Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Dinâmica temporal e espacial da virose causada por *Tomato chlorosis virus* (ToCV) em tomateiro

Helen Alves Calaça

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

Piracicaba
2011

Helen Alves Calaça
Engenheiro Agrônomo

Dinâmica temporal e espacial da virose causada por *Tomato chlorosis virus* (ToCV) em tomateiro

Orientador:
Prof. Dr. **ARMANDO BERGAMIN FILHO**

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

Piracicaba
2011

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

Calaça, Helen Alves
Dinâmica temporal e espacial da virose causada por *Tomato chlorosis virus* (ToCV) em tomateiro / Helen Alves Calaça. - - Piracicaba, 2011.
101 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2011.

1. Clorose 2. Epidemiologia 3.Tomate 4. Viroses 5. Vírus de plantas I.Título

CDD 635.642
C141d

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

À minha família

DEDICO

Aos amigos

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Armando Bergamin Filho, orientador deste trabalho, pela confiança.

Ao meu amigo e colega de pós-graduação Júlio César Barbosa, pela paciência e pela generosidade ímpar que o levou a me ajudar em todas as etapas deste trabalho.

Ao Professor Jorge Alberto Marques Rezende pela colaboração nas análises moleculares e pela co-orientação, fundamental para conclusão deste trabalho.

Ao Pesquisador Hélcio Costa do INCAPER pela solicitude e pelos bons momentos que passamos visitando lavouras de tomate no Espírito Santo.

Ao Pesquisador José Aires do INCAPER pela colaboração e orientação.

Aos agricultores, proprietários das lavouras, que permitiram o acesso livre às suas áreas e cederam pacientemente seu tempo, colaborando com informações sobre o histórico da área, observação dos sintomas em épocas anteriores, etc.

Ao Professor Marcus Matallo do Instituto Biológico de Campinas, ao pesquisador Daniel Franco, da mesma instituição e ao pesquisador Carlos Burga, que contribuíram indiretamente para que este trabalho se concretizasse, através de suas orientações, apoio e amizade que permanecem até hoje.

À Fabiana Nunes Wolak, da Secretaria de pós-graduação do programa de Fitopatologia, pelo auxílio nos aspectos burocráticos que envolvem a conclusão de uma tese e pela disposição sempre presente em ajudar.

SUMÁRIO

RESUMO.....9
ABSTRACT.....11
LISTA DE FIGURAS.....13
LISTA DE TABELAS.....17
1 INTRODUÇÃO.....19
2 DESENVOLVIMENTO.....21
2.1 Revisão bibliográfica.....21
2.1.1 Importância da cultura do tomate.....21
2.1.2 Impacto das viroses na cultura do tomate.....22
2.1.3 O gênero Crinivirus.....24
2.1.4 *Tomato chlorosis virus* (ToCV).....26
2.1.4.1 Caracterização do vírus.....26
2.1.4.2 Sintomas da virose causada pelo ToCV.....29
2.1.4.3 Transmissão do ToCV.....31
2.1.4.4 Gama de hospedeiros.....33
2.1.4.5 Histórico de ocorrência da virose.....34
2.1.5 Análise epidemiológica de viroses em plantas.....39
2.1.5.1 Análise temporal.....40
2.1.5.2 Análise espacial.....41
2.2 Material e Métodos.....43
2.2.1 Caracterização dos locais de ensaios.....43
2.2.2 Coleta de dados.....47
2.2.3 Detecção e identificação viral.....48
2.2.3.1 Extração do RNA total e detecção do vírus.....48
2.2.3.2 Sequênciamento do cDNA viral.....48
2.2.4 Análise Epidemiológica.....49
2.2.4.1 Análise temporal.....49
2.2.4.2 Análise espacial.....49
2.2.4.2.1 Índice de dispersão (ID).....50

2.2.4.2.2 Lei de Taylor modificada.....50
2.2.4.2.3 Áreas isopatas.....51
2.4 Resultados e Discussão.....52
2.4.1 Identificação do vírus.....52
2.4.2 Avaliação da incidência.....53
2.4.3 Análise temporal.....59
2.4.4 Análise espacial.....61
2.4.4.1 Índice de dispersão (ID).....62
2.4.4.2 Aplicação da Lei de Taylor Modificada.....77
2.4.4.3 Áreas Isópatas.....86
3 CONCLUSÕES.....95
REFERÊNCIAS.....97

RESUMO

Dinâmica temporal e espacial da virose causada por *Tomato chlorosis virus* (ToCV) em tomateiro

O ToCV é um vírus pertencente à família *Closteroviridae*, gênero *Crinivirus*, que ataca plantas de tomate, entre outros hospedeiros, nas principais regiões produtoras do mundo. O vírus é transmitido exclusivamente pela mosca branca, de forma semi-persistente, sendo o biótipo B da *Bemisia tabaci* o principal vetor, devido à sua distribuição nas zonas produtoras. Os sintomas característicos da doença incluem mosqueado clorótico irregular entre as nervuras que, a princípio, se desenvolve nas folhas do baixeiro e gradualmente avançam por toda extensão da planta. Estes sintomas fazem com que a doença seja confundida, principalmente, com deficiências nutricionais. Uma significativa redução da produção ocorre devido à perda de área fotossinteticamente ativa, com consequente redução no número e tamanho dos frutos. No Brasil, o primeiro relato de ocorrência foi realizado em 2008, com uma incidência que variou de 0,25 a 3,42% (BARBOSA et al., 2008). Até o momento, para as condições brasileiras, desconhece-se a distribuição, a sua gama de hospedeiras, não são conhecidas fontes comerciais de resistência e são raras as informações sobre o comportamento epidemiológico. No presente trabalho, foram feitos levantamentos sistemáticos da incidência em sete campos comerciais, com o objetivo de acompanhar a evolução da incidência da virose e caracterizar os padrões temporal e espacial em condições de campo. De modo geral, o comportamento das epidemias no tempo assumiu um padrão linear de crescimento. Esse padrão é consequência da reposição contínua de vetores infectivos vindos de fora do patossistema, com predomínio de infecções primárias. Quanto ao comportamento espacial, foi observada variação no padrão de distribuição mesmo entre parcelas do mesmo ensaio. De forma geral, foi observado um padrão aleatório de distribuição de plantas doentes, porém quando houve agregação, esta teve influência significativa no aumento da incidência. Foi observado um forte efeito de bordos, apontando para fontes de inóculo externas à lavoura. A distribuição espacial da virose causada pelo ToCV foi semelhante à de outras viroses transmitidas pela mosca-branca, como as causadas pelos Begomovirus, portanto as recomendações para redução da incidência de begomoviroses podem ser aplicadas o manejo da virose causada pelo ToCV.

Palavras-chave: Crinivirus; Tomate; Epidemiologia; Viroses; ToCV

ABSTRACT

Temporal and spatial dynamics of the viral disease caused by *Tomato chlorosis virus* (ToCV) in tomato

The ToCV is a virus belonging to the family Closteroviridae, genus Crinivirus, which attacks tomato plants, among other hosts, in the main producing regions of the world. The virus is transmitted exclusively by the whitefly, in a semi persistent manner, and the biotype B of Bemisia tabaci the main vector, due to its distribution among producing areas. The characteristic symptoms of the disease include irregular mottled chlorotic between the veins, which at first, develops in the lower leaves and gradually advance to the fullest extent of the plant. These symptoms cause by disease are mistaken especially with nutritional deficiencies. A significant reduction in production occurs due to loss of photosynthetic active area, with consequent reduction in the number and size of the fruits. In Brazil, the first report of occurrence was in 2008, with an incidence ranging from 0.25 to 3.42% (BARBOSA et al., 2008). So far, for Brazilian conditions, the distribution is unknown, its range of hosts are not known commercial sources of resistance are rare and the information about the epidemiological behavior. In this aim, were made systematic surveys of the incidence in seven commercial fields, with the purpose to monitor the incidence of viral infection and characterize the temporal and spatial patterns in field conditions. In general, the behavior of epidemics in time assumed a linear pattern of growth. This pattern is due to the continuous replacement of infective vectors from outside pathosystem, with a predominance of primary infections. Concerning the spatial behavior has been observed variation in the distribution pattern even within plots of the same trial. Overall, there was a random pattern of distribution of ill plants, however, when there was aggregation, it have a significant influence of increased incidence. A strong edge effect was observed, pointing to external sources of inoculum. The spatial distribution of the viral disease caused by ToCV was similar to other viruses transmitted by whitefly, such as those caused by Begomoviruses, so the recommendations for reducing the incidence of begomoviroses can be applied to management of viral disease caused by ToCV.

Keywords: Crinivirus; Tomato; Epidemiology; Viruses; ToCV

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Organização do genoma do Tomato chlorosis virus. O RNA viral é representado pela linha fina. Os retângulos numerados representam as "open reading frames" (ORFs) virais. Os nomes das proteínas putativas e\ou motifs estão listados acima de cada ORF. Siglas: *CP*, capa protéica; *CPm*, capa protéica menor; *HSP70h*, Heat shock protein 70 homolog; *Hel*, Helicase; *MT*, Metiltransferase; *Pro*, Proteinase, *RdRp*, RNA polimerase- RNA dependente 28

Figura 2 - Progresso dos sintomas da virose causada pelo ToCV (A) mosqueado clorótico (B) progressão do amarelecimento (C) progessão para toda porção do baixeiro..... 29

Figura 3 - (A) sintomas de ToCV na porção do baixeiro de plantas de tomate (E) sintomas disseminados por toda cultura 29

Figura 4 - (A) planta sem produção devido à infecção precoce pelo vírus (B) planta à direita com número reduzido de frutos (C) planta à direita em senescência antecipada..... 30

Figura 5 - Sintomas de Fusariose *(Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici)* e sintomas do ToCV em plantas de tomate 30

Figura 6 - Localização relativa das parcelas (A, B, C, e D) no Campo 1; época outubro – dezembro, 2009 44

Figura 7 - Localização relativa das parcelas (A, B, C, e D) no Campo 1; época março - junho, 2010 44

Figura 8 - Localização relativa das parcelas (A, B, C, e D) no Campo 2; época março - junho, 2010 45

Figura 9 - Localização relativa das parcelas (A, B, C, e D) no Campo 1; época outubro 2010 – janeiro 2011 45

Figura 10 - Localização relativa das parcelas (A, B, C, e D) no Campo 2; época outubro 2010 – janeiro 2011 46

Figura 11 - Localização relativa das parcelas (A, B, C, e D) no Campo 3; época outubro 2010 – janeiro 2011..... 46

Figura 12 - Localização relativa das parcelas (A, B, C, e D) no Campo 4; época outubro 2010 – janeiro 2011 47

Figura 13 - Amplificação do fragmento de cDNA dos isolados de ToCV, amostras dos campos em Sumaré, 2009 – 2011 52

Figura 14 - Progresso da incidência (%) de ToCV no ensaio (CAMPO 1), conduzido em setembro a dezembro de 2009, em Sumaré-SP. Sistema fertirrigado 53
Figura 15 - Progresso da incidência (%) de ToCV no ensaio (CAMPO 1), conduzido em março a maio de 2010, em Sumaré-SP. Sistema fertirrigado..... 54

Figura 16 - Progresso da incidência (%) de ToCV no ensaio (CAMPO 2), conduzido em março a maio de 2010, em Sumaré-SP. Irrigação por sulco 55

Figura 17 - Progresso da incidência (%) de ToCV no ensaio (CAMPO 1), conduzido em outubro a janeiro de 2011, em Sumaré-SP. Sistema fertirrigado 56

Figura 18 - Progresso da incidência (%) de ToCV no ensaio (CAMPO 2), conduzido em novembro a janeiro de 2011, em Sumaré-SP. Irrigação por sulco 56

Figura 19 - Progresso da incidência (%) de ToCV no ensaio (CAMPO 3), conduzido em novembro a janeiro de 2011, em Sumaré-SP. Irrigação por sulco 57

Figura 20 - Progresso da incidência (%) de ToCV no ensaio (CAMPO 4), conduzido em novembro a janeiro de 2011, em Sumaré-SP 57

Figura 21 - Incidência de plantas sintomáticas no **campo 3**, em **2011**, em 4 de dezembro de 2010 (A) e em 11 de dezembro de 2011 (B) 58

Figura 22 - Mapa da distribuição espacial de plantas com sintomas de ToCV em (A) Campo 1, época: setembro – dezembro de 2009; (B) Campo 1, época: março a maio de 2010; (C) Campo 2, época: março a maio de 2010. Os quadrados assinalados em preto representam plantas doentes e os quadrados brancos representam plantas sadias ou assintomáticas 61

Figura 23 - Mapa da distribuição espacial de plantas com sintomas de ToCV em (a) Campo 1, época: novembro - janeiro de 2011; (b) Campo 2, época: novembro - janeiro de 2011; (C) Campo 3, época: novembro - janeiro de 2011; (d) Campo 4, época: novembro - janeiro de 2011. Os quadrados assinalados em preto representam plantas doentes e os quadrados brancos representam plantas sadias ou assintomáticas 62

Figura 24 - Aplicação da lei de Taylor modificada. Relação entre o logaritmo da variância observada [log (V_{obs})] e o logaritmo da variância binomial [log (V_{bin})] para os dados das parcelas A, B, C e D do **Campo 1, 2009**, em Sumaré – SP 79
.
Figura 25 - Aplicação da lei de Taylor modificada. Relação entre o logaritmo da variância observada [log (V_{obs})] e o logaritmo da variância binomial [log (V_{bin})] para os dados das parcelas A, B, C e D do **Campo 1, 2010**, em Sumaré – SP 80

Figura 26 - Aplicação da lei de Taylor modificada. Relação entre o logaritmo da variância observada [log (V_{obs})] e o logaritmo da variância binomial [log (V_{bin})] para os dados das parcelas A, B, C e D do **Campo 2, 2010**, em Sumaré – SP 81

Figura 27 - Aplicação da lei de Taylor modificada. Relação entre o logaritmo da variância observada [log (V_{obs})] e o logaritmo da variância binomial [log (V_{bin})] para os dados das parcelas A, B, C e D do **Campo 1, 2011**, em Sumaré – SP 82
Figura 28 - Aplicação da lei de Taylor modificada. Relação entre o logaritmo da variância observada [log (V_{obs})] e o logaritmo da variância binomial [log (V_{bin})] para os dados das parcelas A, B, C e D do **Campo 2, 2011**, em Sumaré – SP 83

Figura 29 - Aplicação da lei de Taylor modificada. Relação entre o logaritmo da variância observada [log (V_{obs})] e o logaritmo da variância binomial [log (V_{bin})] para os dados das parcelas A, B, C e D do **Campo 3, 2011**, em Sumaré – SP 84

Figura 30 - Aplicação da lei de Taylor modificada. Relação entre o logaritmo da variância observada [log (V_{obs})] e o logaritmo da variância binomial [log (V_{bin})] para os dados das parcelas A, B, C e D do **Campo 4, 2011**, em Sumaré – SP 85

Figura 31 - Áreas isópatas referentes à última avaliação da incidência de plantas infectadas por ToCV, em campo comercial de Sumaré – SP (**campo 1, 2009**). As cores indicam uma variação nos valores de incidência (verde escuro – ausência de plantas sintomáticas; vermelho escuro – maior incidência de plantas sintomáticas) 86

Figura 32 - Áreas isópatas referentes à última avaliação da incidência de plantas infectadas por ToCV, em campo comercial de Sumaré – SP (**campo 1, 2010**). As cores indicam uma variação nos valores de incidência (verde escuro – ausência de plantas sintomáticas; vermelho escuro – maior incidência de plantas sintomáticas) 87

Figura 33 - Áreas isópatas referentes à última avaliação da incidência de plantas infectadas por ToCV, em campo comercial de Sumaré – SP (**campo 2, 2010**). As cores indicam uma variação nos valores de incidência (verde escuro – ausência de plantas sintomáticas; vermelho escuro – maior incidência de plantas sintomáticas) 88

Figura 34 - Áreas isópatas referentes à última avaliação da incidência de plantas infectadas por ToCV, em campo comercial de Sumaré – SP (**campo 1, 2011**). As cores indicam uma variação nos valores de incidência (verde escuro – ausência de plantas sintomáticas; vermelho escuro – maior incidência de plantas sintomáticas) 89

Figura 35 - Áreas isópatas referentes à última avaliação da incidência de plantas infectadas por ToCV, em campo comercial de Sumaré – SP (**campo 2, 2011**). As cores indicam uma variação nos valores de incidência (verde escuro – ausência de plantas sintomáticas; vermelho escuro – maior incidência de plantas sintomáticas) 90

Figura 36 - Áreas isópatas referentes à última avaliação da incidência de plantas infectadas por ToCV, em campo comercial de Sumaré – SP (**campo 3, 2011**). As cores indicam uma variação nos valores de incidência (verde escuro – ausência de plantas sintomáticas; vermelho escuro – maior incidência de plantas sintomáticas) 91

Figura 37 - Áreas isópatas referentes à última avaliação da incidência de plantas infectadas por ToCV, em campo comercial de Sumaré – SP (**campo 4, 2011**). As cores indicam uma variação

nos valores de incidência (verde escuro – ausência de plantas sintomáticas; vermelho escuro – maior incidência de plantas sintomáticas) 92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Especificidade dos Crinivirus em relação à espécie de mosca branca vetora 25

Tabela 2 - Espécies hospedeiras do ToCV 34

Tabela 3 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 1, 2009**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão 63

Tabela 4 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 1, 2010**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão 65

Tabela 5 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 2, 2010**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão 67

Tabela 6 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 1, 2011**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão 69

Tabela 7 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 2, 2011**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão 71

Tabela 8 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 3, 2011**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão 73

Tabela 9 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 4, 2011**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão 75

1 INTRODUÇÃO

O plantio de tomate no Brasil tem uma extraordinária relevância, tanto pela sua representação em área plantada, como pela sua importância na dieta básica da população nas formas *in natura* e processada nos mais variados derivados. Com uma produção mundial de 130 milhões de toneladas e um valor de mais de 30 bilhões de dólares em 2007 segundo a FAO, o tomate (*Solanum lycopersicum*) é, de longe, a mais importante cultura olerícola no mundo. Em termos de valor econômico, o tomate constitui 72% do valor dos produtos hortícolas frescos produzidos em todo o mundo.

Além disso, o tomate é a cultura mais exigente em mão de obra, tanto nos sistemas de produção em campo aberto quanto em sistemas protegidos, estimando uma geração de 4 a 5 empregos diretos por hectare/ano (MEDEIROS; VILELA; FRANÇA, 2006), apresentando, portanto, um contexto social, dando grande contribuição à viabilização da vida e da permanência do homem no campo.

Os problemas fitossanitários estão entre os principais problemas enfrentados pelos agricultores. Muitos são limitantes da cultura, como é o caso de algumas viroses.

O número de espécies descritas de vírus que infectam a cultura de tomate soma 136, sendo este número consideravelmente inferior para outras hortaliças, como por exemplo, 49 vírus infectam o pimentão (*Capsicum annuum*), 53 infectam a alface (*Lactuca sativa*), 46 infectam o melão (*Cucumis melo*), 54 infectam a batata (*Solanum tuberosum*), e 44 infectam a berinjela (*S. melongena*). Apenas para o pepino (*C. sativis*) um número maior de patógenos virais (153) foi descrito (BRUNT et al., 1996 apud HANSSEN; LAPIDOT; THOMMA, 2010).

Os vírus transmitidos por mosca branca tem se tornado os mais importantes em regiões tropicais e subtropicais, com grandes danos sendo relatados em todas as regiões em que estão presentes. Os geminivirus, vírus da família *Geminiviridae*, pertencem a esse tipo. O maior grupo da família pertence ao gênero *Begomovirus*, com mais de 50 espécies identificadas. Não são raros os casos em que 90-100% de plantas são infectadas, proporcionando danos na produção da ordem de 90%. Segundo Martinez, Quinones e Fonseca (2003) cerca de 7 milhões de hectares da cultura em 40 países estavam sujeitas ao ataque de um vírus do gênero *Begomovirus* (TYLCV) ou a infecções mistas em 15 desses países.

As razões para emergência de begomoviroses em tomate são o movimento de plantas infectadas, a movimentação de frutos de plantas infectadas, movimento de hospedeiros assintomáticos ou moscas-brancas virulíferas em plantas não hospedeiras e disseminação do vetor altamente eficiente (*B. tabaci* biótipo B) (DELATTE et al., 2003).

Duas espécies de vírus do gênero *Crinivirus*, família *Closteroviridae* (*Tomato chlorosis virus* (ToCV) e *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV)), estão emergindo como um problema grave de produção para produtores de tomate de campo e de estufa, e sua presença vem aumentando em muitas partes do mundo. São espécies com genoma composto por RNA de fita simples que provocam sintomas bastante parecidos entre si, de amarelecimento internerval e nervuras bem verdes, semelhantes à deficiências nutricionais, cujas consequências finais são redução do número e tamanho de frutos e senescência precoce.

