menos eficazes do que para outros agentes patogênicos (Nicaise, 2014). Além disso, os vírus têm sido considerados a principal classe de patógenos emergentes (García-Arenal & Zerbini, 2019), uma vez que um grande número de doenças que surgiram nas últimas décadas são causadas por vírus, não apenas em plantas mas também em animais, incluindo humanos (Anderson *et al.*, 2004; García-Arenal & Zerbini, 2019).

As doenças virais, especialmente aquelas causadas por vírus pertencentes ao gênero *Begomovirus* da família *Geminiviridae*, estão entre os principais problemas fitossanitários do tomateiro no Brasil, com relatos de incidência e perdas de até 100% (Inoue-Nagata *et al.*, 2016; Rojas *et al.*, 2018).

Os vírus classificados na família *Geminiviridae* estão entre os mais relevantes entre todos os vírus de plantas, pois podem causar graves perdas em diversas culturas de grande importância econômica em regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo, incluindo algodoeiro (*Gossypium hirsutum*), cucurbitáceas (*Cucurbita* spp. e *Cucumis* spp.), feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*), mandioca (*Manihot esculenta*), pimenta e pimentão (*Capsicum* spp.) e tomateiro (*Solanum lycopersicum*) (Legg & Fauquet, 2004; Navas-Castillo *et al.*, 2011; Navas-Castillo *et al.*, 2000; Rojas *et al.*, 2018). Os geminivírus possuem genoma de DNA de fita simples (ssDNA) circular com aproximadamente 2.600 nucleotídeos (vírus monossegmentados) ou 5.200 (vírus bissegmentados), encapsidado em partículas icosaédricas geminadas com aprox. 22 x 38 nm.

Dentre os 15 gêneros da família (Fiallo-Olive *et al.*, 2021), o gênero *Begomovirus* contém o maior número de espécies e é o mais importante economicamente. De acordo com a organização genômica, distribuição geográfica e relacionamento filogenético, os begomovírus são divididos em dois grupos: Velho Mundo (VM; Europa, Ásia, África e Austrália) e Novo Mundo (NM; Américas) (Burger *et al.*, 1990; Padidam *et al.*, 1999; Paximadis *et al.*, 1999; Rybicki, 1994). A maioria dos begomovírus do NM possui genoma bissegmentado, consistindo de dois componentes denominados DNA-A e DNA-B. O DNA-A codifica proteínas associadas à replicação, supressão de respostas de defesa do hospedeiro e encapsidação (Hanley-Bowdoin *et al.*, 2013; Rojas *et al.*, 2005), enquanto o DNA-B codifica proteínas associadas ao movimento intra- e intercelular,

determinação de gama de hospedeiros e supressão de respostas de defesa (Brustolini *et al.*, 2015; Hanley-Bowdoin *et al.*, 2013; Rojas *et al.*, 2005). Os dois componentes não compartilham identidade de sequência, com exceção de uma região intergênica (denominada região comum, RC, no caso dos vírus bissegmentados), com aproximadamente 200 nucleotídeos, na qual a identidade entre o DNA-A e o DNA-B do mesmo vírus é superior a 85% (Briddon *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 1997).

Os begomovírus são transmitidos por moscas-brancas do complexo de espécies *Bemisia tabaci* (Brown *et al.*, 2015). Este complexo é composto por pelo menos 45 espécies morfológicamente indistinguíveis (Lee *et al.*, 2013), as quais são diferenciadas geneticamente com base na sequência do gene que codifica a citocromo oxidase I mitocondrial (mtCOI) (De Barro *et al.*, 2011; Dinsdale *et al.*, 2010). Duas espécies são as mais relevantes para a agricultura, pois são pragas altamente invasivas e polífagas: *Bemisia tabaci* Mediterranean (MED), previamente *B. tabaci* biótipo Q ou *B. tabaci* sensu stricto e *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1), previamente *B. tabaci* biótipo B ou *Bemisia argentifolii* (Campbell *et al.*, 2023; Gilbertson *et al.*, 2015; Vyskočilová *et al.*, 2018).

Além de transmitir begomovírus, as espécies do complexo *B. tabaci* também são capazes de transmitir vírus dos gêneros *Crinivirus*, *Ipomovirus*, *Carlavirus*, *Polerovirus*, *Torradovirus* e *Cytorhabdovirus* (Ghosh & Ghanim, 2021). A transmissão de ipomovírus, carlavírus e torradovírus ocorre de forma não-persistente, ao passo que a transmissão de begomovírus, crinivírus e polerovírus ocorre de forma persistente circulativa (a forma de transmissão de citorhabdovírus por *B. tabaci* ainda não foi elucidada). Na transmissão persistente circulativa, o vetor adquire o vírus ao se alimentar do conteúdo floemático de uma planta infectada. As partículas virais se movem ao longo do aparelho digestivo do inseto, mas não se replicam. O vírus atravessa a parede do lúmen intestinal e atinge a

hemolinfa, a partir da qual é translocado para as glândulas salivares e, conseqüentemente, para a saliva do inseto. As partículas virais são transmitidas a uma nova planta quando a mosca-branca secreta saliva ao introduzir o estilete no floema para se alimentar (Czosnek *et al.*, 2017; Hogenhout *et al.*, 2008).

Os begomovírus emergiram como importantes patógenos de plantas ao longo das décadas de 1970 e 1980 devido à dispersão global de *Bemisia tabaci* MEAM1 e MED (Gilbertson *et al.*, 2015). Dezenas de begomovírus surgiram na América Latina e no Caribe infectando feijoeiro, tomateiro, pimenta e pimentão (Morales, 2001; Ribeiro *et al.*, 1998), no continente africano infectando a mandioca (Legg & Fauquet, 2004), no subcontinente indiano infectando algodão e diversas hortaliças e leguminosas (Borah & Dasgupta, 2012; Briddon *et al.*, 2000) e em países do Mediterrâneo infectando diversas hortaliças (Navas-Castillo *et al.*, 2011). A rápida emergência de um grande número de vírus em diferentes locais sugere que populações locais presentes em hospedeiros nativos foram transferidas para plantas cultivadas pelos novos vetores (Legg *et al.*, 2015; Ribeiro *et al.*, 2003; Ribeiro *et al.*, 1998). Em apoio a essa hipótese, diversos trabalhos demonstraram que os begomovírus são relacionados com base em sua origem geográfica, e não com base em seus hospedeiros (Andrade *et al.*, 2006; Ndunguru *et al.*, 2005; Rocha *et al.*, 2013). Dessa forma, o papel ecológico e epidemiológico dos hospedeiros não-cultivados tornou-se evidente (Ferro *et al.*, 2017; García-Arenal & Zerbini, 2019).

No Brasil, os begomovírus que infectam o tomateiro emergiram ao longo da década de 1990, após a introdução de *B. tabaci* MEAM1 (Ribeiro *et al.*, 2003; Ribeiro *et al.*, 1998). Vários vírus surgiram em diferentes partes do país, mas com o tempo o tomato severe rugose virus (ToSRV; *Begomovirus solanumseverugosi*) tornou-se prevalente nas regiões Centro-Oeste e Sudeste, e o tomato mottle leaf curl virus (ToMoLCV; *Begomovirus solanummovariati*) na região Nordeste.

O ToSRV é o begomovírus mais difundido em plantios de tomateiro nas regiões Centro-Oeste e Sudeste do Brasil, englobando dois grandes biomas (Cerrado e Mata Atlântica) (Inoue-Nagata *et al.*, 2016). Populações de ToSRV tem um baixo grau de variabilidade genética, sem evidência de que a recombinação contribua significativamente para sua evolução (Lima *et al.*, 2013; Xavier *et al.*, 2021), o que é consistente com a hipótese de que o ToSRV é bem adaptado ao tomateiro e pimentão, e eventualmente é transmitido de volta para hospedeiros não-cultivados (*spillback*) pelo inseto vetor (Sande, 2014).

Apesar do papel fundamental do inseto vetor na disseminação de begomovírus, pouco se sabe sobre a dinâmica populacional dos begomovírus em seu vetor (Duffy *et al.*, 2008). Durante o processo de transmissão vetorial apenas algumas partículas virais são efetivamente depositadas na planta (Jia *et al.*, 2018; Stafford *et al.*, 2012), caracterizando um gargalo genético severo que pode ter efeitos profundos no desenvolvimento da doença em hospedeiros individuais, bem como na evolução das populações de vírus após rodadas sucessivas de transmissão. Os mecanismos moleculares que modulam a ocorrência dos gargalos genéticos durante a passagem dos begomovírus pelos diferentes órgãos do sistema digestivo de *B. tabaci* (estilete, esôfago, câmara de filtro, intestino médio e glândulas salivares) são pouco compreendidos.

A ampla distribuição de ToSRV no campo e sua alta adaptabilidade a plantas cultivadas fazem desse vírus um modelo atraente para estudar a dinâmica espaço-temporal de populações de begomovírus em plantas cultivadas. Além disso, considerando-se a grande importância socioeconômica da cultura do tomateiro e o impacto que as begomovirose causam à cultura, estudos sobre a variabilidade e estrutura genética do principal begomovírus que afeta a cultura podem auxiliar na elaboração de estratégias adequadas para o manejo da doença.

Assim, os objetivos deste trabalho foram: (i) estudar a dinâmica begomovírus-vetor no campo, verificando a incidência relativa de *B. tabaci* Mediterranean (MED) e *B. tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1); e (ii) estimar a variabilidade genética e verificar a estruturação da população de ToSRV, com um conjunto de dados incluindo sequências de 1996 a 2024.

Literatura Citada

- Anderson, P. K.; Cunningham, A. A.; Patel, N. G.; Morales, F. J.; Epstein, P. R.; Daszak, P. Emerging infectious diseases of plants: Pathogen pollution, climate change and agrotechnology drivers. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 19, p. 535-544, 2004.
- Andrade, E. C.; Manhani, G. G.; Alfenas, P. F.; Calegario, R. F.; Fontes, E. P. B.; Zerbini, F. M. *Tomato yellow spot virus*, a tomato-infecting begomovirus from Brazil with a closer relationship to viruses from *Sida* sp., forms pseudorecombinants with begomoviruses from tomato but not from *Sida*. **Journal of General Virology**, v. 87, p. 3687-3696, 2006.
- Borah, B. K.; Dasgupta, I. Begomovirus research in India: A critical appraisal and the way ahead. **Journal of Biosciences**, v. 37, p. 791-806, 2012.
- Briddon, R. W.; Heydarnejad, J.; Khosrowfar, F.; Massumi, H.; Martin, D. P.; Varsani, A. Turnip curly top virus, a highly divergent geminivirus infecting turnip in Iran. **Virus Research**, v. 152, p. 169-175, 2010.
- Briddon, R. W.; Mansoor, S.; Bedford, I. D.; Pinner, M. S.; Markham, P. G. Clones of cotton leaf curl geminivirus induce symptoms atypical of cotton leaf curl disease. **Virus Genes**, v. 20, p. 19-26, 2000.
- Brown, J. K.; Zerbini, F. M.; Navas-Castillo, J.; Moriones, E.; Ramos-Sobrinho, R.; Silva, J. C.; Fiallo-Olive, E.; Briddon, R. W.; Hernandez-Zepeda, C.; Idris, A.; Malathi, V. G.; Martin, D. P.; Rivera-Bustamante, R.; Ueda, S.; Varsani, A. Revision of *Begomovirus* taxonomy based on pairwise sequence comparisons. **Archives of Virology**, v. 160, p. 1593-1619, 2015.
- Brustolini, O. J.; Machado, J. P.; Condori-Apfata, J. A.; Coco, D.; Deguchi, M.; Loriato, V. A.; Pereira, W. A.; Alfenas-Zerbini, P.; Zerbini, F. M.; Inoue-Nagata, A. K.; Santos, A. A.; Chory, J.; Silva, F. F.; Fontes, E. P. Sustained NIK-mediated antiviral signalling confers broad-spectrum tolerance to begomoviruses in cultivated plants. **Plant Biotechnology Journal**, v. 13, p. 1300-1311, 2015.
- Burger, J. T.; Brand, R. J.; Rybicki, E. P. The molecular cloning and nucleotide sequence of the 3'-terminal region of Ornitoghalum mosaic virus. **Journal of General Virology**, v. 71, p. 2527-2534, 1990.
- Campbell, L. I.; Nwezeobi, J.; Van Brunschot, S. L.; Kaweesi, T.; Seal, S. E.; Swamy, R. A. R.; Namuddu, A.; Maslen, G. L.; Mugerwa, H.; Armean, I. M.; Haggerty, L.; Martin, F. J.; Malka, O.; Santos-Garcia, D.; Juravel, K.; Morin, S.; Stephens, M. E.; Muhindira, P. V.; Kersey, P. J.; Maruthi, M. N.; Omongo, C. A.; Navas-Castillo, J.;

- Fiallo-Olivé, E.; Mohammed, I. U.; Wang, H.-L.; Onyeka, J.; Alicai, T.; Colvin, J. Comparative evolutionary analyses of eight whitefly *Bemisia tabaci* sensu lato genomes: Cryptic species, agricultural pests and plant-virus vectors. **BMC Genomics**, v. 24, p. 408, 2023.
- Czosnek, H.; Hariton-Shalev, A.; Sobol, I.; Gorovits, R.; Ghanim, M. The incredible journey of begomoviruses in their whitefly vector. **Viruses**, v. 9, p. 273, 2017.
- De Barro, P. J.; Liu, S. S.; Boykin, L. M.; Dinsdale, A. B. *Bemisia tabaci*: A statement of species status. **Annual Review of Entomology**, v. 56, p. 1-19, 2011.
- 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**, v. 103, p. 196-208, 2010.
- Duffy, S.; Shackelton, L. A.; Holmes, E. C. Rates of evolutionary change in viruses: Patterns and determinants. **Nature Reviews Genetics**, v. 9, p. 267-276, 2008.
- Ferro, C. G.; Silva, J. P.; Xavier, C. A. D.; Godinho, M. T.; Lima, A. T. M.; Mar, T. B.; Lau, D.; Zerbini, F. M. The ever increasing diversity of begomoviruses infecting non-cultivated hosts: new species from *Sida* spp. and *Leonurus sibiricus*, plus two New World alphasatellites. **Annals of Applied Biology**, v. 170, p. 204-218, 2017.
- Fiallo-Olive, E.; Lett, J. M.; Martin, D. P.; Roumagnac, P.; Varsani, A.; Zerbini, F. M.; Navas-Castillo, J. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Geminiviridae* 2021. **Journal of General Virology**, v. 102, p. 001696, 2021.
- García-Arenal, F.; Zerbini, F. M. Life on the edge: Geminiviruses at the interface between crops and wild plant hosts. **Annual Review of Virology**, v. 6, p. 411-433, 2019.
- Ghosh, S.; Ghanim, M. Factors determining transmission of persistent viruses by *Bemisia tabaci* and emergence of new virus–vector relationships. **Viruses**, v. 13, p. 1808, 2021.
- Gilbertson, R. L.; Batuman, O.; Webster, C. G.; Adkins, S. Role of the insect super-vectors *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in the emergence and global spread of plant viruses. **Annual Review of Virology**, v. 2, p. 67-93, 2015.
- Hanley-Bowdoin, L.; Bejarano, E. R.; Robertson, D.; Mansoor, S. Geminiviruses: Masters at redirecting and reprogramming plant processes. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, p. 777-788, 2013.
- Hogenhout, S. A.; Ammar, E. D.; Whitfield, A. E.; Redinbaugh, M. G. Insect vector interactions with persistently transmitted viruses. **Annual Review of Phytopathology**, v. 46, p. 327-359, 2008.
- Inoue-Nagata, A. K.; Lima, M. F.; Gilbertson, R. L. A review of geminivirus diseases in vegetables and other crops in Brazil: current status and approaches for management. **Horticultura Brasileira**, v. 34, p. 8-18, 2016.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. 2024. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/lspa/tabelas>. Acesso em: 12/10/2024.
- Jia, D.; Chen, Q.; Mao, Q.; Zhang, X.; Wu, W.; Chen, H.; Yu, X.; Wang, Z.; Wei, T. Vector mediated transmission of persistently transmitted plant viruses. **Current Opinion in Virology**, v. 28, p. 127-132, 2018.

- Lee, W.; Park, J.; Lee, G. S.; Lee, S.; Akimoto, S. I. Taxonomic status of the *Bemisia tabaci* complex (Hemiptera: Aleyrodidae) and reassessment of the number of its constituent species. **PLoS One**, v. 8, p. e63817, 2013.
- Legg, J.; Fauquet, C. Cassava mosaic geminiviruses in Africa. **Plant Molecular Biology**, v. 56, p. 585-599, 2004.
- Legg, J. P.; Lava Kumar, P.; Makesh Kumar, T.; Tripathi, L.; Ferguson, M.; Kanju, E.; Ntawuruhunga, P.; Cuellar, W. Cassava virus diseases: Biology, epidemiology, and management. **Advances in Virus Research**, v. 91, p. 85-142, 2015.
- Lima, A. T. M.; Sobrinho, R. R.; Gonzalez-Aguilera, J.; Rocha, C. S.; Silva, S. J. C.; Xavier, C. a. D.; Silva, F. N.; Duffy, S.; Zerbini, F. M. Synonymous site variation due to recombination explains higher genetic variability in begomovirus populations infecting non-cultivated hosts. **Journal of General Virology**, v. 94, p. 418-431, 2013.
- Liu, L.; Van Tonder, T.; Pietersen, G.; Davies, J. W.; Stanley, J. Molecular characterization of a subgroup I geminivirus from a legume in South Africa. **Journal of General Virology**, p. 2113-2117, 1997.
- Morales, F. J. Conventional breeding for resistance to *Bemisia tabaci*-transmitted geminiviruses. **Crop Protection**, v. 20, p. 825-834, 2001.
- Navas-Castillo, J.; Fiallo-Olivé, E.; Sánchez-Campos, S. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. **Annual Review of Phytopathology** v. 49, p. 219-248, 2011.
- Navas-Castillo, J.; Sanchez-Campos, S.; Noris, E.; Louro, D.; Accotto, G. P.; Moriones, E. Natural recombination between *Tomato yellow leaf curl virus*-Is and *Tomato leaf curl virus*. **Journal of General Virology**, v. 81, p. 2797-2801, 2000.
- Ndunguru, J.; Legg, J.; Aveling, T.; Thompson, G.; Fauquet, C. Molecular biodiversity of cassava begomoviruses in Tanzania: Evolution of cassava geminiviruses in Africa and evidence for East Africa being a center of diversity of cassava geminiviruses. **Virology Journal**, v. 2, p. 21, 2005.
- Nicaise, V. Crop immunity against viruses: Outcomes and future challenges. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 660, 2014.
- Padidam, M.; Beachy, R. N.; Fauquet, C. M. A phage single-stranded DNA (ssDNA) binding protein complements ssDNA accumulation of a geminivirus and interferes with viral movement. **Journal of Virology**, v. 73, p. 1609-1616, 1999.
- Paximadis, M.; Idris, A. M.; Torres-Jerez, I.; Villarreal, A.; Rey, M. E. C.; Brown, J. K. Characterization of tobacco geminiviruses in the Old and New Worlds. **Archives of Virology**, v. 144, p. 703-717, 1999.
- Ribeiro, S. G.; Ambrozevicius, L. P.; Ávila, A. C.; Bezerra, I. C.; Calegario, R. F.; Fernandes, J. J.; Lima, M. F.; Mello, R. N.; Rocha, H.; Zerbini, F. M. Distribution and genetic diversity of tomato-infecting begomoviruses in Brazil. **Archives of Virology**, v. 148, p. 281-295, 2003.
- Ribeiro, S. G.; Ávila, A. C.; Bezerra, I. C.; Fernandes, J. J.; Faria, J. C.; Lima, M. F.; Gilbertson, R. L.; Zambolim, E. M.; Zerbini, F. M. Widespread occurrence of tomato geminiviruses in Brazil, associated with the new biotype of the whitefly vector. **Plant Disease**, v. 82, p. 830, 1998.
- Rocha, C. S.; Castillo-Urquiza, G. P.; Lima, A. T. M.; Silva, F. N.; Xavier, C. A. D.; Hora-Junior, B. T.; Beserra-Junior, J. E. A.; Malta, A. W. O.; Martin, D. P.; Varsani, A.;

- Alfenas-Zerbini, P.; Mizubuti, E. S. G.; Zerbini, F. M. Brazilian begomovirus populations are highly recombinant, rapidly evolving, and segregated based on geographical location. **Journal of Virology**, v. 87, p. 5784-5799, 2013.
- Rojas, A.; Kvarnheden, A.; Marcenaro, D.; Valkonen, J. P. T. Sequence characterization of *Tomato leaf curl Sinaloa virus* and *Tomato severe leaf curl virus*: Phylogeny of New World begomoviruses and detection of recombination. **Archives of Virology**, v. 150, p. 1281-1299, 2005.
- Rojas, M. R.; Macedo, M. A.; Maliano, M. R.; Soto-Aguilar, M.; Souza, J. O.; Bridson, R. W.; Kenyon, L. A.; Rivera-Bustamante, R. F.; Zerbini, F. M.; Adkins, S.; Legg, J. P.; Kvarnheden, A.; Wintermantel, W. M.; Sudarshana, M. R.; Peterschmitt, M.; Lapidot, M.; Martin, D. P.; Moriones, E.; Inoue-Nagata, A. K.; Gilbertson, R. L. World management of geminiviruses. **Annual Review of Phytopathology**, v. 56, p. 637-677, 2018.
- Rybicki, E. P. A phylogenetic and evolutionary justification for three genera of *Geminiviridae*. **Archives of Virology**, v. 139, p. 49-77, 1994.
- Sande, O. F. L. **Estrutura genética de populações do begomovírus *Tomato severe rugose virus* (ToSRV)**. 2014. 44 f. Dissertação M.S. (Mestrado em Fitopatologia) - Dep. de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Stafford, C. A.; Walker, G. P.; Ullman, D. E. Hitching a ride: Vector feeding and virus transmission. **Communicative & Integrative Biology**, v. 5, p. 43-49, 2012.
- Strange, R. N.; Scott, P. R. Plant diseases: A threat to global food security. **Annual Review of Phytopathology**, v. 43, p. 83-116, 2005.
- Vyskočilová, S.; Tay, W. T.; Van Brunschot, S.; Seal, S.; Colvin, J. An integrative approach to discovering cryptic species within the *Bemisia tabaci* whitefly species complex. **Scientific Reports**, v. 8, p. 10886, 2018.
- Xavier, C. A. D.; Godinho, M. T.; Mar, T. B.; Ferro, C. G.; Sande, O. F. L.; Silva, J. C.; Ramos-Sobrinho, R.; Nascimento, R. N.; Assuncao, I.; Lima, G. S. A.; Lima, A. T. M.; Zerbini, F. M. Evolutionary dynamics of bipartite begomoviruses revealed by complete genome analysis. **Molecular Ecology**, v. 15, p. 3747-3767, 2021.

CAPÍTULO 1

DIVERSIDADE DE MOSCAS-BRANCAS (*Bemisia* spp.), VETORAS DE BEGOMOVÍRUS, EM TOMATEIRO (*Solanum lycopersicum*) NA REGIÃO METROPOLITANA DE BELO HORIZONTE

Resende FMP, Marcelino MM, Silva, JPH, Quadros AFF, Melo AM, Lage JB, Zerbini FM (2024) Diversidade de moscas-brancas (*Bemisia* spp.), vetoras de begomovírus, em tomateiro (*Solanum lycopersicum*) na região metropolitana de Belo Horizonte. *Tropical Plant Pathology*, *in preparation*.

Diversidade de moscas-brancas (*Bemisia* spp.), vetoras de begomovírus, em tomateiro (*Solanum lycopersicum*) na região metropolitana de Belo Horizonte

Franciely M. P. Resende¹, Maraisa M. Marcelino¹, João P. Herrera da Silva¹, Ayane F. F. Quadros¹, Aline M. Melo¹, Julia B. Lage¹, F. Murilo Zerbini^{1*}

¹Dep. de Fitopatologia/BIOAGRO, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brazil

*Autor para correspondência: Telefone: (+55-31) 3612-2423, E-mail: zerbini@ufv.br

Resumo

Begomovírus (família *Geminiviridae*) são responsáveis por perdas em culturas de interesse econômico, incluindo o tomateiro. Begomovírus são transmitidos por moscas-brancas do complexo de espécies crípticas *Bemisia tabaci*, que é conhecido por apresentar um alto grau de diversidade inter- e intraespecífica. Mudanças na composição das populações de *B. tabaci* afetam a ocorrência e a proporção relativa de diferentes begomovírus, incluindo o tomato severe rugose virus (ToSRV). Portanto, o monitoramento constante das populações de mosca-branca é importante para entender a dinâmica populacional dos begomovírus. Neste estudo, avaliamos a diversidade de moscas-brancas em culturas de tomateiro localizadas nos municípios de Mateus Leme, Florestal e Pará de Minas, em Minas Gerais. Amostras de folhas (n=169) e espécimes de mosca-branca (n=358) foram coletadas aleatoriamente de plantas presentes nas áreas. Para detecção de ToSRV, o DNA total de amostras de folhas foi extraído e submetido à PCR com primers universais. O DNA de cada inseto foi extraído individualmente, e espécies crípticas foram identificadas pela amplificação de um locus microssatélite que permite a discriminação das espécies *B. tabaci* Mediterranean (MED) e Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1). Os resultados indicaram uma baixa incidência de ToSRV, apesar da alta infestação de mosca-branca. *B. tabaci* MED foi a espécie mais comum, enquanto *B. tabaci* MEAM1 estava presente em níveis muito baixos. Outras espécies de mosca-branca não identificadas também estavam presentes em baixa incidência. Esses resultados são consistentes com relatos de que *B. tabaci* MED é um vetor menos eficiente de ToSRV, em comparação com *B. tabaci* MEAM1.

Palavras-chave: *Bemisia tabaci*, begomovírus, tomate, vetor de vírus, transmissão

Abstract

Begomoviruses (family *Geminiviridae*) are responsible for losses in crops of economic interest, including tomato. Begomoviruses are transmitted by whiteflies of the cryptic species complex *Bemisia tabaci*, which is known to present a high degree of inter- and intraspecific diversity. Changes in the composition of *B. tabaci* populations affect the occurrence and relative proportion of different begomoviruses, including tomato severe rugose virus (ToSRV). Therefore, constant monitoring of whitefly populations is important to understand the population dynamics of begomoviruses. In this study, we evaluated the diversity of whiteflies in tomato crops located in the cities of Mateus Leme, Florestal and Pará de Minas, in Minas Gerais. Leaf samples (n=169) and whitefly specimens (n=358) were randomly collected from plants present in the areas. For ToSRV detection, total DNA from leaf samples was extracted and subjected to PCR with universal primers. DNA from each insect was extracted individually, and cryptic species were identified by amplification of a microsatellite locus that allows discrimination of *B. tabaci* Mediterranean (MED) and Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1) species. The results indicated a low incidence of ToSRV, despite the high whitefly infestation. *B. tabaci* MED was the most common species, while *B. tabaci* MEAM1 was present at very low levels. Other unidentified whitefly species were also present at low incidence. These results are consistent with reports that *B. tabaci* MED is a less efficient vector of ToSRV, compared to *B. tabaci* MEAM1

Keywords: *Bemisia tabaci*, begomovirus, tomato, virus vector, transmission

INTRODUÇÃO

As mosca-brancas do complexo de espécies crípticas *Bemisia tabaci* (Hemiptera: *Aleyrodidae*) estão entre as cem mais importantes espécies invasoras do mundo (Lowe *et al.*, 2000). Como uma das pragas agrícolas e vetores de vírus mais importantes, *B. tabaci* causa perdas substanciais nas colheitas e representa uma séria ameaça à segurança alimentar global.

Muitos vírus de plantas dependem de insetos vetores para sua transmissão e disseminação. A necessidade de um vetor competente para transmissão é um fator ecológico primário que impulsiona a expansão da gama de hospedeiros de vírus de plantas transmitidos por artrópodes, com vetores desempenhando um papel essencial no surgimento de novas doenças (Xavier *et al.*, 2021).

Das espécies do complexo *Bemisia tabaci*, *B. tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1; também denominada *B. tabaci* biótipo B, ou *B. argentifolli*) e *B. tabaci* *Mediterranean* (MED; também denominada *B. tabaci* biótipo Q, ou *B. tabaci* sensu stricto) apresentam a maior importância a nível mundial (Hadjistylli *et al.*, 2016; Kanakala & Ghanim, 2015). A espécie *B. tabaci* MEAM1 (Campbell *et al.*, 2023) é a de maior distribuição mundial e sua disseminação a partir de seu centro de origem (o Oriente Médio) foi responsável pela emergência de vírus pertencentes ao gênero *Begomovirus* (família *Geminiviridae*) em todos os continentes (Gilbertson *et al.*, 2015; Navas-Castillo *et al.*, 2011). A espécie *B. tabaci* MED (Campbell *et al.*, 2023; Tay *et al.*, 2012) apresenta menor suscetibilidade a inseticidas, habilidade em colonizar hospedeiros diferentes e maior habilidade competitiva em comparação com *B. tabaci* MEAM1, além de apresentar uma relação mutualística com o begomovírus tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) (Ghanim & Czosnek, 2016; Ning *et al.*, 2015).

No Brasil, as espécies relatadas até o presente são *B. tabaci* New World (também denominada *B. tabaci* biótipo A ou *B. inconspicua*), *B. tabaci* New World 2, *B. tabaci* MED e *B. tabaci* MEAM1 (Barbosa *et al.*, 2015; Marubayashi *et al.*, 2013). Após sua introdução na década de 1990 (Melo, 1992), *B. tabaci* MEAM1 se espalhou rapidamente por todo o país, deslocando as duas espécies nativas *B. tabaci* NW e *B. tabaci* NW2 (Marubayashi *et al.*, 2013; Rocha *et al.*, 2011), sendo atualmente a espécie predominante no Brasil em leguminosas, malváceas e solanáceas. A segunda introdução de uma espécie invasora no país aconteceu em 2014, quando *B. tabaci* MED foi relatada no Rio Grande do Sul em plantas ornamentais (Barbosa *et al.*, 2015). Essa espécie vem se espalhando progressivamente pelo país, com relatos nos estados do Paraná e São Paulo em 2015 (Moraes *et al.*, 2017).