No Brasil, o primeiro relato de ocorrência foi realizado em 2008, com uma incidência que variou de 0,25 a 3,42% (BARBOSA et al., 2008). Devido à ampla difusão do vetor nas regiões produtoras, esta incidência tende a aumentar de um cultivo para o outro.

Até o momento, para as condições brasileiras, o conhecimento sobre a diversidade genética do ToCV, sua gama de hospedeiras, o comportamento epidemiológico da doença incluindo o seu período de incubação e latência, a influência da temperatura na transmissão e colonização do ToCV é escasso.

Não são conhecidas fontes comerciais de resistência para esse vírus e fontes limitadas de resistência têm sido identificadas no germoplasma selvagem.

O presente trabalho teve como objetivos:

- acompanhar a evolução da incidência da virose provocada por ToCV em condições de campo.
- caracterizar os padrões temporal e espacial da virose em condições de campo.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão bibliográfica

2.1.1 Importância da cultura do tomate

O tomate é uma das oleráceas mais difundidas no mundo, sendo cultivado praticamente em todas as regiões geográficas do planeta sob diferentes sistemas e níveis de manejo cultural.

O Brasil apresenta uma grande diversidade de área de plantio. O último levantamento sobre a área cultivada no País, realizado pela ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO COMÉRCIO DE SEMENTES E MUDAS – ABCSEM em 2008, apontou um total de 55 mil hectares, sendo que desse total, 17 mil hectares são destinados para o segmento de processamento e 38 mil hectares para o segmento de mesa (ABCSEM, 2010).

A difusão de técnicas de irrigação, o uso intensivo de insumos e a introdução de híbridos mais produtivos e com menores perdas na pós-colheita foram alguns dos principais fatores que contribuíram para o aumento da produtividade do tomate nacional. O melhoramento genético trouxe características de precocidade, alta produtividade, resistência às pragas, às doenças e adaptação ao ambiente. O rendimento médio do tomate no Brasil é de aproximadamente 58 t/ha. Contudo produtores mais tecnificados chegam a alcançar mais de 100 t/ha (CARVALHO; PAGLIUCA, 2007).

O custo de produção do tomate é um dos maiores em toda a atividade agrícola. De acordo com dados da ABCSEM (2010), o custo de produção apresenta grande variabilidade, ficando entre R$ 30 mil e R$ 55 mil por cada hectare plantado, dependendo da tecnologia empregada na produção e os níveis de produtividade obtidos. Já a rentabilidade depende fortemente da flutuação de preço que essa cultura tem no mercado, o que está, muitas vezes, associada à lei da oferta e demanda, além, naturalmente, da qualidade do fruto.

Alguns dos gargalos mais evidentes do setor são a inexistência de um zoneamento da produção que regule a oferta de tomate com a demanda de consumo, a forte instabilidade de preços devido à inexistência do zoneamento de produção, ausência de linha de crédito, que está concentrada em outros cultivos, e a informalidade na negociação da produção, que leva muitas vezes à inadimplência, aumentando o risco do negócio. Outra questão cuja resolução tem se

mostrado premente é a segurança alimentar. Trata-se de uma cultura conhecida pelo uso maciço de defensivos agrícolas, usados principalmente no tratamento de doenças fúngicas, bacterianas e no controle de insetos vetores de viroses.

2.1.2 Impacto das viroses na cultura do tomate

As viroses são um dos fatores mais limitantes para a cultura, com alto poder restritivo sobre a produção, em todas as regiões onde o tomate é cultivado.

Segundo um levantamento feito por Polston (2010), uma virose é considerada nova se foi descrita em um novo hospedeiro nos últimos cinco anos numa nova região geográfica. Os vírus emergentes são aqueles cuja incidência tem crescido nos últimos dez a quinze anos. Viroses consideradas reemergentes são previamente conhecidas em uma determinada área, mas ganham importância num dado momento, devido a mudanças no sistema de produção da cultura ou mudanças naturais nos agentes endêmicos (patógenos, vetores, etc.). Algumas viroses consideradas crônicas ocorrem em uma área há um longo período, mas ainda causando surtos. As viroses ainda não reportadas ou com distribuição muito limitada a uma determinada área são consideradas de ameaça em potencial.

Neste mesmo levantamento, Polston estabelece que os vírus mais preocupantes para a cultura do tomateiro são: PepMV, TSWV, CMV, PSTVd, TASVd, *Begomovirus*, TICV e ToCV.

O *Pepino mosaic virus* – PepMV (*Potexvirus*) é uma virose altamente contagiosa, transmitida mecanicamente cujos sintomas tornam os frutos não comercializáveis e as reduções de produção são de 5 a 40 %. Está envolvido na etiologia da ‘Tomato die-back disease’, um mal súbito de plantas de tomate no sudoeste da Espanha.

O *Tomato spotted wilt vírus* – TSWV (*Bunyviridae*, gênero *Tospovirus*) é um vírus de transmissão circulativa-propagativa tendo como vetor várias espécies de tripes e que está entre os dez vírus mais destrutivos economicamente, com perdas anuais de bilhões de dólares ao redor do mundo.

O *Cucumber mosaic vírus* – CMV (*Cucumovirus*) é um vírus transmitido de forma não persistente por mais de 80 espécies de afídeos para uma gama de hospedeiros de mais 750

espécies de plantas. São observadas altas taxas de infecção com perda total da lavoura ocorrendo regularmente.

O *Potato spindle tuber viriod* – PSTVd (Pospiviroid) é um viróide que possui status quarentenário nos países do NAPPO (Organização Norte-Americana de Proteção de Plantas).

O *Tomato apical stunt viriod* – TASVd (Pospiviroid) é um viróide devastador em estufas de tomate em Israel, Indonésia e Costa do Marfim, para o qual não há informação disponível sobre sua epidemiologia, mas é sugerido que a disseminação primária do viróide em estufas seja por transmissão via semente, e a distribuição secundária ocorra por polinização.

Os *Begomovirus* (*Geminivirus*), com mais de 50 viroses transmitidas por mosca branca, representam atualmente um dos mais sérios problemas na cultura. Em 1983 havia 4 espécies de Begomovirus identificadas. Em 2003, estavam reportadas 31 espécies aceitas e 22 espécies "tentativas". Em 2005, o número havia subido para 50 espécies aceitas e 39 espécies "tentativas" (POLSTON, 2010).

Os vírus *Tomato infectious chlorosis vírus* – TICV e *Tomato chlorosis vírus* – ToCV (*Closteroviridae*, gênero *Crinivirus)*, são ambos vírus emergentes transmitidos por mosca branca, cuja incidência tem crescido em todas as regiões produtoras.

No Brasil, já foram identificadas diferentes viroses limitantes para a cultura do tomate, principalmente espécies de vírus pertencentes aos gêneros *Tospovirus, Tobamovirus, Potyvirus e Begomovirus.*

Um membro importante dos *Tospovirus* é o vírus causador da doença conhecida como "vira-cabeça" causada por um complexo de vírus pertencentes à família *Bunyaviridae,* vírus que possuem um amplo círculo de hospedeiras, incluindo espécies importantes de plantas ornamentais, olerícolas e espécies da vegetação espontânea (COLARICCIO et al., 2001).

Um membro do gênero *Tobamovirus,* o *Tomato mosaic virus* (ToMV) é o vírus mais disseminado na cultura do tomateiro, facilmente transmitido por contato e através de tratos culturais. Em São Paulo foi descrita uma estirpe intermediária do ToMV transmitida por sementes e causando sintomas severos de redução da área dos folíolos e da planta A epidemiologia desses vírus está associada à transmissão de algumas estirpes por semente, podendo estar presente na mucilagem externa ou no endosperma das mesmas e a porcentagem de infecção pode variar de 15 a 50% respectivamente (MOREIRA et al., 2003).

Outra virose de ocorrência generalizada na cultura do tomateiro é o *Potato virus Y* PVY (*Potyviridae*, gênero *Potyvirus*) conhecido como risca ou mosaico. A epidemiologia do PVY em tomateiro está associada à presença de três espécies de afídeos vetores numa relação vírus-vetor do tipo não persistente. Estudos realizados no Brasil indicam que dependendo da idade da planta na época da infecção e da estirpe de vírus, podem ocorrer perdas na produção da ordem de 20 a 70%.

No gênero *Begomovirus* estão classificados todos os geminivirus detectados no Brasil até o momento. Uma caracterização molecular parcial de alguns geminivirus encontrados no Brasil revelou que há uma enorme diversidade desses vírus no país (KRAUSE et al., 1998).

A epidemiologia destas espécies de vírus está associada à transmissão extremamente eficiente pelo vetor *Bemisia tabaci* biótipo A e também, como foi posteriormente constatado no Brasil, por *Bemisia tabaci* biótipo B (=*B. argentifolii*) de modo persistente circulativo.

B. tabaci está hoje entre os mais invasivos e economicamente danosos insetos na agricultura, com a habilidade de infestar mais de 500 espécies de plantas (BROWN, 2010). De fato, a maioria das doenças importantes causadas por vírus “emergentes” tem a mosca branca como vetor (POWER, 2000).

Recentemente no Brasil e no mundo, as síndromes dos amarelos do tomateiro, consideradas frequentemente pelos agricultores como causadas por deficiências nutricionais, foram atribuídas a um vírus emergente do gênero *Crinivirus, o Tomato chlorosis virus* (ToCV), transmitido por *B. tabaci* e *Trialeuroides vaporariorum*.

2.1.3 O gênero *Crinivirus*

O gênero *Crinivirus* pertence à família *Closteroviridae*, juntamente com o gênero *Closterovirus*, cujo membro mais conhecido é o *Citrus Tristeza Virus* – CTV que ataca o citros.

O genoma dos membros da família *Closteroviridae* (15- to 20-kb) está entre os maiores e mais complexos genomas de vírus que infectam plantas. Os vírus do gênero *Closterovirus* possuem genomas monopartidos, enquanto membros do gênero *Crinivirus* tem seus genomas divididos em dois ou três RNAs separados (MARTINELLI et al., 2002).

Os vírus da família *Closteroviridae* tradicionalmente são transmitidos por afídios. Aqueles que são transmitidos por mosca branca foram pertencem ao gênero recentemente criado, *Crinivirus*. São membros do gênero: LIYV- Vírus da clorose infecciosa da alface (*Lettuce infectious yellows virus*); BPYV- Vírus da pseudo clorose da beterraba (*Beet pseudo yellow virus*); CYSDV- Vírus do nanismo amarelo das cucurbitáceas (*Cucurbit yellow stunting disorder*); LCV- Vírus da clorose da alface (*Lettuce chlorosis virus*); SPCSV- Vírus do nanismo clorótico da batata doce (*Sweet potato chloroticstunt virus*), TICV (*Tomato infectious chlorosis virus*) e ToCV- Vírus da clorose do tomateiro (*Tomato chlorosis virus*).

Os Crinivirus podem ser transmitidos por *Bemisia tabaci* biótipos A e B e duas espécies do gênero *Trialeuroides*, *T. abutilonea* e *T. vaporariorum*, havendo especificidade do vírus em relação à espécie do vetor.

Tabela 1 - Especificidade dos Crinivirus em relação à espécie de mosca branca vetora

Criniviroses *(lista parcial)*	***Espécie vetora***
Abutilon yellows virus (AYV)	*T. abutilonea*
Beet pseudo yellows virus (BPYV)	*T. vaporariorum*
Cucurbit yellow stunting disorder virus	*B. tabaci* biótipo B; *B. tabaci*
Lettuce chlorosis virus (LCV)	*B. tabaci* biótipo B
Lettuce infectious yellows virus (LIYV)	*B. tabaci* biótipo A
Strawberry pallidosis associated virus	*T. vaporariorum*
Sweet potato sunken vein virus (SPSVV)	*B. tabaci* biótipo B
Tomato infectious chlorosis virus (TICV)	*T. vaporariorum*
Tomato chlorosis virus (ToCV)	*T. abutilonea; T. vaporariorum;* *B. tabaci biótipo B* ; *B. tabaci*

Fonte: Wintermantel (2004)

É possível constatar que a maioria das espécies de Crinivirus podem ser transmitidas pelo gênero *Trialeuroides* ou pela espécie *Bemisia tabaci*, mas não por ambos. A exceção é o ToCV. Trata-se do único vírus conhecido transmitido pelos dois gêneros de mosca branca vetores de viroses, o que leva a crer que o ToCV é um elo evolucionário entre os vírus que eram

originalmente transmitidos por *Trialeuroides* e passaram a ser transmitidos por *Bemisia tabaci* (WISLER, 1998a).

2.1.4 *Tomato chlorosis virus* (ToCV)

2.1.4.1 Caracterização do vírus

Os vírions de ToCV consistem em longas partículas flexuosas variando de 800-850 nm de comprimento (LIU; WISLER; DUFFUS, 2000).

O genoma é composto por duas moléculas de RNA. O RNA 1 codifica proteínas associadas principalmente com a replicação viral, enquanto o RNA 2 codifica uma ampla gama de proteínas envolvidas na proteção do genoma, movimento, e outras funções ainda não foram identificadas.

O RNA 1 possui 8595 nucleotídeos de comprimento e contém quatro ORFs. As duas primeiras ORFs do RNA 1 codificam proteínas envolvidas na replicação do RNA viral com base na homologia com outros fatores de replicação viral. A ORF 1a se estende ao longo dos nucleotídeos 303-6140, e codifica uma proteína multifuncional de 221 kDa, comum entre os membros da família *Closteroviridae* (KARASEV, 2000), contendo domínios de protease, metiltransferase e helicase. A ORF 1b (nucleotídeos 6142–7656) codifica uma RNA polimerase-RNA dependente (RdRp) de 59 kDa entre os aminoácidos 186 e 422. A RdRp é altamente conservada nos membros do gênero *Crinivirus*. A ORF 1b provavelmente é expressa através de um frame-shift ribosomal 1+ no fim da ORF 1a, similar a outros membros da família *Closteroviridae* (WINTERMANTEL et al., 2005).

A ORF 2 (nucleotídeos 7663–8244) codifica uma proteína putativa de 22 kDa de função desconhecida, com pouca homologia com as outras proteínas das bases de dados (WINTERMANTEL et al., 2005).

Uma pequena ORF está localizada no 3_terminal do RNA 1 (nucleotídeos 8264–8419) com um “start” códon putativo num excelente contexto traducional. O peptídeo 5 kDa previsto tem um domínio transmembrana entre resíduos 20 e 42 similar às proteínas no 3_ terminal do RNA 1 de outros Crinivirus (WINTERMANTEL et al., 2005).

O RNA 2 possui 8247 nucleotídeos e contém nove ORFs, muitas das quais apresentam similaridade com as ORFs presentes em outros Crinivirus (WISLER et al, 1998b).

A ORF 1 (nucleotídeos 239–340) codifica uma pequena proteína de 4 kDa com um longo domínio hidrofóbico entre os resíduos 10 e 32 sugerindo que funciona como uma proteína transmembrana.

A ORF 2 (733–2397) codifica a " heat shock protein 70" (HSP70h) homóloga àquelas provavelmente associadas com a cauda dos vírions e está envolvida na montagem das partículas virais e movimento célula-a-célula baseado na homologia com CTV e *Beet yellows virus* (BYV).

A ORF 3 (2407–2610) codifica uma proteína de 8 kDa com similaridade com as proteínas de 6 kDa presentes em *Beet pseudo yellows virus* (BPYV) e *Strawberry pallidosis associated virus* (SPaV).

A ORF 4 (2562–4115) codifica uma proteína de 59 kDa (P59) que também está associada à cauda dos vírions e provavelmente está envolvida no movimento célula-a-célula.

A ORF 5 (4097–4333) codifica uma proteína de 9 kDa para a qual nenhuma função foi identificada.

As ORFs 6 (4333–5106) e 7 (5112–7121) codificam as proteínas de capa protéica "major coat protein" (CP - 29 kDa) e "minor coat protein" (CPm – 76 kDa). A CP encapisida a maior parte da particula viral, enquanto a CPm está associada com a cauda dos vírions e encapsidação do 5_ terminal, possivelmente facilitada por HSP70h e P59 baseado na homologia com o CTV. Esta estrutura é exclusiva dos membros da família *Closteroviridae*. Estudos com LIYV tem sugerido que a CPm pode estar envolvida na transmissão do vírus. Filogeneticamente, a CPm do ToCV compartilha características de vírus transmitidos por *T. vaporariorum* e *B. tabaci*, portanto, esta proteína pode estar envolvida na determinação da ampla transmissibilidade do ToCV por seus vetores (WINTERMANTEL et al., 2005).

As CP e CPm também podem estar envolvidas com o movimento célula-a-célula baseado em estudos conduzidos com BYV (ALZHANOVA et al, 2000 apud WINTERMANTEL et al., 2005).

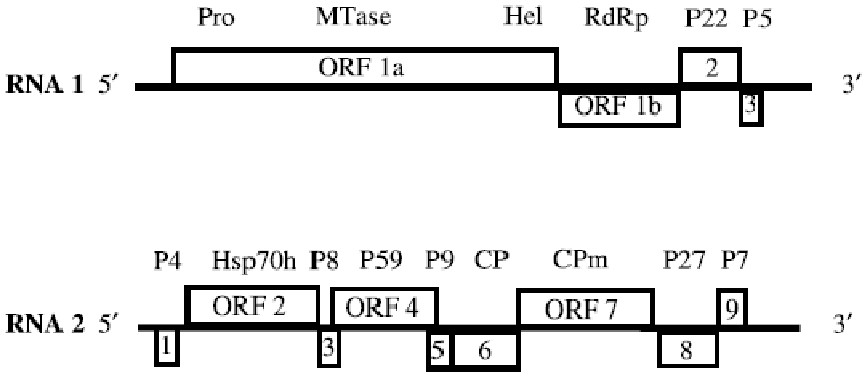

Figura 1 - Organização do genoma do Tomato chlorosis virus. O RNA viral é representado pela linha fina. Os retângulos numerados representam as “open reading frames” (ORFs) virais. Os nomes das proteínas putativas e\ou motifs estão listados acima de cada ORF. Siglas: *CP*, capa protéica; *CPm*, capa protéica menor; *HSP70h*, Heat shock protein 70 homolog; *Hel*, Helicase; *MT*, Metiltransferase; *Pro*, Proteinase, *RdRp*, RNA polimerase- RNA dependente
Fonte: Wintermantel et al. (2005)

Uma proteína de 27 kDa (P27) codificada pela ORF8 (7125–7823) é exclusiva dos Crinivirus. Essa proteína apresenta homologia com as proteínas tipo P27 de outros Crinivirus.

A ORF 9 (7832–8029), exclusiva do ToCV dentro dos Crinivirus sequenciados, codifica uma proteína putativa de 7 kDa com um domínio transmembrana entre os resíduos 5 e 27. Isto sugere que pode ser uma proteína funcional, apesar de nenhuma homologia ter sido encontrada com nenhuma outra proteína nas bases de dados.

A função de muitas dessas pequenas proteínas putativas dos Crinivirus permanece um mistério, e somente uma pequena similaridade é observada com proteínas conhecidas.

Análises da variabilidade no tamanho de algumas proteínas virais bem como as diferenças com respeito à função biológica podem fornecer insights quanto ao papel que as proteínas podem desempenhar na infecção e transmissão do vírus (WINTERMANTEL et al., 2005).

2.1.4.2 Sintomas da virose causada pelo ToCV

Os sintomas característicos da doença incluem mosqueado clorótico irregular entre as nervuras (Figura 2A) que, a princípio, se desenvolve nas folhas do baixeiro (Figura 2B) e gradualmente avançam por toda extensão da planta até o ponto de crescimento (Figura 2C). As áreas cloróticas podem desenvolver pontos necróticos. As folhas mais velhas podem ficar enroladas, tornando-se grossas e quebradiças.

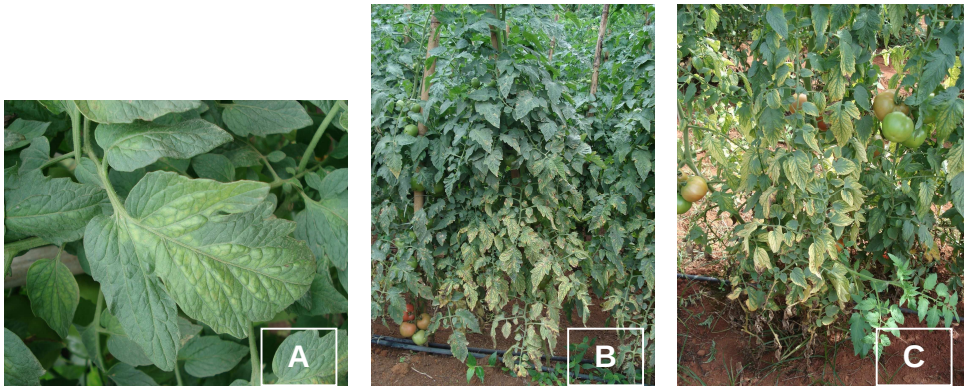

Figura 2 - Progresso dos sintomas da virose causada pelo ToCV (A) mosqueado clorótico (B) progressão do amarelecimento (C) progessão para toda porção do baixeiro

Com o avanço da epidemia, os sintomas podem ser observados em fileiras de plantas (Figura 3A) ou, em situações extremas, se estender a toda cultura (Figura 3B).

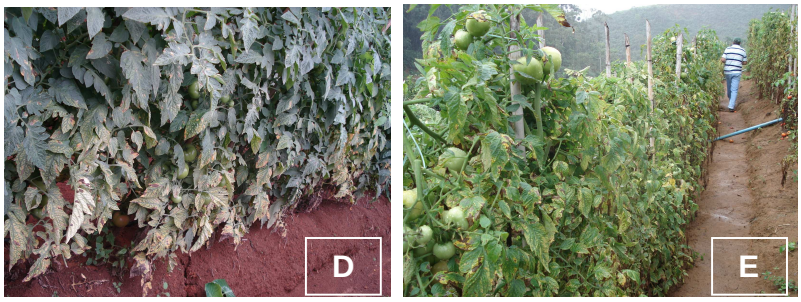

Figura 3 - (A) sintomas de ToCV na porção do baixeiro de plantas de tomate (E) sintomas disseminados por toda cultura

Como consequência do comprometimento da área fotossinteticamente ativa, uma significativa redução da produção ocorre devido à diminuição no número (Figura 4A) e tamanho dos frutos (Figura 4B), bem como senescência precoce das plantas (Figura 4C).

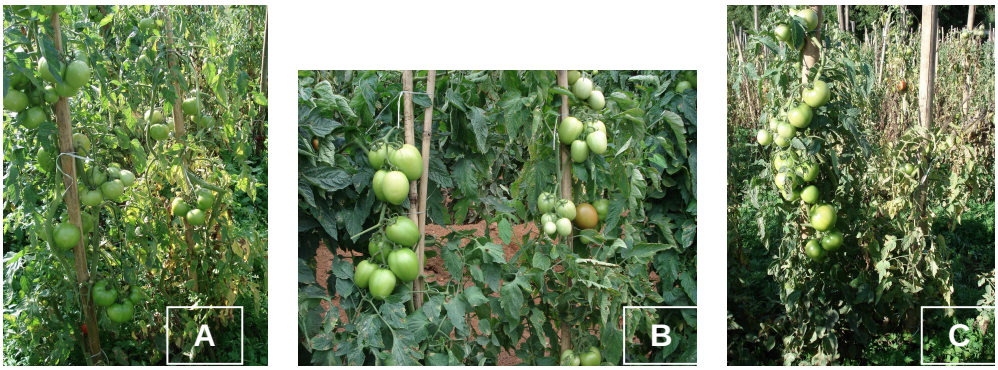

Figura 4 - (A) planta sem produção devido à infecção precoce pelo vírus (B) planta à direita com número reduzido de frutos (C) planta à direita em senescência antecipada

Nenhum sintoma evidente pode ser observado em frutos e flores, embora a redução no enfolhamento deixe os frutos expostos à insolação direta, tornando-os mais suscetíveis à rachaduras e manchas, o que representa um dano secundário.

Os sintomas fazem com que a doença seja atribuída a deficiências nutricionais, fitotoxidez ou mesmo senescência natural da planta Além disso, os sintomas da virose podem se confundir com sintomas de outras doenças que também causam “amarelos” como fusariose (Figura 5A), sendo, por vezes, observados sintomas de ambas as doenças na mesma planta (Figura 5B).

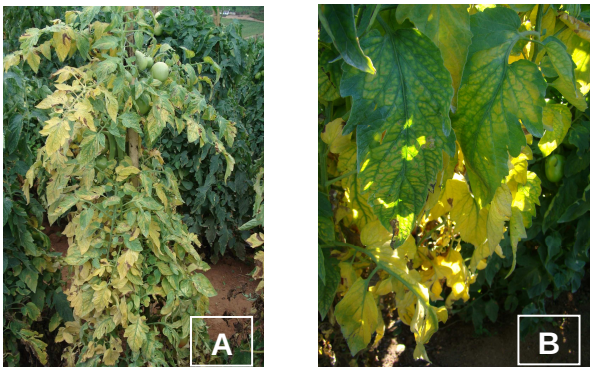

Figura 5 - Sintomas de Fusariose *(Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici)* e ToCV em plantas de tomate

2.1.4.3 Transmissão do ToCV

Assim como outros crinivirus, o ToCV não é transmitido mecanicamente e depende exclusivamente da mosca branca para ser disseminado (WINTERMANTEL; WISLER, 2006).

A capacidade de inoculação após o período de aquisição é perdida gradualmente até chegar a zero em algumas horas, o que caracteriza a transmissão do tipo semi persistente.

Embora o vírus possa ser transmitido pelos dois gêneros de mosca branca, a eficiência de transmissão é variável.

Em um estudo conduzido por Wintermantel e Wisler (2006), abordando a eficiência de transmissão e persistência do vírus nas espécies vetoras, usando 50 plantas de *Physalis wrightii* e 40 moscas de cada uma das espécies por planta, observou-se maior eficiência nas transmissões por *Bemisia tabaci* biótipo B e *Trialeuroides abutilonea,* que se mostraram igualmente eficientes na transmissão do vírus para plantas teste, seguindo um padrão de 24 horas de período de aquisição e 48 horas para o período de inoculação. O ToCV foi transmitido em níveis baixos por uma única mosca branca de ambas as espécies, com 14% (7/50) para *Bemisia tabaci* biótipo B e 8% (4/50) por *Trialeuroides abutilonea.* Quando 40 moscas-branca por planta foram usadas em experimentos de transmissão, essas duas espécies apresentaram uma eficiência próxima de 100%. Mesmo 20 indivíduos de mosca branca por planta resultaram em mais de 85% de transmissão para as duas espécies. *Bemisia tabaci* biótipo A, a qual é intimamente relacionada ao biótipo B, foi significativamente menos eficiente na transmissão do ToCV. Diferentemente de *B. tabaci* biótipo B e *T. abutilonea,* não foi observada transmissão por um único indivíduo.

Trialeuroides vaporariorum foi a menos eficiente das espécies vetoras estudadas. Nenhuma transmissão foi observada nos estudos realizados com um único indivíduo e a máxima taxa de transmissão observada com 40 indivíduos de mosca branca foi de apenas 34% (WINTERMANTEL; WISLER, 2006). No mesmo artigo, as espécies vetoras foram comparadas quanto à persistência do ToCV, ou o tempo em que 30 indivíduos de mosca branca de cada espécie foram capazes de transmitir o vírus para plantas hospedeiras, após um período de alimentação de 24 horas em plantas infectadas de *P. wrightii*. O ToCV claramente persistiu mais tempo em *T. abutilonea* do que em outras espécies. A eficiência de transmissão desta espécie foi de 95% nas primeiras 24 horas após a aquisição do vírus. A eficiência de transmissão continuou dois dias após a aquisição (89%), porém começou a decrescer no terceiro dia (47%). Não houve transmissão aos seis dias após a aquisição. Em contraste, a persistência foi muito menor para

B.tabaci biótipo B, apesar deste vetor ser igualmente eficiente em termos de eficiência de transmissão nas primeiras 24 horas após a aquisição. A eficiência de 70% observada 24 horas após aquisição caiu para 36% no segundo dia, 5% no terceiro dia, e após quatro dias não houve transmissão. Em relação às espécies menos eficientes, *T. vaporariorum* e *B. tabaci* biótipo A, não foi observada transmissão após as 24 horas que se seguiram à aquisição (WINTERMANTEL; WISLER, 2006).

Não existem relatos oficiais da ocorrência de *T. abutilonea* no Brasil. No entanto, *T. vaporariorum*, cuja presença parecia estar limitada a cultivos protegidos, tem sido recentemente relatada em tomate e feijão sob condições de campo em São Paulo (LOURENÇÃO et al., 2008), já o biótipo B de *Bemisia tabaci* está amplamente difundido pelo país, desde sua introdução em 1997, estando presentes em todas as regiões produtoras de tomate de mesa ou industrial.

O ToCV é intimamente relacionado a outro Crinivirus, o *Tomato infectious chlorosis vírus* (TICV). TICV e ToCV produzem sintomas idênticos em tomate, mas o TICV difere ToCV na medida em que é transmitido exclusivamente por *T. vaporariorum*. A distribuição geográfica da TICV e ToCV depende da distribuição dos vetores. Em algumas partes do mundo, ambos os vírus foram encontrados juntos em tomate, indicando que a infecção por um vírus não previne a infecção pelo segundo.

Vários fatores contribuem para a eficiência de transmissão e persistência do vírus em moscas-branca vetoras. Estudos recentes com outros crinivirus como o *Lettuce infectious yellow virus* (LIYV), demonstraram que a transmissão por *B.tabaci* biótipo A é influenciada não apenas pelo número de moscas-branca usadas para transmissão, mas também pela quantidade de partículas virais disponíveis para transmissão. É provável que a competitividade de cada vírus varie entre as diferentes espécies de plantas hospedeiras, e pode ser influenciada por fatores como idade da planta ou qual vírus se estabeleceu em primeiro lugar (WINTERMANTEL; WISLER, 2006).

García-Cano et al. (2006), ao estudarem a interação sinérgica entre ToCV e o *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), observaram que em cultivares susceptíveis a estes dois vírus, a infecção sinérgica proporcionou uma rápida morte de plantas. Além disto, estes autores demonstraram que em cultivares de tomate resistentes ao TSWV, a pré-infecção por ToCV resultou na quebra desta resistência, a qual é mediada pelo gene *Sw-5*. O mecanismo exato pelo qual este gene confere resistência a TSWV em tomate ainda não foi elucidado, entretanto

especula-se que o ToCV contenha um repressor da resposta de resistência e assim, pode suprimir a proteção ao TSWV (SPASSOVA et al., 2001; GARCÍA-CANO et al., 2006). Adicionalmente, a coinfecção pode aumentar o potencial de recombinação genética ou recombinação entre pseudo-espécies relacionadas de crinivirus, e pode contribuir para a pressão de seleção levando ao surgimento de novos isolados ou espécies com gama de hospederiros, sintomatologia ou especificidade do vetor alterados.

A fim de elucidar os efeitos da coinfecção na acumulação e especificidade do vetor de crinivirus, foram estabelecidas plantas-fonte de *Physalis wrightii* e de *Nicotiana benthamiana*, contendo tanto TICV sozinho, ToCV sozinho, ou ambos os vírus juntos. *T. vaporariorum* e *T. abutilonea* se alimentaram separadamente em todas as fontes de vírus, bem como as plantas livres de vírus por 24 horas e, em seguida foram transferidos para plantas hospedeiras jovens. Plantas sintomáticas foram testadas por Northern Blot Hybridization e RT-PCR Quantitativo, e indicaram algumas diferenças hospedeiro-específicas na acumulação por TICV e ToCV (WINTERMANTEL; WISLER, 2006).

A interação entre o ToCV e outros vírus que atacam o tomate pode ter implicações importantes na resistência de cultivares. Este é mais um aspecto relevante no estudo das epidemias causadas pelo vírus.

2.1.4.4 Gama de hospedeiros

O ToCV tem uma gama de hospedeiros razoavelmente extensa, infectando pelo menos 25 espécies de plantas de oito famílias botânicas (MORRIS et al., 2006), que incluem algumas culturas importantes, plantas ornamentais e plantas daninhas (TRENADO et al., 2007).

Além do tomateiro, ToCV foi encontrado infectando naturalmente pimenta doce na Espanha (LOZANO; MORIONES; NAVAS-CASTILLO, 2003), zinia in Taiwan (TSAI et al., 2004) e hospedeiros selvagens como *Solanum nigrum* e *Datura stramonium* em Portugal e na Espanha (LOURO; ACCOTTO; VAIRA., 2000).

No Brasil, o ToCV também foi detectado em plantas de pimentão (*Capsicum annum*) cultivadas em estufas plásticas no município de São Miguel Arcanjo (SP) com incidências variando de 70 a 100%. Nestes mesmos cultivos plantas de Leucena (*Leucaena leucocephala*) e Maria pretinha (*Solanum americanum*) exibindo sintomas de clorose foliar foram encontradas.

Análises destas plantas por RT-PCR revelaram a presença da infecção por ToCV (Barbosa et al., dados não publicados).

Tabela 2 - Espécies hospedeiras do ToCV

Família	***Espécies suscetíveis***
Aizoiaceae	*Tetragonia expansa* Murr.
Amaranthaceae	*Gomphrena globosa* L.
Apocynaceae	*Vinca rosea* L.
Chenopodiaceae	*Beta macrocarpa* Guss.; *Chenopodium murale* L.; *Chenopodium album* L.; *Chenopodium capitatum (L).*; *Spinaceae oleraceae* L.
Compositae	*Callistephus chinenses (L.) Nees, Calendula officinalis L.*
Plumbaginaceae	*Limonium latifolium* (J.E.Sm.) Kuntze
Solanaceae	*Capsicum annunum*; *Solanum nigrum* L. *Physalis ixocarpa; Physalis peruviana*

Fonte: Wintermantel e Wisler (2006)

Nas plantas infectadas, o ToCV apresenta um período de latência relativamente longo, não induzindo os sintomas antes de 3 ou 4 semanas após a infecção.

Inoculações com moscas brancas em condições de laboratório revelaram que um isolado do ToCV coletado em Sumaré (SP) apresentou um período de incubação (PI) de aproximadamente 60 dias (dados não publicados).

O tempo de formação de mudas de tomate varia de 30 a 40 dias, conforme a época. Isto significa, que se plântulas de tomate forem infectadas ainda nos viveiros de produção de mudas, estas podem ser transportadas e o ToCV introduzido em novas áreas por plantas ainda sem sintomas.

2.1.4.5 Histórico de ocorrência da virose

O ToCV tem sido detectado em muitas partes do mundo:

Estados Unidos (1989) - O primeiro relato oficial da ocorrência dessa virose se deu nos EUA nos estados do Colorado, Connecticut, Florida e Louisiana (WISLER et al., 1998b).

Portugal (1998) - Em 1998 foi reportada em Portugal, a presença de plantas de tomate com sintomas de clorose internerval coletadas durante o outono de 1998 e verão e outono de 1999, em Algarve, sul de Portugal. As amostras submetidas a RT-PCR usando primers específicos para o ToCV foram positivas, e a sequência de nucleotídeos amplificada mostrou 99% de homologia com a base de dados do Genbank (LOURO et al., 2000).

Espanha (2000) – Desde 1997, surtos de amarelecimento vinham ocorrendo em culturas de tomate no sul da Espanha. Os surtos estavam associados com altas populações de mosca branca (*Bemisia tabaci)*. Os sintomas consistiam principalmente em amarelecimento internerval que se desenvolvia inicialmente nas folhas de baixo e então progrediam para a parte de cima das plantas. As plantas afetadas se mostravam menos vigorosas e com redução na produtividade, devido à redução no desenvolvimento dos frutos e atrasos na maturação. Durante 1998 e 1999, a doença se disseminou e ocorreu em altas incidências na província de Málaga. As amostras de plantas sintomáticas foram analisadas e mostraram estar infectadas com *Tomato chlorosis virus* (ToCV). Este foi o primeiro relato de uma epidemia de ToCV na Europa (NAVAS-CASTILLO et al., 2000).

Itália (2000) - Durante o inverno de 2000 – 2001, uma doença incomum no tomate foi observada em algumas estufas na Sardenha, Sicília e Apulia, no sul da Itália. As plantas apresentavam clorose internerval e tamanho reduzido. Folhas sintomáticas foram coletadas e analisadas por RT-PCR. Fragmentos específicos do DNA produzido a partir do ToCV foram amplificados em amostras nas três localidades e a sequência do fragmento obtido do isolado da Sicília apresentou mais de 99% de identidade com os isolados dos Estados Unidos e de Portugal (ACCOTTO et al., 2001).

Porto Rico (2001) - Em 2001, sintomas de clorose internerval, espessamento e enrolamento de folhas foram observados em plantas cultivadas em campo em Juana Díaz, Porto Rico. Foram realizadas hibridizações “Dot Blot” do ácido nucléico total extraído de folhas sintomáticas usando sondas específicas para TICV ou ToCV, bem como sondas específicas para outros quatro Crinivirus. A hibridização identificou ToCV em todas as plantas sintomáticas, confirmando a presença do vírus no país (WINTERMANTEL et al., 2001).

Grécia (2001) - Desde 1997, uma doença que provocava amarelecimento em plantas de tomate era observada em casa de vegetação na Grécia. A Partir de 2001, a doença se disseminou, inclusive para campos de cultivo, e na maioria dos casos, a incidência observada era de 80% a

90% ou ainda, de 100%. A comparação de sequências amplificadas revelaram identidade de 100% com as sequências já reportadas para o ToCV e 99% para as sequências de TICV (DOVAS; KATIS; AVGELIS, 2002).

Israel (2004) – Durante o mês de dezembro de 2003, foram observado sintomas em plantas de tomate cultivadas em casa de vegetação em Bet Dagan, Israel. Folhas mais velhas mostravam clorose internerval intensa, com alguns pontos de bronzeamento, associados a presença de *Bemisia tabaci*. Os ácidos nucleicos totais foram extraídos de folhas sintomáticas de tomate, de *Physalis wrightii* infectada com ToCV, e *Nicotiana benthamiana* infectada com *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV). O extratos foram testados usando sonda específicas para a capa proteica de ToCV e o gene *HSP70h* de TICV. Os resultados da hibridização identificaram a presence doToCV em todas as amostras sintomáticas de tomate, porém o TICV só foi identificado nas amostras de *N. benthamiana*. Os extratos também foram testados por RT-PCR, que confirmaram a presença do ToCV em folhas sintomáticas (SEGEV et al., 2004).

Chipre (2004) - No verão de 2004, foram observados sintomas semelhantes à deficiência de magnésio em plantas de tomate no campo e estufa. A alta incidência de mosca branca sugeriram o envolvimento dos vírus TICV (*Tomato infectious chlorosis vírus*) e ToCV (*Tomato chlorosis virus*). Nos testes de detecção, um produto de PCR de 463 pares de base, correspondendo ao gene da HSP70 do ToCV foi amplificado em todas as 18 amostras de folhas testadas. As sequências de 4 produtos de PCR clonados foram idênticos e mostraram 99% de identidade dos nucleotídeos do ToCV isolado na Flórida (PAPAYIANNIS et al., 2006).

Taiwan (2004) – Sintomas pronunciados de amarelecimento em folhas do baixeiro , semelhantes às causadas por deficiência nutricional, foram observados na primavera de 1998, no sul de Taiwan. Os extratos de ácidos nucléicos totais foram testados por hibridização com sonda de uma região complementar à região 3’-terminal do RNA1 de TICV e uma sonda correspondente à região da capa protéica do RNA 2 de ToCV. Foram detectadas amostras positivas para ToCV em tomate, mas não para TICV (TSAI et al., 2004).

França (2005) – Desde 2002, sintomas de amarelecimento associados com altas populações de mosca branca tem sido observados em plantas de tomate provenientes de cultivo protegido. Três produtos de RT-PCR amplificados a partir de amostras coletadas de diversas áreas de cultivo foram sequênciadas e mostraram 99 a 100% de identidade com as sequências de TCV publicadas da Espanha, Portugal, Sicília e Estados Unidos (DALMON et al., 2005).

Ilha Mayotte (2005) – Em novembro de 2005 uma pesquisa de plantas de tomate sintomáticas cultivadas em estufa foi conduzida na Ilha Mayotte, uma ilha localizada ao norte do Canal de Moçambique. Folhas com sintomas de amarelecimento foram observadas nas porções médias e baixas das plantas de tomate, nas regiões de Koungou, Chiconi, Combani e Chirongui localizadas no norte, oeste e sul da ilha, respectivamente. Folhas sintomáticas foram coletadas e extraído o RNA total. Para detecção do possível Crinivirus foi aplicado um teste de RT-PCR usando primers específicos que amplificam a região do gene HSP70 do ToCV. Os produtos de PCR, quando sequênciados, mostraram uma identidade de 98 a 99% com os isolados da França, Espanha e Itália (MASSÉ et al., 2008).