Dentre os vírus transmitidos por espécies do complexo *B. tabaci*, os begomovírus são os mais importantes economicamente (Navas-Castillo *et al.*, 2011). No Brasil, um complexo de begomovírus infecta o tomateiro, e a incidência relativa dos diferentes vírus varia com a região geográfica (Rocha *et al.*, 2013). Esse complexo emergiu ao longo da década de 1990, após a introdução de *Bemisia tabaci* MEAM1 (Ribeiro *et al.*, 1998). Este "supervetor" polífago facilitou a transferência de um grande número de begomovírus de seus hospedeiros naturais para o tomateiro, com pelo menos dois, tomato severe rugose virus (ToSRV; *Begomovirus solanumseverugosi*) e tomato mottle leaf curl virus (ToMoLCV; *Begomovirus solanummovariati*) se estabelecendo como importantes patógenos da cultura (Fernandes *et al.*, 2008; Rocha *et al.*, 2013; Souza *et al.*, 2022).

Embora tanto *B. tabaci* MEAM1 como *B. tabaci* MED estejam disseminadas por todo o mundo (Kanakala & Ghanim, 2015), a presença de *B. tabaci* MED nas Américas é mais limitada, com relatos de sua detecção nos Estados Unidos em 2004 (Dalton, 2006), no México em 2007 (Martínez-Castillo *et al.*, 2007), na Guatemala em 2009 (Bethke *et*

al., 2009), na Argentina, Costa Rica e Uruguai em 2011 (Grille *et al.*, 2011; Guevara-Coto *et al.*, 2011) e mais recentemente no Brasil em 2014 (Barbosa *et al.*, 2015). Apesar de sua disseminação aparentemente mais lenta do que a que foi observada para *B. tabaci* MEAM1, *B. tabaci* MED tem deslocado espécies nativas de moscas-brancas e também *B. tabaci* MEAM1 na China (Sun *et al.*, 2013; Teng *et al.*, 2010) e em Israel (Mahadav *et al.*, 2009), talvez devido a sua menor suscetibilidade a inseticidas (Horowitz *et al.*, 2005; Luo *et al.*, 2010; Sun *et al.*, 2013). Além dessa possível vantagem adaptativa, foi relatado também que *B. tabaci* MED é um vetor mais eficiente do TYLCV quando comparada a *B. tabaci* MEAM1 (Ning *et al.*, 2015). Desta forma, a recente detecção e dispersão de *B. tabaci* MED no Brasil traz grandes preocupações quanto ao futuro cenário dos vírus transmitidos por este inseto. Curiosamente, a incidência de ToSRV em cultivos de tomateiro diminuiu drasticamente a partir do início da década de 2020 (F.M.P. Resende e F.M. Zerbini, *dados não publicados*; R. Krause-Sakate e A. Inoue-Nagata, *comunicação pessoal*). De fato, nenhum begomovírus foi detectado em amostras de tomateiros coletadas nos estados da região Sudeste do Brasil entre 2020 e 2023. A coincidência entre a introdução de *B. tabaci* MED e a diminuição da incidência de begomovírus levou à hipótese de que essa espécie de mosca-branca poderia ser um vetor ineficiente dos begomovírus nativos do Brasil. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade de moscas-brancas em cultivos de tomateiro e em plantas não-cultivadas próximas aos cultivos, para inferir sobre a ausência de ToSRV nas áreas e ajudar a compreender a dinâmica vírus-vetor.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem de moscas-brancas e plantas

As moscas-brancas foram coletadas em plantas de tomateiro, pimentão e abobrinha nas cidades de Florestal, Pará de Minas e Mateus Leme, localizadas na região metropolitana de Belo Horizonte, em junho de 2023 (Tabela 1; Figura 1). As populações de mosca-branca foram definidas por área coletada. As amostras foram obtidas de culturas comerciais e não-comerciais (de subsistência). Insetos adultos foram amostrados utilizando-se um aspirador manual. Os insetos foram preservados em etanol 95% e armazenados a -20°C até serem usados para identificação molecular da espécie. Para verificar a presença de begomovírus infectando as plantas, amostras foliares também foram coletadas em alguns dos locais amostrados (Tabela 1). As folhas foram secas em prensa e armazenadas a temperatura ambiente como amostras herbarizadas até serem usadas para extração de DNA.

Identificação de espécies de mosca-branca

As análises moleculares foram realizadas a partir da extração de ácidos nucleicos totais de moscas-brancas individuais, de acordo com um protocolo Chelex modificado (Walsh *et al.*, 1991), seguido de amplificação de um fragmento do gene que codifica a citocromo oxidase mitocondrial (mtCOI). As espécies de mosca-branca foram identificadas pelo sequenciamento do fragmento mtCOI, conforme descrito por Moraes *et al.* (2018).

Insetos adultos de mosca-branca foram macerados e homogeneizados em 30 µl de solução Chelex 5% em um tubo Eppendorf de 1,5 ml. O tubo foi misturado por alguns segundos e então incubado a 56°C por 15 min e a 99°C por 3 min. Após centrifugação a

16.000× g por 5 min, o sobrenadante foi coletado e utilizado como molde para amplificação por PCR.

Todas as amostras individuais de DNA de cada população foram primeiramente submetidas a uma rodada inicial de amplificação por PCR com o par de oligonucleotídeos Bem23F (5'-CGG AGC TTG CGC CTT AGT C-3') e Bem23R (5'-CGG CTT TAT CAT AGC TCT CGT-3') (De Barro *et al.*, 2003). Esse par de oligonucleotídeos diferencia as espécies *B. tabaci* MEAM1 e MED com base na amplificação de um locus microsatélite de cerca de 400 e 200 nucleotídeos (nt), respectivamente (Kontsedalov *et al.*, 2012). Os ciclos de PCR consistiram em uma desnaturação inicial a 95°C por 5 min, seguido por 30 ciclos de 1 min a 95°C para desnaturação, 1 min a 58°C para anelamento e 1 min a 72°C para extensão, e uma extensão final a 72°C por 10 min.

Para confirmar a identificação de *B. tabaci* MEAM1 e MED, e também para permitir a identificação de outras espécies (para as quais não ocorre amplificação com os oligonucleotídeos Bem23F/Bem23R), um subconjunto de insetos de diferentes locais amostrados foram selecionados para amplificação com o par de oligonucleotídeos C1-J-2195F (5'-TTG ATT TTT TGG TCA TCC AGA AGT-3') e TL2-N-3014R (5'-TCC ATT GCA CTA ATC TGC CAT ATT A-3'), que amplifica um fragmento de 880 nt do gene que codifica a citocromo oxidase mitocondrial (mtCOI) (Frohlich *et al.*, 1999). Os ciclos de PCR consistiram em uma desnaturação inicial a 95°C por 5 min, seguido por 30 ciclos de 1 min a 95°C para desnaturação, 1 min a 45°C para anelamento e 1 min a 72°C para extensão, e uma extensão final a 72°C por 10 min. Após a amplificação, os produtos de PCR foram purificados utilizando-se o kit Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega) e sequenciados comercialmente (Macrogen Inc.).

Comparações de sequências e análise filogenética

As sequências de nucleotídeos foram primeiramente verificadas quanto à qualidade e em seguida montadas utilizando-se o programa Geneious v. 8.1 (Kearse *et al.*, 2012). As sequências mtCOI foram inicialmente analisadas com o algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1990) para determinar as espécies de mosca-branca com as quais elas compartilhavam maior similaridade. Comparações par-a-par entre todas as sequências mtCOI obtidas neste trabalho e aquelas com maior similaridade (conforme determinado pela análise com BLASTn) foram realizadas com o programa SDT v. 1.2 (Muhire *et al.*, 2014) e a opção de alinhamento MUSCLE (Edgar, 2004).

Para análises filogenéticas, o conjunto de dados final foi composto por 57 sequências: 42 obtidas neste trabalho e 15 sequências representativas de espécies da família Aleyrodidae. As sequências foram recuperadas do GenBank e do conjunto de dados de referência mtCOI atualizado para espécies do complexo *Bemisia tabaci* (Boykin *et al.*, 2017). Alinhamentos de sequência foram preparados utilizando-se a opção MUSCLE no programa MEGA 11 (Tamura *et al.*, 2021). Os alinhamentos foram verificados e ajustados manualmente quando necessário. As árvores filogenéticas foram construídas por meio de inferência Bayesiana utilizando-se o programa MrBayes v. 3.0b4 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003). O programa MrModeltest v. 2.2 (Nylander, 2004) foi utilizado para selecionar o modelo de substituição de nucleotídeos com o melhor ajuste no Akaike Information Criterion (AIC). As análises foram realizadas executando-se 1.000.000 de gerações, com amostragem a cada 1.000 gerações e um burn-in de 25%. A convergência foi assumida quando o desvio padrão médio das frequências de divisão foi menor do que 0,001. As árvores foram visualizadas e editadas com os programas FigTree 1.4.4 (tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree) e CorelDRAW 2021, respectivamente.

Detecção de begomovírus em amostras foliares

O DNA total foi extraído conforme descrito por Doyle & Doyle (1987) e utilizado como molde para PCR com o par de oligonucleotídeos universais para begomovírus PAL1v1978 e PAR1c496 (Rojas *et al.*, 1993), que amplificam um fragmento de aproximadamente 1.200 nt do DNA-A correspondendo a parte do gene *Rep*, toda a região intergênica e parte do gene *CP*. A PCR foi realizada em um volume final de 25 µl utilizando a enzima Taq DNA Polymerase (Invitrogen) conforme as instruções do fabricante. Os ciclos de PCR consistiram em uma etapa de desnaturação inicial a 95°C por 5 min, seguida por 35 ciclos a 95°C por 1 min, 52°C por 1 min e 72°C por 1 min, com uma extensão final a 72°C por 10 min. Os produtos de PCR foram visualizados em géis de agarose a 0,8% corados com brometo de etídio.

RESULTADOS

Prevalência de *Bemisia tabaci* Mediterranean (MED) nas áreas coletadas

Para verificar a composição das comunidades de moscas-brancas que colonizam o tomateiro, pimentão e abobrinha nos locais de coleta, foram realizadas amostragens em junho de 2023. Um total de 11 áreas de plantio em campos abertos foram amostradas (Tabela 1), coletando-se somente insetos adultos.

Dos 358 indivíduos coletados, 289 foram identificados como *B. tabaci* MED, e apenas nove como *B. tabaci* MEAM1 com base na amplificação de fragmentos de 400 ou 200 nt, respectivamente, com o par de oligonucleotídeos Bem23F/Bem23R (Figura 2A). Nenhum produto de amplificação foi obtido para sessenta espécimens, indicando que esses insetos pertencem a outras espécies do complexo *Bemisia tabaci*.

Para a confirmação da identificação feita pelo par de oligonucleotídeos Bem23F/Bem23R, um subgrupo de 52 indivíduos de diferentes locais foram identificados com base no sequenciamento do gene mtCOI (Tabela 1; Figura 3). Após o sequenciamento do gene mtCOI, alguns indivíduos que foram identificados pelos oligonucleotídeos Bem23F/Bem23R como *B. tabaci* MED se agruparam com indivíduos classificados como pertencentes à espécie *B. tabaci* NW (Figura 3). Essa divergência mostra que a classificação utilizando apenas os oligonucleotídeos Bem23F/Bem23R pode ocasionar classificações incorretas.

Ausência de begomovírus nas plantas amostradas

Para verificar a presença de begomovírus infectando as plantas, 196 amostras foliares de tomateiro foram coletadas em alguns dos campos onde moscas-brancas foram coletadas (Tabela 1). Com base em PCR utilizando oligonucleotídeos universais para begomovírus, todas as plantas foram negativas para a presença desses vírus (Figura 2B). Embora a possibilidade de falsos negativos não possa ser completamente descartada, isso é altamente improvável, pois além da amplificação ter ocorrido para os controles positivos (Figura 2B), o par de oligonucleotídeos utilizado (PAL1c1978 e PAR1v496) (Rojas *et al.*, 1993) é sabidamente capaz de amplificar fragmentos dos genomas dos begomovírus que infectam tomateiros no Brasil, incluindo o ToSRV (Albuquerque *et al.*, 2012; Castillo-Urquiza *et al.*, 2008; Ribeiro *et al.*, 2003).

Filogenia de moscas-brancas

A árvore filogenética baseada nas sequências do gene mtCOI (Figura 4) revelou populações geneticamente homogêneas de *B. tabaci* MED e MEAM1. As sequências dos insetos coletados nesse estudo e identificados como *B. tabaci* MED e MEAM1 se

agruparam com aquelas de moscas-brancas das mesmas espécies disponíveis no GenBank (Figura 4). As sequências dos indivíduos A101, A102 e A103 (os três coletados em Florestal) se agruparam em um clado com sequências da espécie nativa *B. tabaci* NW, indicando que esses insetos pertencem a essa espécie (Figura 4). Esse resultado divergiu da classificação desses indivíduos na espécie *B. tabaci* com base na amplificação com os oligonucleotídeos Bam23F/Bam23R.

DISCUSSÃO

A infestação por moscas-brancas foi elevada na maioria dos campos amostrados. Surpreendentemente, a maioria absoluta dos indivíduos amostrados pertencia à espécie *B. tabaci* MED. A espécie *B. tabaci* MEAM1, prevalente em todo o Brasil desde meados da década de 1990 (Moraes *et al.*, 2018), também estava presente, porém em níveis muito baixos. Além disso, detectou-se a presença de outras espécies, incluindo a espécie nativa *B. tabaci* NW. A detecção via PCR com o par de oligonucleotídeos Bem23-F/Bem23-R não permitiu a identificação de espécies além de MED e MEAM1. Além disso, a identificação baseada na sequência do gene mtCOI indicou que alguns espécimens identificados como *B. tabaci* MED com os oligonucleotídeos Bem23F/Bem23R pertenciam na verdade à espécie *B. tabaci* NW, reforçando a utilidade limitada desse par de oligonucleotídeos para a identificação de espécies do complexo *Bemisia tabaci*.

Populações de *B. tabaci* MED do estado de São Paulo são vetores ineficientes de begomovírus, sendo capazes de adquirir os vírus, mas não de transmiti-los às plantas (Nogueira *et al.*, 2024). Ensaios de transmissão com as populações encontradas em Minas Gerais precisam ser conduzidos, uma vez que mesmo dentro da mesma espécie a eficiência de transmissão pode variar entre diferentes populações, principalmente devido

a diferenças na composição da flora endossimbionte (Kliot *et al.*, 2014; Moraes *et al.*, 2018; Parrella *et al.*, 2014). Entender a interação begomovírus-mosca branca é fundamental para inferir até que ponto a disseminação de *B. tabaci* MED pode alterar o cenário epidemiológico de begomovírus em áreas onde esse inseto vier a predominar.

A eficiência de transmissão de begomovírus por diferentes espécies do complexo *Bemisia tabaci* influencia significativamente a dinâmica de epidemias causadas por esses vírus (Kliot *et al.*, 2014). A presença de uma espécie de mosca-branca que transmite o vírus de forma mais eficiente aumenta a probabilidade de epidemias, enquanto a ausência de vetores competentes diminui o risco de disseminação generalizada da doença (Fiallo-Olivé *et al.*, 2020). Por exemplo, foi proposto que a baixa eficiência de transmissão de Sri Lankan cassava mosaic virus (SLCMV) por *B. tabaci* MEAM1 e MED é o fator responsável pela lenta disseminação desse vírus desde sua introdução no sul da China (Chi *et al.*, 2020). A eficiência de transmissão de begomovírus é significativamente influenciada pelo comportamento alimentar e preferências de hospedeiro das moscas-brancas durante os processos de aquisição e transmissão (Janssen *et al.*, 2022).

A alta incidência de *B. tabaci* MED e a baixa presença de *B. tabaci* MEAM1 aqui relatadas, assim como a baixa eficiência de *B. tabaci* MED na transmissão dos begomovírus que infectam o tomateiro no Brasil, são consistentes com as observações de declínio da incidência de begomovírus em tomateiros nos estados de Minas Gerais e São Paulo nos últimos quatro anos (F.M.P. Rezende e F.M. Zerbini, *dados não publicados*; R. Krause-Sakate e A. Inoue-Nagata, *comunicação pessoal*). Entretanto, como *B. tabaci* MED é bem adaptada a outras solanáceas, como a batata e o pimentão, a transferência de begomovírus presentes nesses hospedeiros (assim como em solanáceas não-cultivadas) para os cultivos de tomateiro pode vir a ocorrer, com a eventual emergência de novos

vírus bem adaptados ao tomateiro. Assim, é importante prosseguir com o monitoramento das populações de mosca-branca e de begomovírus nos próximos anos.

REFERÊNCIAS

- Albuquerque, L. C.; Varsani, A.; Fernandes, F. R.; Pinheiro, B.; Martin, D. P.; Ferreira, P. T. O.; Lemos, T. O.; Inoue-Nagata, A. K. Further characterization of tomato-infecting begomoviruses in Brazil. **Archives of Virology**, v. 157, p. 747-752, 2012.
- Altschul, S. F.; Gish, W.; Miller, W.; Myers, E. W.; Lipman, D. J. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v. 215, p. 403-410, 1990.
- Azzam, O.; Frazer, J.; De La Rosa, D.; Beaver, J. S.; Ahlquist, P. G.; Maxwell, D. P. Whitefly transmission and efficient ssDNA accumulation of bean golden mosaic geminivirus require functional coat protein. **Virology**, v. 204, p. 289-296, 1994.
- Barbosa, L. F.; Yuki, V. A.; Marubayashi, J. M.; De Marchi, B. R.; Perini, F. L.; Pavan, M. A.; Barros, D. R.; Ghanim, M.; Moriones, E.; Navas-Castillo, J.; Krause-Sakate, R. First report of *Bemisia tabaci* Mediterranean (Q biotype) species in Brazil. **Pest Management Science**, v. 71, p. 501-504, 2015.
- Bello, V. H.; Silva, F. B.; Watanabe, L. F. M.; Vicentin, E.; Muller, C.; Freitas-Bueno, R. C. O.; Santos, J. C.; De Marchi, B. R.; Nogueira, A. M.; Yuki, V. A.; Marubayashi, J. M.; Sartori, M. M. P.; Pavan, M. A.; Ghanim, M.; Krause-Sakate, R. Detection of *Bemisia tabaci* Mediterranean cryptic species on soybean in São Paulo and Paraná States (Brazil) and interaction of cowpea mild mottle virus with whiteflies. **Plant Pathology**, v. 70, p. 1508-1520, 2021.
- Bethke, J. A.; Byrne, F. J.; Hodges, G. S.; Mckenzie, C. L.; Shatters Jr, R. G. First record of the Q biotype of the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, in Guatemala. **Phytoparasitica**, v. 37, p. 61-64, 2009.
- Boykin, L. M.; Savill, A.; De Barro, P. Updated mtCOI reference dataset for the *Bemisia tabaci* species complex. **F1000 Research**, v. 6, p. 1835, 2017.
- Briddon, R. W.; Pinner, M. S.; Stanley, J.; Markham, P. G. Geminivirus coat protein gene replacement alters insect specificity. **Virology**, v. 177, p. 85-94, 1990.
- Campbell, L. I.; Nwezeobi, J.; Van Brunschot, S. L.; Kaweesi, T.; Seal, S. E.; Swamy, R. A. R.; Namuddu, A.; Maslen, G. L.; Mugerwa, H.; Armean, I. M.; Haggerty, L.; Martin, F. J.; Malka, O.; Santos-Garcia, D.; Juravel, K.; Morin, S.; Stephens, M. E.; Muhindira, P. V.; Kersey, P. J.; Maruthi, M. N.; Omongo, C. A.; Navas-Castillo, J.; Fiallo-Olivé, E.; Mohammed, I. U.; Wang, H.-L.; Onyeka, J.; Alicai, T.; Colvin, J. Comparative evolutionary analyses of eight whitefly *Bemisia tabaci* sensu lato genomes: Cryptic species, agricultural pests and plant-virus vectors. **BMC Genomics**, v. 24, p. 408, 2023.
- Castillo-Urquiza, G. P.; Beserra Jr., J. E. A.; Bruckner, F. P.; Lima, A. T. M.; Varsani, A.; Alfenas-Zerbini, P.; Zerbini, F. M. Six novel begomoviruses infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. **Archives of Virology**, v. 153, p. 1985-1989, 2008.

- Chi, Y.; Pan, L.-L.; Bouvaine, S.; Fan, Y.-Y.; Liu, Y.-Q.; Liu, S.-S.; Seal, S.; Wang, X.-W. Differential transmission of Sri Lankan cassava mosaic virus by three cryptic species of the whitefly *Bemisia tabaci* complex. **Virology**, v. 540, p. 141-149, 2020.
- Dalton, R. Whitefly infestations: The Christmas invasion. **Nature**, v. 443, p. 898-900, 2006.
- De Barro, P. J.; Scott, K. D.; Graham, G. C.; Lange, C. L.; Schutze, M. K. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Bemisia tabaci*. **Molecular Ecology Notes**, v. 3, p. 40-43, 2003.
- Doyle, J. J.; Doyle, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, p. 11-15, 1987.
- Edgar, R. C. MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. **BMC Bioinformatics**, v. 5, p. 1-19, 2004.
- Fan, Y. Y.; Zhong, Y. W.; Pan, L. L.; Wang, X. W.; Ding, M.; Liu, S. S. A shift of vector specificity acquired by a begomovirus through natural homologous recombination. **Molecular Plant Pathology**, v. 24, p. 882-895, 2023.
- Fernandes, F. R.; Albuquerque, L. C.; Giordano, L. B.; Boiteux, L. S.; Ávila, A. C.; Inoue-Nagata, A. K. Diversity and prevalence of Brazilian bipartite begomovirus species associated to tomatoes. **Virus Genes**, v. 36, p. 251-258, 2008.
- Fiallo-Olivé, E.; Pan, L. L.; Liu, S. S.; Navas-Castillo, J. Transmission of begomoviruses and other whitefly-borne viruses: Dependence on the vector species. **Phytopathology**, v. 110, p. 10-17, 2020.
- Frohlich, D. R.; Torres-Jerez, I. 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**, v. 8, p. 1683-1691, 1999.
- García-Arenal, F.; Zerbini, F. M. Life on the edge: Geminiviruses at the interface between crops and wild plant hosts. **Annual Review of Virology**, v. 6, p. 411-433, 2019.
- Ghanim, M.; Czosnek, H. Interactions between the whitefly *Bemisia tabaci* and begomoviruses: Biological and genomic perspectives. In: Czosnek, H. e Ghanim, M. (Ed.). **Management of Insect Pests to Agriculture**. Amsterdam: Springer International Publishing, 2016. p. 181-200.
- Gilbertson, R. L.; Batuman, O.; Webster, C. G.; Adkins, S. Role of the insect superectors *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in the emergence and global spread of plant viruses. **Annual Review of Virology**, v. 2, p. 67-93, 2015.
- Grille, G.; Gauthier, N.; Buenahora, J.; Basso, C.; Bonato, O. First report of the Q biotype of *Bemisia tabaci* in Argentina and Uruguay. **Phytoparasitica**, v. 39, 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**, v. 131, p. 167-170, 2011.
- Guo, T.; Zhao, J.; Pan, L. L.; Geng, L.; Lei, T.; Wang, X. W.; Liu, S. S. The level of midgut penetration of two begomoviruses affects their acquisition and transmission by two species of *Bemisia tabaci*. **Virology**, v. 515, p. 66-73, 2018.
- Hadjistylli, M.; Roderick, G. K.; Brown, J. K. Global population structure of a worldwide pest and virus vector: Genetic diversity and population history of the *Bemisia tabaci* sibling species group. **PLoS ONE**, v. 11, p. e0165105, 2016.

- Hofer, P.; Bedford, I. D.; Markham, P. G.; Jeske, H.; Frischmuth, T. Coat protein gene replacement results in whitefly transmission of an insect nontransmissible geminivirus isolate. **Virology**, v. 236, p. 288-295, 1997.
- Horowitz, A. R.; Kontsedalov, S.; Khasdan, V.; Ishaaya, I. Biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* and their relevance to neonicotinoid and pyriproxyfen resistance. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 58, p. 216-225, 2005.
- Inoue-Nagata, A. K.; Lima, M. F.; Gilbertson, R. L. A review of geminivirus diseases in vegetables and other crops in Brazil: Current status and approaches for management. **Horticultura Brasileira**, v. 34, p. 8-18, 2016.
- Janssen, D.; Simón, A.; Boulares, M.; Ruiz, L. Host species-dependent transmission of tomato leaf curl New Delhi virus-ES by *Bemisia tabaci*. **Plants**, v. 11, p. 390, 2022.
- Kanakala, S.; Ghanim, M. Advances in the Genomics of the Whitefly *Bemisia tabaci*: An Insect Pest and a Virus Vector. In: Raman, C.; Goldsmith, M. R. e Agunbiade, T. A. (Ed.). **Short Views on Insect Genomics and Proteomics: Insect Genomics, Vol.1**. Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 19-40.
- Kearse, M.; Moir, R.; Wilson, A.; Stones-Havas, S.; Cheung, M.; Sturrock, S.; Buxton, S.; Cooper, A.; Markowitz, S.; Duran, C.; Thierer, T.; Ashton, B.; Meintjes, P.; Drummond, A. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. **Bioinformatics**, v. 28, p. 1647-1649, 2012.
- Kliot, A.; Cilia, M.; Czosnek, H.; Ghanim, M. Implication of the bacterial endosymbiont *Rickettsia* spp. in interactions of the whitefly *Bemisia tabaci* with tomato yellow leaf curl virus. **Journal of Virology**, v. 88, p. 5652-5660, 2014.
- Kontsedalov, S.; Abu-Moch, F.; Lebedev, G.; Czosnek, H.; Horowitz, A. R.; Ghanim, M. *Bemisia tabaci* biotype dynamics and resistance to insecticides in Israel during the years 2008–2010. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 11, p. 312-320, 2012.
- 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) of the World Conservation Union (IUCN), 2000. 12 p.
- Luo, C.; Jones, C. M.; Devine, G.; Zhang, F.; Denholm, I.; Gorman, K. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* biotype Q (Hemiptera: Aleyrodidae) from China. **Crop Protection**, v. 29, p. 429-434, 2010.
- Mahadav, A.; Kontsedalov, S.; Czosnek, H.; Ghanim, M. Thermotolerance and gene expression following heat stress in the whitefly *Bemisia tabaci* B and Q biotypes. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 39, p. 668-676, 2009.
- Martínez-Castillo, J.; Zizumbo-Villarreal, D.; Gepts, P.; Colunga-García Marín, P. Gene flow and genetic structure in the wild-weedy-domesticated complex of *Phaseolus lunatus* L. in its mesoamerican center of domestication and diversity. **Crop Science**, v. 47, p. 58-66, 2007.
- Marubayashi, J. M.; Yuki, V. A.; Rocha, K. C. G.; Mituti, T.; Pelegrinotti, F. M.; Ferreira, F. Z.; Moura, M. F.; Navas-Castillo, J.; Moriones, E.; Pavan, M. A.; Krause-Sakate, R. At least two indigenous species of the *Bemisia tabaci* complex are present in Brazil. **Journal of Applied Entomology**, v. 137, p. 113-121, 2013.