Líbano (2006) – Algumas plantas submetidas ao contato com *Bemisia tabaci*, putativamente infectadas com *Tomato yellow leaf curl virus* (TYCLV), apresentaram sintomas correspondentes àqueles atribuídos ao *Tomato chlorosis virus* (ToCV) e *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV). As análises das sequências de nucleotídeos provenientes de plantas sintomáticas revelaram mais de 99% de identidade com os isolados de ToCV dos EUA , Itália e Portugal (ABOU-JAWDAH et al., 2006).

Ilhas Réunion (2006) – Sintomas pronunciados de amarelecimento nas folhas da porção do baixeiro e média de plantas de tomate foram observadas em 2004 e 2005 em casas de vegetação na Ilha Réunion, situada ao leste de Madagascar. As sequências obtidas de três amostras tiveram 95 a 99% de identidade de nucleotídeos entre si. A sequência mais significativa apresentou 98% de homologia com os isolados de ToCV dos EUA, Espanha e Itália (DELATTE et al., 2006).

Turquia (2007) – Em 2007 foi publicado o primeiro relato da ocorrência de ToCV na Turquia. Os sintomas de clorose internerval severa foram observados em plantas de uma estufa comercial localizada em Fethiye, Mugla, sudoeste da Turquia. Os sintomas e a presença dos vetores *Bemisia tabaci* e *Trialeurodes vaporariorum*, foram observadas em cultivos de várias estufas na região. Amostras foram testadas quanto à presença de TICV e ToCV, não sendo observadas amplificações com os primers específicos para TICV. Contrariamente, um fragmento de 463 pares de bases foi amplificado em todas as amostras sugerindo a presença de ToCV. Para confirmar os resultados, um amplicon foi sequênciado e a essa sequência apresentou 99% de identidade com o gene da Hsp70h do ToCV de um isolado da Florida, EUA (ÇEVIK; ERKIŞ, 2007).

Hungria (2007) – Uma doença em tomate foi observada em três casas de vegetação em Tömörkén, sul da Hungria no outono de 2007. Trinta por cento das plantas apresentavam amarelecimento internerval e manchas necróticas, sintomas semelhantes ao atribuídos à presença de ToCV em outros países. A presença do vírus foi confirmada por RT-PCR e o produto de PCR sequênciado, mostrando 97 a 99% de identidade com os isolados do vírus com sequências depositadas no Genbank (BESE et al., 2011).

Cuba (2007) – Em 2006 e 2007 cultivos de tomate ao longo da costa leste de Cuba apresentavam altas infestações de *Bemisia tabaci* (biótipo B). Algumas plantas apresentavam clorose internerval e mosaico severo, combinado a redução foliar. Uma análise de RT-PCR foi conduzida e a análise da sequência do produto de PCR confirmou a presença do vírus. Os fragmentos tiveram 97 a 98% de identidade com os isolados da Espanha, Flórida e Ilhas Réunion (MARTÍNEZ-ZUBIAUR et al., 2008).

Costa Rica (2007) – No início de 2007 foram observados sintomas de clorose e amarelecimento severo em plantas de tomate cultivadas em casa de vegetação na Costa Rica, ssociadas a altas populações de mosca branca, incluindo *Trialeurodes vaporariorum*, conhecida como a mosca branca das estufas. O RNA foi extraído e submetido à reações de RT-PCR para detecção de TICV e ToCV. Análises das sequências de nucleotídeos dos produtos de RT-PCR mostraram identidade com ToCV reportado na Flórida, Espanha e Grécia (CASTRO et al., 2009).

No Brasil, o primeiro relato oficial da ocorrência deste vírus foi realizado em 2008 na região do município de Sumaré, no estado de São Paulo (BARBOSA et al., 2008), com valores de incidência variando de 0,25% para 3,42% e um comportamento tardígavo, tendo as primeiras plantas sintomáticas constatadas somente depois de 60 dias após o transplante das mudas de tomate em campo.

Entre os meses de outubro de 2007 e outubro de 2008, amostras de folhas de variedades de tomate Paron, Itapitan e Carmem, apresentando sintomas de clorose, obtido a partir de culturas nos municípios de Afonso Cláudio e Domingos Martins (ES) e Corumbá de Goiás, Goiânia e Silvânia (GO), foram analisadas no Laboratório de Virologia Vegetal, ESALQ, USP, para a presença do ToCV e TICV.

Em maio de 2006 foi diagnosticada, pelo Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural do Espírito Santo - INCAPER, a ocorrência em algumas lavouras dos municípios de Afonso Cláudio, Castelo, Domingos Martins, Guaçuí, Itarana, Laranja da Terra e

Venda Nova do Imigrante, a presença sintomas semelhantes aos causados pelo vírus. A doença, que ficou conhecida como amarelão do tomateiro, ocorreu com maior intensidade em 2009, com perdas severas em algumas lavouras devido à infecção precoce das plantas. Todos os híbridos e cultivares atualmente plantados têm apresentado sintomas da virose com maior ou menor severidade. Em 2010, incidências de até 100% foram observadas nas lavouras conduzidas no verão.

Entre 2007 a 2010, o laboratório de Virologia de Plantas, ESALQ/USP recebeu um total de 14 amostras com sintomas característicos da virose, provenientes de 10 localidades em seis estados: Bahia (Barreiras, e Ibicuara), Espírito Santo (Afonso Claudio e Domingos Martins), Goiás (Corumbá de Goiás, Goiânia, e Silvânia), Minas Gerais (Araguary e Coimbra) e Rio de Janeiro (Paty de Alferes). Cinco amostras adicionais de plantas sintomáticas foram obtidas a partir de lavouras no estado de São Paulo- SP (Avaré, Barão de Antonina, São Pedro do Turvo, e Sumaré. A análise de PCR mostrou que o vírus estava presente em todos os estados de onde as amostras eram provenientes. TICV não foi detectado em nenhuma das amostras. As sequências de nucleotídeos, variando de 281 a 463 nt, foram comparadas à sequência correspondente dos primeiros isolados de ToCV relatados no Brasil (GenBank Accession EU868927) e apresentaram identidade variando de 95 a 99% (BARBOSA et al., 2011)

Devido à sua recente constatação, há pouca informação sobre o comportamento do ToCV em condições brasileiras e não há no momento um panorama da distribuição geográfica do ToCV no Brasil.

A detecção precoce do vírus, informações sobre sua distribuição, gama de hospedeiros e conhecimento sobre o modo de transmissão do vírus pela mosca branca presente são essenciais para o manejo do vírus de plantas emergentes e das populações do vetor.

2.1.5 Análise epidemiológica de viroses em plantas

O conhecimento detalhado da dinâmica espaço-temporal possibilita uma visão mais completa da estrutura e do comportamento de um patossistema e auxilia no desenvolvimento de hipóteses em relação aos aspectos biológicos e ambientais associados à dispersão das doenças (CAMPBELL; MADDEN, 1990). De posse desse conhecimento é possível descrever e entender o

desenvolvimento das doenças, planejar experimentos controlados, avaliar o efeito de diferentes tratamentos e caracterizar perdas na produção ocasionadas pela doença.

No estudo de epidemias, a dinâmica temporal das doenças de plantas tem sido mais enfatizada, pois o progresso de doenças é frequentemente a manifestação mais facilmente visualizada. Os aspectos espaciais, apesar de importantes, são geralmente menos óbvios e, consequentemente, pouco investigados (JEGER, 1990 apud BARBOSA, 2007).

2.1.5.1 Análise temporal

Na análise temporal de doenças, a curva de progresso é a melhor representação de uma epidemia. Interpretar o formato dessas curvas e determinar seus componentes, como intensidade inicial de doença, taxa de progresso, intensidade final, bem como a área abaixo da curva de progresso, são fundamentais para se efetuar o manejo de epidemias (BERGAMIN FILHO, 1995).

O padrão de uma epidemia em termos de número de plantas doentes ou número de lesões, ou órgãos afetados, em um dado tempo, é representado por uma curva que mostra o desenvolvimento da epidemia no tempo, a qual é chamada “Curva de progresso da doença”, construída com os dados coletados em vários intervalos de tempo. Esta curva revela o início de aparecimento da doença e a evolução no tempo (MENEZES, 2002).

A curva de progresso da doença, usualmente expressa pela plotagem da proporção de doença versus tempo, é a melhor representação de uma epidemia. Através dela, estudos das interações entre patógeno, hospedeiro e ambiente podem proporcionar: caracterização da doença, estratégias de controle, níveis futuros de doenças e modelos de previsão e simuladores.

Modelos matemáticos de crescimento são capazes de resumir, na forma de expressões matemáticas relativamente simples, a relação existente entre doença e tempo. Estas expressões facilitam a análise dos dados de progresso da doença, dados obtidos, por exemplo, em experimentos onde níveis de resistência são testados (BERGAMIN FILHO, 1995).

O conhecimento da curva de progresso da doença permite predizer o padrão da epidemia e interferir na fase mais adequada, com métodos de controle mais eficientes (MENEZES, 2002).

2.1.5.2 Análise espacial

O padrão espacial em fitopatologia pode ser definido como o arranjo de entidades doentes umas em relação às outras (GILLIGAN, 1982 apud DELLA VECHIA, 2006).

Os padrões espaciais de doença originam-se das interações de fatores físicos, químicos e biológicos que influenciam os processos de dispersão e infecção (TAYLOR, 1984).

O padrão espacial da população de uma doença raramente é uniforme. Para investigar a natureza dessa não uniformidade é necessário descrever os padrões espaciais das populações do hospedeiro e do patógeno, estabelecer como esses padrões estão relacionados e descrever como esses padrões são afetados por variações espaciais do ambiente biótico e abiótico. Hughes et al. (1992) enfatizam que a principal razão para o estudo de padrões espaciais de doenças no campo é que o padrão espacial expressa o processo de dispersão do patógeno.

Existem três possibilidades ou padrões para distribuição espacial de plantas doentes numa determinada área: ao acaso, agregada ou regular. O padrão espacial ao acaso ou aleatório está relacionado a iguais oportunidades de infecção, ou seja, a pressão infectiva é a mesma para toda planta sadia, enquanto que o padrão agregado ocorre quando, em condições naturais, o patógeno se dispersa a curtas distâncias, assim, a probabilidade de que plantas próximas à fonte de inóculo sejam infectadas é maior do que em plantas mais distantes. O padrão regular não ocorre de forma natural, mas pode ser provocado pelo plantio alternado de variedades resistentes e suscetíveis.

Um método bastante utilizado para análise espacial de epidemias está baseado no conceito de *quadrats*, unidades de amostragem de plantas doentes. Estes podem ser visualizados como um plano quadriculado sobreposto a um mapa de campo experimental no qual cada quadrado representa uma planta, desta forma, a posição de plantas doentes e sadias no espaço é conhecida. Baseado neste conceito pode-se lançar mão de diferentes métodos de análise da distribuição espacial da doença: o índice de dispersão fornece uma visão fotográfica, pontual, do padrão de distribuição de plantas sadias e doentes numa determinada área; a aplicação da Lei de Taylor modificada possibilita uma visão dinâmica da evolução dos padrões de agregação em função do tempo e da incidência; as áreas isópatas realçam possíveis diferenças de intensidade da doença dentro de cada parcela.

Para a grande maioria das doenças causadas por fungos e bactérias, o padrão espacial de plantas doentes é governado pelas características intrínsecas ao patógeno e suas relações com o

ambiente. Assim, doenças fúngicas podem ter seu padrão de distribuição alterado em virtude da direção e intensidade dos ventos; para as doenças bacterianas a presença de chuva e aerossóis podem ser indispensáveis para disseminação do patógeno, podendo variar seu padrão de disseminação de fortemente para levemente agregado ou mesmo distribuição ao acaso.

Para os vírus isto é diferente. O grande número de vetores (insetos de várias ordens, ácaros, nematóides e fungos) e a complexidade das relações vetor-patógeno-hospedeiro-ambiente fazem dos vírus o grupo com maior diversidade de padrões espaciais (DELLA VECHIA, 2006).

Os padrões podem variar desde altamente agregados, passando por inúmeros padrões levemente agregados, até casos de distribuição ao acaso: tudo depende das características intrínsecas ao vetor e de suas relações com o meio, o que inclui o hospedeiro e o próprio vírus.

Está bem estabelecido na literatura (CAMPBELL; MADDEN, 1990; HUGHES et al., 1992; GOTTWALD et al., 1996) que o conhecimento; amplo de todas as características de uma epidemia – temporais e espaciais – possibilita uma visão mais completa da estrutura e do comportamento de patossistemas. Assim, maiores informações podem ser extraídas de dados, caso as análises temporal e espacial sejam combinadas, permitindo o progresso acadêmico e a aplicação prática, como demonstrado por inúmeros autores nos tópicos seguintes: (i) otimização de planos de amostragem; (ii) compreensão da dinâmica populacional de um patógeno; (iii) correlação entre doenças e vetores e, mais especificamente, entre doença e o nicho ecológico dos vetores; (iv) comparação da resistência de variedades; (v) caracterização do padrão ou dos padrões de dispersão da doença; (vi) correlação entre tratos culturais, condições ambientais e dispersão da doença.

A análise do arranjo espacial de plantas doentes tem possibilitado o entendimento da dinâmica de epidemias, principalmente quanto ao padrão do inóculo inicial, os mecanismos de dispersão do patógeno, o efeito de práticas biológicas e culturais, bem como o efeito de fatores ambientais na infecção e dispersão de patógenos e doenças. Além disso, no desenvolvimento de protocolos de amostragem de doenças, o conhecimento do arranjo espacial de plantas doentes é fundamental para a obtenção de estimativas precisas da intensidade da doença (JEGER, 1990 apud BARBOSA, 2007). Várias técnicas podem ser utilizadas para caracterizar o arranjo espacial de plantas doentes, dependendo do tipo de dado coletado e do conhecimento sobre o local onde as observações foram realizadas (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Caracterização dos locais de ensaio

Foram instaladas parcelas de monitoramento do progresso da virose em sete diferentes locais na região de Sumaré, sendo um conduzido na safra 2009 (setembro – dezembro), dois ensaios conduzidos durante a safra 2010 (janeiro – maio) e quatro conduzidos na safra 2010/11 (outubro - dezembro). As lavouras possuíam áreas que variavam de 15 a 37 hectares. A maior distância entre as lavouras era de aproximadamente 7 km.

A região de Sumaré foi escolhida como área de monitoramento por duas razões. Primeiramente, o município é um dos maiores produtores nacionais de tomate estaqueado, abastecendo o mercado interno e exportando para países do Mercosul. Segundo, porque nessa região foi feito o primeiro relato oficial de ocorrência da virose no Estado de São Paulo e no Brasil. Por ambas as razões, acompanhar a evolução da doença ao longo das safras, bem como estudar seu comportamento epidemiológico, podem dar uma importante contribuição para o desenvolvimento da tomaticultura local e nacional.

Todas as lavouras monitoradas utilizaram a cultivar Alambra. Uma área na safra 2009-10 e duas na safra 2010-11 foram conduzidas no sistema de tomate estaqueado em “V” invertido, fileira dupla, irrigação por sulco e espaçamento de 1,5 m entre linhas e 0,5 m entre plantas. As demais lavouras foram conduzidas no sistema fertirrigado, espaçamento de 1,5 m entre linhas e 0,5 m entre plantas, com fileira simples.

Em cada lavoura, foram demarcadas quatro parcelas experimentais (látices), com 10 linhas contendo 52 plantas cada. As parcelas, denominadas A, B, C, e D em cada um dos experimentos no campo. As parcelas A, B e C foram dispostas em regiões periféricas e D numa região central da lavoura, de forma que os quatro lados da parcela fossem cercados por outras plantas de tomate.

Seguem desenhos esquemáticos da posição dos látices A, B, C e D em cada um dos sete campos avaliados, denotando a posição do látice dentro do campo e a cultura ou vegetação predominante no entorno. A distância entre os retângulos representativos no esquema não corresponde à distância real no campo (Figuras 6 a 12).

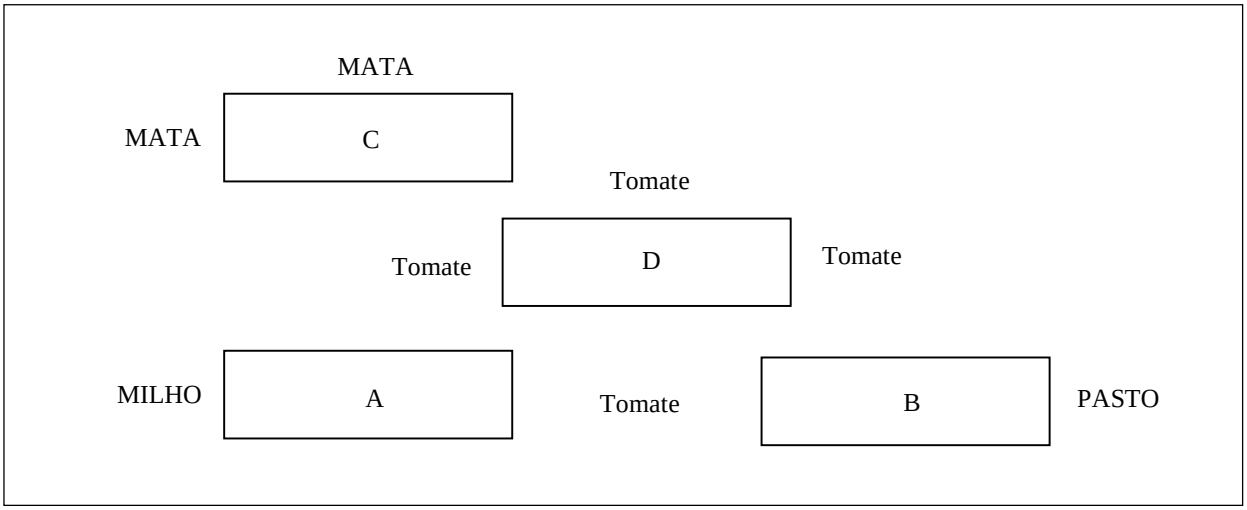

Figura 6 - Localização relativa das parcelas (A, B, C, e D) no Campo 1; época outubro – dezembro, 2009

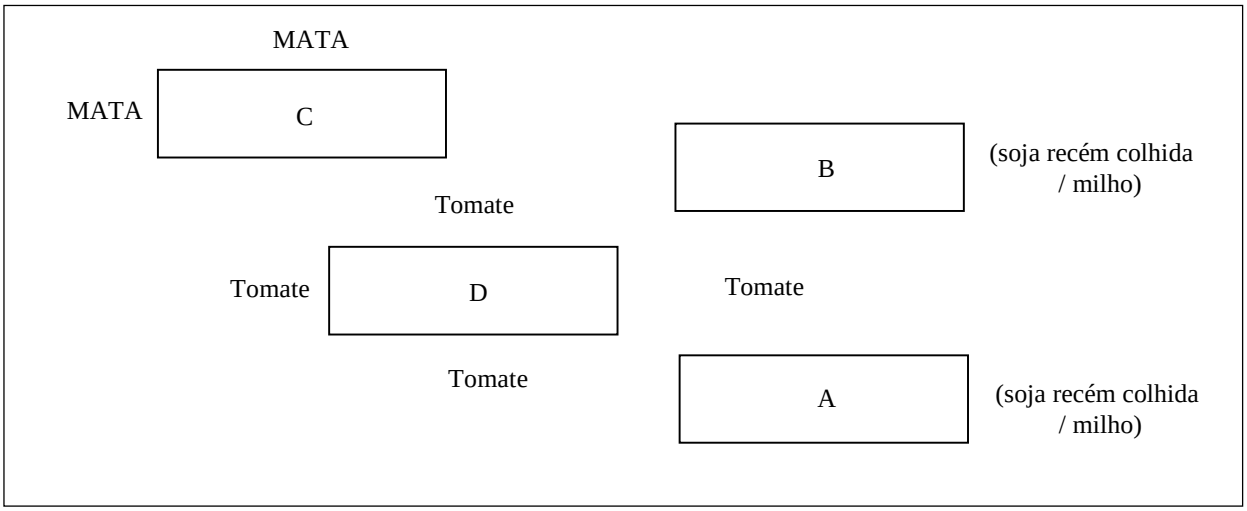

Figura 7 - Localização relativa das parcelas (A, B, C, e D) no Campo 1; época março - junho, 2010