- Melo, P. C. T. **Mosca branca ameaça produção de hortaliças**. Campinas, SP, Brazil: Asgrow do Brasil Sementes Ltda., Technical Bulletin 1992.
- Moraes, L. A.; Marubayashi, J. M.; Yuki, V. A.; Ghanim, M.; Bello, V. H.; De Marchi, B. R.; Barbosa, L. F.; Boykin, L. M.; Krause-Sakate, R.; Pavan, M. A. New invasion of *Bemisia tabaci* Mediterranean species in Brazil associated to ornamental plants. **Phytoparasitica**, v. 45, p. 517-525, 2017.
- Moraes, L. A.; Muller, C.; Bueno, R.; Santos, A.; Bello, V. H.; De Marchi, B. R.; Watanabe, L. F. M.; Marubayashi, J. M.; Santos, B. R.; Yuki, V. A.; Takada, H. M.; Barros, D. R.; Neves, C. G.; Silva, F. N.; Goncalves, M. J.; Ghanim, M.; Boykin, L.; Pavan, M. A.; Krause-Sakate, R. Distribution and phylogenetics of whiteflies and their endosymbiont relationships after the Mediterranean species invasion in Brazil. **Scientific Reports**, v. 8, p. 14589, 2018.
- Muhire, B. M.; Varsani, A.; Martin, D. P. SDT: A virus classification tool based on pairwise sequence alignment and identity calculation. **PLOS One** v. 9, p. e108277, 2014.
- Navas-Castillo, J.; Fiallo-Olivé, E.; Sánchez-Campos, S. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. **Annual Review of Phytopathology** v. 49, p. 219-248, 2011.
- Ning, W. X.; Shi, X. B.; Liu, B. M.; Pan, H. P.; Wei, W. T.; Zeng, Y.; Sun, X. P.; Xie, W.; Wang, S. L.; Wu, Q. J.; Cheng, J. X.; Peng, Z. K.; Zhang, Y. J. Transmission of tomato yellow leaf curl virus by *Bemisia tabaci* as affected by whitefly sex and biotype. **Scientific Reports**, v. 5, p. 8, 2015.
- Nogueira, A. M.; Oliveira, C. S.; Bello, V. H.; Favara, G. M.; Vicentin, E.; Marubayashi, J. M.; Cruz-Martines, C.; Watanabe, L. F. M.; Barbosa, T. M. C.; Lima-Alvarez, D.; Oliveira, R. C.; Zerbini, F. M.; Rezende, J. A. M.; Krause-Sakate, R. Populations of *Bemisia tabaci* Mediterranean in São Paulo state are inefficient vectors of Brazilian begomoviruses. **Plant Pathology**, v. 73, p. 2224-2234, 2024.
- Nylander, J. A. A. **MrModeltest v2**. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, 2004.
- Pan, L.; Chen, Q.; Guo, T.; Wang, X.; Li, P.; Wang, X.; Liu, S. Differential efficiency of a begomovirus to cross the midgut of different species of whiteflies results in variation of virus transmission by the vectors. **Science China Life Sciences**, v. 61, p. 1254-1265, 2018.
- Parrella, G.; Nappo, A. G.; Manco, E.; Greco, B.; Giorgini, M. Invasion of the Q2 mitochondrial variant of Mediterranean *Bemisia tabaci* in southern Italy: possible role of bacterial endosymbionts. **Pest Management Science**, v. 70, p. 1514-1523, 2014.
- Ribeiro, S. G.; Ambrozevicius, L. P.; Ávila, A. C.; Bezerra, I. C.; Calegario, R. F.; Fernandes, J. J.; Lima, M. F.; Mello, R. N.; Rocha, H.; Zerbini, F. M. Distribution and genetic diversity of tomato-infecting begomoviruses in Brazil. **Archives of Virology**, v. 148, p. 281-295, 2003.
- Ribeiro, S. G.; Ávila, A. C.; Bezerra, I. C.; Fernandes, J. J.; Faria, J. C.; Lima, M. F.; Gilbertson, R. L.; Zambolim, E. M.; Zerbini, F. M. Widespread occurrence of tomato geminiviruses in Brazil, associated with the new biotype of the whitefly vector. **Plant Disease**, v. 82, p. 830, 1998.
- Rocha, C. S.; Castillo-Urquiza, G. P.; Lima, A. T. M.; Silva, F. N.; Xavier, C. A. D.; Hora-Junior, B. T.; Beserra-Junior, J. E. A.; Malta, A. W. O.; Martin, D. P.; Varsani, A.;

- Alfenas-Zerbini, P.; Mizubuti, E. S. G.; Zerbini, F. M. Brazilian begomovirus populations are highly recombinant, rapidly evolving, and segregated based on geographical location. **Journal of Virology**, v. 87, p. 5784-5799, 2013.
- Rocha, K. C. G.; Marubayashi, J. M.; Navas-Castillo, J.; Yuki, V. A.; Wilcken, C. F.; Pavan, M. A.; Krause-Sakate, R. Only the B biotype of *Bemisia tabaci* is present on vegetables in São Paulo State, Brazil. **Scientia Agricola**, v. 68, p. 120-123, 2011.
- Rojas, M. R.; Gilbertson, R. L.; Russell, D. R.; Maxwell, D. P. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. **Plant Disease**, v. 77, p. 340-347, 1993.
- Ronquist, F.; Huelsenbeck, J. P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, v. 19, p. 1572-1574, 2003.
- Souza, J. O.; Melgarejo, T. A.; Vu, S.; Nakasu, E. Y. T.; Chen, L. F.; Rojas, M. R.; Zerbini, F. M.; Inoue-Nagata, A. K.; Gilbertson, R. L. How to be a successful monopartite begomovirus in a bipartite-dominated world: Emergence and spread of tomato mottle leaf curl virus in Brazil. **Journal of Virology**, v. 96, p. e0072522, 2022.
- Sun, D.-B.; Liu, Y.-Q.; Qin, L.; Xu, J.; Li, F.-F.; Liu, S.-S. Competitive displacement between two invasive whiteflies: Insecticide application and host plant effects. **Bulletin of Entomological Research**, v. 103, p. 344-353, 2013.
- Tamura, K.; Stecher, G.; Kumar, S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. **Molecular Biology and Evolution**, v. 38, p. 3022-3027, 2021.
- Tay, W. T.; Evans, G. A.; Boykin, L. M.; De Barro, P. J. Will the real *Bemisia tabaci* please stand up? **PLoS One**, v. 7, p. e50550, 2012.
- Teng, X.; Wan, F. H.; Chu, D. *Bemisia tabaci* biotype Q dominates other biotypes across China. **Florida Entomologist**, v. 93, p. 363-368, 2010.
- Walsh, P. S.; Metzger, D. A.; Higuchi, R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. **Biotechniques**, v. 10, p. 506-513, 1991.
- Wei, J.; Zhao, J. J.; Zhang, T.; Li, F. F.; Ghanim, M.; Zhou, X. P.; Ye, G. Y.; Liu, S. S.; Wang, X. W. Specific cells in the primary salivary glands of the whitefly *Bemisia tabaci* control retention and transmission of begomoviruses. **Journal of Virology**, v. 88, p. 13460-13468, 2014.
- Whitfield, A. E.; Falk, B. W.; Rotenberg, D. Insect vector-mediated transmission of plant viruses. **Virology**, v. 480, p. 278-289, 2015.
- Xavier, C. A. D.; Nogueira, A. M.; Bello, V. H.; Watanabe, L. F. M.; Barbosa, T. M. C.; Alves-Júnior, M.; Barbosa, L.; Beserra-Júnior, J. E. A.; Boari, A.; Calegario, R.; Gorayeb, E. S.; Honorato-Júnior, J.; Koch, G.; Lima, G. S. A.; Lopes, C.; Mello, R. N.; Pantoja, K.; Silva, F. N.; Ramos-Sobrinho, R.; Santana, E. N.; Silva, J. W. P.; Krause-Sakate, R.; Zerbini, F. M. Assessing the diversity of whiteflies infesting cassava in Brazil. **PeerJ**, v. 9, p. e11741, 2021.

Tabela 1. Informações sobre as amostras de moscas-brancas e de plantas coletadas neste trabalho.

Área	Hospedeiro	Local	Altitude (m)	Coordenadas geográficas	Moscas brancas ^a	Plantas ^b	Classificação ^c	Begomovírus ^d
1	tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>)	Mateus Leme	770	S 19° 55' 56,6" W 44° 23' 51,1"	94	51	Ba - 0 Bt - 80 NI - 14	(-)
1B	abobrinha (<i>Curcubita pepo</i>)	Mateus Leme	770	S 19° 55' 56,6" W 44° 23' 51,1"	17	11	Ba - 1 Bt - 16 NI - 0	(-)
2	tomateiro	Mateus Leme	770	S 19° 55' 56,6" W 44° 23' 51,1"	4	2	Ba - 0 Bt - 4 NI - 0	(-)
3A	tomateiro	Mateus Leme	770	S 19° 55' 56,6" W 44° 23' 51,1"	78	25	Ba - 0 Bt - 71 NI - 7	(-)
3B	berinjela (<i>Solanum melongela</i>)	Mateus Leme	770	S 19° 55' 56,6" W 44° 23' 51,1"	7	7	Ba - 0 Bt - 7 NI - 1	(-)
4	tomateiro	Pará de Minas	828	S 19° 51' 36" W 44° 36' 28"	45	42	Ba - 0 Bt - 33 NI - 12	(-)
5	berinjela	Pará de Minas	828	S 19° 51' 36" W 44° 36' 28"	49	25	Ba - 4 Bt - 36 NI - 9	(-)
6	tomateiro	Pará de Minas	828	S 19° 51' 36" W 44° 36' 28"	30	22	Ba - 0 Bt - 28 NI - 2	(-)
7	tomateiro	Florestal	815	S 19° 53' 12" W 44° 25' 56"	1	3	Ba - 0 Bt - 1 NI - 0	(-)
8	tomateiro	Florestal	815	S 19° 53' 12" W 44° 25' 56"	12	6	Ba - 0 Bt - 0 NI - 12	(-)
9	tomateiro	Florestal	815	S 19° 53' 12" W 44° 25' 56"	3	1	Ba - 0 Bt - 2 NI - 1	(-)
10	tomateiro	Florestal	815	S 19° 53' 12" W 44° 25' 56"	13	2	Ba - 0 Bt - 11 NI - 2	(-)

^aNúmero de espécimens coletados

^bNúmero de amostras foliares coletadas

^cNúmero de espécimens classificados como pertencentes a cada espécie, com base em PCR com os oligonucleotídeos Bam23F/Bam23R. Ba, *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1); Bt, *Bemisia tabaci* Mediterranean (MED); NI, não identificada

^dCom base em PCR com os oligonucleotídeos PAL1v1978 e PAR1c496, universais para o gênero *Begomovirus* (Rojas *et al.*, 1993)

Legendas das figuras

Figura 1. Mapa do estado de Minas Gerais indicando as três cidades nas quais foram coletadas amostras de plantas e de moscas-brancas. As cidades estão indicadas com círculos no mapa à esquerda. À direita estão representados os locais de coleta, indicando a quantidade de amostras coletadas. Círculos representam o número de moscas brancas coletadas e os triângulos representam o número de plantas coletadas.

Figura 2. A. Detecção de espécies do complexo *Bemisia tabaci* baseada em PCR com os oligonucleotídeos Bem23F e Bem23R, que amplifica um locus microssatélite de cerca de 200 pb e 400 pb para *B. tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1) e *B. tabaci* Mediterranean (MED), respectivamente. **B.** Detecção de begomovírus em plantas baseada em PCR com os oligonucleotídeos universais PAL1v1978 e PAR1c496 {Rojas, 1993 #218}.

Figura 3. Matriz de identidade de sequências do gene que codifica a citocromo oxidase mitocondrial (mtCOI) das moscas-brancas coletadas neste trabalho (em negrito), e de moscas-brancas pertencentes a diferentes espécies do complexo *Bemisia tabaci* obtidas do GenBank.

Figura 4. Árvore filogenética, construído por meio de inferência Bayesiana, com base nas sequências do gene que codifica a citocromo oxidase mitocondrial (mtCOI) das moscas-brancas coletadas neste trabalho (em negrito), e de moscas-brancas pertencentes a diferentes espécies do complexo *Bemisia tabaci* obtidas do GenBank. A árvore foi enraizada com a sequência da espécie *B. tuberculata*. Os valores de probabilidade

posterior estão indicados nos nós. A barra de escala representa o número de substituições de nucleotídeos por sítio. Os nós com valores de probabilidade posterior entre 0,60 e 0,80 são indicados por círculos vazios, e os nós com valores iguais ou maiores do que 0,81 são indicados por círculos preenchidos.

Figura 1

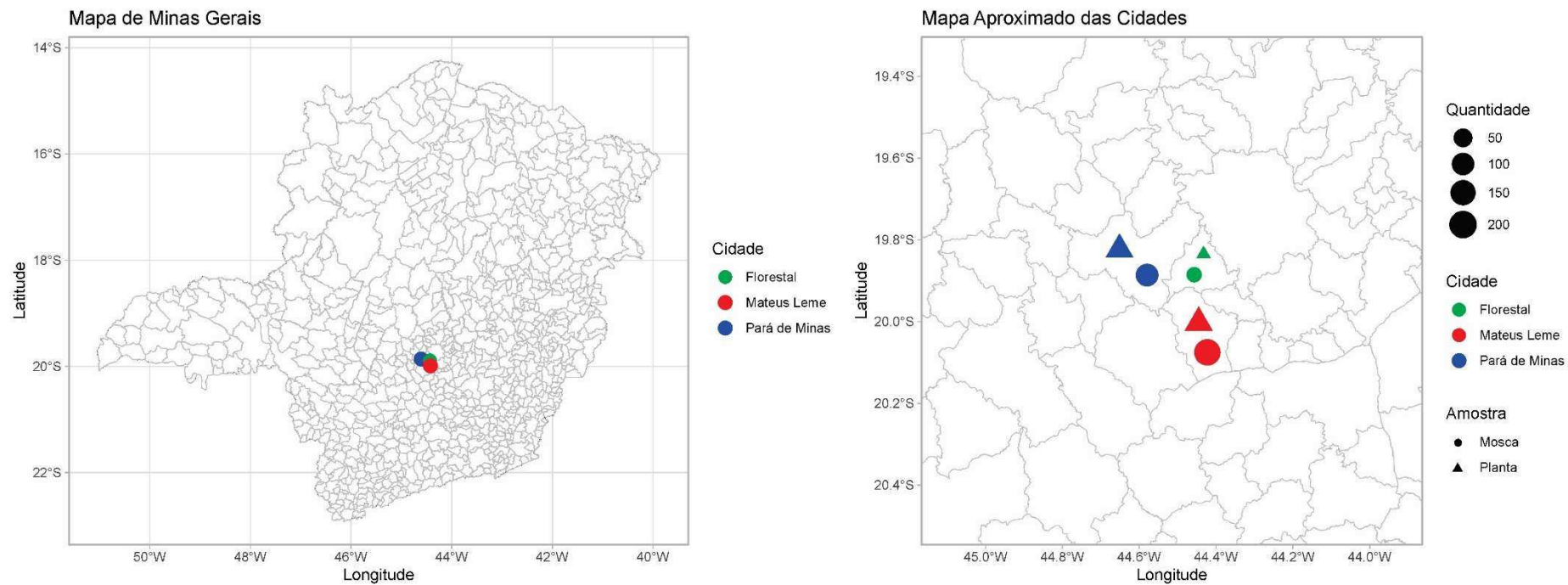


Figura 2

A



B

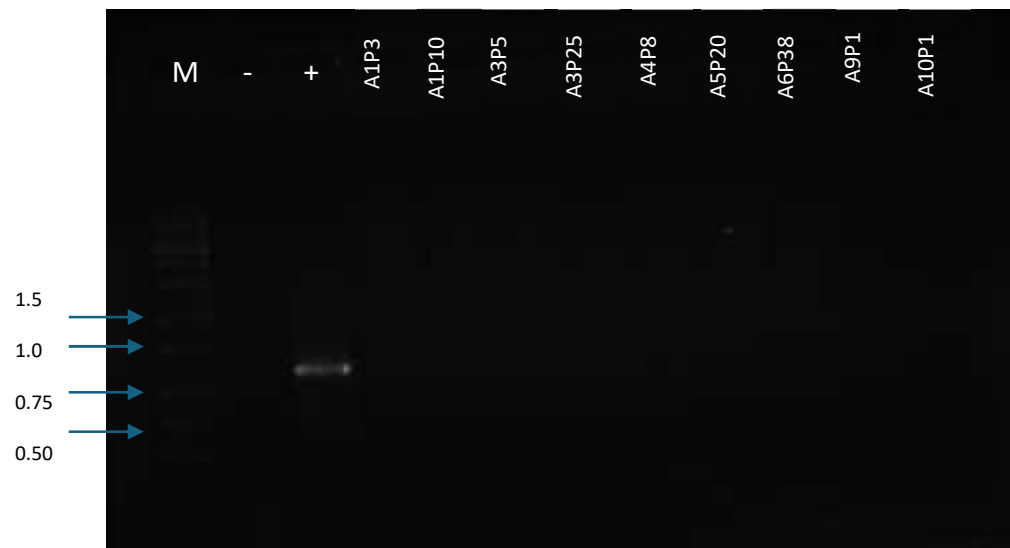


Figura 3

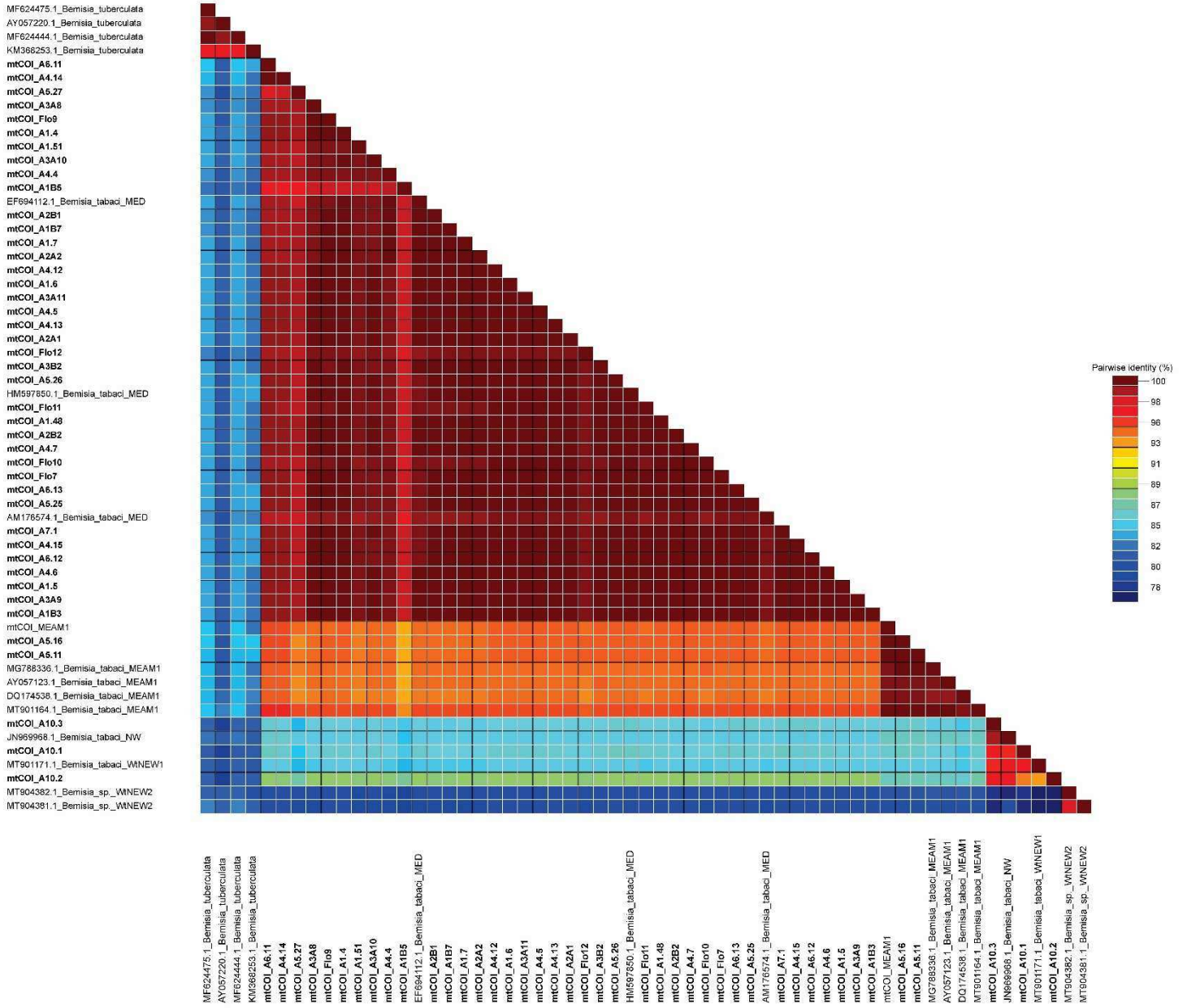
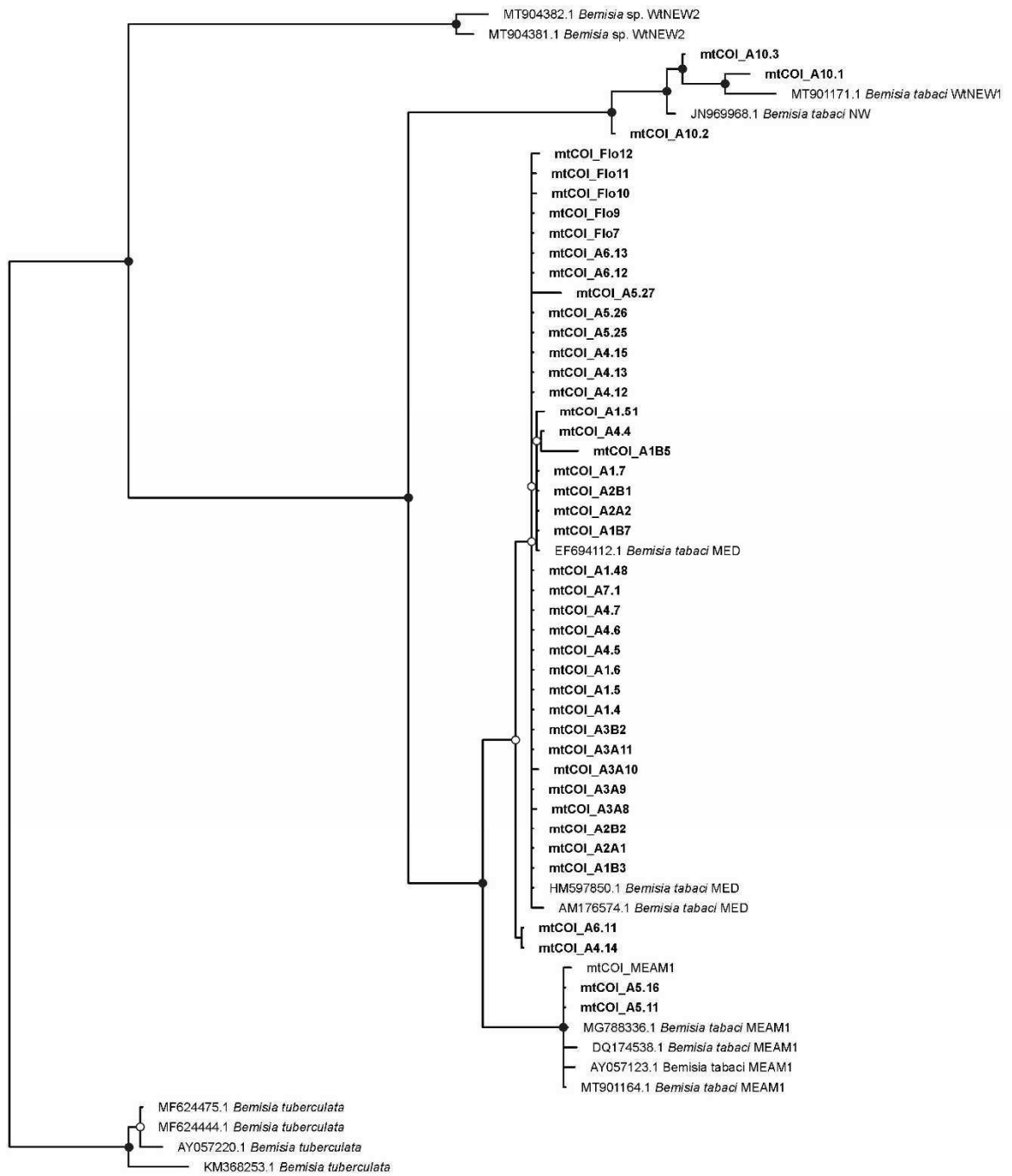


Figura 4



CAPÍTULO 2

EVOLUÇÃO MOLECULAR DO TOMATO SEVERE RUGOSE VIRUS (ToSRV)

Resende FMP, Sande OFL, Silva JPH, Quadros AFF, Melo AM, Gonçalves MHO, Ribeiro JP, Santos M, Souza G, Resende C, Lima ATM, Inoue-Nagata AK, Zerbini FM (2024) Evolução molecular do tomato severe rugose virus (ToSRV). *Virus Evolution*, *in preparation*.

Evolução molecular do tomate severe rugose virus (ToSRV)

Franciely M. P. Resende¹, Osvaldo F. L. Sande², João P. H. Silva¹, Ayane F. F. Quadros¹, Aline M. Melo¹, Marcelo H. O. Gonçalves¹, João P. Ribeiro³, Meirielly Santos³, Gabriel Souza³, Cecília Resende³, Alison T.M. Lima³, Alice K. Inoue-Nagata⁴, F. Murilo Zerbini^{1*}

¹Dep. de Fitopatologia/BIOAGRO, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG 36570-900, Brasil

²Divisão de Agricultura, Instituto Superior Politécnico de Manica (DivAG-ISPM), Manica, Mozambique

³Dep. de Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil

⁴ Embrapa Hortaliças, Brasília, DF, Brasil

*Autor para correspondência: Telefone: (+55-31) 3612-2423, E-mail: zerbini@ufv.br

Resumo

O gênero *Begomovirus* (família *Geminiviridae*) inclui vírus com genoma composto por uma ou duas moléculas circulares de DNA fita simples encapsuladas em partículas icosaédricas geminadas. Um grande número de begomovírus emergiu em cultivos de tomateiro no Brasil após a introdução do vetor *B. tabaci* Middle East Asia Minor 1 (MEAM1, anteriormente denominado *B. tabaci* biótipo B) no início da década de 1990. O tomato severe rugose virus (ToSRV) tornou-se o vírus predominante na região central do país, principalmente nos estados de MG e GO. Objetivou-se nesse trabalho analisar a história evolutiva do ToSRV. O conjunto de dados analisado foi composto por 338 sequências de DNA-A e 127 de DNA-B, incluindo sequências obtidas nesse trabalho e sequências provenientes de diversos hospedeiros cultivados e não-cultivados disponíveis no GenBank. Observou-se uma segregação geográfica quase perfeita nas árvores filogenéticas de DNA-A e DNA-B, evidenciando a estruturação dos isolados de ToSRV em dez e seis clados distintos com base no DNA-A e DNA-B, respectivamente. A rede filogenética inferida revelou evidências de recombinação intraespecífica, e análise com o programa RDP identificou seis eventos de recombinação no DNA-A e dois no DNA-B. Para aprofundar a compreensão sobre a estrutura populacional e determinar a subdivisão mais adequada para explicar os dados, foi realizada uma análise discriminante de componentes principais (DAPC) nos mesmos conjuntos de dados, confirmando a estruturação em 10 (DNA-A) e 6 (DNA-B) subpopulações. As diferenças na variabilidade genética entre os grupos inferidos filogeneticamente reforçam a hipótese de subdivisão populacional. Este estudo constitui a análise filogeográfica e evolutiva mais abrangente já realizada para o ToSRV, considerado o begomovírus mais relevante na infecção de tomateiros no Brasil.

Abstract

The genus *Begomovirus* (family *Geminiviridae*) includes viruses with genomes composed of one or two circular, single-stranded DNA molecules encapsidated in twinned icosahedral particles. A large number of begomoviruses emerged in tomato crops in Brazil after the introduction of the vector *B. tabaci* Middle East Asia Minor 1 (MEAM1, previously called *B. tabaci* biotype B) in the early 1990s.. Tomato severe rugose virus (ToSRV) became the predominant virus in the central region of the country, mainly in the states of Minas Gerais and Goiás. The aim of this study was to analyze the evolutionary history of ToSRV. The dataset analyzed consisted of 338 DNA-A and 127 DNA-B sequences, including sequences obtained in this study and sequences from several cultivated and non-cultivated hosts available in GenBank. A nearly perfect geographic segregation was observed in the DNA-A and DNA-B phylogenetic trees, demonstrating the structuring of ToSRV isolates into 10 and 6 distinct clades based on the DNA-A and DNA-B, respectively. The inferred phylogenetic network revealed evidence of intraspecific recombination, and analysis with the RDP program identified six recombination events in the DNA-A and two in the DNA-B. For a better understanding of the population structure and to determine the most appropriate subdivision to explain the data, a discriminant analysis of principal components (DAPC) was performed on the same data sets, confirming the structuring into 10 (DNA-A) and 6 (DNA-B) subpopulations. Differences in genetic variability among the phylogenetically inferred groups reinforced the hypothesis of population subdivision. This study constitutes the most comprehensive phylogeographic and evolutionary analysis ever performed for ToSRV, the most relevant begomovirus in tomatoes in Brazil.

INTRODUÇÃO

O cultivo do tomateiro (*Solanum lycopersicum*) é uma atividade econômica de grande importância mundial, em particular nas regiões tropicais e subtropicais, onde as condições climáticas favorecem o cultivo, mas também aumentam a vulnerabilidade a pragas e doenças (1). Entre os desafios fitossanitários que ameaçam a produtividade, os vírus transmitidos pelas moscas-brancas do complexo *Bemisia tabaci* estão entre os mais críticos, especialmente os pertencentes ao gênero *Begomovirus* da família *Geminiviridae* (2).

A família *Geminiviridae* inclui vírus cujos genomas são compostos por uma ou duas moléculas de DNA de fita simples (ssDNA) circular encapsidado por uma única proteína estrutural em partículas icosaédricas geminadas. A família contém atualmente 15 gêneros, definidos com base no tipo de inseto vetor, gama de hospedeiros, organização do genoma e relacionamento filogenético (3).

As espécies classificadas no gênero *Begomovirus* podem ser divididas em dois grupos: Velho Mundo (VM; Europa, África, Ásia e Austrália) e Novo Mundo (NM; Américas), com base na organização do genoma, relações filogenéticas e distribuição geográfica (4). A maioria dos begomovírus do NM possui genomas dividido em dois componentes, denominados DNA-A e DNA-B. O DNA-A contém genes envolvidos na replicação e encapsidação, e o DNA-B contém genes necessários para o movimento intra- e intercelular na planta. Ambos os componentes genômicos são necessários para a infecção sistêmica do hospedeiro (5).

Os begomovírus apresentam alto grau de variabilidade genética, com taxas de evolução molecular comparáveis às dos vírus com genoma de ssRNA (6, 7). Essa alta variabilidade genética resulta de altas taxas de mutação e eventos de recombinação

frequentes (5, 8-12), e confere uma elevada capacidade adaptativa que pode facilitar o surgimento de novas doenças (13, 14).

O Brasil é um centro de diversidade genética de begomovírus, com relatos de sua detecção desde meados do século 20 (15, 16). Mais recentemente, um grande número de begomovírus tem sido caracterizados a partir de plantas cultivadas e não-cultivadas (17-25). Alguns desses begomovírus são amplamente distribuídos por todo o país, enquanto outros são restritos a certas regiões.

O tomato severe rugose virus (ToSRV) é o vírus predominante em cultivos de tomateiro no sudeste e centro-oeste do Brasil desde o início da década de 2010 (26), exibindo alta capacidade adaptativa (27), causando perdas significativas e exigindo um manejo intensivo para reduzir seu impacto (28). O ToSRV é caracterizado por induzir sintomas severos de mosaico, enrugamento das folhas e redução de crescimento das plantas, afetando diretamente o rendimento e a qualidade dos frutos (25). A disseminação do vírus é rápida e está intimamente ligada à mobilidade da mosca-branca, vetor capaz de transportar o vírus a longas distâncias e de colonizar diferentes espécies hospedeiras (29).

B. tabaci Middle East-Asia Minor 1 (também denominada *B. tabaci* biótipo B ou *B. argentifolli*) é considerada uma "supervetora" de vírus de plantas, que se espalhou rapidamente por todo o mundo e deslocou as espécies nativas (30). Logo após a introdução dessa espécie no Brasil no início da década de 1990 (31), relatos de doenças causadas por begomovírus em tomateiro começaram a surgir em todo o país (25, 32). *B. tabaci* MEAM1 é capaz de atingir elevados níveis populacionais em um menor espaço de tempo em comparação com *Bemisia tabaci* New World (também denominada *B. tabaci* biótipo A ou *B. inconspicua*), a única espécie presente no Brasil até então, e possui uma ampla gama de plantas hospedeiras, incluindo solanáceas como o tomateiro, enquanto *B. tabaci* NW coloniza preferencialmente malváceas e leguminosas (33-35).

Ao longo de seu processo evolutivo, os vírus incorporaram várias características únicas, exibindo uma diversidade de associações genômicas, mecanismos de replicação e expressão gênica (36-38). Essa diversidade permite que as populações sejam dinâmicas, com alta capacidade adaptativa (39, 40).

Explorar a dinâmica temporal das populações virais nos permite entender como a composição das populações muda ao longo das gerações, bem como a contribuição relativa dos mecanismos evolutivos que modulam diversidade, aspectos que podem determinar a adaptação do vírus a diferentes hospedeiros e ambientes, influenciando sua virulência, capacidade de transmissão e persistência em ecossistemas agrícolas (41-43). Compreender essas dinâmicas é importante para prever a evolução do vírus, orientar o desenvolvimento de práticas de manejo e criar estratégias de controle que possam limitar a propagação e impacto das infecções virais nas lavouras (41, 44). Além disso, pode fornecer informações sobre como a estrutura populacional é moldada ao longo do tempo, expandindo nossa compreensão das relações ecológicas entre os indivíduos desencadeadas dentro de populações e comunidades virais.

Devido a sua prevalência em cultivos de tomateiro no Sudeste do Brasil desde o final da década de 1990, o ToSRV vem sendo constantemente amostrado e um grande número de sequências de genomas completos está disponível. Essas sequências possuem uma boa distribuição ao longo do tempo (desde 1997 até 2023) e no espaço (principalmente no estado de Minas Gerais, mas também em Goiás e nos estados da região Sul). Assim, um conjunto de dados formado por todas as sequências disponíveis no GenBank, acrescentado de sequências obtidas em 2024 neste trabalho, é adequado para a análise da variabilidade e estrutura genética do vírus, bem como para o monitoramento de sua dinâmica espaço-temporal. O objetivo deste trabalho, portanto, foi analisar

aspectos evolutivos e padrões de dispersão do ToSRV, a fim de identificar fatores ambientais e práticas agrícolas que possam influenciar sua propagação e adaptação.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de amostras

Amostras foliares foram coletadas nos municípios de Araguari, Coimbra, Florestal e Rio Paranaíba em Minas Gerais, de agosto de 2021 a março de 2024 (Tabela 1). Em todas as coletas as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e conduzidas ao laboratório. Um disco foliar foi utilizado para extração de DNA total conforme descrito a seguir, e o restante das amostras foram herbarizadas. As amostras de tomateiro foram coletadas em diferentes estágios fenológicos da planta (frutificação, maturação e colheita). Em cada ponto de amostragem foram registradas as coordenadas geográficas, imagens das folhas coletadas e o nome da variedade ou híbrido de tomateiro ou do gênero e espécie da planta não-cultivada.

Para compor o conjunto de dados foram incluídas todas as sequências de ToSRV disponíveis no GenBank (dados extraídos em junho de 2024), além de sequências não depositadas em bancos de dados (Alice K. Inoue-Nagata, *dados não publicados*).

Clonagem e sequenciamento

O DNA total foi extraído de amostras de folhas conforme descrito por Doyle e Doyle (45). Aproximadamente 1 ng de DNA total foi usado como um molde para amplificação de genomas completos por meio de amplificação por círculo rolante (RCA) (46). As moléculas multiméricas produzidas pelo RCA foram digeridas com enzimas de restrição para obter moléculas lineares de comprimento genômico (aproximadamente

2.600 nucleotídeos) que foram ligadas ao vetor plasmidial pBLUESCRIPT-KS+ (pKS; Stratagene), previamente digerido com a mesma enzima e defosforilado. Os plasmídeos recombinantes foram transformados por eletroporação em *Escherichia coli* DH5 α . Os clones foram completamente sequenciados na Macrogen Inc. (Seul, Coreia do Sul).

Montagens de genomas e comparações de sequências

As sequências completas do DNA-A foram montadas utilizando-se o programa CodonCode Aligner v.10.0.3 (www.codoncode.com). Seguindo a convenção, os genomas foram orientados para iniciar no local de clivagem na origem da replicação (TAATATT//AC). Os contigs foram submetidos a uma busca inicial no GenBank com o algoritmo BLASTn (47), para determinar os vírus mais proximamente relacionados. As atribuições taxonômicas foram realizadas por análise de comparação de sequências par-a-par com o programa Sequence Demarcation Tool (SDT) v. 1.2, de acordo com as recomendações do Grupo de Estudo de *Geminiviridae* do ICTV (48). As sequências de begomovírus com >91% de identidade constituem isolados da mesma espécie. Isolados da mesma espécie que apresentam >94% de identidade pertencem à mesma estirpe (48). A análise do conteúdo genético e da organização genômica foi realizada utilizando-se o programa ORFfinder (49).

Alinhamentos múltiplos de sequências

Alinhamentos múltiplos foram construídos para cada um dos componentes genômicos (DNA-A e DNA-B), bem como cada uma das ORFs codificados pelos dois componentes, utilizando-se o algoritmo MAFFT v. 7 (50).

Análise filogenética

A análise filogenética de máxima verossimilhança foi realizada com o programa RaxML-NG (51). O modelo evolutivo mais adequado foi determinado utilizando-se o algoritmo ModelTest-NG com base nos critérios de informação Bayesiano (BIC), de Akaike (AIC) e de Akaike corrigido (AICc) (52). A análise foi realizada com 1.000 repetições de *bootstrap*. Árvores filogenéticas foram construídas para os conjuntos de dados completos de DNA-A e DNA-B.

Estimativas de variabilidade genética e estruturação populacional

O índice médio de diversidade de nucleotídeos, π (53), foi calculado para ambos os segmentos genômicos e para cada gene. As estimativas dos valores de π foram computadas por meio de comparações par-a-par utilizando-se um script em Python desenvolvido por Lima et al. (10). Em seguida, calculou-se um intervalo de confiança de 95% com 1.000 simulações não paramétricas utilizando-se o pacote boot no software R (<https://cran.r-project.org/web/packages/boot/boot.pdf>). Índices de variabilidade adicionais foram computados com o programa DnaSP v. 6 (54). Vieses de mutação foram inferidos pela Estimativa de Máxima Verossimilhança Composta do padrão de substituição de nucleotídeos em MEGA11 (55).

As inferências sobre a estrutura genética populacional foram realizadas por meio de análise discriminante de componentes principais (DAPC) (56) implementada no pacote Adegenet (57) no software R. DAPC é um método livre de modelos, sem suposições sobre o equilíbrio de Hardy-Weinberg ou desequilíbrio de ligação, sendo, portanto, ideal para vírus. O número de clusters genéticos (K) foi predefinido usando um algoritmo K -means. Para encontrar o melhor número de clusters genéticos para descrever os dados, o K -means foi executado sequencialmente com valores de K variando de 2 a

10, retendo todos os componentes principais (PC). A escolha do melhor modelo de *clustering* foi baseada principalmente no número mínimo de K após o qual o critério de informação bayesiano (BIC) diminui em uma quantidade insignificante (56). Para apoiar os resultados, a estatística N_{st} , análoga ao índice de fixação de Wright ao nível da sequência de nucleotídeos, foi estimado para apoiar e verificar o grau de diferenciação entre *clusters* genéticos inferidos pelo DAPC. A estatística N_{st} foi estimada com o programa DnaSP v. 6 (54). Os principais descritores de genética variabilidade (número de haplótipos, diversidade de haplótipos, diversidade de nucleotídeos, taxa de mutação, total número de sítios polimórficos, número total de mutações e número médio de nucleotídeos diferenças) foram avaliados com o programa DnaSP v. 6. A significância estatística das diferenças nos valores de π entre subpopulações foi avaliada conforme descrito por Lima et al. (10).

Avaliação do sinal temporal e análise demográfica

A fim de buscar um sinal de estruturação populacional ao longo do tempo, realizou-se uma análise exploratória com o programa TempEst (58), na qual a qualidade do sinal temporal foi avaliada por meio da correlação raiz-extremidade. Embora TempEst seja amplamente utilizado para inferir sinal temporal, outras abordagens, como a Avaliação Bayesiana do Sinal Temporal (BETS), são mais precisas para esse propósito (59). Simulações no programa BEAST foram realizadas com e sem as datas das sequências (60), estimando-se a verossimilhança marginal com o algoritmo Nested Sampling (61), e então calculando-se o fator Bayes (62). O relógio molecular que melhor se adequava aos dados foi determinado com base no fator Bayes. A trajetória das populações ao longo do tempo foi monitorada por meio da construção de Bayesian Skyline Plots (63) com uma taxa de $1,0 \times 10^{-3}$, consistente com as taxas documentadas

para begomovírus (7). As análises foram realizadas com um comprimento de cadeia igual a 100.000.000, e no final da execução avaliou-se os tamanhos amostrais efetivos (ESS), que deveriam ser >200 .

Análise de recombinação

Redes filogenéticas foram construídas com o objetivo de capturar inconsistências filogenéticas causadas por hibridização. As redes foram inferidas com o algoritmo Neighbor-Net implementando no programa SplitsTree v. 4.19.2 (65). As distâncias foram computadas utilizando-se o modelo de substituição GTR+G determinado em jModelTest2, com 1.000 repetições *bootstrap* (65).

Para investigar a ocorrência de eventos de recombinação, alinhamentos múltiplos de sequências completas do DNA-A e DNA-B foram escaneados separadamente utilizando-se os métodos Rdp, Geneconv, Bootscan, Maximum χ^2 , Chimaera, Siscan e 3Seq implementados no programa RDP5 (64). Em todos os casos foram utilizados os parâmetros padrão. A significância estatística foi inferida por valores de p menores que um corte de $\alpha = 0,05$ com correção de Bonferroni. Conforme recomendado pelos autores, apenas eventos de recombinação detectados por pelo menos quatro métodos foram considerados confiáveis.

Para investigar eventos de recombinação em uma escala mais fina, as taxas de recombinação foram inferidas ao longo de todo o genoma. Estimou-se a taxa média de recombinação em escala para a população (ρ) e a taxa média em todo o genoma utilizando-se o algoritmo LDHat (66), aplicando-se filtragem para alelos em frequências $<1\%$. As análises foram realizadas com 1.000.000 de interações, uma penalidade de bloqueio igual a 5, amostragem a cada 5.000 interações e um *burn in* igual a 0,01. Duas tabelas de consulta de verossimilhança foram utilizadas, uma com θ igual a 0,01 e a outra

com θ igual a 0,001. O comando `res-files` foi utilizado para plotar gráficos de variação de ρ ao longo do genoma com o pacote `ggplot2` em R (67). O estimador de Watterson da taxa de mutação (θW) também foi calculado utilizando-se `LDHat`. Além disso, a contribuição relativa da mutação e recombinação para a diversificação das populações foi calculada com base na proporção populacional escalonada entre $\rho/\theta W$. Algumas manipulações precisaram ser feitas no conjunto de dados. A tabela de consulta de verossimilhança disponível com θ igual a 0,001 tem um limite máximo de 120 sequências, e os conjuntos de dados excedem esse valor. Como o custo computacional para gerar uma tabela de consulta de probabilidade é alto, os conjuntos de dados foram ajustados com o programa `CD-Hit` (68), eliminando-se sequências com >99,96% de identidade, o que levou à redução dos conjuntos de dados para 99 sequências.

Análise de seleção

Para identificar sítios de aminoácidos que poderiam estar submetidos a seleção positiva ou negativa, análises de seleção foram realizadas para cada uma das regiões codificadoras do genoma. Três métodos foram utilizados: `Single Likelihood Ancestor Counting (SLAC)` (69), `Mixed Effects Model of Evolution (MEME)` (70) e `Fast Unconstrained Bayesian AppRoximation (FUBAR)` (71), todos implementados no servidor `DataMonkey` (72).

As relações entre taxas de substituição sinônimas e não sinônimas (dN/dS) foram calculadas utilizando-se o método `SLAC`. Para evitar quaisquer artefatos nas análises, uma busca por pontos de interrupção de recombinação foi realizada para cada conjunto de dados utilizando-se o algoritmo `Genetic Algorithm Recombination Detection (GARD)` (73). Também foram realizados testes de neutralidade D de Tajima e calculadas as estatísticas D^* e F^* de Fu e Li, com o programa `DnaSP v. 6` (54).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Amostragens sistematizadas e o sequenciamento de organismos ao longo do tempo proporcionam dados essenciais para monitorar mudanças nas frequências de alelos entre gerações, identificar sinais de seleção natural, detectar evidências de troca genética horizontal e monitorar dinâmicas demográficas. Esses aspectos oferecem uma visão abrangente sobre a atuação de mecanismos evolutivos e seus impactos nas populações (74-77). Neste estudo foram analisadas sequências do genoma completo de isolados de ToSRV obtidos ao longo de um extenso período de tempo, de 1999 a 2024, e abrangendo uma grande área, permitindo uma análise espaço-temporal detalhada.

Entre dezembro de 2021 e junho de 2023 foram realizadas oito coletas em áreas produtoras de tomateiro no estado de Minas Gerais, abrangendo os municípios de Coimbra, Florestal, Mateus Leme, Pará de Minas e Rio Paranaíba. No total, foram obtidas 407 amostras de tomateiro e 9 de plantas não-cultivadas, a maioria com sintomas leves de infecção viral (Figura 1). Todas as 416 amostras foram submetidas à detecção de begomovírus por PCR, porém nenhuma delas apresentou resultado positivo para a presença do vírus.

Em março de 2024 foram coletadas 291 amostras de plantas com sintomas característicos de infecção por begomovírus em lavouras localizadas na região de Araguari, MG. Destas, 283 amostras eram de tomateiro e 8 de plantas não-cultivadas. A análise por PCR revelou a amplificação de um fragmento de aproximadamente 1,2 kb, correspondente a um fragmento do DNA-A, em 57 amostras, indicando infecção por begomovírus. O sequenciamento direto de 36 desses fragmentos, realizado pelo método de Sanger, confirmou a presença do tomato severe rugose virus (ToSRV). A partir dessas

36 amostras, seis clones correspondentes ao DNA-A completo do ToSRV foram obtidos e sequenciados (Tabela 2).

Dois conjuntos de dados foram preparados, para cada um dos dois componentes genômicos do ToSRV (Tabelas Suplementares 1 e 2). O conjunto de dados do DNA-A incluiu 338 sequências, das quais 324 foram obtidas de tomateiro (incluindo as seis obtidas neste trabalho) e as demais de *Crotalaria juncea* (1), feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*, 1), *Oxalis latifolia* (1), *Nicandra physalodes* (2), *Pachyrhizus erosus* (1), pimenta (*Capsicum frutescens*, 2), pimentão (*Capsicum annuum*, 1), *Sida* sp. (2), *Solanum bataceum* (1), *S. melongena* (1) e *S. torvum* (1) (Tabela 3, Tabela Suplementar 1). As amostras foram coletadas nos estados brasileiros do Ceará, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais, Paraná, Pernambuco, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, São Paulo, Santa Catarina e Tocantins, e no Distrito Federal, ao longo de um período de 25 anos (1999-2024) (Figura 1, Tabela 3, Tabela Suplementar 1). O segundo conjunto de dados, referente às sequências de DNA-B, incluiu 85 sequências disponíveis no GenBank e 42 sequências ainda não depositadas em bancos de dados públicos (Alice K. Inoue-Nagata, *dados não publicados*). Dessas 127 sequências, 124 foram obtidas de amostras de tomateiro, e três de plantas não-cultivadas (Tabela 4, Tabela Suplementar 2). Os isolados são provenientes do Distrito Federal e dos estados do Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais e São Paulo, abrangendo um período de coleta entre 2003 e 2016 (Figura 1, Tabela 4, Tabela Suplementar 2).

Comparações de sequências

Comparações par-a-par das sequências completas de DNA-A dos isolados de ToSRV indicaram valores de identidade >94% (Figura 2). Os valores de identidade utilizados para demarcação de espécies e estirpes do gênero *Begomovirus* são de 91% e

94%, respectivamente (48), de forma que todos os 338 isolados que compõe o conjunto de dados do DNA-A são classificados como membros de uma mesma estirpe. Esse resultado indica um baixo grau de variabilidade genética para o vírus, conforme relatado por Lima et al. (78) e Xavier et al. (12) com base no mesmo tipo de análise, porém com conjuntos de dados compostos por um número menor de isolados (55 e 74, respectivamente).

Apesar dessa homogeneidade genética, foi possível identificar grupos de isolados mais proximamente relacionados, como o grupo de isolados de Florestal (MG) obtidos em 2008, um grupo de isolados de Luziânia (GO) e Planaltina (DF) obtidos em 2014 e 2016, respectivamente, e o grupo de isolados de Araguari (MG) obtidos em 2024 (Figura 2). Além disso, dois isolados se destacam por apresentarem maior divergência genética em relação aos demais (embora ainda dentro do limite de 94% de identidade), o isolado MW596573 (de Minas Gerais, porém com o local de coleta não informado) e o isolado JX865633 (de Viçosa, MG).

As comparações de sequências de DNA-B corroboram os resultados observados para o DNA-A, evidenciando uma homogeneidade genética elevada, com >94% de identidade entre os isolados (Figura Suplementar 1). Também puderam ser observados grupos de isolados mais proximamente relacionados, por exemplo os mesmos isolados de Florestal/2008 mencionados para o DNA-A. Entretanto, a divergência entre os grupos é maior do que a observada para o conjunto de dados do DNA-A.

Em conjunto, os resultados das comparações de sequências confirmam os resultados relatados por Xavier et al. (12) com base em um conjunto de dados menor (74 isolados), indicando um baixo grau de variabilidade genética do vírus como um todo (DNA-A e DNA-B), o que reflete uma estabilidade genômica significativa, possivelmente associada à eficiência de transmissão e adaptação do vírus aos seus hospedeiros e vetores.

Análise filogenética

A análise filogenética baseada no DNA-A revelou uma separação evidente dos isolados de ToSRV, organizados em 10 clados bem suportados por altos valores de probabilidade posterior e separados por longos ramos (Figura 3). O primeiro clado (clado 1) é formado por isolados coletados em Florestal (MG) nos anos de 2013 e 2014. O clado 2 reúne isolados provenientes dos estados do Espírito Santo (ES) e Rio de Janeiro (RJ). O clado 3 inclui isolados dos estados de Goiás (GO), Distrito Federal (DF) e um de Pernambuco (PE). O clado 4 abrange isolados de GO, DF e Minas Gerais (MG), incluindo os isolados de MG provenientes de Araguari, obtidos neste trabalho. Essa região de MG é geograficamente mais próxima de Goiás. O clado 5 é constituído por isolados de Florestal coletados em 2008. O clado 6 reúne exclusivamente isolados de MG. O clado 7 é predominantemente composto por isolados de Carandaí (MG), coletados em 2006. O clado 8 também abrange isolados de MG. O clado 9 inclui isolados de MG, São Paulo (SP) e Paraná (PR). Por fim, o clado 10 é composto por isolados de Santa Catarina (SC), Rio Grande do Sul (RS), SP e um isolado de Pimenta (MG), que está geograficamente próximo ao estado de São Paulo. Vários isolados não se agruparam em nenhum dos clados, sugerindo a existência de linhagens únicas ou menos representadas no conjunto de dados analisado.

A análise filogenética baseada no DNA-B dividiu os isolados em seis clados bem suportados (Figura 4). O primeiro (clado 1) é composto exclusivamente por isolados de Florestal/2008. O clado 2 é composto por isolados de Florestal/2014, evidenciando uma estrutura temporal marcante, considerando o intervalo de apenas seis anos entre as amostragens. O clado 3 inclui isolados de Piracicaba (SP) coletados em 2019 e 2022. O clado 4 inclui isolados de Luziânia e Cristalina (GO). No clado 5 estão agrupados isolados de Coimbra/2013 e 2014 juntamente com um isolado de Florestal/2014. Por fim, o clado

6 é composto exclusivamente por isolados de Carandaí/2008. Os seis agrupamentos observados, consistentes tanto na análise filogenética quanto na análise DAPC (ver abaixo), indicam que o DNA-B também apresenta estrutura genética que permite discriminar variantes mais proximamente relacionadas. Essa estrutura pode estar associada a fatores ecológicos ou geográficos que influenciam a evolução do vírus.

Ocorrência de seleção na população de ToSRV

Testes de neutralidade foram realizados para investigar os tipos de seleção ou forças demográficas atuando sobre as sequências codificadoras dos genes *CP*, *Rep*, *Trap*, *Ren*, *AC4*, *MP* e *NSP* nas populações de ToSRV. Os valores obtidos nos testes Tajima's D, Fu & Li D* e Fu & Li F* foram consistentemente negativos e estatisticamente significativos (Tabela 5), indicando a predominância de seleção negativa (purificadora) atuando nesses genes.

Embora a seleção negativa seja a principal força evolutiva que influencia as populações de ToSRV, evidências de seleção positiva foram identificadas no gene *AC4*. A análise da razão dN/dS indicou que a proteína codificada por *AC4* está sob seleção positiva ou diversificadora ($dN/dS > 1$). Em contraste, todas as outras proteínas analisadas apresentaram sinal de seleção negativa ($dN/dS < 1$).

Os resultados dos testes estatísticos também indicaram que, de maneira consistente com a pressão de seleção negativa, a maioria dos sítios analisados foi classificada como submetida à seleção purificadora pelos três métodos utilizados (SLAC, MEME e FUBAR; Tabela 5). No entanto, alguns sítios sob seleção positiva foram detectados em pelo menos um dos testes realizados.

Diversos estudos identificaram a ocorrência de seleção negativa ou purificadora como a principal força seletiva atuando sobre populações de begomovírus no Brasil (79-

83), incluindo o ToSRV (78). A seleção negativa ocorre quando mutações que causam alterações deletérias à função da proteína são eliminadas da população ao longo do tempo. Esse tipo de seleção reduz a variabilidade genética em regiões críticas do genoma, preservando características essenciais para a viabilidade e replicação do vírus.

Estruturação genética da população de ToSRV

Para melhor compreender a estrutura populacional do ToSRV e encontrar a subdivisão mais adequada para explicar os dados, realizou-se uma análise discriminante de componentes principais (DAPC) nos mesmos conjuntos de dados. Como o DAPC requer grupos anteriores, agrupamentos genéticos foram inferidos com base em simulações de *K*-means com um número sequencialmente crescente de *K*. A maior probabilidade para o conjunto de dados do DNA-A foi obtida para 10 subpopulações (Figura 5), e para o DNA-B com 6 subpopulações (Figura Suplementar 2).

As subpopulações inferidas com base no DNA-A e DNA-B foram verificadas para sua associação com a localização geográfica e temporal. Na análise baseada no ano de coleta das amostras não foi identificada uma estruturação evidente para nenhum dos dois componentes (Figura 6 e Figura Suplementar 3 para o DNA-A e DNA-B, respectivamente), sugerindo uma distribuição temporal homogênea dos grupos. Por outro lado, na análise baseada na região geográfica (estado) observou-se que grupos provenientes de estados geograficamente próximos apresentaram maior proximidade entre si, indicando a existência de estruturação geográfica dos isolados (Figura 7 e Figura Suplementar 4 para o DNA-A e DNA-B, respectivamente). Essa formação de grupos com base em região geográfica também foi observada nas análises filogenéticas (Figura 3 e Figura 4 para o DNA-A e DNA-B, respectivamente).

A estruturação geográfica sugerida pelas análises filogenética e DAPC foi verificada com base na estatística Nst. A análise foi realizada para o DNA-A, com base nos 10 grupos identificados nas análises filogenética/DAPC e com base nos estados aonde as amostras foram coletadas. No primeiro caso, os resultados corroboraram a subdivisão da população em 10 grupos, com valores de Nst indicando alta diferenciação genética em praticamente todas as comparações (Tabela 6). No caso da subpopulação 3 houve algumas comparações (com as subpopulações 5, 8, 9 e 10) indicando diferenciação moderada, e a comparação entre as subpopulações 8 e 10 indicou baixa diferenciação. No caso da subdivisão por estados (Tabela 7), 20 das 36 comparações indicaram alta diferenciação, e 10 comparações indicaram diferenciação moderada. A comparação entre DF e GO apresentou um valor extremamente baixo, o que provavelmente reflete a localização "interna" do Distrito Federal em relação ao estado de Goiás. As comparações entre os três estados da região Sul (PR, RS e SC) indicaram baixa diferenciação, mas isso pode ser um reflexo do pequeno número de isolados do ToSRV coletados em cada um desses três estados.

Em conjunto, os resultados dos testes corroboram claramente a subdivisão da população de ToSRV (DNA-A) em 10 grupos, fortemente correlacionados com região geográfica. Vários estudos têm mostrado uma tendência das populações de begomovírus a se estruturarem conforme a distribuição geográfica (78, 80, 81, 83), e portanto não é surpreendente que isso também ocorra no caso do ToSRV. Entretanto, um aspecto marcante da subdivisão, tanto para o DNA-A como para o DNA-B, é o baixíssimo grau de mistura genética ("admixture"), ou seja, praticamente todos os isolados de ToSRV tem 100% de sua composição genética associada à subpopulação a qual foram designados. Dentre as 338 sequências que compõe o conjunto de dados de DNA-A, apenas duas apresentam mistura genética (Figura 5), enquanto nenhuma das 127 sequências de DNA-

B apresenta mistura genética (Figura Suplementar 2). Esse grau de separação é surpreendente quando se leva em consideração a grande amplitude geográfica e temporal das sequências que compõe o conjunto de dados, e sugere que o ToSRV evolui localmente, porém de forma lenta e sem fluxo gênico/migração, o que também é surpreendente considerando-se sua transmissão por moscas-brancas, insetos que atingem altíssimos níveis populacionais e podem se deslocar a grandes distâncias. Seria interessante analisar a composição genética das populações de mosca-branca nas diferentes regiões aonde as subpopulações de ToRSV estão presentes, para verificar se também ocorre segregação geográfica na população do vetor.

Índices de variabilidade

Os índices de variabilidade foram calculados para população total e cada uma das subpopulações identificadas na análise DAPC para o DNA-A e DNA-B (Tabela 8). Com base nas análises filogenética e DAPC, que indicaram estruturação geográfica dos isolados, os índices de variabilidade foram calculados também para cada grupo de isolados coletados nos diferentes estados (Tabela 9). Os resultados demonstraram que a população de ToSRV tem baixa variabilidade genética, e que o DNA-B é mais variável do que o DNA-A ($\pi_{\text{total}} = 0,01366$ e $0,02331$ para o DNA-A e DNA-B, respectivamente; Tabela 8). Baixa variabilidade genética também foi encontrada por Xavier et al. (12) para os begomovírus bean golden mosaic virus (BGMV), Euphorbia yellow mosaic virus (EuYMV) e para o próprio ToSRV (embora com um conjunto de dados menor de 74 isolados).

Quando avaliadas as subpopulações individuais do DNA-A, os valores de diversidade nucleotídica foram maiores para as subpopulações 1 ($\pi_1 = 0,01508$) e 8 ($\pi_8 = 0,01126$), e menores para as subpopulações 7 ($\pi_7 = 0,00635$), 9 ($\pi_9 = 0,00600$) e 6 ($\pi_6 =$

0,00434). A variabilidade genética das subpops. 1 e 8 é próxima à observada para a população total (Tabela 8). Exceto pela subpop. 1, que contém um pequeno número de isolados (N=6), as demais subpopulações contêm número semelhante de isolados, de forma que não é observado um efeito do número de isolados nos valores de π . Na análise realizando a subdivisão dos isolados por estado, os valores variaram entre 0,00317 (SC) a 0,01441 (DF) (Tabela 9). Entretanto, os valores são altamente correlacionados com o número de isolados coletados em cada estado, com valores maiores para DF, GO e MG, com maior número de isolados (32, 78 e 133, respectivamente), e menores para SC, PR e RJ, estados nos quais um pequeno número de isolados foi coletado (11, 5 e 7, respectivamente) (Tabela 9).

Recombinação intraespecífica

A análise de evolução em rede baseada no DNA-A apresentou reticulação extensiva (Figura 8), o que sugere que eventos de recombinação vêm contribuindo para o processo evolutivo do ToSRV. Entretanto, a análise do conjunto de dados do DNA-A com o programa RDP detectou apenas seis eventos de recombinação intraespecíficos entre as 338 sequências (Tabela 10). Os eventos têm *breakpoints* em regiões codificadoras, o que é surpreendente uma vez que tais regiões são consideradas *cold spots* de recombinação (84, 85). Esses resultados são consistentes com o baixo grau de variabilidade genética da população, e com a evolução local de variantes. Mesmo assim, o papel da recombinação na geração de variabilidade pode ser constatado pelo fato de que os dois isolados divergentes com base nas comparações de sequências (MW596573 e JX865633) foram identificados como recombinantes. O isolado MW596573 possui um fragmento recombinante correspondente à grande parte da região codificadora da proteína TrAP, enquanto o isolado JX865633 possui grande parte da CP, toda a região codificadora

da proteína REn e parte da região codificadora da proteína TrAP recombinantes. Seria interessante verificar se esses dois isolados possuem um fenótipo distinto dos demais isolados de ToSRV, especialmente levando-se em conta o papel da proteína TrAP como supressora de respostas de defesa do hospedeiro (86, 87).

De forma análoga ao que foi observado para o DNA-A, a rede filogenética baseada no DNA-B também indicou a existência de isolados recombinantes (Figura 9). Da mesma forma, a análise com o programa SDT detectou apenas dois eventos de recombinação intraespecíficos no conjunto de dados do DNA-B (127 sequências) (Tabela 10). Os eventos também têm *breakpoints* em regiões codificadoras (MP e NSP para os eventos 1 e 2, respectivamente; Tabela 10).

A estimativa da taxa média de recombinação (ρ) também indicou baixa taxa de recombinação para o ToSRV, especialmente no caso do DNA-B (Figura 10 e Figura 11 para o DNA-A e DNA-B, respectivamente). No caso do DNA-A, ficou evidente que os *hot spots* de recombinação encontram-se em regiões codificadoras, com baixa taxa de recombinação na região intergênica (não-codificadora) (Figura 10).

A estrutura espacial das populações pode influenciar a recombinação e a variabilidade genética. Em populações geograficamente isoladas ou com pouca troca genética entre diferentes subpopulações, a recombinação pode ser alta dentro dessas subpopulações, mas a variabilidade genética pode ser baixa quando comparada entre elas. Isso pode ser especialmente relevante se populações em regiões distantes e com diferentes pressões ecológicas e geográficas estiverem sendo analisadas, como pode ocorrer no Brasil. A variabilidade pode ser restrita a cada subpopulação, sem haver uma mistura genética significativa entre elas.