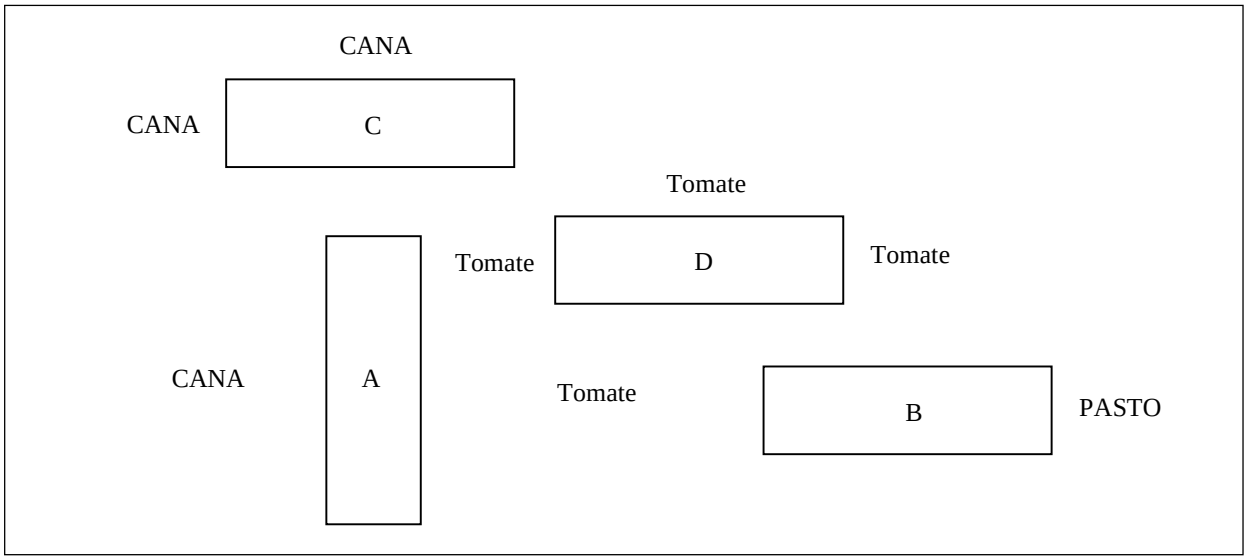

Figura 8 - Localização relativa das parcelas (A, B, C, e D) no Campo 2; época março - junho, 2010

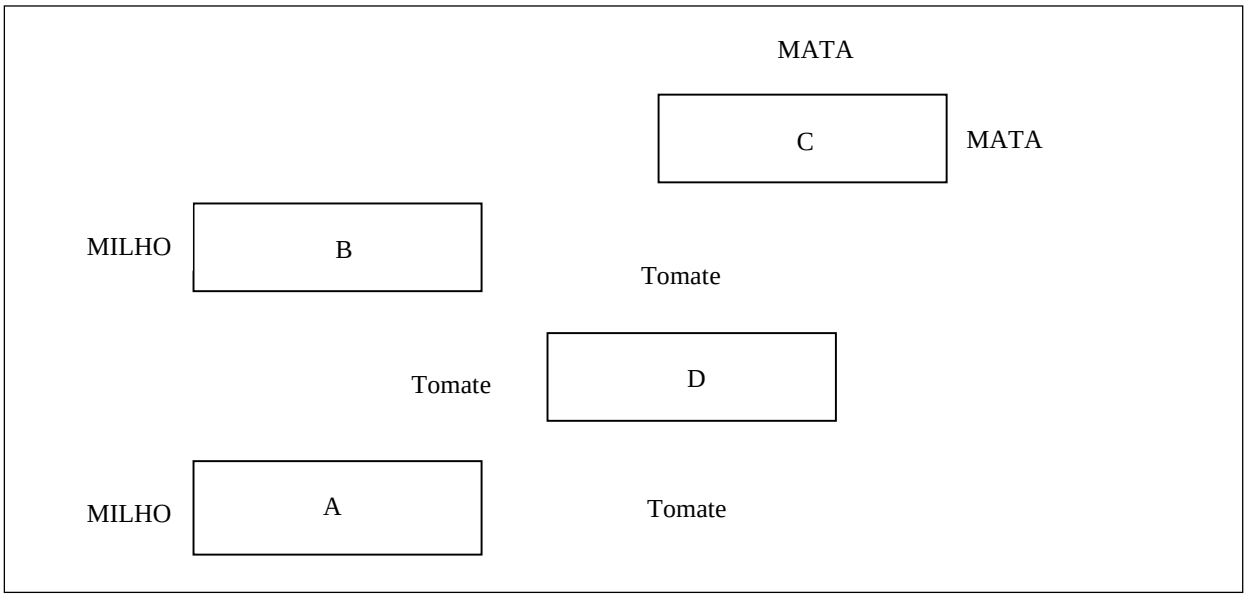

Figura 9 - Localização relativa das parcelas (A, B, C, e D) no Campo 1; época outubro 2010 – janeiro 2011

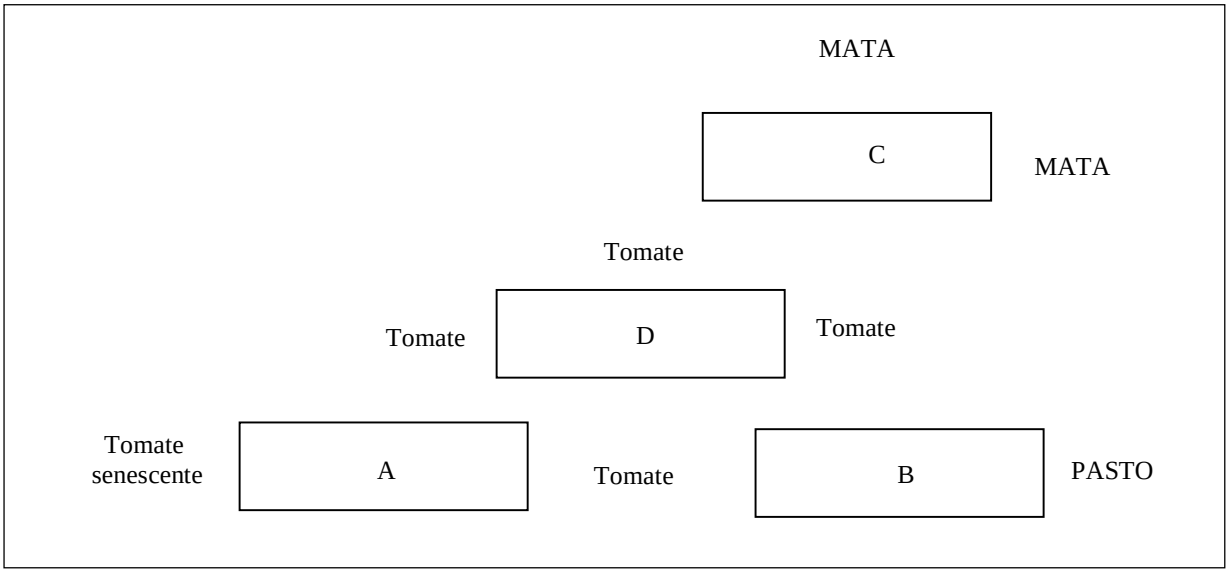

Figura 10 - Localização relativa das parcelas (A, B, C, e D) no Campo 2; época outubro 2010 – janeiro 2011

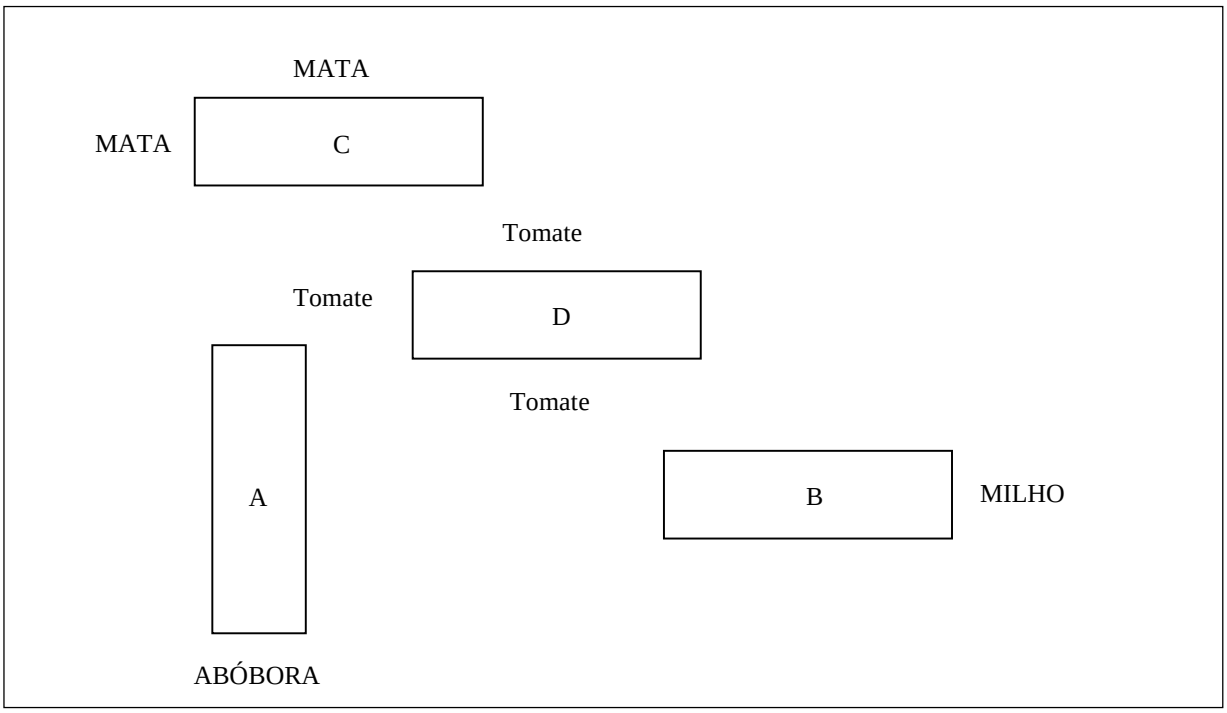

Figura 11 - Localização relativa das parcelas (A, B, C, e D) no Campo 3; época outubro 2010 – janeiro 2011.

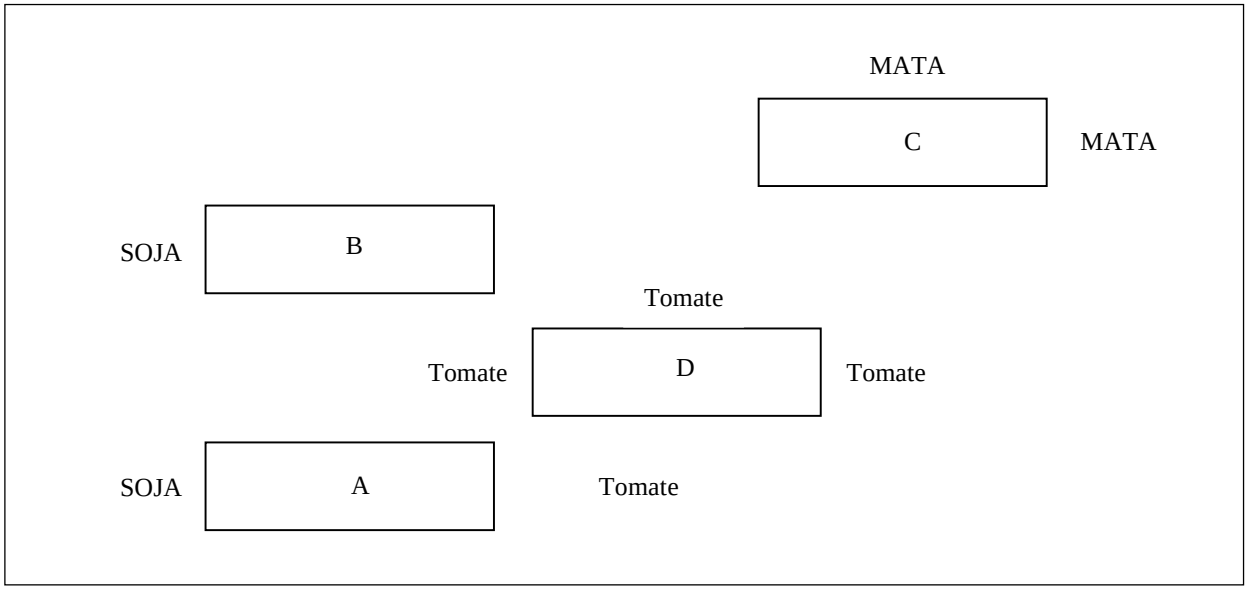

Figura 12 - Localização relativa das parcelas (A, B, C, e D) no Campo 4; época outubro 2010 – janeiro 2011

2.2.2 Coleta de Dados

As avaliações foram realizadas a partir dos 30 aos 50 dias após o transplante das mudas até próximo do final do ciclo da cultura. As plantas da cada parcela foram periodicamente monitoradas quanto à incidência de sintomas típicos induzidos pelo ToCV.

As avaliações de incidência foram feitas com base na presença de sintomas característicos. Assim que os primeiros sintomas eram observados, a planta sintomática passava a ter sua posição na parcela marcada. Assim, a cada avaliação, novas plantas tinham suas posições demarcadas, formando os mapas de distribuição de incidência de plantas doentes no látice e incidência acumulada.

As plantas sintomáticas tiveram amostras recolhidas para posterior detecção por reação de RT-PCR.

Com os dados de plantas sintomáticas e sua distribuição dentro das parcelas foram confeccionados mapas constando a posição relativa de cada planta. A cada avaliação foi

incorporadas ao mapa cada nova planta que apresentasse os sintomas, delineando assim, a incidência (%) acumulada na parcela.

Durante as avaliações, amostras foliares foram coletadas de plantas sintomáticas e assintomáticas próximas de plantas com sintomas. O número total de amostras coletadas foi variável de acordo com a evolução da doença no campo.

2.2.3 Detecção e identificação viral

2.2.3.1 Extração do RNA total e detecção do vírus

As amostras foliares tiveram pequenos fragmentos de limbo e nervuras extraídos, em condições de assepsia. O RNA total foi extraído do tecido foliar de cada amostra com o reagente Trizol ®. Numa primeira amplificação o RNA total de cada amostra foi submetido a uma reação de RT-PCR com o par de *primers* degenerados HS-11/HS-12 (sequência amplificada por HS-11: 5'-GG(G/T)TT(A/G)GA(G/T)TT(C/T)GGTACTAC-3'; sequência amplificada por HS-12: 5'-CC(G/T)CCACCAAA(A/G)TCGTA-3') os quais amplificam um fragmento de aproximadamente 587 pb de uma região altamente conservada do gene da "heat shock protein" (HSP-70) reportada para os crinivirus que infectam o tomateiro (DOVAS et al., 2002). O produto da RT-PCR foi submetido em seguida a uma reação de nested-PCR usando o par de *primers* ToC5/ToC6 (sequência amplificada por ToC5: 5'-GGTTTGGATTTTGGTACTACATTCAGT-3'; sequência amplificada por ToC6: 5'-AAACTGCCTGCATGAAAAGTCTC-3') que são específicos para o ToCV, e amplificam um fragmento de aproximadamente 463 pb.

2.2.3.2 Sequênciamento do cDNA viral.

O cDNA de quatro isolados de ToCV coletados em plantas sintomáticas foram enviados para sequênciamento pela empresa MACROGEN.

Para verificar a identidade dos isolados em estudo com outros já estudados, as sequências de nucleotídeos e aminoácidos deduzidos foram comparadas com aquelas disponíveis no *Genbank*, com auxílio do programa *Blast*, disponível no endereço http://www.ncbi.nlm.nih.gov.

2.2.4 Análise Epidemiológica

2.2.4.1 Análise temporal

A análise temporal foi realizada a partir da plotagem cumulativa da incidência de plantas sintomáticas em função do tempo, construindo desta forma, curvas de progresso da doença, as quais foram analisadas segundo os seguintes modelos:

Exponencial:

$y(x) = b_1 \exp(b_2 x)$

Gompertz:

$y(x) = b_1 (\exp(-(-\log(b_2)) \exp(-b_3 x)))$

Logístico:

$y(x) = b_1 / 1 + ((b_1 / b_2) - 1) \exp(-b_3 x))$

Monomolecular:

$y(x) = b_1 (1-(1- b_2) \exp(-b_3 x))$

Para essas equações considera-se que:

b_1 corresponde à estimativa da assíntota máxima

b_2 é um parâmetro relacionado ao inóculo inicial [$b_2 = (1-y_0) / y_0$)]

b_3 corresponde à taxa de progresso da doença (r)

y é a severidade no tempo x e

Os modelos foram testados por meio de regressões entre a incidência (%) da doença e o tempo (dias), utilizando dados médios de cada parcela e dados médios de cada ensaio.

2.2.4.2 Análise espacial

A análise espacial foi feita a partir dos dados de presença ou ausência de sintomas do mapeamento da área. A cada levantamento, as novas plantas sintomáticas que foram incorporadas

aos mapas anteriores, demonstram o número acumulado de plantas afetadas e suas respectivas posições para cada data de avaliação.

Foram utilizadas três técnicas para esclarecer aspectos da disseminação do patógeno: o índice de dispersão, a lei de Taylor modificada e áreas isopatas.

2.2.4.2.1 Índice de dispersão (D)

Os mapas originados a partir das avaliações foram divididos em *quadrats* de tamanho 3x2. A incidência de plantas doentes para cada *quadrat*, em cada avaliação, foi determinada através da equação de Madden e Hughes (1995):

$\rho = \Sigma x_i / n N$

em que Σx_i é o somatório do número de plantas doentes em cada *quadrat* i, n é o número de plantas em cada *quadrat* e N é o número total de *quadrats* em cada parcela.

O cálculo das variâncias observada (V_{obs}) e binomial (V_{bin}) foi realizado através das seguintes fórmulas:

$V_{obs} = \Sigma (x_i - np)^2 / n^2 (N-1)$

$V_{bin} = \rho (1-p) / n$

O índice de dispersão (D) foi então calculado:

$ID = V_{obs} / V_{bin}$

Os valores foram submetidos ao teste de qui-quadrado para verificar a significância do índice de dispersão. Os valores de ID estatisticamente diferentes de 1 são indicativos de agregação. Valores estatisticamente semelhantes a 1 são indicativos de aleatoriedade.

2.2.4.2.2 Lei de Taylor modificada

A aplicação da lei de Taylor modificada consiste na relação linear entre o logaritmo da V_{bin} e o logaritmo da $V_{obs,}$ tendo como variável dependente o logaritmo das variâncias observadas e como variável independente o logaritmo das variáveis binomiais estimadas.

$\log (V_{bin}) = \log (A) + b \log (V_{log})$

em que A e b são parâmetros.

A significância da regressão linear entre log (V_{bin}) e log (V_{obs}) foi determinada através de teste do F a 5% de probabilidade. O ajuste ao modelo foi determinado pelos valores de coeficientes de determinação (R^2) e distribuição de resíduos.

A igualdade dos parâmetros b =1 e log (A) foi testada através do teste t ao nível de 5% de probabilidade (MADDEN; HUGHES, 1995), usando as estimativas destes parâmetros e seus respectivos erros padrão. Quando b = 1 e log (A) = 0, os dados seguem um padrão de aleatoriedade. Se b = 1 e log (A) > 0, há um nível de agregação constante, o qual independe da incidência. O parâmetro b é considerado como um índice de agregação, de modo que quando b>1, a agregação varia conforme a incidência.

2.2.4.2.3 Áreas isopatas

As áreas isopatas foram estabelecidas com o objetivo de realçar possíveis diferenças de intensidade da doença em cada parcela.

Matrizes X, Y e Z foram construídas utilizando os dados de distribuição de plantas doentes representadas nos mapas obtidos na última avaliação de cada parcela. Após a elaboração das matrizes, as áreas isópatas de cada parcela foram geradas por computador com auxílio do Programa STATISTICA versão 6.0 (Statsoft, Tulsa, EUA).

2.4 Resultados e Discussão

2.4.1 Identificação do vírus

Os resultados dessas análises de RT-PCR permitiram a amplificação de um único fragmento de aproximadamente 463 pb em amostras de plantas sintomáticas de quatro, dos sete campos avaliados (Figura 13).