REFERÊNCIAS

1. Oliveira MRV, Henneberry TJ, Anderson P. 2001. History, current status and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection* 20:709-723.
2. Jones DR. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. *European Journal of Plant Pathology* 109:195-219.
3. Fiallo-Olive E, Lett JM, Martin DP, Roumagnac P, Varsani A, Zerbini FM, Navas-Castillo J. 2021. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Geminiviridae* 2021. *Journal of General Virology* 102:001696.
4. Harrison BD, Robinson DJ. 1999. Natural genomic and antigenic variation in whitefly transmitted geminiviruses (begomoviruses). *Annual Review of Phytopathology* 39:369-398.
5. Rojas MR, Hagen C, Lucas WJ, Gilbertson RL. 2005. Exploiting chinks in the plant's armor: evolution and emergence of geminiviruses. *Annual Review of Phytopathology* 43:361-394.
6. Duffy S, Holmes EC. 2008. Phylogenetic evidence for rapid rates of molecular evolution in the single-stranded DNA begomovirus *Tomato yellow leaf curl virus*. *Journal of Virology* 82:957-965.
7. Duffy S, Holmes EC. 2009. Validation of high rates of nucleotide substitution in geminiviruses: Phylogenetic evidence from East African cassava mosaic viruses. *Journal of General Virology* 90:1539-1547.
8. Crespo-Bellido A, Hoyer JS, Dubey D, Jeannot RB, Duffy S. 2021. Interspecies recombination has driven the macroevolution of cassava mosaic begomoviruses. *Journal of Virology* 95:e00541-21.
9. Lefeuvre P, Moriones E. 2015. Recombination as a motor of host switches and virus emergence: Geminiviruses as case studies. *Current Opinion in Virology* 10:14-9.
10. Lima ATM, Silva JCF, Silva FN, Castillo-Urquiza GP, Silva FF, Seah YM, Mizubuti ESG, Duffy S, Zerbini FM. 2017. The diversification of begomovirus populations is predominantly driven by mutational dynamics. *Virus Evolution* 3:vex005.
11. Pita JS, Fondong VN, Sangare A, Otim-Nape GW, Ogwal S, Fauquet CM. 2001. Recombination, pseudorecombination and synergism of geminiviruses are determinant keys to the epidemic of severe cassava mosaic disease in Uganda. *Journal of General Virology* 82:655-65.
12. Xavier CAD, Godinho MT, Mar TB, Ferro CG, Sande OFL, Silva JC, Ramos-Sobrinho R, Nascimento RN, Assuncao I, Lima GSA, Lima ATM, Zerbini FM. 2021. Evolutionary dynamics of bipartite begomoviruses revealed by complete genome analysis. *Molecular Ecology* 15:3747-3767.
13. Elena SF, Fraile A, Garcia-Arenal F. 2014. Evolution and emergence of plant viruses. *Advances in Virus Research* 88:161-191.

14. García-Arenal F, Zerbini FM. 2019. Life on the edge: Geminiviruses at the interface between crops and wild plant hosts. *Annual Review of Virology* 6:411-433.
15. Costa AS. 1955. Studies on *Abutilon* mosaic in Brazil. *Phytopathologische Zeitschrift* 24:97-112.
16. Orlando A, Silberschmidt K. 1946. Studies on the natural dissemination of the virus of "infectious chlorosis" of the Malvaceae and its relation with the insect vector *Bemisia tabaci* Genn. *Arquivos do Instituto Biológico* 17:1-36.
17. Castillo-Urquiza GP. 2008. Diversity and genetic structure of begomovirus populations in tomatoes in two growing regions of Southeastern Brazil. D.Sc. Thesis, Dep. of Plant Pathology, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
18. Fernandes FR, Cruz ARR, Faria JC, Zerbini FM, Aragão FJL. 2009. Three distinct begomoviruses associated with soybean in central Brazil. *Archives of Virology* 154:1567-1570.
19. Ferro MMM, Ramos-Sobrinho R, Silva JT, Assunção IP, Lima GSA. 2017. Genetic structure of populations of the begomoviruses *Tomato mottle leaf curl virus* and *Sida mottle Alagoas virus* infecting tomato (*Solanum lycopersicum*) and *Sida* spp., respectively. *Tropical Plant Pathology* 42:39-45.
20. Macedo MA, Rego-Machado CM, Maliano ML, Rojas MR, Inoue-Nagata AK, Gilbertson RL. 2020. Complete sequence of a new bipartite begomovirus infecting *Sida* sp. in Northeastern Brazil. *Archives of Virology* 165:253-256.
21. Naito FYB, Melo FL, Fonseca MEN, Santos CAF, Chanes CR, Ribeiro BM, Gilbertson RL, Boiteux LS, Pereira-Carvalho RC. 2019. Nanopore sequencing of a novel bipartite New World begomovirus infecting cowpea. *Archives of Virology* 164:1907-1910.
22. Paprotka T, Metzler V, Jeske H. 2010. The complete nucleotide sequence of a new bipartite begomovirus from Brazil infecting *Abutilon*. *Archives of Virology* 155:813-816.
23. Pinto VB, Silva JP, Fiallo-Olivé E, Navas-Castillo J, Zerbini FM. 2016. Novel begomoviruses recovered from *Pavonia* sp. in Brazil. *Archives of Virology* 161:735-739.
24. Quadros AFF, Silva JP, Xavier CAD, Zerbini FM, Boari AJ. 2019. Two new begomoviruses infecting tomato and *Hibiscus* sp. in the Amazon region of Brazil. *Archives of Virology* 164:1897-1901.
25. Ribeiro SG, Ambrozevicius LP, Ávila AC, Bezerra IC, Calegario RF, Fernandes JJ, Lima MF, Mello RN, Rocha H, Zerbini FM. 2003. Distribution and genetic diversity of tomato-infecting begomoviruses in Brazil. *Archives of Virology* 148:281-295.
26. Inoue-Nagata AK, Lima MF, Gilbertson RL. 2016. A review of geminivirus diseases in vegetables and other crops in Brazil: current status and approaches for management. *Horticultura Brasileira* 34:8-18.
27. Duarte MF, Fonseca MEN, Costa H, Fernandes NAN, Reis A, Boiteux LS, Pereira-Carvalho RC. 2021. Diversity of tomato-infecting begomoviruses and spatiotemporal dynamics of an endemic viral species of the Brazilian Atlantic rain forest biome. *Virus Genes* 57:83-93.

28. Lima ATM, Orílio AF, Almeida MMS, Rocha CS, Barros DR, Castillo-Urquiza GP, Silva FN, Xavier CAD, Bruckner FP, Alfenas-Zerbini P, Barbosa JC, Albuquerque LC, Inoue-Nagata AK, Kitajima EW, Zerbini FM. 2021. Malvaviscus yellow mosaic virus, a divergent begomovirus carrying a nanovirus-like nonanucleotide and a modified stem-loop structure. *Annals of Applied Biology* 179:96-107.
29. Navas-Castillo J, Fiallo-Olivé E, Sánchez-Campos S. 2011. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annual Review of Phytopathology* 49:219-248.
30. Gilbertson RL, Batuman O, Webster CG, Adkins S. 2015. Role of the insect supervectors *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in the emergence and global spread of plant viruses. *Annual Review of Virology* 2:67-93.
31. Lourenção AL, Nagai H. 1994. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no Estado de São Paulo. *Bragantia* 53:53-59.
32. Ribeiro SG, Ávila AC, Bezerra IC, Fernandes JJ, Faria JC, Lima MF, Gilbertson RL, Zambolim EM, Zerbini FM. 1998. Widespread occurrence of tomato geminiviruses in Brazil, associated with the new biotype of the whitefly vector. *Plant Disease* 82:830.
33. Bedford ID, Briddon RW, Brown JK, Rosell RC, Markham PG. 1994. Geminivirus transmission and biological characterization of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographical regions. *Annals of Applied Biology* 125:311-325.
34. De Barro P. 1995. *Bemisia tabaci* biotype B: A review of its biology, distribution and control. Technical Paper (CSIRO Division of Entomology) no. 36. 56 p.
35. Perring TM. 2001. The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Protection* 20:725-737.
36. Baltimore D. 1971. Expression of animal virus genomes. *Bacteriological Reviews* 35:235-241.
37. Elena SF. 2016. Evolutionary transitions during RNA virus experimental evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 371:20150441.
38. Gale M, Jr., Tan SL, Katze MG. 2000. Translational control of viral gene expression in eukaryotes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64:239-80.
39. Prangishvili D. 2013. The wonderful world of archaeal viruses. *Annual Review of Microbiol* 67:565-85.
40. Weinbauer MG. 2004. Ecology of prokaryotic viruses. *FEMS Microbiology Reviews* 28:127-81.
41. Domingo E, Perales C. 2019. Viral quasispecies. *PLoS Genetics* 15:e1008271.
42. Makau DN, Lycett S, Michalska-Smith M, Paploski IAD, Cheeran MCJ, Craft ME, Kao RR, Schroeder DC, Doeschl-Wilson A, VanderWaal K. 2022. Ecological and evolutionary dynamics of multi-strain RNA viruses. *Nature Ecology & Evolution* 6:1414-1422.

43. Silva JP. 2020. Evolution of a DNA virus in the natural environment - A journey through time. M.Sc. Dissertation. Dep. of Plant Pathology, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brazil.
44. Holmes EC. 2010. The RNA virus quasispecies: Fact or fiction? *Journal of Molecular Biology* 400:271-3.
45. Doyle JJ, Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19:11-15.
46. Inoue-Nagata AK, Giordano LB, Fonseca MEN, Ribeiro SG, Ávila AC, Albuquerque LC, Boiteux LS. 2004. Occurrence of begomovirus in tomato and other plants in Central Brazil. 4th International Geminivirus Symposium (Programme and Abstracts). Cape Town, South Africa. p W3-3.
47. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215:403-410.
48. Brown JK, Zerbini FM, Navas-Castillo J, Moriones E, Ramos-Sobrinho R, Silva JC, Fiallo-Olive E, Briddon RW, Hernandez-Zepeda C, Idris A, Malathi VG, Martin DP, Rivera-Bustamante R, Ueda S, Varsani A. 2015. Revision of *Begomovirus* taxonomy based on pairwise sequence comparisons. *Archives of Virology* 160:1593-619.
49. Sayers EW, Bolton EE, Brister JR, Canese K, Chan J, Comeau DC, Connor R, Funk K, Kelly C, Kim S, Madej T, Marchler-Bauer A, Lanczycki C, Lathrop S, Lu Z, Thibaud-Nissen F, Murphy T, Phan L, Skripchenko Y, Tse T, Wang J, Williams R, Trawick BW, Pruitt KD, Sherry ST. 2022. Database resources of the National Center for Biotechnology Information. *Nucleic Acids Research* 50:D20-d26.
50. Katoh K, Standley DM. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30:772-780.
51. Kozlov AM, Darriba D, Flouri T, Morel B, Stamatakis A. 2019. RAxML-NG: a fast, scalable and user-friendly tool for maximum likelihood phylogenetic inference. *Bioinformatics* 35:4453-4455.
52. Darriba D, Posada D, Kozlov AM, Stamatakis A, Morel B, Flouri T. 2020. ModelTest-NG: A new and scalable tool for the selection of DNA and protein evolutionary models. *Molecular Biology and Evolution* 37:291-294.
53. Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
54. Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A. 2017. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution* 34:3299-3302.
55. Tamura K, Stecher G, Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38:3022-3027.
56. Jombart T, Devillard S, Balloux F. 2010. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics* 11:94.

57. Jombart T, Ahmed I. 2011. adegenet 1.3-1: New tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics* 27:3070-1.
58. Rambaut A, Lam TT, Max Carvalho L, Pybus OG. 2016. Exploring the temporal structure of heterochronous sequences using TempEst (formerly Path-O-Gen). *Virus Evolution* 2:vev007.
59. Duchene S, Lemey P, Stadler T, Ho SYW, Duchene DA, Dhanasekaran V, Baele G. 2020. Bayesian evaluation of temporal signal in measurably evolving populations. *Molecular Biology and Evolution* 37:3363-3379.
60. Barido-Sottani J, Bošková V, Plessis LD, Kühnert D, Magnus C, Mitov V, Müller NF, Pečerska J, Rasmussen DA, Zhang C, Drummond AJ, Heath TA, Pybus OG, Vaughan TG, Stadler T. 2017. Taming the BEAST - A community teaching material resource for BEAST 2. *Systematic Biology* 67:170-174.
61. Russel PM, Brewer BJ, Klaere S, Bouckaert RR. 2018. Model selection and parameter inference in phylogenetics using nested sampling. *Systematic Biology* 68:219-233.
62. Kass RE, Raftery AE. 1995. Bayes factors. *Journal of the American Statistical Association* 90:773-795.
63. Drummond AJ, Rambaut A, Shapiro B, Pybus OG. 2005. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Molecular Biology and Evolution* 22:1185-1192.
64. Martin DP, Varsani A, Roumagnac P, Botha G, Maslamoney S, Schwab T, Kelz Z, Kumar V, Murrell B. 2021. RDP5: A computer program for analyzing recombination in, and removing signals of recombination from, nucleotide sequence datasets. *Virus Evolution* 7:veaa087.
65. Huson DH, Bryant D. 2006. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular Biology and Evolution* 23:254-267.
66. McVean G, Awadalla P, Fearnhead P. 2002. A coalescent-based method for detecting and estimating recombination from gene sequences. *Genetics* 160:1231-1241.
67. Wickham H. 2009. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer New York, New York, NY.
68. Fu L, Niu B, Zhu Z, Wu S, Li W. 2012. CD-HIT: Accelerated for clustering the next-generation sequencing data. *Bioinformatics* 28:3150-2.
69. Kosakovsky-Pond SL, Frost SDW. 2005. Not so different after all: A comparison of methods for detecting amino acid sites under selection. *Molecular Biology and Evolution* 22:1208-1222.
70. Murrell B, Wertheim JO, Moola S, Weighill T, Scheffler K, Kosakovsky Pond SL. 2012. Detecting individual sites subject to episodic diversifying selection. *PLoS Genetics* 8:e1002764.
71. Murrell B, Moola S, Mabona A, Weighill T, Sheward D, Kosakovsky Pond SL, Scheffler K. 2013. FUBAR: A fast, unconstrained bayesian approximation for inferring selection. *Molecular Biology and Evolution* 30:1196-205.

72. Weaver S, Shank SD, Spielman SJ, Li M, Muse SV, Kosakovsky Pond SL. 2018. Datamonkey 2.0: A modern web application for characterizing selective and other evolutionary processes. *Molecular Biology and Evolution* 35:773-777.
73. Pond SLK, Posada D, Gravenor MB, Woelk CH, Frost SDW. 2006. GARD: a genetic algorithm for recombination detection. *Bioinformatics* 22:3096-3098.
74. Billard E, Barro M, Sérémé D, Bangratz M, Wonni I, Koala M, Kassankogno AI, Hébrard E, Thébaud G, Brugidou C, Poulicard N, Tollenaere C. 2023. Dynamics of the rice yellow mottle disease in western Burkina Faso: Epidemic monitoring, spatio-temporal variation of viral diversity, and pathogenicity in a disease hotspot. *Virus Evolution* 9:vead049.
75. Bondaryuk AN, Belykh OI, Andaev EI, Bukin YS. 2023. Inferring evolutionary timescale of Omsk hemorrhagic fever virus. *Viruses* 15:1576.
76. Ghafari M, Sömera M, Sarmiento C, Niehl A, Hébrard E, Tsoleridis T, Ball J, Moury B, Lemey P, Katzourakis A, Fargette D. 2024. Revisiting the origins of the *Sobemovirus* genus: A case for ancient origins of plant viruses. *PLoS Pathogens* 20:e1011911.
77. Preska Steinberg A, Silander OK, Kussell E. 2023. Correlated substitutions reveal SARS-like coronaviruses recombine frequently with a diverse set of structured gene pools. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 120:e2206945119.
78. Lima ATM, Sobrinho RR, Gonzalez-Aguilera J, Rocha CS, Silva SJC, Xavier CAD, Silva FN, Duffy S, Zerbini FM. 2013. Synonymous site variation due to recombination explains higher genetic variability in begomovirus populations infecting non-cultivated hosts. *Journal of General Virology* 94:418-431.
79. Silva G, Marques N, Nolasco G. 2012. The evolutionary rate of citrus tristeza virus ranks among the rates of the slowest RNA viruses. *Journal of General Virology* 93:419-429.
80. Rocha CS, Castillo-Urquiza GP, Lima ATM, Silva FN, Xavier CAD, Hora-Junior BT, Beserra-Junior JEA, Malta AWO, Martin DP, Varsani A, Alfenas-Zerbini P, Mizubuti ESG, Zerbini FM. 2013. Brazilian begomovirus populations are highly recombinant, rapidly evolving, and segregated based on geographical location. *Journal of Virology* 87:5784-5799.
81. Ramos-Sobrinho R, Xavier CAD, Pereira HMB, Lima GSA, Assunção IP, Mizubuti ESG, Duffy S, Zerbini FM. 2014. Contrasting genetic structure between two begomoviruses infecting the same leguminous hosts. *Journal of General Virology* 95:2540-2552.
82. Melo AM, Silva SJ, Ramos-Sobrinho R, Ferro MM, Assuncao IP, Lima GS. 2016. Cnidoscolus mosaic leaf deformation virus: A novel begomovirus infecting euphorbiaceous plants in Brazil. *Archives of Virology* 161:2605-8.
83. Mendes ALSF, Melo AM, Ramos-Sobrinho R, Silva SJC, Ferro CG, Ferro MMM, Murilo Zerbini F, Lima GSA, Assunção IP. 2021. High molecular diversity and divergent subpopulations of the begomovirus cnidoscolus mosaic leaf deformation virus associated with *Cnidoscolus urens*. *Archives of Virology* 166:3289-3299.

84. Lefeuvre P, Lett JM, Varsani A, Martin DP. 2009. Widely conserved recombination patterns among single-stranded DNA viruses. *Journal of Virology* 83:2697-2707.
85. Martin DP, Lefeuvre P, Varsani A, Hoareau M, Semegni JY, Dijoux B, Vincent C, Reynaud B, Lett JM. 2011. Complex recombination patterns arising during geminivirus coinfections preserve and demarcate biologically important intra-genome interaction networks. *PLoS Pathogens* 7:e1002203.
86. Buchmann RC, Asad S, Wolf JN, Mohannath G, Bisaro DM. 2009. Geminivirus AL2 and L2 proteins suppress transcriptional gene silencing and cause genome-wide reductions in cytosine methylation. *Journal of Virology* 83:5005-5013.
87. Wang H, Buckley KJ, Yang X, Buchmann RC, Bisaro DM. 2005. Adenosine kinase inhibition and suppression of RNA silencing by geminivirus AL2 and L2 proteins. *Journal of Virology* 79:7410-7418.

Tabela 1. Amostras realizadas nesse trabalho.

Mês/Ano	Local¹	Plantas cultivadas²	Plantas não-cultivadas	Total
Dezembro/2021	Rio Paranaíba	32	-	32
Junho/2022	Florestal	83	3	86
	Mateus Leme	50	2	52
	Pará de Minas	51	-	51
Julho/2022	Coimbra	8	-	8
Junho/2023	Florestal	84	2	86
	Mateus Leme	48	1	49
	Pará de Minas	51	1	51
Março/2024	Araguari	283	8	291

¹Todas as localidades são do estado de Minas Gerais

²Todas as amostras de plantas cultivadas são de tomateiro (*Solanum lycopersicum*)

Tabela 2. Isolados/clones de tomate severe rugose virus (ToSRV) obtidos neste trabalho a partir de amostras de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) coletadas em Araguari, MG, em março de 2024.

Código da amostra	Isolado/ nome do clone	Componente	Enzima
68	BR:Ara68:24	DNA-A	<i>SacI</i>
76	BR: Ara76:24	DNA-A	<i>SacI</i>
170	BR: Ara170:24	DNA-A	<i>PstI</i>
211	BR: Ara211:24	DNA-A	<i>SacI</i>
238	BR: Ara238:24	DNA-A	<i>PstI</i>
244	BR: Ara:244:24	DNA-A	<i>PstI</i>

Tabela 3. Estados de origem e espécies de plantas a partir das quais foram obtidas as sequências de DNA-A analisadas neste trabalho, de acordo com a anotação das sequências no GenBank.

Estado	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>Solanum bataveum</i>	<i>Solanum torvum</i>	<i>Solanum melongena</i>	<i>Nicandra physalodes</i>	<i>Oxalis latifolia</i>	<i>Pachyrhizus erosus</i>	<i>Capsicum frutescens</i>	<i>Sida sp.</i>	<i>Crotalaria juncea</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Capsicum annum</i>
CE ¹	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DF	30	1	1	1	-	1	1	-	-	-	-	-
ES	28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GO	74	-	-	-	1	-	-	2	-	1	1	-
MG	131	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-
PR	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PE	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RJ	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SC	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RS	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SP	31	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
TO	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	324	1	1	1	2	1	1	2	2	1	1	1

¹CE, Ceará; DF, Distrito Federal; ES, Espírito Santo; GO, Goiás; MG, Minas Gerais; PR, Paraná; PE, Pernambuco; RJ, Rio de Janeiro; RS, Rio Grande do Sul; SC, Santa Catarina; SP, São Paulo; TO, Tocantins

Tabela 4. Estados de origem e espécies de plantas a partir das quais foram obtidas as sequências de DNA-B analisadas neste trabalho, de acordo com a anotação das sequências no GenBank.

Estado	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>Nicandra physalodes</i>	<i>Capsicum baccatum</i>	<i>Solanum betaceum</i>
DF ¹	3	-	-	1
ES	1	-	-	
GO	42	-	1	-
MG	76	-	-	-
SP	2	1	-	-
Total	124	1	1	1

¹DF, Distrito Federal; ES, Espírito Santo; GO, Goiás; MG, Minas Gerais; SP, São Paulo

Tabela 5. Resultados dos testes de neutralidade realizados para cada gene codificado pelos dois segmentos do tomato severe rugose virus (ToSRV).

Gene ¹	Tajima's D	Fu & Li's		dN/dS ³	SLAC ⁴		MEME ⁵		FUBAR ⁶	
		F*	D*		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
<i>CP</i> ²	-2,57064*	-9,41382*	-6,82325*	0.227	-	25, 28, 38, 40, 41, 48, 50, 53, 56, 62, 65, 75, 83, 87, 94, 105, 126, 137, 143, 148, 149, 150, 151, 155, 156, 164, 172, 173, 176, 180, 182, 185, 189, 190, 195, 196, 197, 201, 204, 205, 206, 209, 218, 219, 222, 234, 238, 243, 244	27, 37, 97, 112, 117, 123, 142 151, 251	-	-	3, 11, 14,16, 19, 25, 28, 38, 40, 48, 50, 53, 56, 61, 62, 65, 75, 78, 80, 83, 84, 87, 94, 105, 106, 114, 126, 137, 138, 143, 144, 148, 149, 150, 151, 155, 156, 163, 164, 167, 172, 173, 176, 180, 182, 183, 183, 184, 185, 189, 190, 192, 195, 196, 197, 201, 204, 205, 206, 209, 218, 219, 222, 223, 232, 234, 237, 238, 243, 244, 250
<i>Rep</i>	-2,47995*	-7,04917*	-5,44325*	0.208	192, 238, 279	6, 12, 13, 14, 17, 20, 23, 25, 42, 46, 48,49, 50, 55, 56, 66,	168, 192, 238, 279, 326, 350	-	168, 192, 238, 279, 320	3, 6, 8, 10, 12, 13, 14, 16, 17, 19, 20, 22, 23, 25, 38, 39, 40,

67, 70, 71, 80,
84, 96, 99,
103, 104, 105,
107, 113, 115,
119, 127, 128,
129, 138, 143,
146, 147, 148,
151, 152, 153,
154, 157, 158,
172, 182, 188,
203, 213, 215,
219, 227, 229,
230, 236, 244,
246, 249, 259,
262, 268, 271,
274, 283, 288,
289, 290, 303,
304, 312, 321,
322, 330, 340

42, 46, 47, 48,
49, 50, 51, 55,
56, 57, 60, 64,
65, 66, 67, 70,
71, 75, 76, 77,
79, 80, 81, 83,
84, 90, 91, 93,
96, 99, 102, 103,
104, 105, 106,
107, 109, 111,
113, 115, 116,
117, 119, 122,
124, 126, 127,
128, 129, 132,
133, 136, 137,
138, 140, 143,
144, 146, 147,
151, 152, 153,
154, 157, 158,
161, 164, 165,
172, 182, 188,
189, 194, 203,
208, 213, 215,
219, 221, 225,
226, 227, 229,
230, 235, 236,
241, 243, 244,
246, 248, 249,
251, 259, 262,
268, 269, 271,

										274, 278, 282, 283, 284, 288, 289, 290, 291, 299, 300, 302, 303, 304, 306, 312, 314, 319, 321, 322, 323, 324, 327, 332, 340
TrAP	-2,59626*	-8,06742*	-6,32919*	0.424	-	21, 22, 25, 26, 43, 45, 56, 57, 65, 78	8, 17, 76	-	83, 104, 129	18, 21, 22, 25, 26, 43, 45, 56, 57, 64, 65, 78
Ren	-2,57811*	-8,56906*	-6,55886*	0.430	84	18, 22, 27, 40, 44, 69, 91, 92, 93, 96, 101, 106, 107, 111, 122, 123, 125	37, 41, 84, 116, 131	-	12, 41, 84, 131	18, 22, 27, 36, 40, 44, 58, 66, 69, 91, 92, 93, 96, 98, 101, 106, 107, 111, 122, 123, 125
AC4	-2,42735*	-5,57913*	-4,80861*	3,5447	29, 33, 52, 87	34, 67, 79	15, 16, 29, 33, 36, 48, 52, 54, 62, 73, 78, 80, 86, 87	-	15, 16, 29, 33, 48, 52, 54, 62, 78, 87	79
MP	-2,11112*	-3,85599*	-4,11882*	0,150	-	62, 63, 90, 144, 160, 184, 192, 227, 250, 252, 282	-	-	212, 251	6, 9, 27, 35, 47, 55, 62, 63, 82, 83, 90, 92, 107, 120, 131, 132, 136, 144, 152,

										156, 160, 164, 165, 176, 184, 186, 189, 192, 227, 232, 242, 244, 245, 249, 250, 252, 253, 259, 263, 269, 282, 284, 287
NSP	-2,26780*	-4.57181*	-5,08363*	0.230	-	41, 59, 62, 69, 81, 87, 103, 113, 148, 158, 161, 166, 170, 183, 253, 256	-	-	30, 198	9, 22, 41, 55, 59, 62, 69, 75, 81, 87, 103, 113, 126, 129, 132, 148, 158, 161, 165, 166, 168, 170, 171, 183, 189,

¹*CP, Rep, TrAP, REn e AC4* codificados pelo DNA-A; *MP e NSP* codificados pelo DNA-B

²*CP*, coat protein; *Rep*, Replication-associated protein; *TrAP*, Trans-activating protein; *REn*, Replication enhancer; *AC4*, Pathogenicity factor; *MP*, Movement protein; *NSP*, Nuclear shuttle protein

³Relação entre a taxa de substituições não-sinônimas e a taxa de substituições sinônimas

⁴Single Likelihood Ancestor Counting

⁵Mixed Effects Model of Evolution

⁶Fast Unconstrained Bayesian Approximation

Tabela 6. Resultados do teste de subdivisão (cálculo da estatística Nst) realizado com base nas 10 subpopulações de tomate severe rugose virus (ToSRV) identificadas na análise DAPC. As comparações com alta diferenciação genética (indicando subdivisão) estão indicadas em negrito.

Subpopulações		Nst
Pop 1	Pop 2	0,58514
Pop 1	Pop 3	0,56506
Pop 1	Pop 4	0,61617
Pop 1	Pop 5	0,52433
Pop 1	Pop 6	0,61719
Pop 1	Pop 7	0,64536
Pop 1	Pop 8	0,52975
Pop 1	Pop 9	0,58069
Pop 1	Pop 10	0,56433
Pop 2	Pop 3	0,43864
Pop 2	Pop 4	0,56063
Pop 2	Pop 5	0,37265
Pop 2	Pop 6	0,56658
Pop 2	Pop 7	0,36448
Pop 2	Pop 8	0,28116
Pop 2	Pop 9	0,49018
Pop 2	Pop 10	0,36036
Pop 3	Pop 4	0,35185
Pop 3	Pop 5	0,19826
Pop 3	Pop 6	0,28656
Pop 3	Pop 7	0,39808
Pop 3	Pop 8	0,18827
Pop 3	Pop 9	0,18100
Pop 3	Pop 10	0,22004
Pop 4	Pop 5	0,51909
Pop 4	Pop 6	0,64622
Pop 4	Pop 7	0,61362
Pop 4	Pop 8	0,43411
Pop 4	Pop 9	0,60003
Pop 4	Pop 10	0,49556
Pop 5	Pop 6	0,42918
Pop 5	Pop 7	0,52201
Pop 5	Pop 8	0,27624
Pop 5	Pop 9	0,30228
Pop 5	Pop 10	0,34106
Pop 6	Pop 7	0,68163
Pop 6	Pop 8	0,47552
Pop 6	Pop 9	0,34511
Pop 6	Pop 10	0,53430
Pop 7	Pop 8	0,43523
Pop 7	Pop 9	0,61931
Pop 7	Pop 10	0,50619

Pop 8	Pop 9	0,39384
Pop 8	Pop 10	0,13780
Pop 9	Pop 10	0,46097

¹0-0,05, sem diferenciação genética; 0,06-0,15, baixa diferenciação; 0,16-0,25, diferenciação moderada; >0,25, alta diferenciação.

Tabela 7. Resultados do teste de subdivisão (cálculo da estatística Nst) entre isolados de tomate severe rugose virus (ToSRV) realizado com base nas regiões (estados) nas quais as amostras foram coletadas. As comparações com alta diferenciação genética (indicando subdivisão) estão indicadas em negrito.