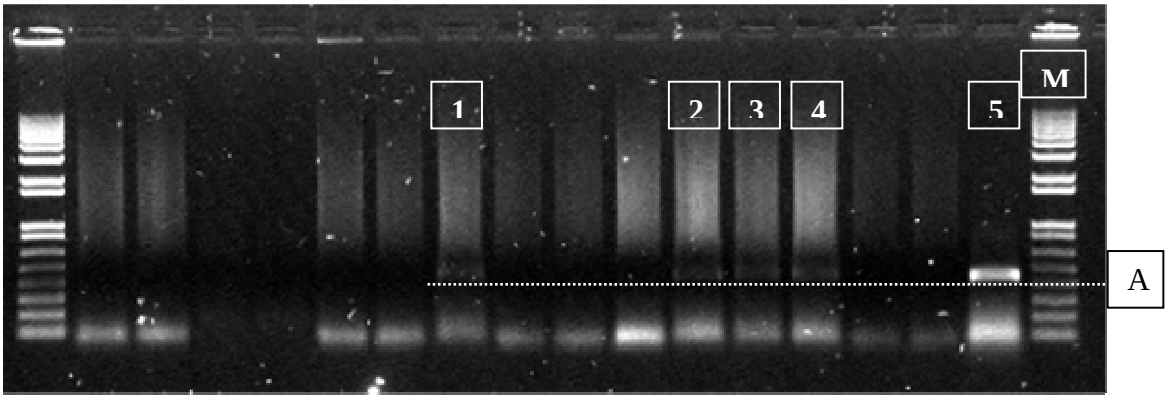

Figura 13 - Amplificação do fragmento de cDNA dos isolados de ToCV, amostras dos campos em Sumaré, 2009 – 2011
M – marcador de peso molecular 1 kb, Promega
A – fragmentos de aproximadamente 463 pb.
1 – isolado proveniente do campo 1, 2010
2 – isolado proveniente do campo 1, 2011
3 – isolado proveniente do campo 3, 2011
4 – isolado proveniente da campo 4, 2011
5 – controle positivo

A sequência obtida apresentou 99% de similaridade com a sequência gb|EU868927.1| do Tomato chlorosis virus isolate JB heat shock protein 70 (HSP70) gene, proveniente de um isolado de Sumaré, depositada por Barbosa et al. (2008).

2.4.2 Avaliação da incidência

Os ensaios foram caracterizados por incidências relativamente baixas em todos os campos e épocas avaliados, com porcentagens que variaram de 0,38 a 2,48%. As Tabelas 3 a 9 apresentam os valores de incidência média observada em cada parcela. De forma geral, a parcelas localizadas nas partes centrais das lavouras, denominadas parcelas “D”, apresentaram incidências inferiores à das demais parcelas localizadas em regiões periféricas, fato que demonstra a importância do inóculo externo.

Em todos os ensaios conduzidos, os primeiros sintomas foram observados tardiamente, entre 46 e 86 após o transplante, sendo mais frequente a observação por volta dos 60 dias após o transplante. Isto se deve, primeiramente, ao período de latência relativamente longo já reportado para este vírus, de 30 a 60 dias após a infecção (WINTERMANTEL; WISLER, 2006;

BARBOSA, 2011) e possivelmente a uma escassez de fontes de inóculo no momento do estabelecimento da cultura.

As parcelas próximas a cultivos de soja foram as que apresentaram maiores níveis de incidências, seguidas por parcelas cultivadas próximas a cultivos de milho.

O experimento denominado neste trabalho como **Campo 1**, em **2009**, foi conduzido no sistema fertirrigado e avaliado de setembro a dezembro de 2009. A incidência máxima observada foi de 0,38% (Figura 14).

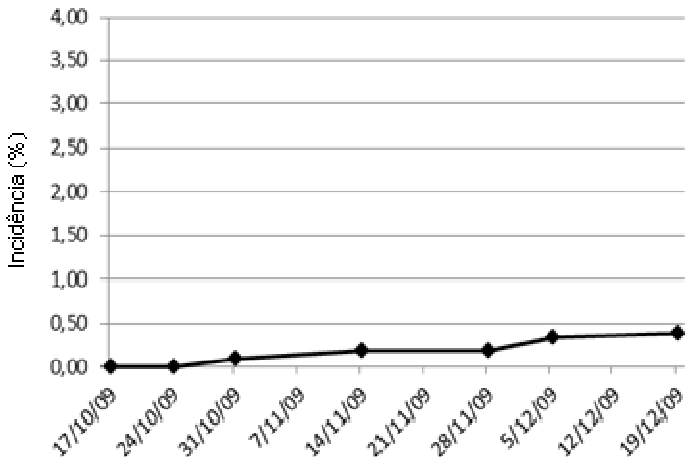

Figura 14 - Progresso da incidência (%) de ToCV no ensaio (CAMPO 1), conduzido em setembro a dezembro de 2009, em Sumaré-SP. Sistema fertirrigado
Esta incidência é semelhante à observada por Barbosa (2008), na mesma região.

No experimento denominado **Campo 1**, conduzido em **2010**, a incidência máxima observada foi de 2,48% (Figura 15).

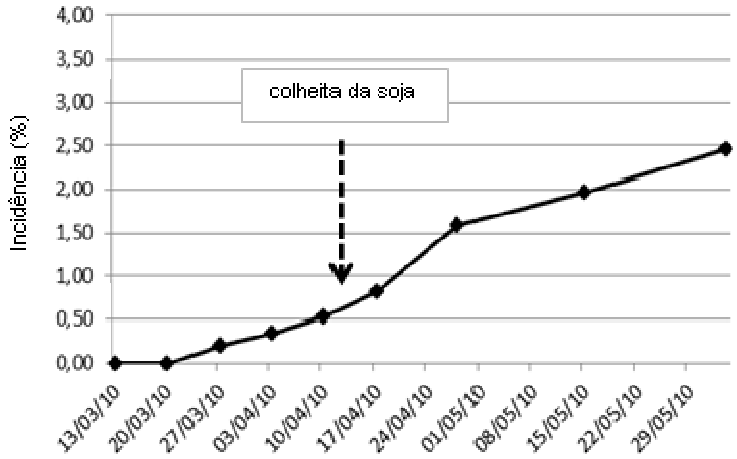

Figura 15 - Progresso da incidência (%) de ToCV no ensaio (CAMPO 1), conduzido em março a maio de 2010, em Sumaré-SP. Sistema fertirrigado

Nota-se que por volta dos 71 a 78 dias após o transplante das mudas (10/04 a 17/04), a incidência começa a sofrer um incremento pronunciado, fato que coincide com a colheita de um plantio de soja no entorno de uma das parcelas. Sendo o vetor do vírus também um colonizador de plantas de soja, fica evidente a migração das moscas brancas de uma cultura próxima para o ambiente prolífico mais próximo.

O ensaio denominado **Campo 2**, em **2010** apresentou incidência máxima de 0,48% (Figura 16).

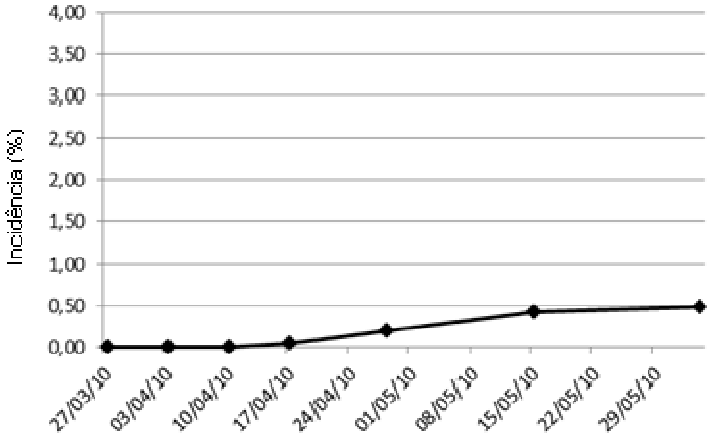

Figura 16 - Progresso da incidência (%) de ToCV no ensaio (CAMPO 2), conduzido em março a maio de 2010, em Sumaré-SP. Irrigação por sulco

Devido à condução no sistema de irrigação por sulco, foi observado durante todo o período de avaliação, apodrecimento dos folíolos do baixeiro das plantas, o que levou a um encerramento precoce das avaliações em relação aos demais campos.

Os experimentos conduzidos de outubro de 2010 a janeiro de 2011, de forma geral, atingiram níveis maiores de incidência quando comparados aos levantamentos das safras anteriores, apresentando valores de incidência bastante semelhantes entre si.

O **Campo 1, 2010/ 2011** apresentou incidência máxima de 1,73% (Figura 17).

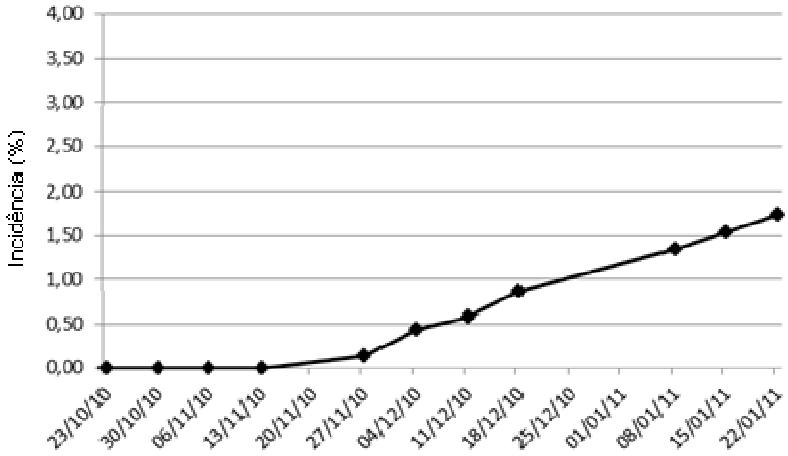

Figura 17 - Progresso da incidência (%) de ToCV no ensaio (CAMPO 1), conduzido em outubro a janeiro de 2011, em Sumaré-SP. Sistema fertirrigado

No **Campo 2, 2010/ 2011** a incidência máxima observada foi de 1,82% (Figura 18).

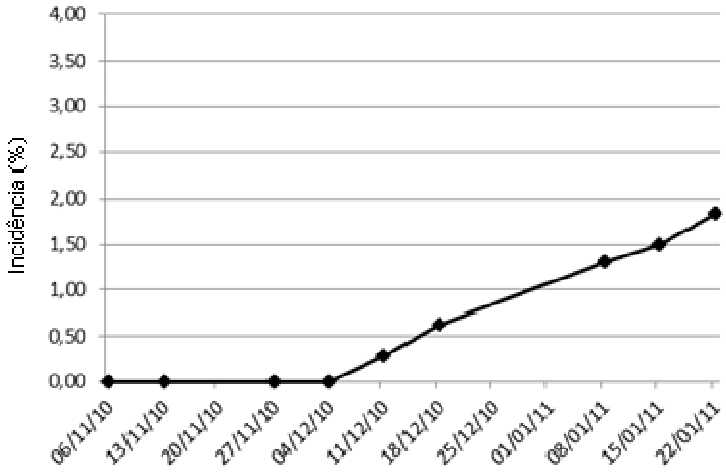

Figura 18 - Progresso da incidência (%) de ToCV no ensaio (CAMPO 2), conduzido em novembro a janeiro de 2011, em Sumaré-SP. Irrigação por sulco

No **Campo 3, 2010/ 2011** a incidência máxima observada foi de 1,58% (Figura 19).

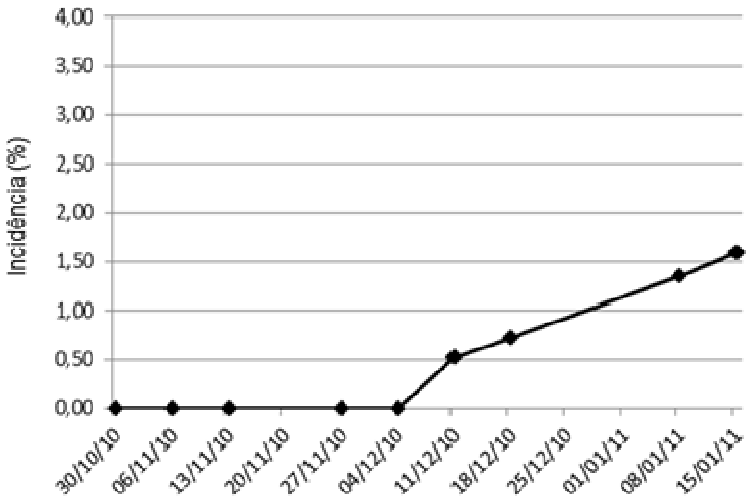

Figura 19 - Progresso da incidência (%) de ToCV no ensaio (CAMPO 3), conduzido em novembro a janeiro de 2011, em Sumaré-SP. Irrigação por sulco

O **Campo 4, 2010/ 2011** apresentou a maior incidência observada no período, com valor igual a 2,36% (Figura 20).

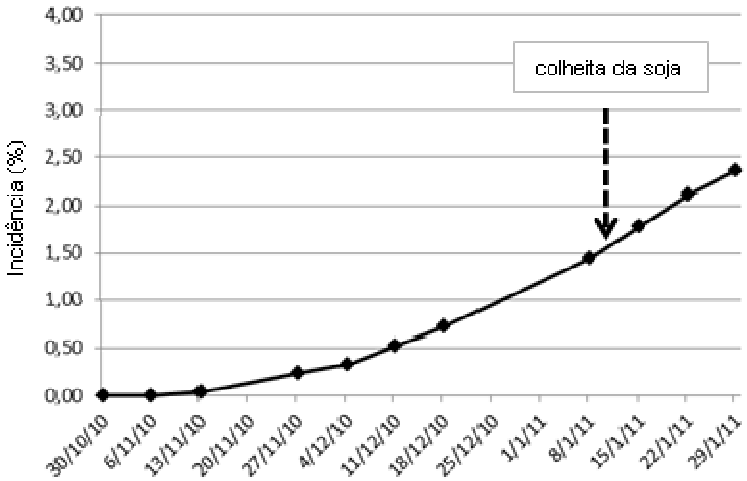

Figura 20 - Progresso da incidência (%) de ToCV no ensaio (CAMPO 4), conduzido em outubro a janeiro de 2011, em Sumaré-SP. Sistema fertirrigado

Assim como no C**ampo 2**, em **2010**, o sistema de irrigação adotado nos campos **2** e **3** em **2010/11** foi o de irrigação por sulco. Um fato notável nesses experimentos é o aparecimento de um grande número de plantas sintomáticas ao mesmo tempo.

Nas lavouras com esse sistema de irrigação, é comum a destruição parcial dos folíolos inferiores que acabam tendo contato com a água e solo permanentemente úmido, o que favorece seu apodrecimento. Como os sintomas da virose causada pelo ToCV são, a princípio, observados na porção do baixeiro, mesmo as plantas sintomáticas podem ser ignoradas, por não ser possível visualizar os sintomas no início de sua expressão.

A Figura 21 mostra o número de plantas sintomáticas no C**ampo 3** no dia 4 de dezembro de 2010, com zero por cento de incidência e sete dias depois, com onze plantas com sintomas da virose.

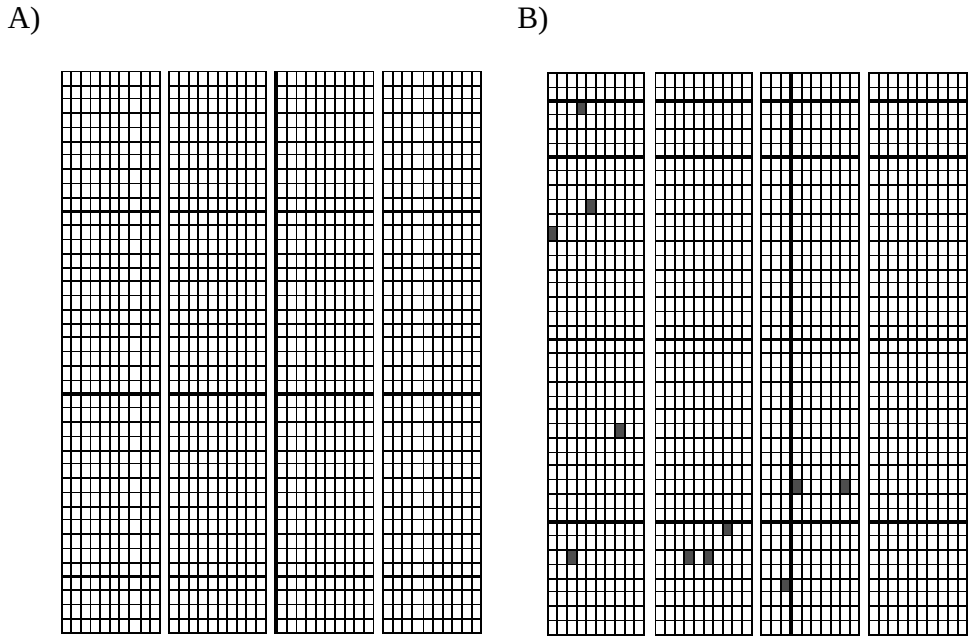

Figura 21 - Incidência de plantas sintomáticas no **campo 3**, em **2011**, em 4 de dezembro de 2010 (A) e em 11 de dezembro de 2011 (B)

Durante as avaliações, foram coletadas plantas invasoras próximas às plantas sintomáticas, porém o vírus não foi detectado em nenhuma das espécies coletadas.

A detecção do vírus pode ser dependente da quantidade de partículas virais presentes na amostra, mas o fato mais relevante pode ser que plantas assintomáticas sejam as reais fontes de inóculo.

O longo período de latência do vírus indica que plantas assintomáticas podem ter um papel importante nas epidemias do ToCV. Sobretudo quando se trata de mudas infectadas ainda nas estufas de produção, que são transplantadas sem qualquer indício da doença, antecipando a epidemia, ou mesmo podendo introduzir o vírus em novas áreas.

Em anos anteriores, levantamentos não sistemáticos e relatos dos agricultores apontavam para ocorrência de um grande número de plantas com sintomas característicos, sugerindo incidências superiores às observadas neste trabalho, embora não haja comprovação de que, nesses casos, o ToCV estivesse presente.

No Espírito Santo, incidências de até 100% podem ser observadas em plantios da região serrana, demonstrando o potencial de invasão das lavouras por esta virose. Nesses locais, o plantio escalonado na mesma região é uma prática comum o que contribui, para a sobrevivência e multiplicação do vetor, e consequentemente favorece a transmissão.

2.4.3 Análise temporal

De forma geral, as epidemias apresentaram curvas de crescimento linear, com ajuste fraco aos demais modelos de descrição de crescimento temporal.

Em parte, isso se deve à baixa incidência observada nos campos avaliados. O progresso linear da doença também é consequência do sistema de condução da cultura do tomate, em que há aplicação maciça de inseticidas para controle de pragas.

Nas lavouras avaliadas, eram realizadas no mínimo duas aplicações semanais, sendo pelo menos uma com inseticida. Desta forma, os indivíduos de mosca branca infectivos que chegavam às lavouras, tinham a possibilidade de transmitir o vírus, com melhores chances nas plantas das bordas, mas não de se estabelecer naquele sistema. Assim que uma nova pulverização era realizada, a população de vetores infectivos era eliminada, com posterior reinfestação. Os vetores

eram repostos continuamente a partir de fontes externas, caracterizando uma sucessão de infecções primárias.

O crescimento linear da incidência de ToYVSV, cujo vetor também é a mosca branca, foi observado por Della Vechia (2006) em campos comerciais de tomate em Sumaré. A incidência máxima nas parcelas avaliadas variou de 0,80 a 5,57%.

2.4.4 Análise espacial

A análise espacial foi baseada em mapas de dados binários, considerando a presença ou ausência de plantas doentes, como apresentado nas Figuras 22 e 23.