População 1	População 2	Nst¹
DF	ES	0,35006
DF	GO	0,01935
DF	MG	0,17187
DF	PR	0,30882
DF	RJ	0,38233
DF	RS	0,20121
DF	SC	0,31428
DF	SP	0,16682
ES	GO	0,37391
ES	MG	0,44053
ES	PR	0,63729
ES	RJ	0,19741
ES	RS	0,55567
ES	SC	0,64609
ES	SP	0,43959
GO	MG	0,20950
GO	PR	0,35294
GO	RJ	0,40837
GO	RS	0,24363
GO	SC	0,35765
GO	SP	0,19525
MG	PR	0,25740
MG	RJ	0,47740
MG	RS	0,22765
MG	SC	0,25919
MG	SP	0,16002
PR	RJ	0,68590
PR	RS	0,14680
PR	SC	0,13516
PR	SP	0,14415
RJ	RS	0,61242
RJ	SC	0,69537
RJ	SP	0,47380
RS	SC	0,11796
RS	SP	0,13344
SC	SP	0,16046

¹0-0,05, sem diferenciação genética; 0,06-0,15, baixa diferenciação; 0,16-0,25, diferenciação moderada; >0,25, alta diferenciação.

Tabela 8. Descritores de variabilidade genética do begomovírus tomato severe rugose virus (ToSRV), para a população total e para as subpopulações definidas com base na análise DAPC.

População/ subpopulação	N¹	L	H	Hd	S	Eta	k	π
DNA-A								
Total	338	2613	305	0,999	950	1225	34,530	0,01366
subpop. 1	6	2587	6	1,000	103	80	39,000	0,01508
subpop. 2	24	2591	21	0,986	168	177	18,809	0,00730
subpop. 3	43	2588	40	0,996	218	230	20,323	0,00785
subpop. 4	16	2593	15	0,992	113	115	26,767	0,01032
subpop. 5	27	2591	25	0,994	211	221	22,801	0,00880
subpop. 6	63	2591	53	0,991	207	223	11,240	0,00434
subpop. 7	33	2592	30	0,994	155	159	16,456	0,00635
subpop. 8	60	2585	56	0,998	319	350	29,095	0,01126
subpop. 9	37	2591	35	0,997	145	154	15,548	0,00600
subpop. 10	18	2590	18	1,000	136	145	22,451	0,00867
DNA-B								
Total	127	2532	122	0,999	654	812	58,856	0,02324
subpop. 1	17	2566	17	1,000	61	62	9,904	0,00386
subpop. 2	21	2563	19	0,990	67	70	14,610	0,00570
subpop. 3	-	-	-	-	-	-	-	-
subpop. 4	27	2559	27	1,000	179	188	22,886	0,00894
subpop. 5	5	2567	5	1,000	67	68	30,500	0,01188
subpop. 6	41	2555	40	0,999	244	265	23,074	0,00903

¹N, número de sequências; L, comprimento do alinhamento em nucleotídeos; H, número de haplótipos; Hd, diversidade haplotípica; S, número de sítios segregantes; Eta, número total de mutações; K, número médio de diferenças de nucleotídeos; π , diversidade nucleotídica.

Tabela 9. Descritores da variabilidade genética do DNA-A da população do begomovírus tomato severe rugose virus (ToSRV) com base na região (estado) de coleta dos isolados.

Estado	N¹	L	H	Hd	S	Eta	k	π
DNA-A								
CE ²	1	-	-	-	-	-	-	-
DF	32	2587	31	0,998	311	0,03235	36,571	0,01441
ES	28	2592	26	0,995	156	161	19,590	0,00763
GO	78	2587	73	0,998	377	417	31,996	0,01237
MG	133	2583	118	0,997	541	629	29,107	0,01144
PR	5	2593	5	1,000	23	23	9,600	0,00372
PE	1	-	-	-	-	-	-	-
RJ	7	2592	6	0,952	46	46	14,286	0,00555
RS	4	2593	4	1,000	31	31	15,500	0,00652
SC	11	2591	11	1,000	34	0,00448	8,218	0,00317
SP	32	2588	30	0,994	186	194	27,079	0,01061
TO	1	-	-	-	-	-	-	-
DNA-B								
DF	4	2568	4	1,000	113	115	60,500	0,02356
GO	43	2554	42	0,999	266	292	24,611	0,00964
MG	76	2546	71	0,999	460	518	54,713	0,02149
SP	6	2567	4	0,800	86	55	36,933	0,01439

¹N, número de sequências; L, comprimento do alinhamento em nucleotídeos; H, número de haplótipos; Hd, diversidade haplotípica; S, número de sítios segregantes; Eta, número total de mutações; K, número médio de diferenças de nucleotídeos; π , diversidade nucleotídica

¹CE, Ceará; DF, Distrito Federal; ES, Espírito Santo; GO, Goiás; MG, Minas Gerais; PR, Paraná; PE, Pernambuco; RJ, Rio de Janeiro; RS, Rio Grande do Sul; SC, Santa Catarina; SP, São Paulo; TO, Tocantins

Tabela 10. Eventos de recombinação intraespecífica detectados entre os isolados de ToSRV. Os dois isolados mais divergentes (com base nas comparações par-a-par; Figura 2) estão indicados em negrito.

DNA-A							
Evento	Sequência recombinante	<i>Breakpoints</i>		Parentais		Programas ²	valor <i>P</i> ³
		Início	Final	Maior	Menor		
1	MT214084	1270 ¹	1670	EU086591	Não identif.	RGMCS3	7,758x10 ⁻²⁵
2	MW596573	532	1282	MN156301	Não identif.	RGBMS3	8,544x10 ⁻¹⁹
3	MN156301	260	400	MN156302	Não identif.	RGBMS3	2,326x10 ⁻⁹
4	JX865633	438	1222	MT627069	Não identif.	RGBMCS3	1,369x10 ⁻¹¹
5	MW596540	1692	2232	BR:Cri333:A111	Não identif.	RGMC3	8,737x10 ⁻⁴
6	MW653950	203	622	BR:Cri284:T070	Não identif.	RGBCS3	9,327x10 ⁻⁴
DNA-B							
1	MT627138	225	1291	MT627125	MT627146	RGMCS3	1,511x10 ⁻¹⁰
2	GU358449	2569	344	MT627150	EF534708	GMCS3	2,580x10 ⁻⁰⁵

¹A numeração inicia no primeiro nucleotídeo após o sítio de clivagem na origem de replicação, e aumenta em sentido horário.

²R=RDP; G=GeneConv; B=Bootscan; M=MaxChi; C=CHIMAERA; S=SisScan; 3=3SEQ.

³O valor *P* informado se refere ao programa destacado em negrito, e é o menor valor *P* calculado para o evento de recombinação em questão.

Legendas das figuras

Figura 1. **A.** Plantas de *Solanum lycopersicum* apresentando sintomas típicos de infecção por tomate severe rugose virus (ToSRV) coletadas na região do município de Araguari, MG. **B.** Mapa do Brasil representando os locais de coleta por círculos coloridos. **C.** Número de isolados de ToSRV agrupados por ano de coleta das amostras. **D.** Número de isolados agrupados por local (estado) de coleta das amostras.

Figura 2. Matriz de identidade de sequências baseada em comparações par-a-par da sequência completa do DNA-A de isolados de tomate severe rugose virus (ToSRV), obtida com o programa SDT.

Figura 3. Árvore filogenética construída pelo método de máxima verossimilhança com base na sequência de nucleotídeos completa do DNA-A dos isolados de tomate severe rugose virus (ToSRV) analisados neste trabalho. As sequências que fazem parte dos dez clados (1-10) estão indicadas por cores. As sequências obtidas de outros hospedeiros que não o tomateiro estão indicadas por asteriscos. Os números nas bifurcações representam os valores de suporte *bootstrap*.

Figura 4. Árvore filogenética construída pelo método de máxima verossimilhança com base na sequência de nucleotídeos completa do DNA-B dos isolados de tomate severe rugose virus (ToSRV) analisados neste trabalho. As sequências que fazem parte dos seis clados (1-6) estão indicadas por cores. As sequências obtidas de outros hospedeiros que não o tomateiro estão indicadas por asteriscos. Os números nas bifurcações representam os valores de suporte *bootstrap*.

Figura 5. Análise Discriminante de Componentes Principais (DAPC) para subpopulações de tomate severe rugose virus (ToSRV) baseada no DNA-A. Os agrupamentos foram inferidos com base em simulações com um número sequencialmente crescente de grupos (*K*-means). A maior probabilidade foi obtida para dez subpopulações (*K*=10), indicadas pelas barras coloridas.

Figura 6. Análise Discriminante de Componentes Principais (DAPC) para subpopulações de tomate severe rugose virus (ToSRV) baseada no DNA-A e definidas por ano de coleta das amostras. As barras coloridas indicam a contribuição do ano de coleta na composição genética dos isolados.

Figura 7. Análise Discriminante de Componentes Principais (DAPC) para subpopulações de tomate severe rugose virus (ToSRV) baseada no DNA-A e definidas por local (estado) de coleta das amostras. As barras coloridas indicam a contribuição do local de coleta na composição genética dos isolados.

Figura 8. Evidência filogenética de recombinação entre as sequências de DNA-A de tomate severe rugose virus (ToSRV). A análise de rede foi realizada com o programa SplitsTree v. 4. A formação de uma rede reticular em vez de uma única árvore bifurcada sugere a ocorrência de recombinação entre os isolados.

Figura 9. Evidência filogenética de recombinação entre as sequências de DNA-B de tomate severe rugose virus (ToSRV). A análise de rede foi realizada com o programa

SplitsTree v. 4. A formação de uma rede reticular em vez de uma única árvore bifurcada sugere a ocorrência de recombinação entre os isolados.

Figura 10. Mapa de recombinação indicando a distribuição de pontos críticos (*hot spots*) de taxa de recombinação do DNA-A ($\theta = 0,01$). As linhas vermelhas indicam a taxa média de recombinação (ρ) por posição, e o fundo azul representa o intervalo de confiança de 95%. A organização genômica é representada na parte inferior.

Figura 11. Mapas de recombinação mostrando a distribuição de pontos críticos (*hot spots*) de taxa de recombinação do DNA-B ($\theta = 0,001$). As linhas vermelhas indicam a taxa média de recombinação (ρ) por posição, e o fundo azul representa o intervalo de confiança de 95%. A organização genômica é representada na parte inferior.

Figura suplementar 1. Matriz de identidade de sequências baseada em comparações par-a-par da sequência completa do DNA-B de isolados de tomato severe rugose virus (ToSRV), obtida com o programa SDT.

Figura suplementar 2. Análise Discriminante de Componentes Principais (DAPC) para subpopulações de tomato severe rugose virus (ToSRV) com base no DNA-B. Os agrupamentos foram inferidos com base em simulações com um número sequencialmente crescente de grupos (*K*-means). A maior probabilidade foi obtida para seis subpopulações ($K=6$), indicadas pelas barras coloridas.

Figura Suplementar 3. Análise Discriminante de Componentes Principais (DAPC) para subpopulações de tomato severe rugose virus (ToSRV) baseada no DNA-B e definidas

por ano de coleta das amostras. As barras coloridas indicam a contribuição do ano de coleta na composição genética dos isolados.

Figura Suplementar 4. Análise Discriminante de Componentes Principais (DAPC) para subpopulações de tomate severe rugose virus (ToSRV) baseada no DNA-B e definidas por local (estado) de coleta das amostras. As barras coloridas indicam a contribuição do local de coleta na composição genética dos isolados.

Figura 1

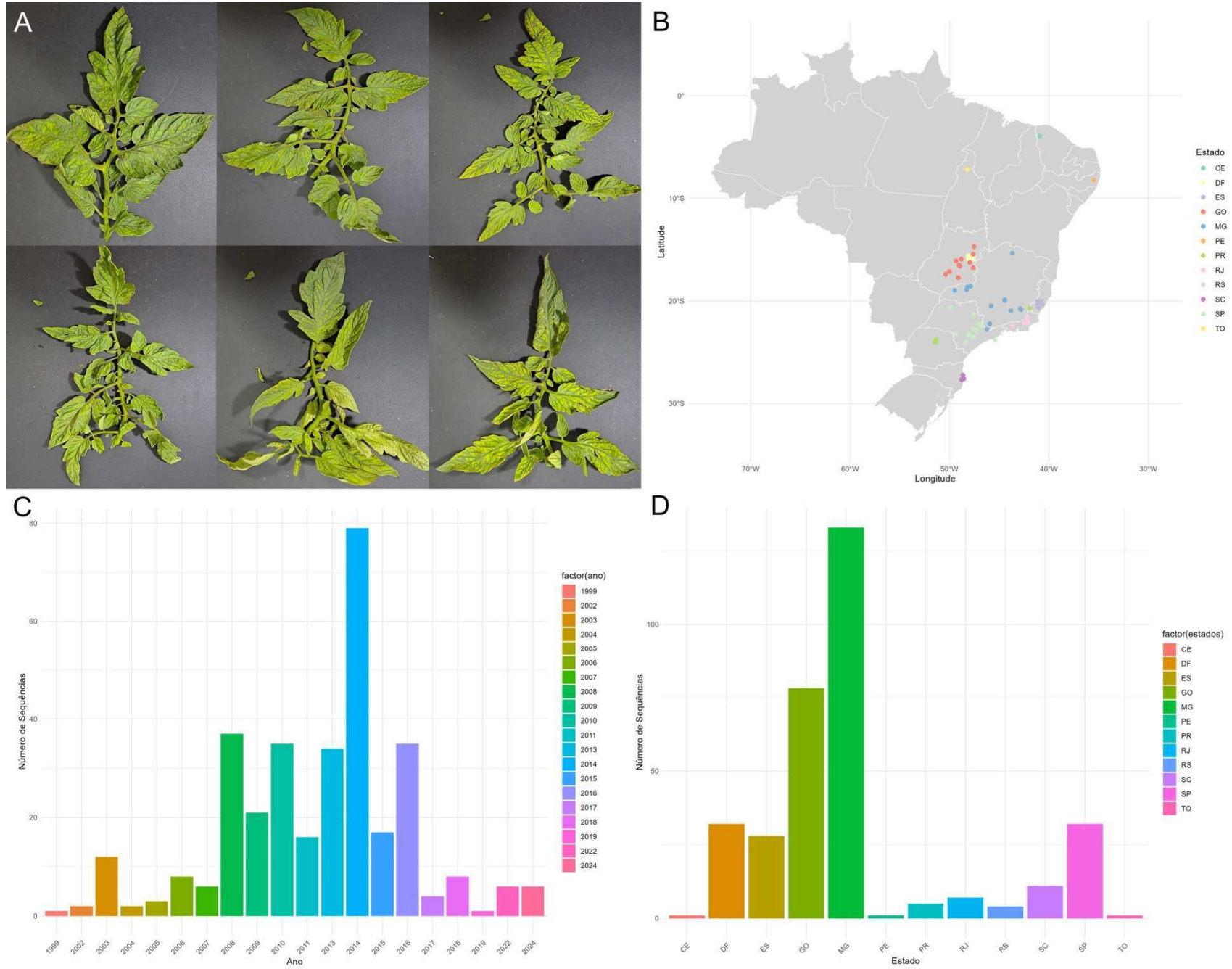


Figura 2

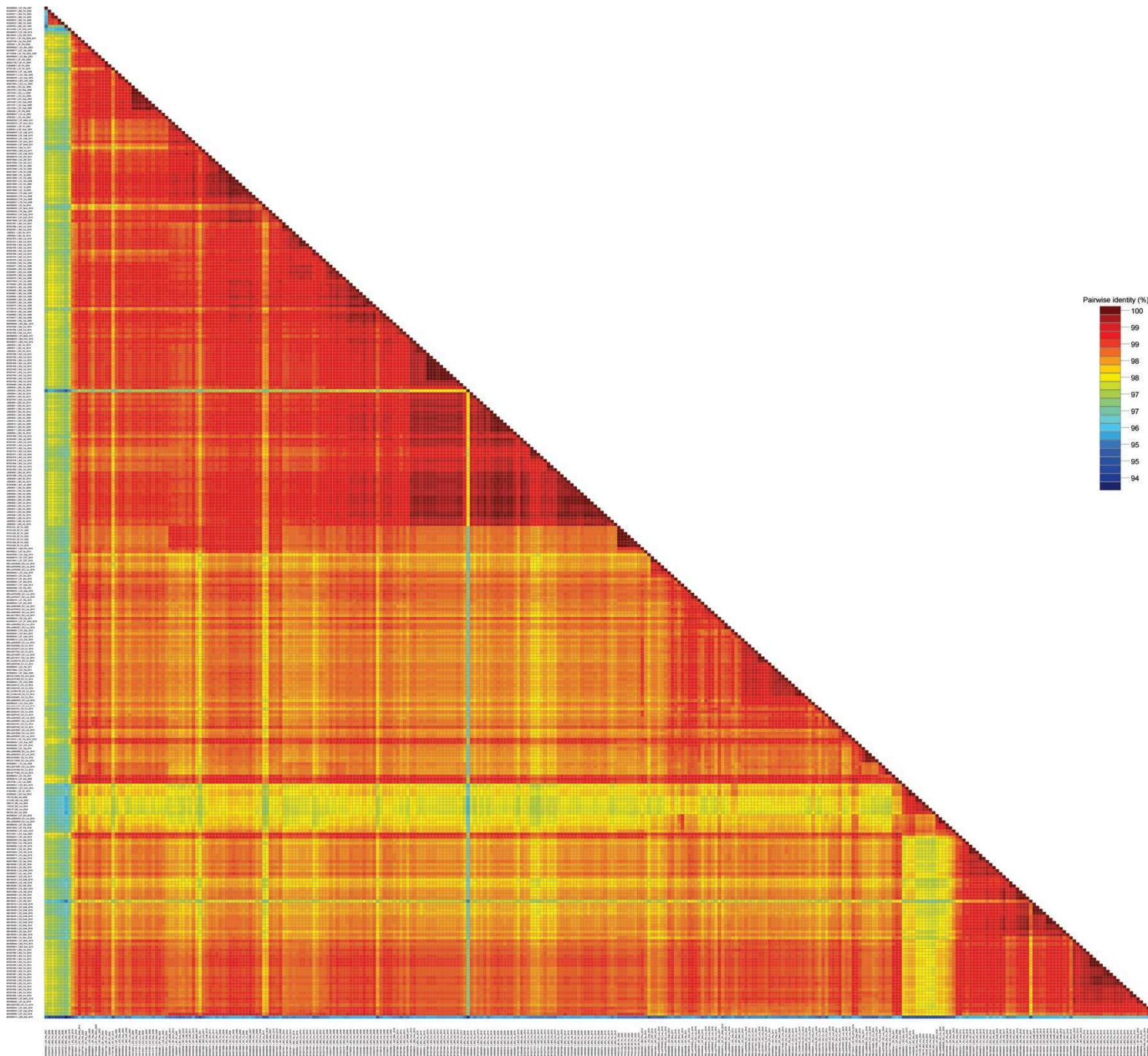


Figura 3

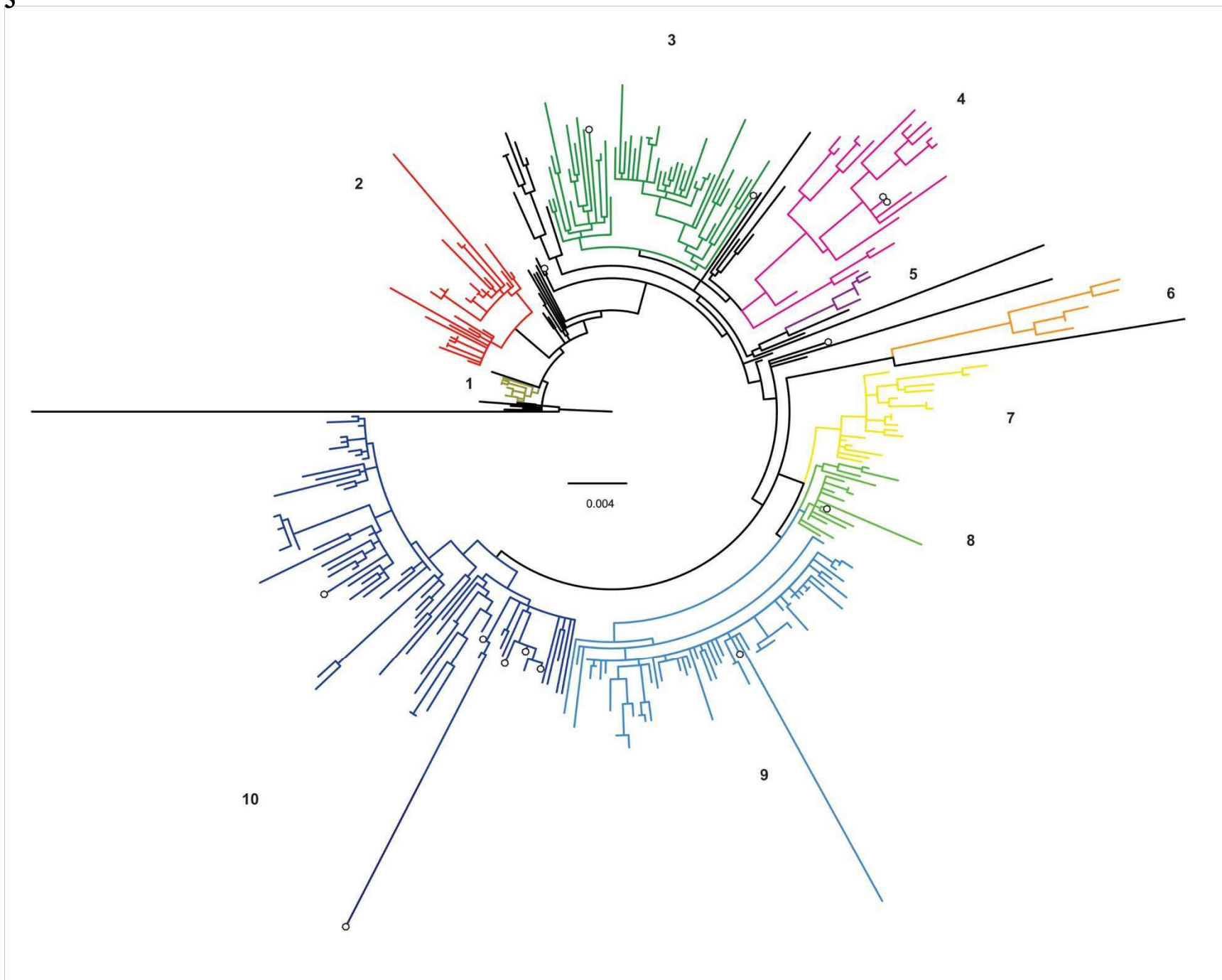


Figura 4.