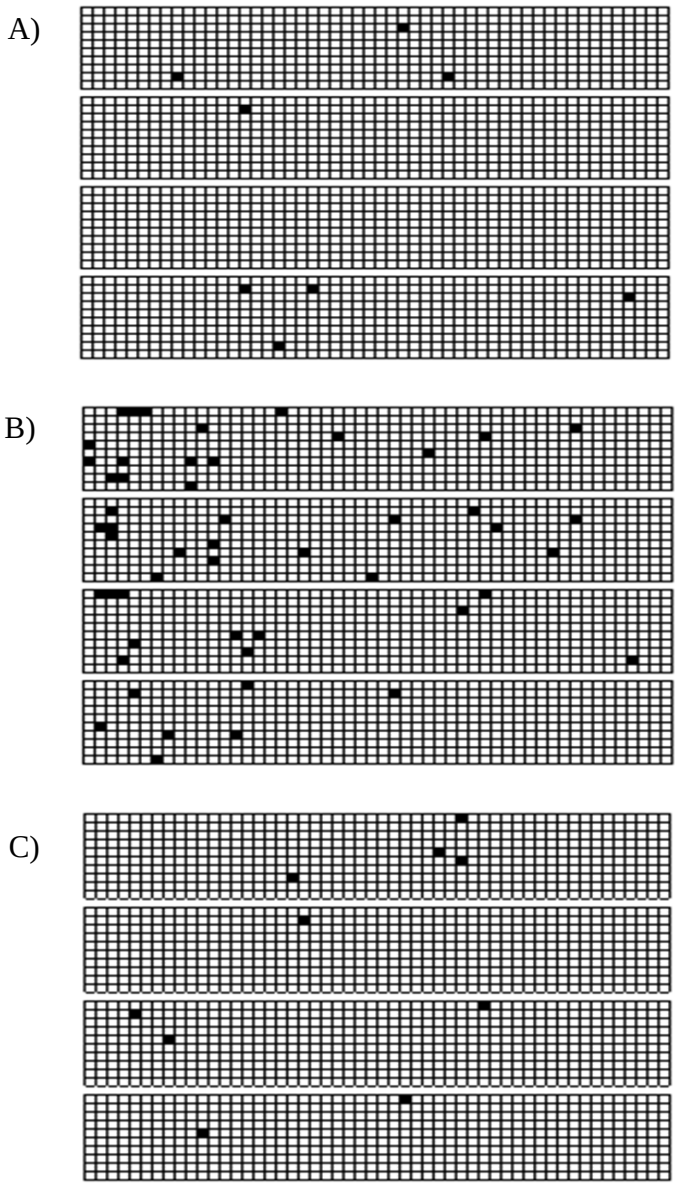

Figura 22 - Mapa da distribuição espacial de plantas sintomáticas em (A) Campo 1, época: setembro – dezembro de 2009; (B) Campo 1, época: março a maio de 2010; (C) Campo 2, época: março a maio de 2010. Os quadrados pretos representam plantas doentes e os quadrados brancos representam plantas sadias ou assintomáticas

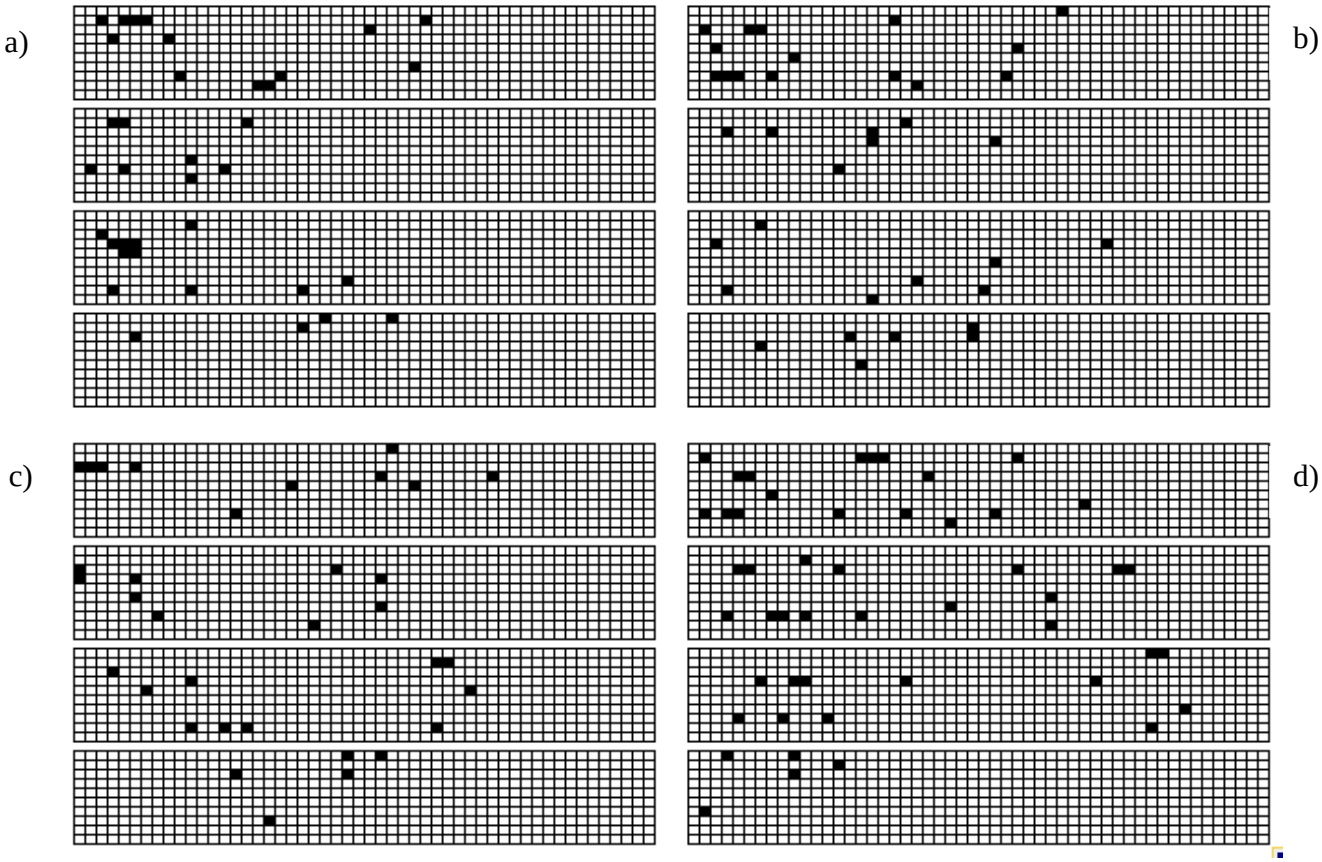

Figura 23 - Mapa da distribuição espacial de plantas com sintomas de ToCV em (a) Campo 1, época: novembro - janeiro de 2011; (b) Campo 2, época: novembro - janeiro de 2011; (C) Campo 3, época: novembro - janeiro de 2011; (d) Campo 4, época: novembro - janeiro de 2011. Os quadrados pretos representam plantas doentes e os quadrados brancos representam plantas sadias ou assintomáticas

Com base na posição das plantas sintomáticas nos quadrats, procedeu-se à aplicação do Índice de Dispersão e lei de Taylor modificada.

2.4.4.1 Índice de Dispersão (D)

O cálculo dos valores do índice de dispersão para os sete campos avaliados foi feito adotando-se o *quadrat 3x2*. A agregação da doença foi considerada quando os valores de ID foram significativamente (*) superiores a 1 e aleatoriedade considerada quando os valores de ID foram semelhantes a 1 pelo teste de χ^2 a 5% .

Tabela 3 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 1, 2009**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão

(continua)

Parcelas	*Data*	*DAT* [(1)]	*Incidência (%)*	*D Quadrat 3x2*	*log (Vobs)*	*log (Vbin)*	*b*	*log(A)*	*R^2* [(2)]
	17/10/09	32	0,00	_	_	_			
	24/10/09	39	0,00	_	_	_			
	31/10/09	46	0,00	_	_	_			
A	14/11/09	60	0,192	1,03	-3,369	-3,381	0,977	-0,067	0,99
	28/11/09	74	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
	5/12/09	81	0,385	1,01	-3,075	-3,081			
	19/12/09	95	0,577	1,00	-2,906	-2,906			
	17/10/09	32	0,00	_	_	_			
	24/10/09	39	0,00	_	_	_			
	31/10/09	46	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
B	14/11/09	60	0,192	1,03	-3,369	-3,381	_	_	_
	28/11/09	74	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
	5/12/09	81	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
	19/12/09	95	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
	17/10/09	32	0,00	–	–	–			
	24/10/09	39	0,00	–	–	–			
	31/10/09	46	0,00	–	–	–			
C	14/11/09	60	0,00	–	–	–	–	–	–
	28/11/09	74	0,00	–	–	–			
	5/12/09	81	0,00	–	–	–			
	19/12/09	95	0,00	–	–	–			

Tabela 3 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 1, 2009**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão

(conclusão)

Parcelas	*Data*	*DAT* [(1)]	*Incidência (%)*	*D Quadrat 3x2*	*log (Vobs)*	*log (Vbin)*	*b*	*log(A)*	R^2 [(2)]
	17/10/09	32	0,00	_	_	_			
	24/10/09	39	0,00	_	_	_			
	31/10/09	46	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
D	14/11/09	60	0,385	1,01	-3,075	-3,081	0,975	-0,071	0,99
	28/11/09	74	0,385	1,01	-3,075	-3,081			
	5/12/09	81	0,769	1,00	-2,906	-2,906			
	19/12/09	95	0,769	1,00	-2,906	-2,906			

[(1)] Dias após o transplante.
[(2)] Coeficiente de determinação da regressão.
[*] valores que diferem significativamente de 1 pelo teste de Qui-quadrado ($p<0,05$).
[**] Valores significativamente diferentes de 1([**]) para *b* e de 0 ([**]) para *log (A)*, pelo teste t ($p<0,05$).

Tabela 4 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 1, 2010**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão

(continua)

Parcelas	*Data*	*DAT* [(1)]	*Incidência (%)*	*D Quadrat 3x2*	*log (Vobs)*	*log (Vbin)*	*b*	*log(A)*	R^2 [(2)]
	13/03/10	43	0,00	_	_	_			
	20/03/10	50	0,00	_	_	_			
	27/03/10	57	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
	03/04/10	64	0,577	1,00	-2,906	-2,906			
A	10/04/10	71	0,962	0,97	-2,698	-2,687	1,156**	0,492**	0,99
	17/04/10	78	1,346	1,47*	-2,182	-2,351			
	28/04/10	89	2,308	1,41*	-2,164	-2,314			
	15/05/10	106	2,692	1,46*	-2,084	-2,250			
	3/6/10	125	3,269	1,36*	-2,060	-2,194			
	13/03/10	43	0,00	_	_	_			
	20/03/10	50	0,00	_	_	_			
	27/03/10	57	0,577	1,00	-2,906	-2,906			
	03/04/10	64	0,577	1,00	-2,906	-2,906			
B	10/04/10	71	0,769	0,99	-2,788	-2,783	1,023	0,061	0,99
	17/04/10	78	1,346	0,95	-2,567	-2,543			
	28/04/10	89	2,115	1,08	-2,316	-2,351			
	15/05/10	106	2,500	1,03	-2,269	-2,281			
	3/6/10	125	3,08	1,00	-2,249	-2,250			

Tabela 4 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 1, 2010**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão

(conclusão)

Parcelas	*Data*	*DAT* [(1)]	*Incidência (%)*	*D Quadrat 3x2*	*log (Vobs)*	*log (Vbin)*	*b*	*log(A)*	R^2 [(2)]
	13/03/10	43	0,00	_	_	_			
	20/03/10	50	0,00	_	_	_			
	27/03/10	57	0,00	_	_	_			
	03/04/10	64	0,00	_	_	_			
C	10/04/10	71	0,192	1,03	-3,369	-3,381	1,031	0,107	0,99
	17/04/10	78	0,385	1,01	-3,075	-3,081			
	28/04/10	89	1,346	0,95	-2,567	-2,543			
	15/05/10	106	1,731	1,15	-2,373	-2,436			
	3/6/10	125	2,115	1,12	-2,343	-2,391			
	13/03/10	43	0,00	_	_	_			
	20/03/10	50	0,00	_	_	_			
	27/03/10	57	0,00	_	_	_			
	03/04/10	64	0,00	_	_	_			
D	10/04/10	71	0,192	1,03	-3,369	-3,381	0,961	-0,118	0,99
	17/04/10	78	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
	28/04/10	89	0,577	1,00	-2,906	-2,906			
	15/05/10	106	0,962	0,97	-2,698	-2,687			
	3/6/10	125	1,346	0,95	-2,567	-2,543			

[(1)] Dias após o transplante.
[(2)] Coeficiente de determinação da regressão.
[*] valores que diferem significativamente de 1 pelo teste de Qui-quadrado ($p<0,05$).
[**] Valores significativamente diferentes de 1([**]) para *b* e de 0 ([**]) para *log (A)*, pelo teste t ($p<0,05$).

Tabela 5 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 2, 2010**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão

(continua)

Parcelas	*Data*	*DAT* [(1)]	*Incidência (%)*	*D Quadrat 3x2*	*log (Vobs)*	*log (Vbin)*	*b*	*log(A)*	R^2 [(2)]
A	27/03/10	46	0,000	_	_	_	_	_	_
	03/04/10	53	0,000	_	_	_			
	10/04/10	60	0,000	_	_	_			
	17/04/10	67	0,000	_	_	_			
	28/04/10	74	0,385	1,01	-3,075	-3,081			
	15/05/10	91	0,769	0,99	-2,788	-2,783			
	3/6/10	110	0,769	0,99	-2,788	-2,783			
B	27/03/10	46	0,000	_	_	_	_	_	_
	03/04/10	53	0,000	_	_	_			
	10/04/10	60	0,000	_	_	_			
	17/04/10	67	0,000	_	_	_			
	28/04/10	74	0,000	_	_	_			
	15/05/10	91	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
	3/6/10	110	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
C	27/03/10	46	0,000	_	_	_	0,977	-0,067	0,99
	03/04/10	53	0,000	_	_	_			
	10/04/10	60	0,000	_	_	_			
	17/04/10	67	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
	28/04/10	74	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
	15/05/10	91	0,385	1,01	-3,075	-3,081			
	3/6/10	110	0,577	1,00	-2,906	-2,906			

Tabela 5 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 2, 2010**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão

(conclusão)

Parcelas	*Data*	*DAT* [(1)]	*Incidência (%)*	*D Quadrat 3x2*	*log (Vobs)*	*log (Vbin)*	*b*	*log(A)*	R^2 [(2)]
D	27/03/10	46	0,000	–	–	–	0,980	-0,053	0,99
	03/04/10	53	0,000	–	–	–			
	10/04/10	60	0,000	–	–	–			
	17/04/10	67	0,000	–	–	–			
	28/04/10	74	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
	15/05/10	91	0,385	1,01	-3,075	-3,081			
	3/6/10	110	0,385	1,01	-3,075	-3,081			

[(1)] Dias após o transplante.
[(2)] Coeficiente de determinação da regressão.
[*] valores que diferem significativamente de 1 pelo teste de Qui-quadrado (p<0,05).
[**] Valores significativamente diferentes de 1([**]) para *b* e de 0 ([**]) para *log (A)*, pelo teste t (p<0,05).

Tabela 6 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 1, 2011**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão

(continua)

Parcelas	*Data*	*DAT* [(1)]	*Incidência (%)*	*D Quadrat 3x2*	*log (Vobs)*	*log (Vbin)*	*b*	*log(A)*	R^2 [(2)]
	23/10/10	30	0,000	_	_	_			
	30/10/10	37	0,000	_	_	_			
	06/11/10	44	0,000	_	_	_			
	13/11/10	51	0,000	_	_	_			
	27/11/10	65	0,385	1,01	-3,0750	-3,0814			
A	04/12/10	72	0,385	1,01	-3,0750	-3,0814	1,107	0,381	0,98
	11/12/10	79	0,769	1,51*	-2,6025	-2,7825			
	18/12/10	86	0,962	1,40*	-2,5419	-2,6867			
	08/01/11	107	1,731	1,39*	-2,2923	-2,4359			
	15/01/11	114	2,115	1,28	-2,2439	-2,3509			
	22/01/11	121	2,500	1,19	-2,2041	-2,2806			
	23/10/10	30	0,000	_	_	_			
	30/10/10	37	0,000	_	_	_			
	06/11/10	44	0,000	_	_	_			
	13/11/10	51	0,000	_	_	_			
	27/11/10	65	0,000	_	_	_			
B	04/12/10	72	0,769	0,99	-2,7880	-2,7825	1,332*	0,911*	0,99
	11/12/10	79	0,769	0,99	-2,7880	-2,7825			
	18/12/10	86	0,962	0,97	-2,6983	-2,6867			
	08/01/11	107	1,35	1,25	-2,4462	-2,5428			
	15/01/11	114	1,54	1,20	-2,4075	-2,4859			
	22/01/11	121	1,54	1,20	-2,4075	-2,4859			

Tabela 6 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 1, 2011**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão

(conclusão)

Parcelas	*Data*	*DAT* [(1)]	*Incidência (%)*	*D Quadrat 3x2*	*log (Vobs)*	*log (Vbin)*	*b*	*log(A)*	R^2 [(2)]
	23/10/10	30	0,000	–	–	–			
	30/10/10	37	0,000	–	–	–			
	06/11/10	44	0,000	–	–	–			
	13/11/10	51	0,000	–	–	–			
	27/11/10	65	0,000	–	–	–			
C	04/12/10	72	0,385	1,01	-3,0750	-3,0814	1,417*	1,265*	0,98
	11/12/10	79	0,577	1,00	-3,0750	-3,0814			
	18/12/10	86	0,962	1,40*	-2,6025	-2,7825			
	08/01/11	107	1,538	2,00*	-2,5419	-2,6867			
	15/01/11	114	1,731	1,87*	-2,2923	-2,4359			
	22/01/11	121	2,115	1,67*	-2,2439	-2,3509			
	23/10/10	30	0,00	–	–	–			
	30/10/10	37	0,000	–	–	–			
	06/11/10	44	0,000	–	–	–			
	13/11/10	51	0,000	–	–	–			
	27/11/10	65	0,192	1,03	-3,3692	-3,3813			
D	04/12/10	72	0,192	1,03	-3,3692	-3,3813	0,971	-0,084	0,99
	11/12/10	79	0,192	1,03	-3,3692	-3,3813			
	18/12/10	86	0,577	1,00	-2,9059	-2,9064			
	08/01/11	107	0,769	0,99	-2,7880	-2,7825			
	15/01/11	114	0,769	0,99	-2,7880	-2,7825			
	22/01/11	121	0,769	0,99	-2,7880	-2,7825			

[(1)] Dias após o transplante.
[(2)] Coeficiente de determinação da regressão.
[*] valores que diferem significativamente de 1 pelo teste de Qui-quadrado ($p<0,05$).
[**] Valores significativamente diferentes de 1([**]) para *b* e de 0 ([**]) para *log (A)*, pelo teste t ($p<0,05$).

Tabela 7 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 2, 2011**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão

(continua)

Parcelas	*Data*	*DAT* [(1)]	*Incidência (%)*	*D Quadrat 3x2*	*log (Vobs)*	*log (Vbin)*	*b*	*log(A)*	R^2 [(2)]
A	06/11/10	51	0,000	–	–	–	1,053	0,125	0,99
	13/11/10	58	0,000	–	–	–			
	27/11/10	72	0,000	–	–	–			
	04/12/10	79	0,000	–	–	–			
	11/12/10	86	0,962	0,97	-2,698	-2,687			
	18/12/10	93	1,346	0,95	-2,567	-2,543			
	08/01/11	114	2,308	1,05	-2,291	-2,314			
	15/01/11	121	2,500	1,03	-2,269	-2,281			
	22/01/11	128	2,885	0,98	-2,231	-2,221			
B	06/11/10	51	0,000	–	–	–	0,628	-0,850	0,99
	13/11/10	58	0,000	–	–	–			
	27/11/10	72	0,000	–	–	–			
	04/12/10	79	0,000	–	–	–			
	11/12/10	86	0,000	–	–	–			
	18/12/10	93	0,577	1,7*	-2,676	-2,906			
	08/01/11	114	0,962	1,4*	-2,542	-2,687			
	15/01/11	121	1,154	1,31*	-2,491	-2,609			
	22/01/11	128	1,35	1,25	-2,446	-2,543			

Tabela 7 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 2, 2011**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão

(conclusão)

Parcelas	*Data*	*DAT* [(1)]	*Incidência (%)*	*D Quadrat 3x2*	*log (Vobs)*	*log (Vbin)*	*b*	*log(A)*	R^2 [(2)]
C	06/11/10	51	0,000	–	–	–	0,959	-0,127	0,99
	13/11/10	58	0,000	–	–	–			
	27/11/10	72	0,000	–	–	–			
	04/12/10	79	0,000	–	–	–			
	11/12/10	86	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
	18/12/10	93	0,385	1,03	-3,369	-3,381			
	08/01/11	114	0,769	0,99	-2,788	-2,783			
	15/01/11	121	1,346	0,97	-2,698	-2,687			
	22/01/11	128	1,923	0,93	-2,516	-2,486			
D	06/11/10	51	0,00	–	–	–	0,965	-0,107	0,99
	13/11/10	58	0,000	–	–	–			
	27/11/10	72	0,000	–	–	–			
	04/12/10	79	0,000	–	–	–			
	11/12/10	86	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
	18/12/10	93	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
	08/01/11	114	0,769	0,99	-2,788	-2,783			
	15/01/11	121	0,962	0,97	-2,698	-2,687			
	22/01/11	128	1,154	0,96	-2,626	-2,609			

[(1)] Dias após o transplante.
[(2)] Coeficiente de determinação da regressão.
[*] valores que diferem significativamente de 1 pelo teste de Qui-quadrado ($p<0,05$).
[**] Valores significativamente diferentes de 1([**]) para *b* e de 0 ([**]) para *log (A)*, pelo teste t ($p<0,05$).