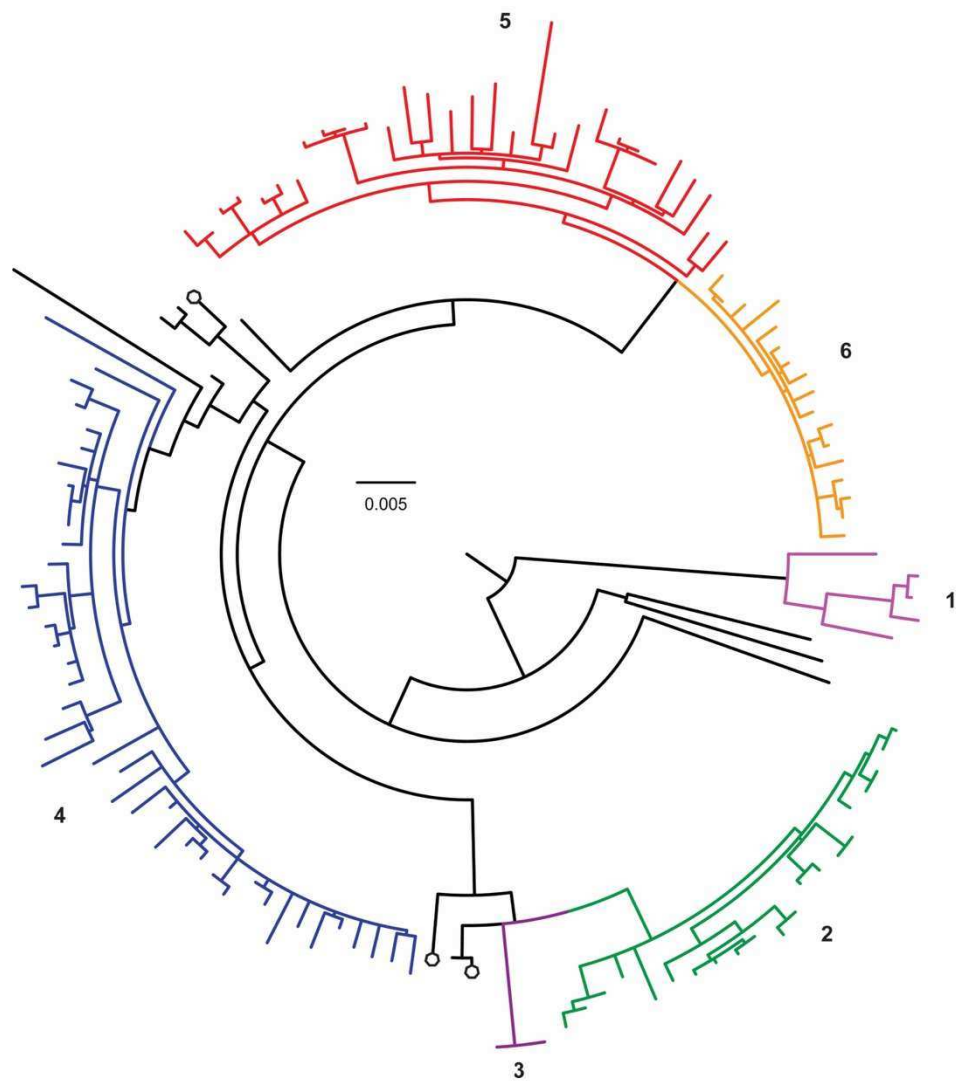


Figura 5

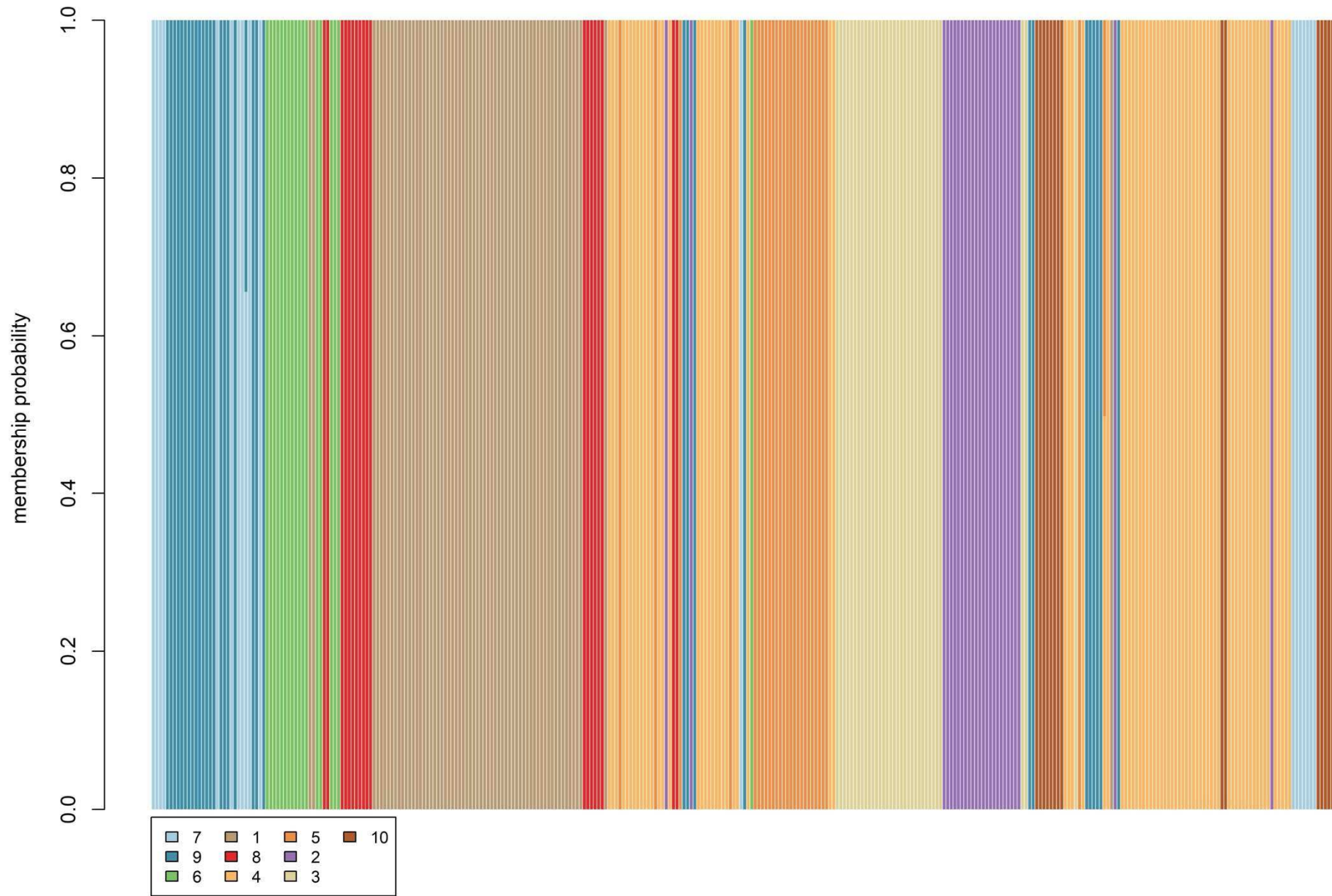


Figura 6

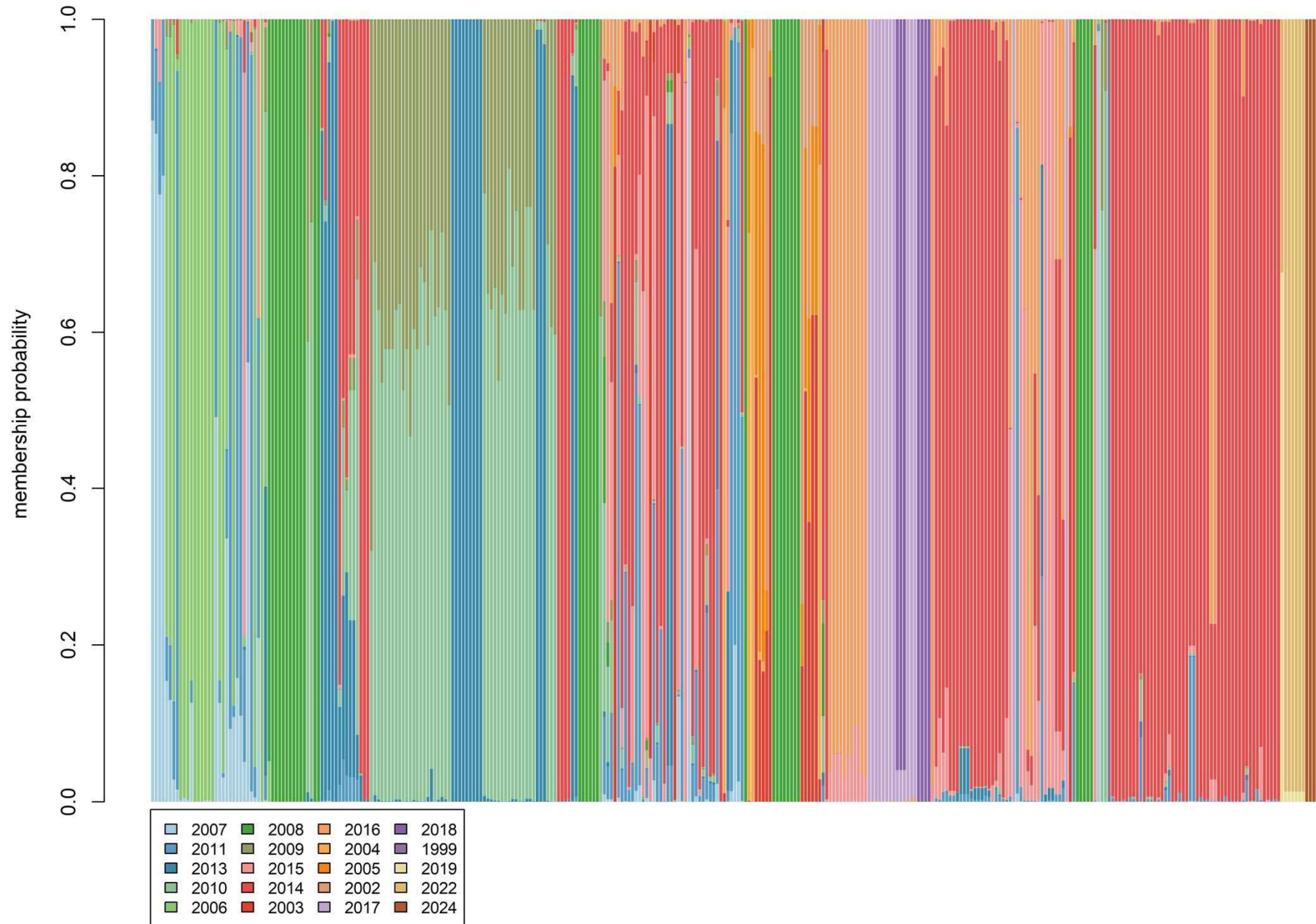


Figura 7

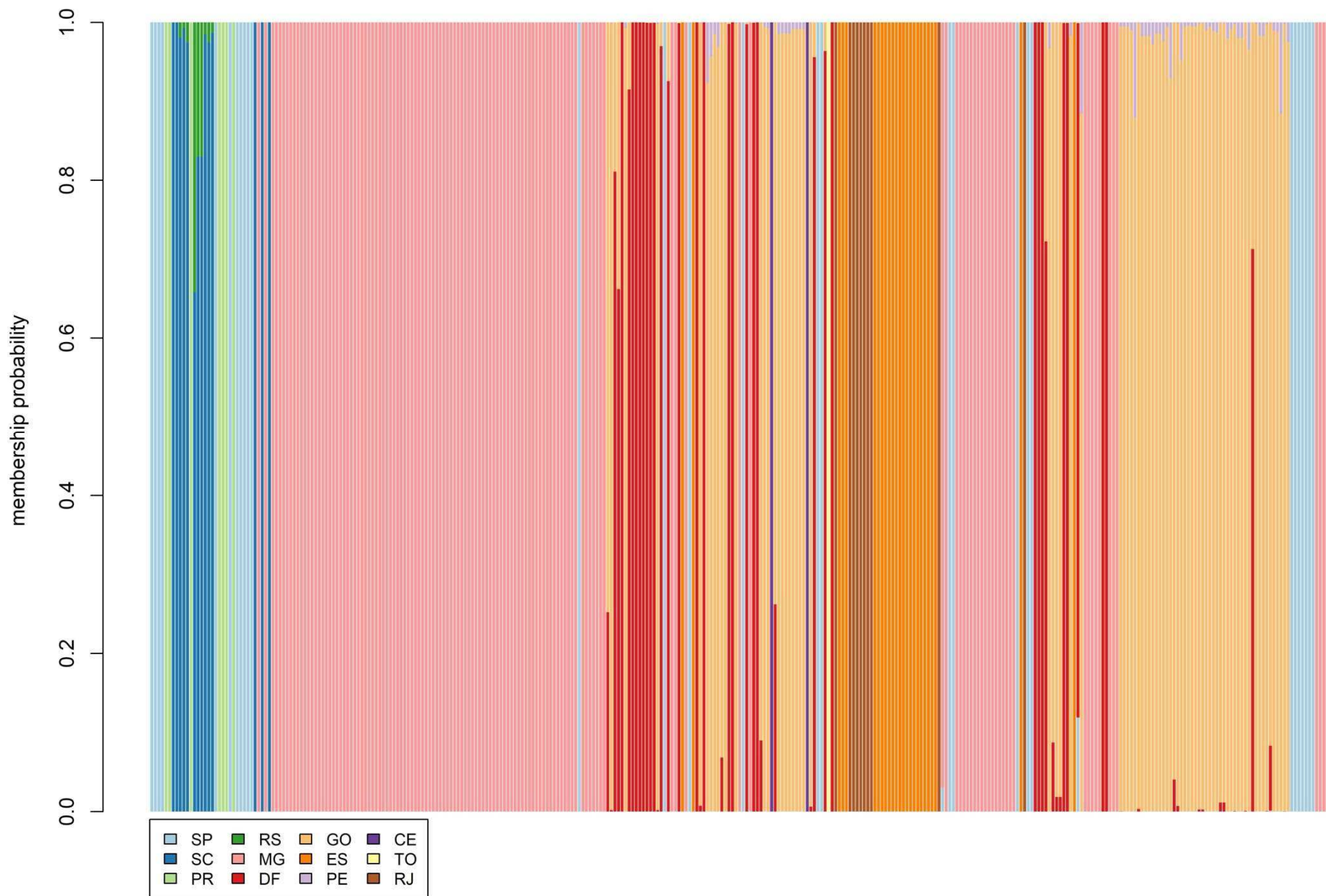


Figura 8

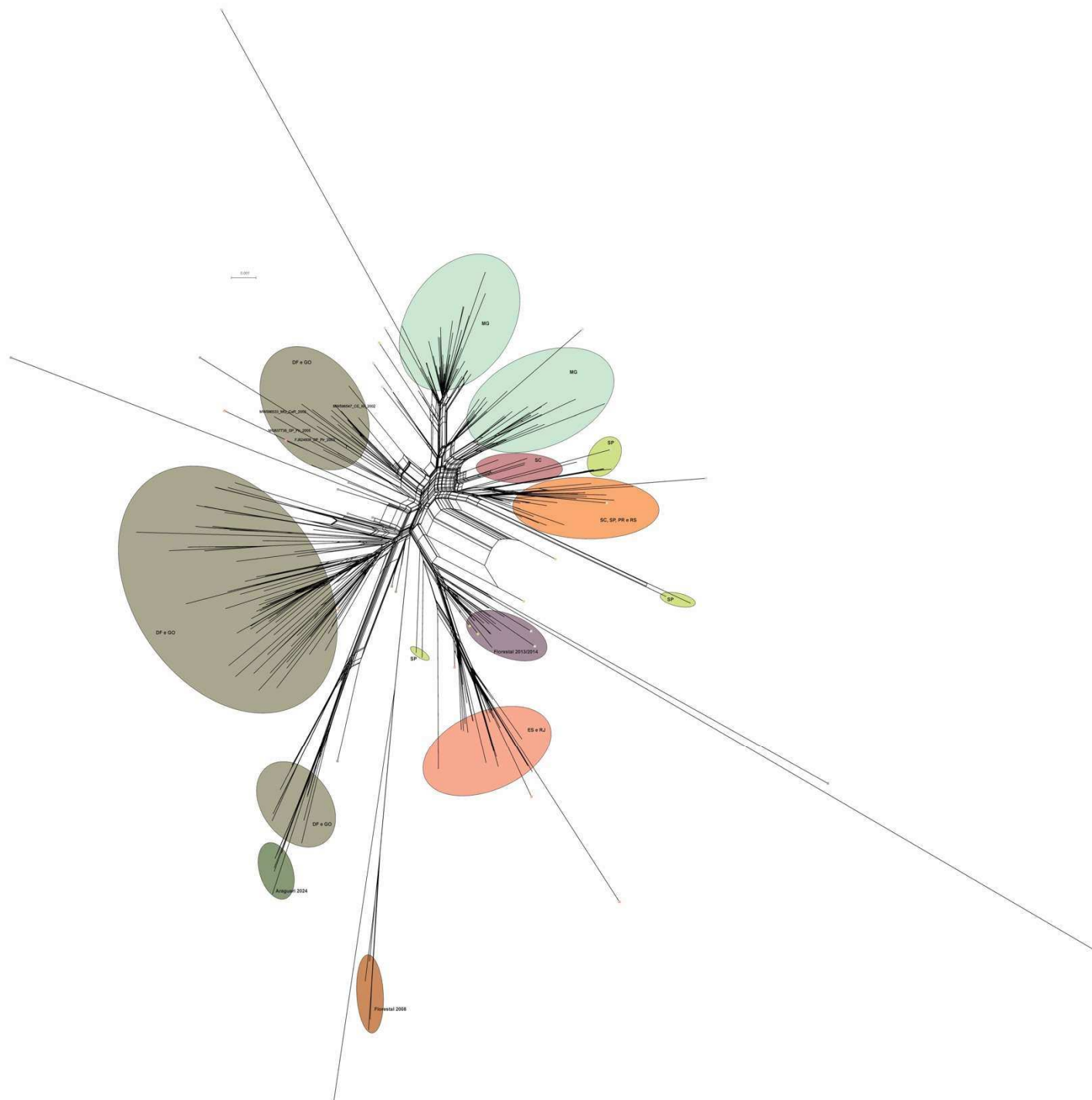


Figura 9

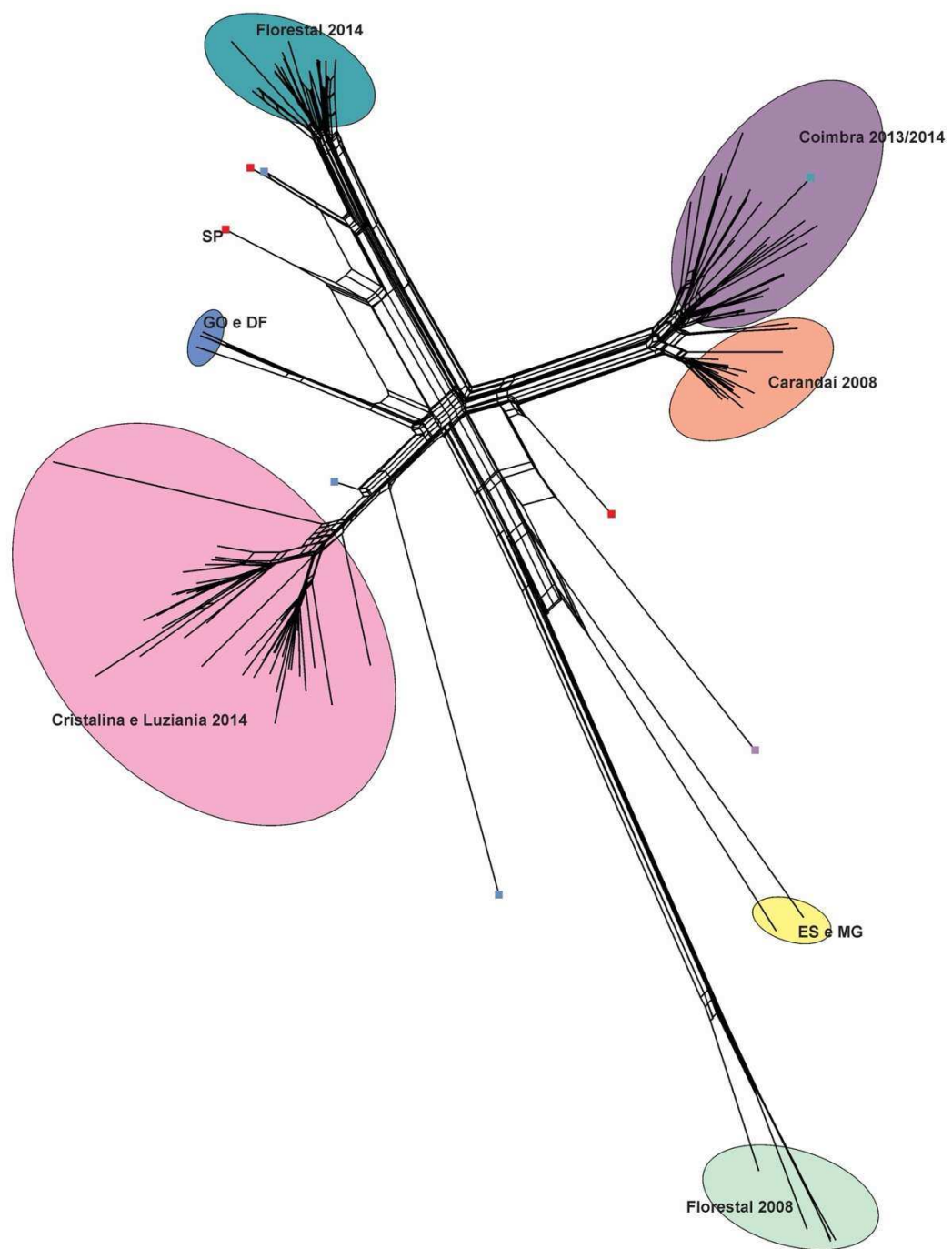


Figura 10

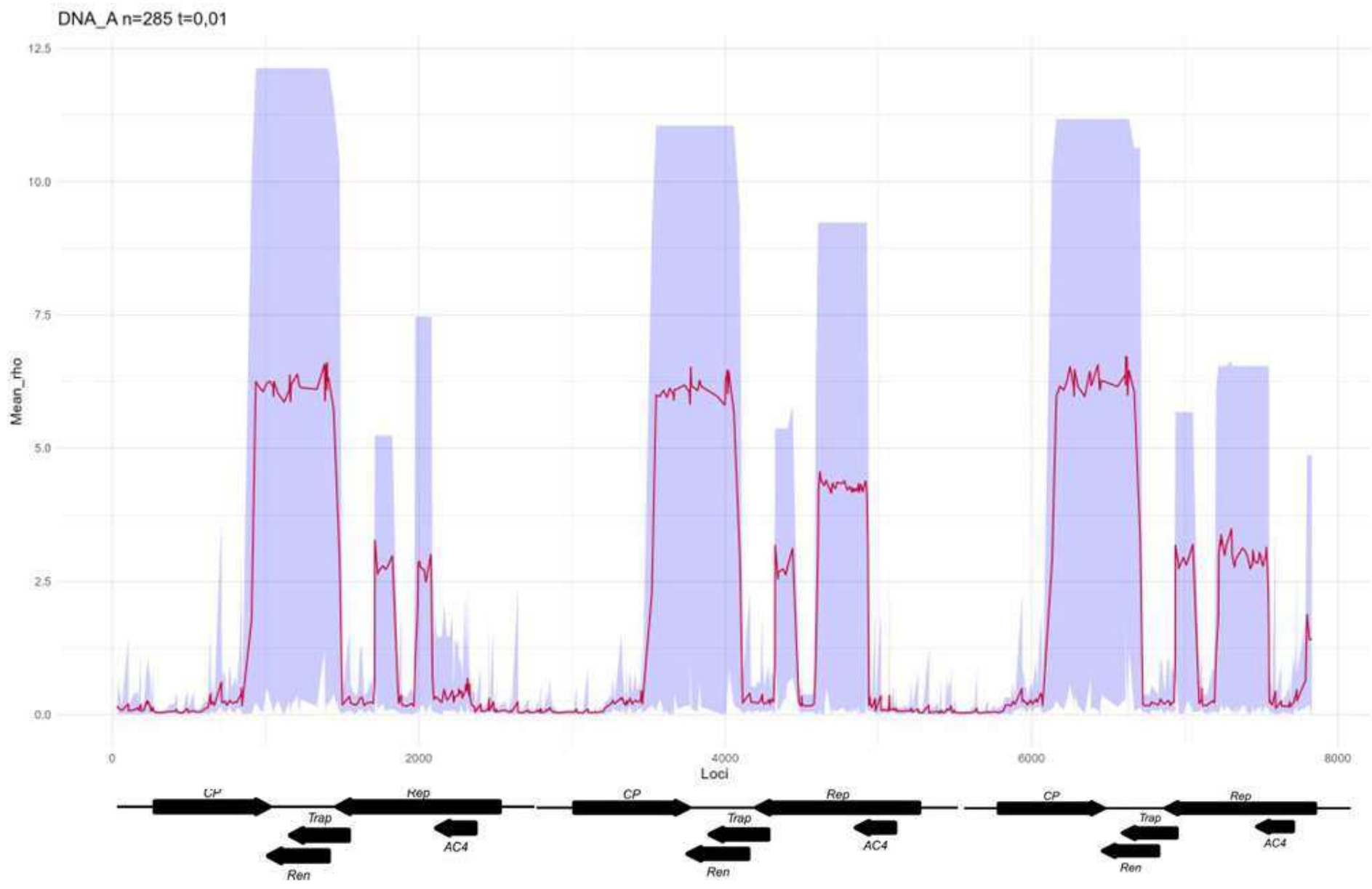


Figura 11

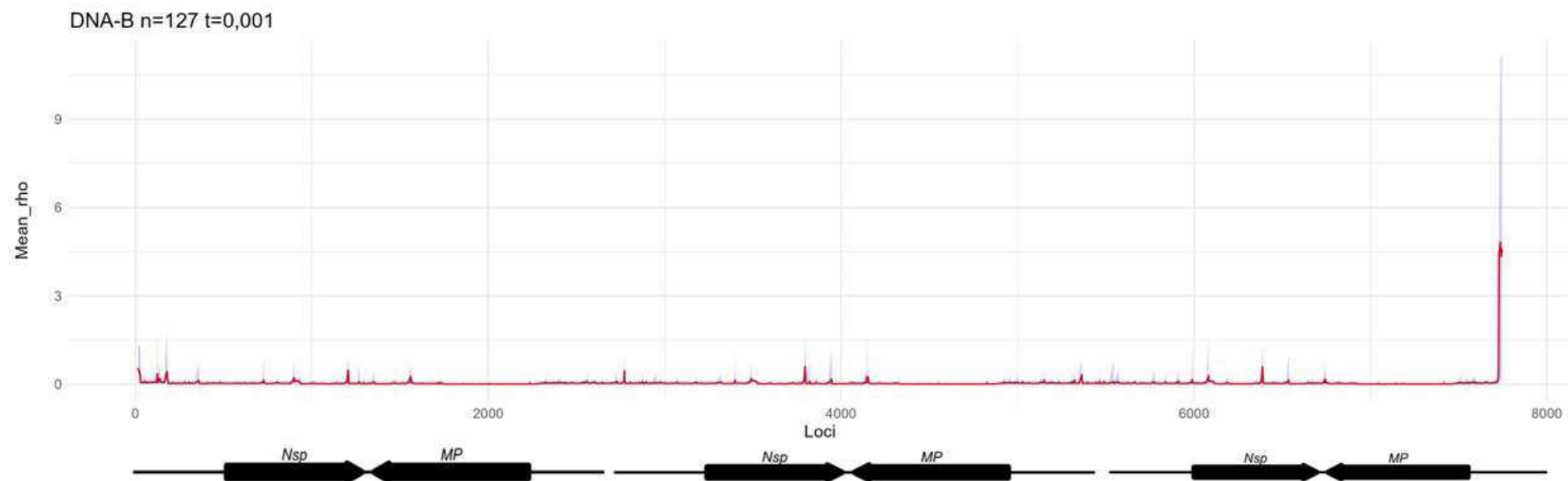


Tabela Suplementar 1. Sequências do DNA-A de tomate severe rugose virus (ToSRV) analisadas neste trabalho.

Número de acesso no GenBank	Isolado	Ano de coleta	Latitude	Longitude	Cidade	Estado	Hospedeiro
JX415202	BR:3539Tom8b:09	2009	-172337	-502225	Acreúna	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX415201	BR:3539Tom8a:09	2009	-172337	-502225	Acreúna	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW574002	ES 187 JP LVV 85	2016	-182056	-430933	Afonso Cláudio	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596580	ES 188JP LVV 84	2016	-200310	-410527	Afonso Cláudio	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN156297	ES187	2016	-200444	-410722	Afonso Cláudio	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN156306	ES202	2016	-200444	-410722	Afonso Cláudio	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
JF803263	DF BR:PADFM:04	2004	-154413	-480930	Alexandre Gusmão	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596574	RJ 36 JP LVV 126	2015	-213817	-420709	Aperibé	RJ	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW602390	RJ 035JP LVV 125	2015	-213817	-420709	Aperibé	RJ	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596557	RJ 037JP LVV 127	2015	-213817	-420709	Aperibé	RJ	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596586	SP 203 JP LVV 152	2014	-232851	-483759	Araçoiaba da Serra	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW602391	SP 202JP LVV 151	2014	-232851	-473759	Araçoiaba	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596591	TO 088JP LVV 06	2008	-71033	-481544	Araguaína	TO	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573983	MG 295 JP LVV 97	2011	-183603	-481224	Araguari	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596529	PR 040JP LVV 174	2007	-252749	-484950	Barro Branco	PR	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573986	RJ 98 JPLVV 118	2016	-220802	-422804	Bom Jardim	RJ	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596556	GO 599JP LVV 58	2015	-163614	-485713	Bonfinópolis	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596551	GO 600JP LVV 59	2015	-163614	-485713	Bonfinópolis	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596539	DF 642JP LVV 14	2016	-154008	-481218	Brazlândia	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596560	DF 643JP LVV 15	2016	-154008	-481218	Brazlândia	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596545	DF 641JP LVV 13	2016	-154008	-481218	Brazlândia	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW602389	DF 659JP LVV 18	2016	-15567	-473546	Café Sem Troco	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573991	DF 651 JP LVV 17	2016	-155624	-473514	Café Sem Troco	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596570	DF 650JP LVV 16	2016	-155624	-473514	Café Sem Troco	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>

MW596588	SP 208 JP LVV 134	2015	-235916	-482211	Capão Bonito	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596594	SP 210 JP LVV 135	2015	-235916	-482211	Capão Bonito	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596522	SP 081 JP LVV 130	2011	-235916	-482211	Capão Bonito	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596587	SP 207 JP LVV 133	2015	-235916	-482211	Capão Bonito	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC706620	BR:Car2307:08	2008	-210603	-434159	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004075	BR:Car2104:08	2008	-210603	-434159	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004080	BR:Car226.3:08	2008	-210603	-434159	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004086	BR:Car2305:08	2008	-210603	-434159	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004087	BR:Car236.1:08	2008	-210603	-434159	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004085	BR:Car2303:08	2008	-210603	-434159	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004083	BR:Car2300:08	2008	-210603	-434159	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004076	BR:Car218.1:08	2008	-210603	-434159	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC706617	BR:Car218.3:08	2008	-210603	-434159	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC706618	BR:Car2201:08	2008	-210603	-434159	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004089	BR:Car2308:08	2008	-210603	-434159	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004088	BR:Car237.6:08	2008	-210603	-434159	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004081	BR:Car2207:08	2008	-210603	-434159	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004077	BR:Car219.10:08	2008	-210603	-434159	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004079	BR:Car2204:08	2008	-210603	-434159	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004078	BR:Car2200:08	2008	-210603	-434159	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC706619	BR:Car226.5:08	2008	-210603	-434159	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596533	MG 031JP LVV 93	2002	-183424	-475238	Cascalho Rico	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596524	RS 055JP LVV 204	2011	-291454	-510113	Caxias	RS	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596530	PE 043JP LVV 03	2009	-81503	-352816	Chã Grande	PE	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627079	BR:Coi1802:14	2014	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627076	BR:Coi1301:14	2014	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>

MT627068	BR:Coi1100:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627050	BR:Coi78:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627065	BR:Coi103.1:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627078	BR:Coi1709:14	2014	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627075	BR:Coi1207:14	2014	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627072	BR:Coi1200:14	2014	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627066	BR:Coi1007:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627061	BR:Coi93:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627081	BR:Coi183.2:14	2014	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627080	BR:Coi183.1:14	2014	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627057	BR:Coi86:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627052	BR:Coi80:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627058	BR:Coi88:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865648	BR:Vic35:10	2010	-401220	-82510	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627056	BR:Coi85.2:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627055	BR:Coi85.1:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627053	BR:Coi83:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627049	BR:Coi73.4:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627048	BR:Coi73.2:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627047	BR:Coi70.3:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627046	BR:Coi70.2:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627045	BR:Coi70.1:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627054	BR:Coi84:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627051	BR:Coi79:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865644	BR:Vic31:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627067	BR:Coi1009:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>

MT627064	BR:Coi100.2:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627063	BR:Coi100.1:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627062	BR:Coi95:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627069	BR:Coi1104:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627077	BR:Coi172:14	2014	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627073	BR:Coi1202:14	2014	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627071	BR:Coi119.1:14	2014	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627074	BR:Coi1205:14	2014	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627070	BR:Coi1107:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627060	BR:Coi92.2:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627059	BR:Coi91:13	2013	-401220	-82510	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596534	GO 559JP LVV 54	2013	-155506	-484905	Corumbá de Goiás	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596550	GO 554JP LVV 52	2013	-155506	-484905	Corumbá de Goiás	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596525	PR 109 JP LVV 171	2006	-235906	-512707	Cruzmalina	PR	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596526	PR 108 JP LVV 172	2006	-235906	-512707	Cruzmalina	PR	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW560614	DF259	2008	-157801	-479292	Distrito Federal	DF	<i>Solanum melongena</i>
MW560616	DF567	2014	-157801	-479292	Distrito Federal	DF	<i>Oxalis latifolia</i>
MW560615	DF500	2016	-157801	-479292	Distrito Federal	DF	<i>Pachyrhizus erosus</i>
KY524458	DF607	2015	-157801	-479292	Distrito Federal	DF	<i>Solanum betaceum</i>
KY781196	BER	2015	-157801	-479292	Distrito Federal	DF	<i>Solanum torvum</i>
MN156294	ES146	2016	-202142	-403934	Domingos Martins	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN156298	ES196	2016	-202142	-403934	Domingos Martins	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN156305	ES291	2018	-202142	-403934	Domingos Martins	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN156304	ES288	2018	-202142	-403934	Domingos Martins	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN156303	ES287	2018	-20214	-403934	Domingos Martins	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN156310	ES292	2018	-202142	-403934	Domingos Martins	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>

MN156308	ES289	2018	-202142	-403934	Domingos Martins	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN156309	ES290	2018	-202142	-403934	Domingos Martins	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN156307	ES285	2018	-202142	-403934	Domingos Martins	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN156302	ES286	2018	-202142	-403934	Domingos Martins	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW574001	SP 73 JPLVV 168	2010	-221547	-475725	Estiva Gerbi	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596523	SP 072JP LVV 167	2010	-221547	-475725	Estiva Gerbi	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596527	PR 105 JP LVV 203	2006	-235911	-511927	Faxinal	PR	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627097	BR:Flo37:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627094	BR:Flo22:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627083	BR:Flo02:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627095	BR:Flo23:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627091	BR:Flo16:13	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627090	BR:Flo15:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627084	BR:Flo04.1:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627088	BR:Flo13:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627093	BR:Flo19:13	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627089	BR:Flo14:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627087	BR:Flo09.1:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627092	BR:Flo09.18:13	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627085	BR:Flo06:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627086	BR:Flo07:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627082	BR:Flo01:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627096	BR:Flo31:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004074	BR:Flo208:08	2008	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004071	BR:Flo2002:08	2008	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004070	BR:Flo1605:08	2008	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>

KC004073	BR:Flo2006:08	2008	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004072	BR:Flo2003:08	2008	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573996	SC 07 JPLVV 189	2006	-272145	-484846	Florianópolis	SC	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573995	SC 06 JP LVV 188	2006	-272145	-484846	Florianópolis	SC	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573994	SC 05 JP LVV 187	2006	-272145	-484846	Florianópolis	SC	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596541	DF 591JP LVV 27	2014	-155948	-481240	Gama	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596549	DF 592JP LVV 28	2014	-155948	-481240	Gama	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596542	DF 288JP LVV 26	2009	-155948	-481240	Gama	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596540	DF 606JP LVV 30	2015	-155948	-481240	Gama	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596571	GO 35JP LVV 40	2003	-162957	-490149	Goianápolis	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596555	GO 091JP LVV 41	2003	-162957	-490149	Goianápolis	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596536	GO 376JP LVV 42	2007	-162957	-490149	Goianápolis	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596535	GO 480JP LVV 44	2010	-162957	-490149	Goianápolis	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT215001	GO247 LRLVV 27	2003	-163020	-490117	Goianápolis	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596583	GO 566JP LVV 46	2013	-162957	-490149	Goianápolis	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596565	GO 477JP LVV 43	2010	-162957	-490149	Goianápolis	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW653950	DF 468JP LVV 45	2010	-162957	-490149	Goianápolis	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX415199	BR:1646Tom4b:08	2008	-163020	-490117	Goianápolis	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX415198	BR:1646Tom4a:08	2008	-163020	-490117	Goianápolis	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX415188	BR:GO:Goi1646:03	2003	-163287	-489534	Goianápolis	GO	<i>Nicandra physalodes</i>
JX415197	BR:1646Nic1:08	2008	-163287	-489534	Goianápolis	GO	<i>Nicandra physalodes</i>
KX458238	BR:ITA1274:14:00	2014	-159225	-501379	Goiás	GO	<i>Phaseolus vulgaris</i>
MW596547	CE 026JP LVV 02	2002	-35532	-405331	Ibiapina	CE	<i>Solanum lycopersicum</i>
JF803262	BR:Ind2857:04	2004	-165816	-504257	Indiara	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596521	SP 153JP LVV 154	2014	-235714	-485427	Itapeva	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596546	SP 161JP LVV 159	2015	-235714	-222412	Itapira	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>

MW596595	SP 160JP LVV 158	2015	-235714	-222412	Itapira	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596552	MG 293JP LVV 107	2011	-185605	-492842	Ituiutaba	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004068	BR:Jai1205:08	2008	-153372	-436858	Jaíba	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865635	BR:Vic22:09	2009	-207546	-428825	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004069	BR:Jai1207:08	2008	-153372	-436858	Jaíba	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX415196	BR:780Tom3:08	2008	-162829	-480117	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573981	GO 31 JPLVV 33	2003	-160838	-480143	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX415193	BR:768Tom8b:08	2008	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX415190	BR:768Cro3a:08	2008	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Crotalaria juncea</i>
MW596528	PR 058 JP LVV 178	2007	-234412	-511833	Marilândia do Sul	PR	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596566	MG 130 JP LVV 110	2010	-195752	-442636	Mateus Leme	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596589	SP 237JP LVV 143	2016	-221826	-465926	Mogi Guaçu	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596590	SP 236JP LVV 142	2016	-221826	-465926	Mogi Guaçu	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596559	SP 238JP LVV 144	2016	-221826	-465926	Mogi Guaçu	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW602392	SP 137 JP LVV 146	2011	-221826	-471947	Monte Mor	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596585	SP 138 JP LVV 147	2011	-225339	-471947	Monte Mor	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596568	SP 136JP LVV 145	2011	-225339	-471947	Monte Mor	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596564	GO 228JP LVV 37	2003	-174532	-490753	Morrinhos	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596582	GO 220JP LVV 38	2003	-174532	-490753	Morrinhos	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
DQ207749	Petrolina de Goiás	2003	-160955	-493368	Petrolina de Goiás	GO	<i>Capsicum frutescens</i>
MW596584	MG 382 JP LVV 104	2015	-202141	-455340	Pimenta	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW653951	MG 387JP LVV 211	2010	-202141	-455340	Pimenta	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MG837738	BR-Pir1-05	2005	-231133	-492639	Pirajú	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
FJ824808	PJUSao Paulo	2003	-231133	-492639	Pirajú	SP	<i>Capsicum annum</i>
MW573982	GO 497 JP LVV 56	2011	-152712	-473648	Planaltina de Goiás	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596544	GO 496JP LVV 55	2011	-152712	-473648	Planaltina de Goiás	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>

MW602388	DF 386JP LVV 21	2011	-154208	-474058	Planaltina	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596578	DF 669JP LVV 23	2016	-154208	-474058	Planaltina	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596543	DF 380JP LVV 20	2011	-154208	-474058	Planaltina	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT733815	BR:G3	2015	-153907	-473111	Planaltina	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT733811	BR:G2	2010	-154310	-471922	Planaltina	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
JF803261	MG BR:Pip1792:03	2003	-153608	-473955	Planaltina	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT733808	BR:G1	2004	-153536	-473211	Planaltina	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
JF803260	MG BR:Pip1696:03	2003	-153608	-473955	Planaltina	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573992	DF 671 JP LVV 24	2016	-154208	-474058	Planaltina	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596538	DF 679JP LVV 25	2016	-154208	-474058	Planaltina	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596562	DF 228JP LVV 19	2007	-154208	-474058	Planaltina	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596532	MG 115JP LVV 101	2010	-221303	-455517	Pouso Alegre	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596531	MG 118JP LVV 102	2010	-221303	-455517	Pouso Alegre	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596593	SP 255JP LVV 150	2016	-231329	-480801	Quadra	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN156293	ES144	2016	-200123	-404439	Santa Maria de Jetibá	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596553	ES 147JP LVV 73	2016	-200123	-404529	Santa Maria de Jetibá	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN156300	ES255	2017	-200131	-404439	Santa Maria de Jetibá	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW574000	SC 50 JPLVV 194	2011	-273946	-484801	Santo Amaro da Imperatriz	SC	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596575	SC 54 JP LVV 195	2011	-273946	-484801	Santo Amaro da Imperatriz	SC	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573997	SC 13 JPLVV 191	2006	-273946	-484801	Santo Amaro da Imperatriz	SC	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573999	SC 45 JP LVV 193	2011	-273946	-484801	Santo Amaro da Imperatriz	SC	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573998	SC 14 JP LVV 192	2006	-273946	-484801	Santo Amaro da Imperatriz	SC	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596572	GO 612JP LVV 61	2016	-144133	-473058	São João da Aliança	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>

KC004084	BR:Car2302:08	2016	-155409	-474634	São Sebastião	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT214084	DF667 LR	2016	-155409	-474634	São Sebastião	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596592	SP 263 JP LVV 162	2016	-203235	-495918	Sebastianópolis do Sul	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596561	MG 274 JP LVV 91	2010	-182056	-430933	Serra Azul	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596576	SP 142 JP LVV 140	2013	-224834	-472106	Sumaré	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
EU086591	Sumaré	2007	-224834	-472106	Sumaré	SP	<i>Nicandra physaloides</i>
MW596558	SP 139 JP LVV 141	2013	-224834	-472106	Sumaré	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596563	DF 431JP LVV 10	2011	-153803	-473122	Taquara	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596548	DF 441JP LVV 12	2011	-153803	-473122	Taquara	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596577	DF 213JP LVV 08	2005	-153803	-473122	Taquara	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596579	DF 212JP LVV 07	2005	-153803	-473122	Taquara	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573989	SC 28 JPLVV 196	2008	-271241	-483756	Tijuca	SC	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573993	SC 31 JP LVV 198	2008	-271241	-483756	Tijuca	SC	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573990	SC 29 JP LVV 197	2008	-271241	-483756	Tijuca	SC	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573987	RS 16 JPLVV 199	2009	-291415	-494403	Torres	RS	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596569	RS 017JP LVV 200	2009	-291415	-494403	Torres	RS	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573988	RS 20 JP LVV 201	2009	-291415	-494403	Torres	RS	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573984	RJ 62 JPLVV 11	2016	-220030	-421823	Trajano de Moraes	RJ	<i>Solanum lycopersicum</i>
AY029750	BR:MG-Ub1:99	1999	-184919	-482637	Uberlândia	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN156299	ES206	2017	-204025	-410035	Vargem Alta	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573985	RJ 88 JPLVV 121	2016	-222242	-434015	Vassoura	RJ	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596567	RJ 079JP LVV 119	2016	-222242	-434015	Vassoura	RJ	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN156292	ES120	2015	-201916	-410826	Venda Nova do Imigrante	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW573980	ES 174 JP LVV 78	2016	-201916	-410826	Venda Nova do Imigrante	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>

MW596581	ES 207JP LVV 82	2017	-201916	-410826	Venda Nova do Imigrante	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN156291	ES117	2016	-201916	-410826	Venda Nova do Imigrante	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596537	ES 115JP LVV 75	2015	-201916	-410826	Venda Nova do Imigrante	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN156295	ES173	2016	-201916	-410826	Venda Nova do Imigrante	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN059848	ES176	2016	-201916	-410826	Venda Nova do Imigrante	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MW596554	ES 183JP LVV 80	2016	-201916	-410826	Venda Nova do Imigrante	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN156296	ES183	2016	-201916	-410826	Venda Nova do Imigrante	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN156301	ES271	2017	-201916	-410826	Venda Nova do Imigrante	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865621	BR:Vic07:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865620	BR:Vic06:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865650	BR:Vic40:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865649	BR:Vic36:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865647	BR:Vic34:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865637	BR:Vic24:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865641	BR:Vic28:09	2009	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865640	BR:Vic27:09	2009	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865625	BR:Vic11:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865615	BR:Vic01:09	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865627	BR:Vic13:09	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865628	BR:Vic14:09	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>

JX865629	BR:Vic15:09	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865632	BR:Vic19:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865624	BR:Vic0100:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865642	BR:Vic29:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865636	BR:Vic23:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865630	BR:Vic17:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865631	BR:Vic18:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865643	BR:Vic30:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865645	BR:Vic32:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865623	BR:Vic09:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865634	BR:Vic21:09	2009	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865626	BR:Vic12:09	2009	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865618	BR:Vic04:09	2009	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865617	BR:Vic03:09	2009	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865616	BR:Vic02:09	2009	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865622	BR:Vic08:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865619	BR:Vic05:09	2009	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865639	BR:Vic26:09	2009	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865633	BR:Vic20:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
HQ606467	Pi1	2007	-224400	-473850	Piracicaba	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC004082	BR:Car2208:08	2008	-205715	-434729	Carandaí	MG	<i>Sida</i> sp.
KC004090	BR:Vic25:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Sida</i> sp.
JX865646	BR:Vic33:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
JX865638	BR:Vic25:10	2010	-204514	-425253	Viçosa	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
DQ207749	BR:GO-Pet1:03	2003			Petrolina de Goiás	GO	<i>Capsicum baccatum</i>
MW596573	MG 266JP LVV 89	2010				MG	<i>Solanum lycopersicum</i>

Cri317A	BR:Cri317A053:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri317A	BR:Cri317A056:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri318A	BR:Cri318A061:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri322A	BR:Cri322A072:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri325A	BR:Cri325A081:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri329A	BR:Cri329A098:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri332A	BR:Cri332A105:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri332A	BR:Cri332A107:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri333A	BR:Cri333A111:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri333A	BR:Cri333A113:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri334A	BR:Cri334A124:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri336A	BR:Cri336A132:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri275T	BR:Cri275T005:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri277T	BR:Cri277T052:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri278T	BR:Cri278T068:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri280T	BR:Cri280T022:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri282T	BR:Cri282T063:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri283T	BR:Cri283T031:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri284T	BR:Cri284T070:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri291T	BR:Cri291T027:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri292T	BR:Cri292T031:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri293T	BR:Cri293T049:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz076H	BR:Luz076H019:14	2014	-162345	-479167	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz078H	BR:Luz078H020:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz078H	BR:Luz078H026:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz079H	BR:Luz079H217:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>

Luz079H	BR:Luz079H255:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz080H	BR:Luz080H047:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz083H	BR:Luz083H215:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz086H	BR:Luz086H033:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz086H	BR:Luz086H064:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz088H	BR:Luz088H060:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz090H	BR:Luz090H221:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz090H	BR:Luz090H226:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz091H	BR:Luz091H018:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz092H	BR:Luz092H023:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz003S	BR:Luz003S025:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz005S	BR:Luz005S047:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz006S	BR:Luz006S036:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz006S	BR:Luz006S204:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz007S	BR:Luz007S040:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz007S	BR:Luz007S067:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz009S	BR:Luz009S001:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz015S	BR:Luz015S117:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz016S	BR:Luz016S007:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz017S	BR:Luz017S012:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz021S	BR:Luz021S087:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz023S	BR:Luz023S043:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Ara68	BR:MG-Ara68:24	2024	-183603	-481224	Araguari	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
Ara170	BR:MG-Ara170:24	2024	-183603	-481224	Araguari	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
Ara211	BR:MG-Ara211:24	2024	-183603	-481224	Araguari	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
Ara234	BR:MG-Ara234:24	2024	-183603	-481224	Araguari	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>

Ara238	BR:MG-Ara238:24	2024	-183603	-481224	Araguari	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
Ara76	BR:MG-Ara76:24	2024	-183603	-481224	Araguari	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
PP331231	TEF4B_H6	2022	-224400	-473850	Piracicaba	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
PP331230	TEF4B_H5	2022	-224400	-473850	Piracicaba	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
PP331229	TEF4B_H4	2022	-224400	-473850	Piracicaba	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
PP331228	TEF4B_H3	2022	-224400	-473850	Piracicaba	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
PP331226	TEF4B_H1	2022	-224400	-473850	Piracicaba	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
PP331225	TF	2019	-224400	-473850	Piracicaba	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>

Tabela Suplementar 2. Sequências do DNA-B de tomato severe rugose virus (ToSRV) analisadas neste trabalho.

Número de acesso no GenBank	Isolado	Ano de coleta	Latitude	Longitude	Cidade	Estado	Hospedeiro
MW653952	MG387 JP LVV 212	2010	-202141	-455340	Pimenta	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
HQ606468	Pi-1	2007	-224400	-473850	Piracicaba	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT215002	GO-247 LR LVV 27	2003	-162957	-490149	Goianapolis	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT214085	DF-667 LR LVV 22	2016			São Sebastião	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MN059849	ES176	2016	-410826	-410826	Venda Nova do Imigrante	ES	<i>Solanum lycopersicum</i>
MG837739	DNA-B	2005	-231133	-492639	Pirajú	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
KY964449	DF607	2005	-15.7801	-47.9292	Distrito Federal	DF	<i>Solanum betaceum</i>
GU358449	Sumaré	2007	-224834	-472106	Sumaré	SP	<i>Nicandra physaloides</i>
EF534708	Petrolina de Goiás	2003	-160542	-492016	Petrolina de Goiás	GO	<i>Capsicum baccatum</i>
MT627164	BR:Flo208:08	2008	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627163	BR:Flo206:08	2008	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627162	BR:Flo203:08	2008	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627161	BR:Flo202.4:08	2008	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627160	BR:Flo202.3:08	2008	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627159	BR:Flo222:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627158	BR:Flo20:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627157	BR:Flo19:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627156	BR:Flo18:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627155	BR:Flo16:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627154	BR:Flo14:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627153	BR:Flo13:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627152	BR:Flo12:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627151	BR:Flo11:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627150	BR:Flo10:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>

MT627149	BR:Flo09.3:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627148	BR:Flo09.1:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627147	BR:Flo08.2:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627146	BR:Flo08.1:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627145	BR:Flo07:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627144	BR:Flo06:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627143	BR:Flo05:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627142	BR:Flo04.5:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627141	BR:Flo04.1:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627140	BR:Flo03:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627139	BR:Flo02:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627138	BR:Flo01:14	2014	-195318	-442555	Florestal	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627137	BR:Coi183:14	2014	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627136	BR:Coi182:14	2014	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627135	BR:Coi179:14	2014	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627134	BR:Coi172:14	2014	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627133	BR:Coi131:14	2014	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627132	BR:Coi125:14	2014	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627131	BR:Coi122:14	2014	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627130	BR:Coi120:14	2014	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627129	BR:Coi119.4:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627128	BR:Coi119.1:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627127	BR:Coi117.1:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627126	BR:Coi117:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627125	BR:Coi114:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627124	BR:Coi110:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627123	BR:Coi103.4:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627122	BR:Coi103.1:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627121	BR:Coi95:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>

MT627120	BR:Coi93:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627119	BR:Coi92.5:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627118	BR:Coi92.2:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627117	BR:Coi86:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627116	BR:Coi85:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627115	BR:Coi84:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627114	BR:Coi83:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627113	BR:Coi80:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627112	BR:Coi79:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627111	BR:Coi73:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627110	BR:Coi70:13	2013	-205127	-425007	Coimbra	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627109	BR:Car238.1:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627108	BR:Car237.2:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627107	BR:Car237.1:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627106	BR:Car232:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627105	BR:Car230:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627104	BR:Car226.3:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627103	BR:Car226.1:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627102	BR:Car224.3:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627101	BR:Car224.1:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627100	BR:Car220:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627099	BR:Car219:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT627098	BR:Car218:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT733816	ToSRV:BR:G3	2015	-153803	-473122	Taquara e Pípiripau	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT733812	ToSRV:BR:G2	2010	-153803	-473122	Taquara e Pípiripau	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
MT733809	ToSRV:BR:G1	2004	-153803	-473122	Taquara e Pípiripau	DF	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC706627	BR:Car238:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC706626	BR:Car237.6:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC706625	BR:Car235:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>

KC706624	BR:Car237:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC706623	BR:Car234.5:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC706622	BR:Car223:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
KC706621	BR:Car217.6:08	2008	-205703	-434809	Carandaí	MG	<i>Solanum lycopersicum</i>
PP331224	TEF4B_A2	2022	-224400	-473850	Piracicaba	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
PP331223	TEF4B_A1	2022	-224400	-473850	Piracicaba	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
PP331222	TF	2019	-224400	-473850	Piracicaba	SP	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri317A	BR:Cri317A050:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri318A	BR:Cri318A057:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri322A	BR:Cri322A063:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri325A	BR:Cri325A112:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri329A	BR:Cri329A121:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri332A	BR:Cri332A082:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri332A	BR:Cri332A084:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri333A	BR:Cri333A125:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri334A	BR:Cri334A096:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri335A	BR:Cri335A133:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri336A	BR:Cri336A141:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri337A	BR:Cri337A149:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri277T	BR:Cri277T072:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri280T	BR:Cri280T023:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri282T	BR:Cri282T077:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri283T	BR:Cri283T082:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri284T	BR:Cri284T090:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri285T	BR:Cri285T095:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri286T	BR:Cri286T099:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri287T	BR:Cri287T102:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Cri293T	BR:Cri293T108:14	2014	-167679	-476131	Cristalina	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz075H	BR:Luz075H:011:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>

Luz076H	BR:Luz076H:022:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz078H	BR:Luz078H:024:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz079H	BR:Luz079H:292:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz086H	BR:Luz086H:067:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz088H	BR:Luz088H:116:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz090H	BR:Luz090H:082:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz091H	BR:Luz091H:062:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz092H	BR:Luz092H:066:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz093H	BR:Luz093H:095:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz003S	BR:Luz003S010:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz005S	BR:Luz005S020:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz006S	BR:Luz006S278:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz007S	BR:Luz007S034:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz014S	BR:Luz014S062:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz015S	BR:Luz015S072:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz016S	BR:Luz016S052:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz017S	BR:Luz017S057:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz022S	BR:Luz022S104:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>
Luz023S	BR:Luz023S109:14	2014	-162829	-480011	Luziânia	GO	<i>Solanum lycopersicum</i>

Figura suplementar 1

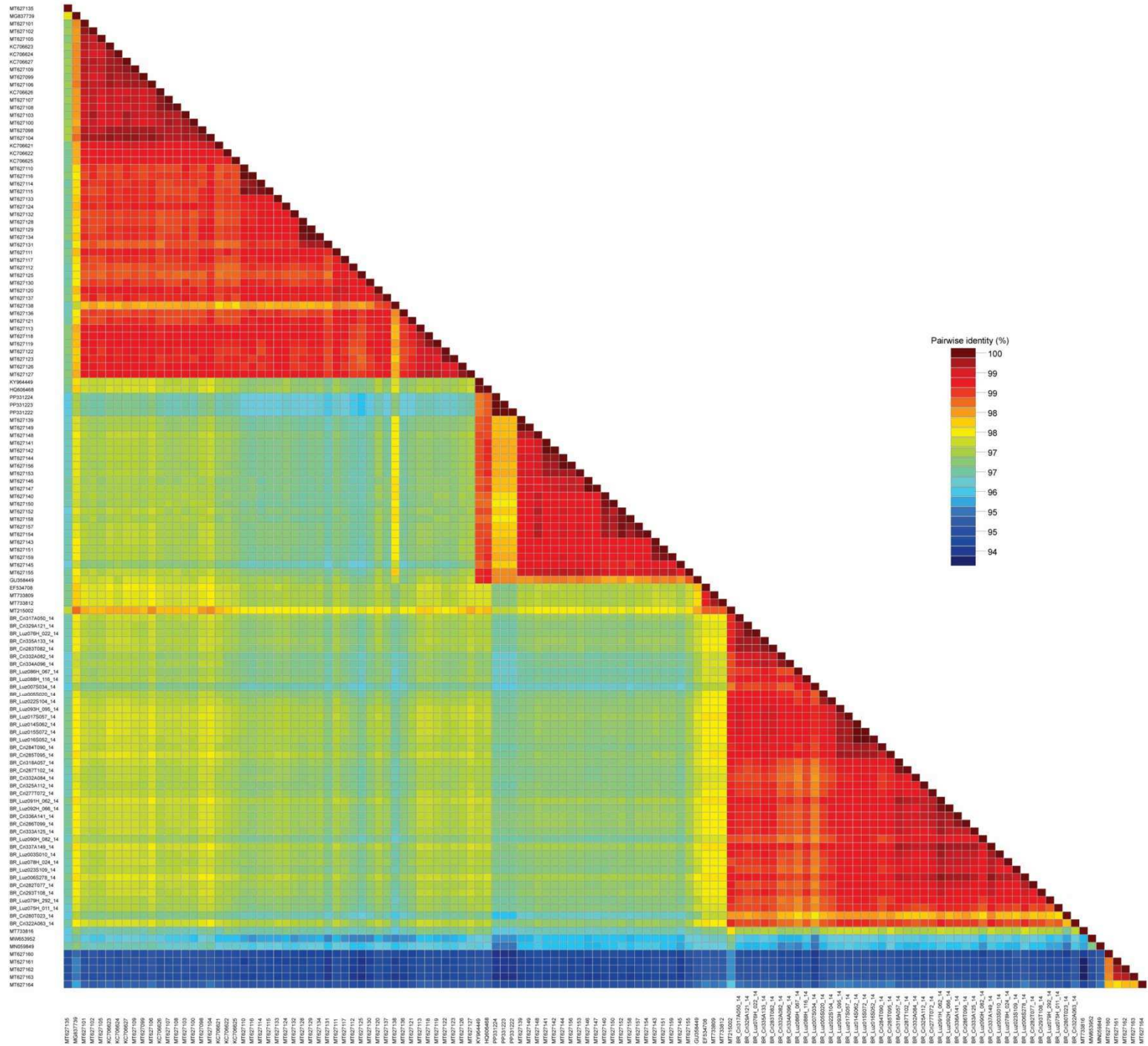


Figura suplementar 2

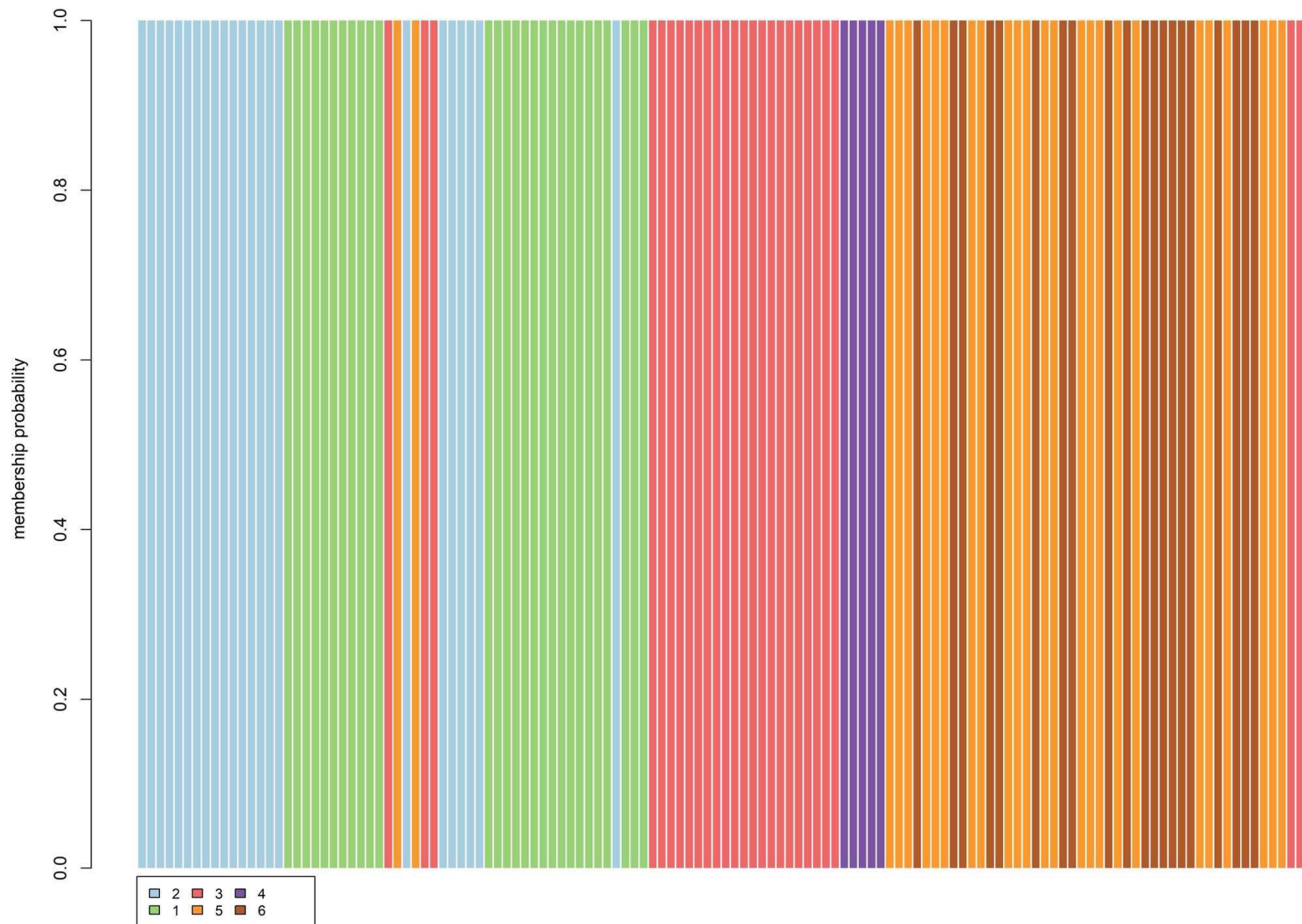


Figura suplementar 3

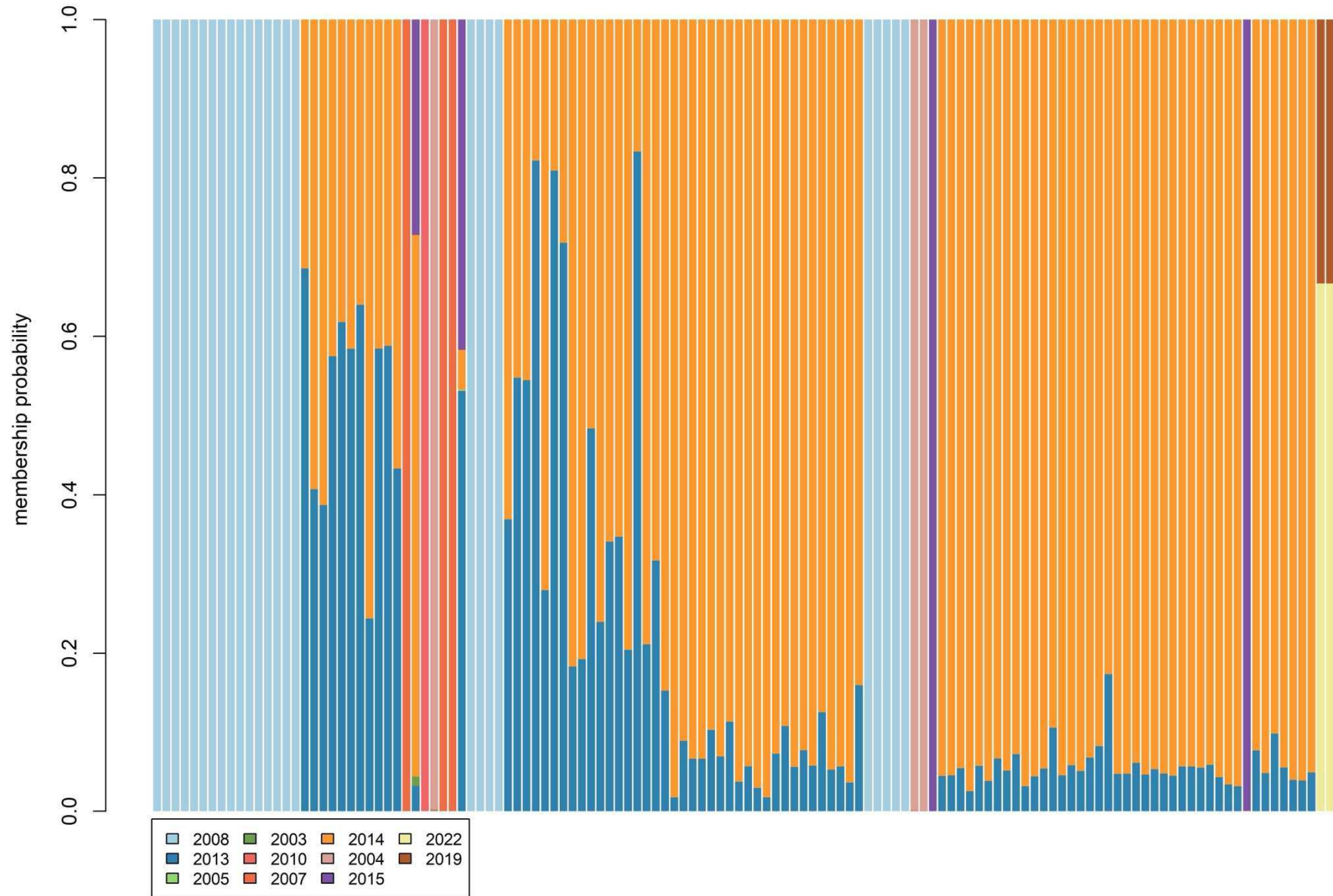


Figura suplementar 4



CONCLUSÕES GERAIS

- *Bemisia tabaci* MED é prevalente na região metropolitana de Belo Horizonte (o primeiro relato dessa espécie de mosca-branca em MG), com baixa incidência de *B. tabaci* MEAM1.
- A prevalência de *B. tabaci* MED pode explicar a grande redução na incidência de begomovírus (inclusive o ToSRV) em tomateiros em MG observada nos últimos três anos.
- O ToSRV possui baixa variabilidade genética tanto para o DNA-A e o DNA-B, e todos os isolados sequenciados são classificados como uma única estirpe.
- O DNA-B é mais variável do que o DNA-A.
- A população viral é segregada com base em região geográfica, com estruturação dos isolados em 10 e 6 clados com base no DNA-A e DNA-B, respectivamente.
- Não foi detectada estruturação temporal.
- O gene *AC4* dos isolados de ToSRV está sob seleção positiva, enquanto todos os demais genes estão sob forte seleção negativa.
- O ToSRV apresenta baixa taxa de recombinação, especialmente para o DNA-B.
- O ToSRV evolui localmente, de forma lenta e sem fluxo gênico/migração significativos.