Tabela 8 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 3, 2011**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão

(continua)

Parcelas	*Data*	*DAT* [(1)]	*Incidência (%)*	*D Quadrat 3x2*	*log (Vobs)*	*log (Vbin)*	*b*	*log(A)*	R^2 [(2)]
A	30/10/10	42	0,000	–	–	–	1,820	2,152	0,93
	06/11/10	49	0,000	–	–	–			
	13/11/10	56	0,000	–	–	–			
	27/11/10	70	0,000	–	–	–			
	04/12/10	77	0,000	–	–	–			
	11/12/10	84	0,962	0,97	-2,698	-2,687			
	18/12/10	91	1,346	0,95	-2,567	-2,543			
	08/01/11	112	1,731	1,63*	-2,224	-2,436			
	15/01/11	119	1,923	1,55*	-2,202	-2,391			
B	30/10/10	42	0,000	–	–	–	1,175	0,497	0,99
	06/11/10	49	0,000	–	–	–			
	13/11/10	56	0,000	–	–	–			
	27/11/10	70	0,000	–	–	–			
	04/12/10	77	0,000	–	–	–			
	11/12/10	84	0,577	1,00	-2,906	-2,906			
	18/12/10	91	0,577	0,99	-2,788	-2,783			
	08/01/11	112	1,538	1,20	-2,407	-2,486			
	15/01/11	119	1,73	1,15	-2,373	-2,436			

Tabela 8 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 3, 2011**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão

(conclusão)

Parcelas	*Data*	*DAT* [(1)]	*Incidência (%)*	*D Quadrat 3x2*	*log (Vobs)*	*log (Vbin)*	*b*	*log(A)*	R^2 [(2)]
C	30/10/10	42	0,000	–	–	–	0,924	-0,220	0,99
	06/11/10	49	0,000	–	–	–			
	13/11/10	56	0,000	–	–	–			
	27/11/10	70	0,000	–	–	–			
	04/12/10	77	0,000	–	–	–			
	11/12/10	84	0,577	1,0	-2,906	-2,906			
	18/12/10	91	0,577	1,0	-2,906	-2,906			
	08/01/11	112	1,346	0,95	-2,567	-2,543			
	15/01/11	119	1,731	0,92	-2,473	-2,436			
D	30/10/10	42	0,00	–	–	–	0,956	-0,129	0,99
	06/11/10	49	0,000	–	–	–			
	13/11/10	56	0,000	–	–	–			
	27/11/10	70	0,000	–	–	–			
	04/12/10	77	0,000	–	–	–			
	11/12/10	84	0,000	–	–	–			
	18/12/10	91	0,385	1,01	-3,075	-3,081			
	08/01/11	112	0,769	0,99	-2,788	-2,783			
	15/01/11	119	0,962	0,97	-2,698	-2,687			

[(1)] Dias após o transplante.
[(2)] Coeficiente de determinação da regressão.
[*] valores que diferem significativamente de 1 pelo teste de Qui-quadrado ($p<0,05$).
[**] Valores significativamente diferentes de 1([**]) para *b* e de 0 ([**]) para *log (A)*, pelo teste t ($p<0,05$).

Tabela 9 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 4, 2011**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão

(continua)

Parcelas	*Data*	*DAT* [(1)]	*Incidência (%)*	*D Quadrat 3x2*	*log (Vobs)*	*log (Vbin)*	*b*	*log(A)*	R^2 [(2)]
A	30/10/10	35	0,000	–	–	–	1,114*	0,365*	0,99
	06/11/10	42	0,000	–	–	–			
	13/11/10	49	0,000	–	–	–			
	27/11/10	63	0,000	–	–	–			
	04/12/10	70	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
	11/12/10	77	0,577	1,00	-2,906	-2,906			
	18/12/10	84	0,577	1,00	-2,906	-2,906			
	08/01/11	105	1,346	1,25	-2,446	-2,543			
	15/01/11	112	2,115	1,28	-2,244	-2,351			
	22/01/11	119	2,692	1,16	-2,187	-2,250			
	29/01/11	126	3,269	1,44*	-2,009	-2,169			
B	30/10/10	35	0,000	–	–	–	1,054	0,159	0,99
	06/11/10	42	0,000	–	–	–			
	13/11/10	49	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
	27/11/10	63	0,769	0,99	-2,788	-2,783			
	04/12/10	70	0,962	0,97	-2,698	-2,687			
	11/12/10	77	0,962	0,97	-2,698	-2,687			
	18/12/10	84	1,346	0,95	-2,567	-2,543			
	08/01/11	105	2,308	1,08	-2,316	-2,351			
	15/01/11	112	2,31	1,08	-2,316	-2,351			
	22/01/11	119	2,69	1,19	-2,204	-2,281			
	29/01/11	126	2,88	1,16	-2,187	-2,250			

Tabela 9 - ToCV em lavouras comerciais de tomate, município de Sumaré, **Campo 4, 2011**. Incidência (%), Índice de dispersão (D), parâmetros A e b da Lei de Taylor e coeficiente de determinação da regressão

(conclusão)

Parcelas	*Data*	*DAT* [(1)]	*Incidência (%)*	*D Quadrat 3x2*	*log (Vobs)*	*log (Vbin)*	*b*	*log(A)*	R^2 [(2)]
	30/10/10	35	0,000	–	–	–			
	06/11/10	42	0,000	–	–	–			
	13/11/10	49	0,000	–	–	–			
	27/11/10	63	0,000	–	–	–			
	04/12/10	70	0,000	–	–	–			
C	11/12/10	77	0,385	1,01	-3,075	-3,081	1,149*	0,454*	0,99
	18/12/10	84	0,577	1,00	-2,906	-2,906			
	08/01/11	105	1,538	1,25	-2,446	-2,543			
	15/01/11	112	1,731	1,20	-2,407	-2,486			
	22/01/11	119	2,115	1,20	-2,407	-2,486			
	29/01/11	126	2,308	1,20	-2,407	-2,486			
	30/10/10	35	0,00	–	–	–			
	06/11/10	42	0,000	–	–	–			
	13/11/10	49	0,000	–	–	–			
	27/11/10	63	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
	04/12/10	70	0,192	1,03	-3,369	-3,381			
D	11/12/10	77	0,192	1,03	-3,369	-3,381	0,966	-0,101	0,99
	18/12/10	84	0,385	1,01	-3,075	-3,081			
	08/01/11	105	0,577	1,00	-2,906	-2,906			
	15/01/11	112	0,962	0,97	-2,698	-2,687			
	22/01/11	119	0,962	0,97	-2,698	-2,687			
	29/01/11	126	0,962	0,97	-2,698	-2,687			

[(1)] Dias após o transplante.
[(2)] Coeficiente de determinação da regressão.
[*] valores que diferem significativamente de 1 pelo teste de Qui-quadrado ($p<0,05$).
[**] Valores significativamente diferentes de 1([**]) para *b* e de 0 ([**]) para *log (A)*, pelo teste t ($p<0,05$)

O índice de dispersão observado para o campo1, 2009 mostra uma distribuição ao acaso de plantas doentes. Os valores de log (A) e b não diferiram de 0 e 1, respectivamente.

No campo 1 de 2010, a parcela A apresentou valores de índice de dispersão significativamente superiores a 1, indicando agregação de plantas doentes a partir dos 78 dias após o transplante. Os parâmetros log(a) e b foram significativamente superiores a 0 e 1 respectivamente, demonstrando um padrão de distribuição agregado que varia com a incidência.

No campo 2, 2010, a incidência de plantas doentes assumiu uma distribuição ao acaso.

Nas parcelas B e C do campo 1, 2011, o índice de dispersão indicou agregação da distribuição de plantas doentes. Os valores de log (A) e b em ambas as parcelas diferiram de 0 e 1, respectivamente ($p>0,05$).

No campo 2, 2011, foi observada agregação na parcela B, segundo o índice de dispersão, porém os valores de log(A) e b indicam que a incidência não influenciou a agregação.

No campo 3, 2011, foi observada agregação na parcela A, segundo o índice de dispersão, porém a incidência não influenciou o padrão agregado.

No campo 4, 2011 a parcela A apresentou índice de dispersão significativamente superior a 1, na última avaliação. Os valores de log(a) e b foram significativamente superiores a 0 e 1 respectivamente, portanto com agregação que varia com a incidência.

O padrão aleatório ficou evidente em todas as parcelas dos campos 1 de 2009 e campo 2 de 2010.

2.4.4.2 Aplicação da Lei de Taylor modificada

As retas dos ajustes dos dados de coleta para cada campo estão apresentadas nas Figuras 23 a 30. Quanto mais distante da reta de casualidade maior o indicativo de agregação.

Assim, como o índice de dispersão, esta análise demonstrou um comportamento diferente nos sete campos estudados. No campo 1 2009 os resultados demonstram forte aleatoriedade na distribuição da doença. Mais uma vez, a baixa incidência pode ter contribuído para este resultado.

No campo 1 2010, as parcelas A e B tiveram suas retas distanciadas da reta de causalidade, corroborando com o resultado observado no índice de dispersão que demonstrou agregação da distribuição espacial da doença. Embora esta se concentre predominantemente nos bordos das parcelas, os valores de log (A) e b, na parcela A mostram que a agregação variou com a incidência.

No campo 2 2010, a distribuição de plantas doentes assumiu um padrão aleatório, demonstrado tanto pelo índice de dispersão quanto pela aplicação da Lei de Taylor modificada.

No campo 1 2011, somente as parcelas B e C apresentaram uma distribuição agregada significativa, nas quais é possível perceber que as incidências de 1,54% e 2,12% respectivamente, se concentram nas bordas das parcelas.

A parcela B no campo 2 2011, e a parcela A no campo 3 2011, mostram um ligeiro afastamento da curva de causalidade, porém de forma não significativa. O padrão de distribuição predominantes nestes ensaios foi aleatório.

O campo 4 2011 apresentou padrão agregado de distribuição de plantas doentes nas parcelas A e C, com um leve distanciamento da curva da casualidade.

Para várias pragas, incluindo a mosca branca, tem sido demonstrado que aplicações de inseticidas alteram o padrão de dispersão dos insetos, na maioria dos casos diminuindo a agregação das doenças por eles transmitidas (LIU; OETINING; BUNTIN, 1993).

Apesar disto, a incidência parece desempenhar um importante papel na agregação ou aleatoriedade da distribuição da doença, tendo em vista que, nas parcelas onde se observou agregação, os valores de log (a) e b foram significativamente superiores a 0 e 1 respectivamente, portanto a agregação variou com a incidência.

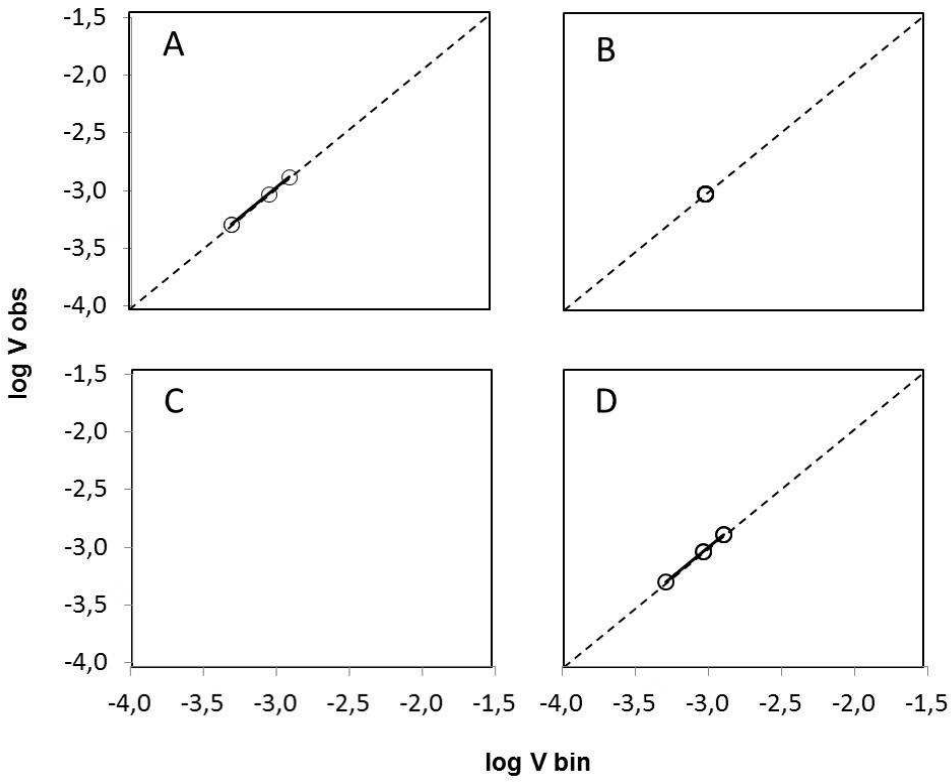

Figura 24 - Aplicação da lei de Taylor modificada. Relação entre o logaritmo da variância observada [log (V_{obs})] e o logaritmo da variância binomial [log (V_{bin})] para os dados das parcelas A, B, C e D do **Campo 1, 2009**, em Sumaré – SP

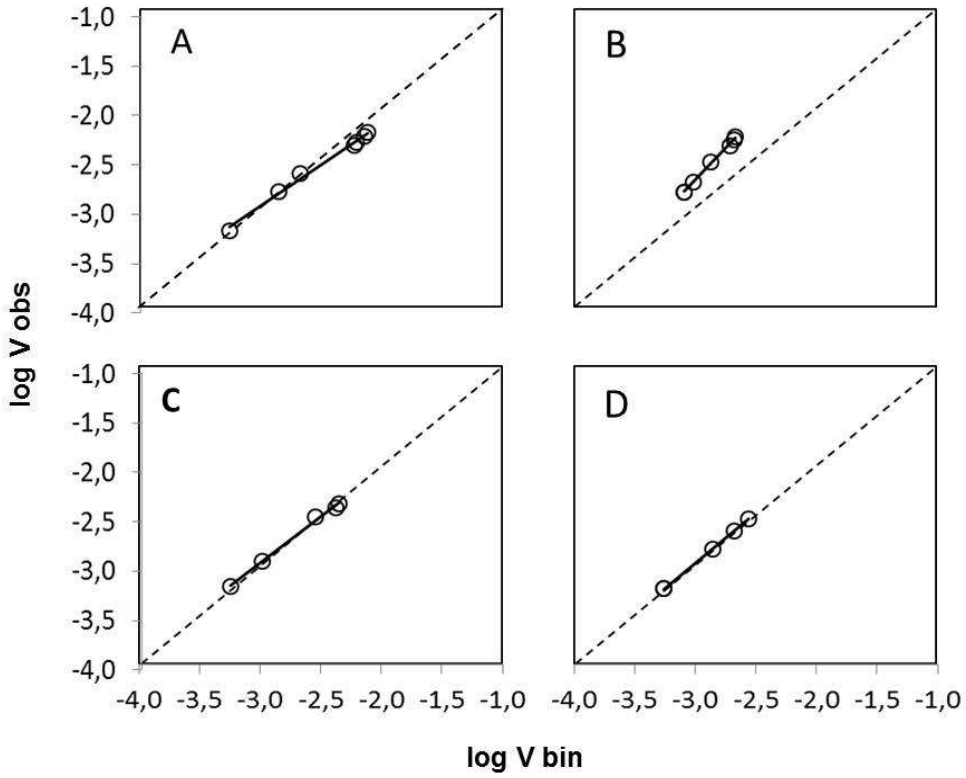

Figura 25 - Aplicação da lei de Taylor modificada. Relação entre o logaritmo da variância observada [log(V_{obs})] e o logaritmo da variância binomial [log (V_{bin})] para os dados das parcelas A, B, C e D do **Campo 1, 2010**, em Sumaré – SP

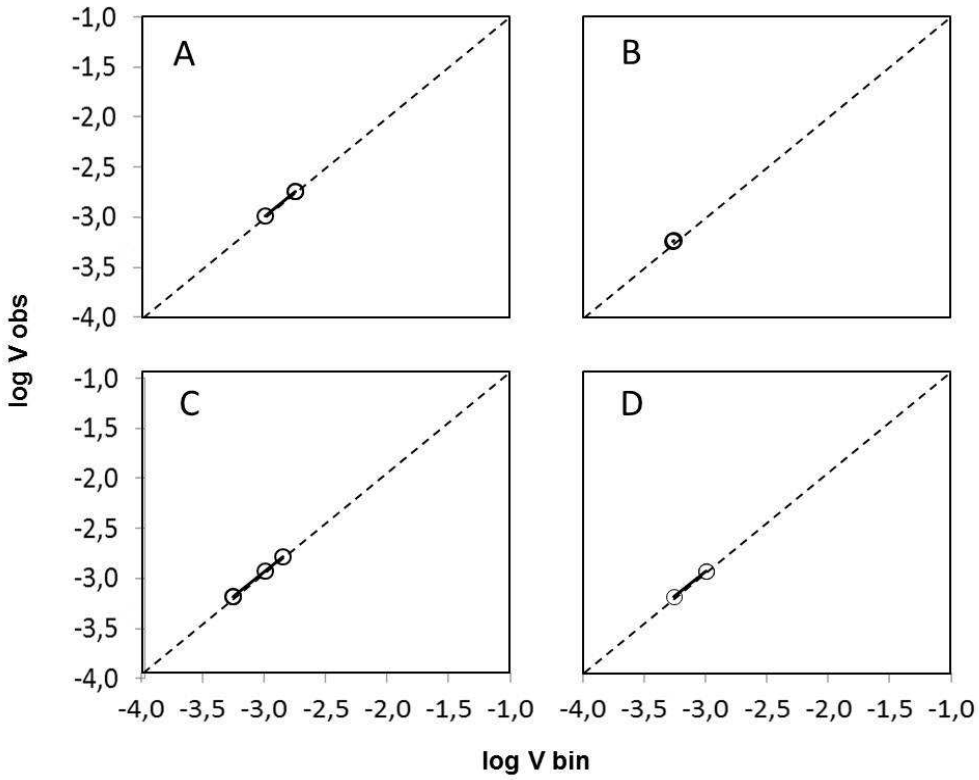

Figura 26 - Aplicação da lei de Taylor modificada. Relação entre o logaritmo da variância observada [log(V_{obs})] e o logaritmo da variância binomial [log (V_{bin})] para os dados das parcelas A, B, C e D do **Campo 2, 2010**, em Sumaré – SP

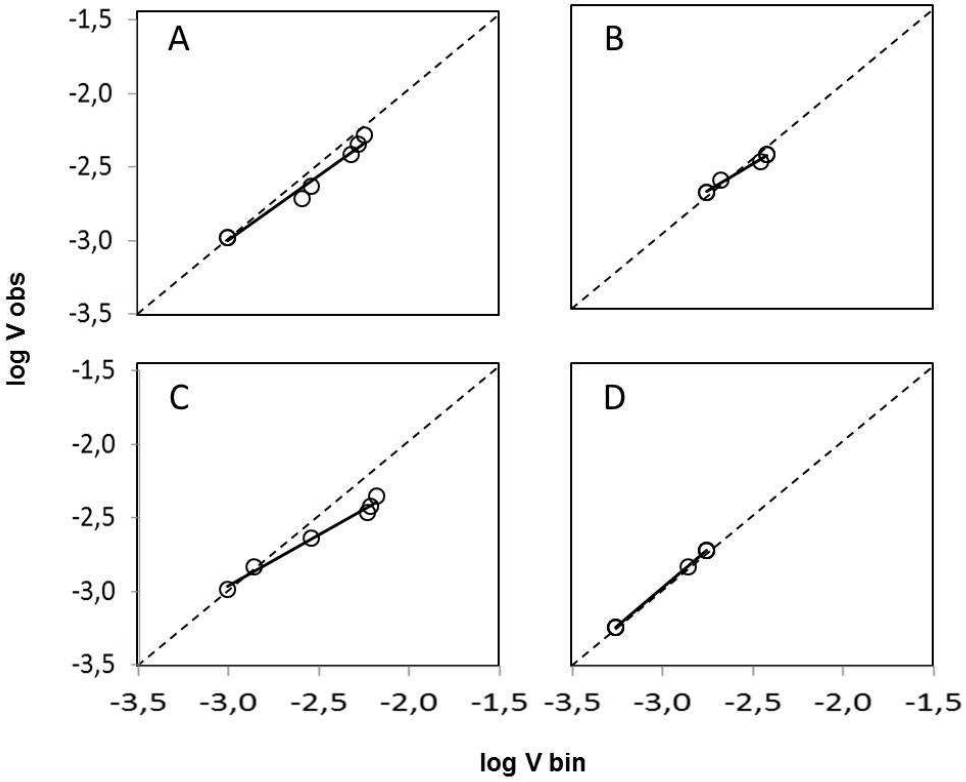

Figura 27 - Aplicação da lei de Taylor modificada. Relação entre o logaritmo da variância observada [log (V_{obs})] e o logaritmo da variância binomial [log (V_{bin})] para os dados das parcelas A, B, C e D do **Campo 1, 2011**, em Sumaré – SP

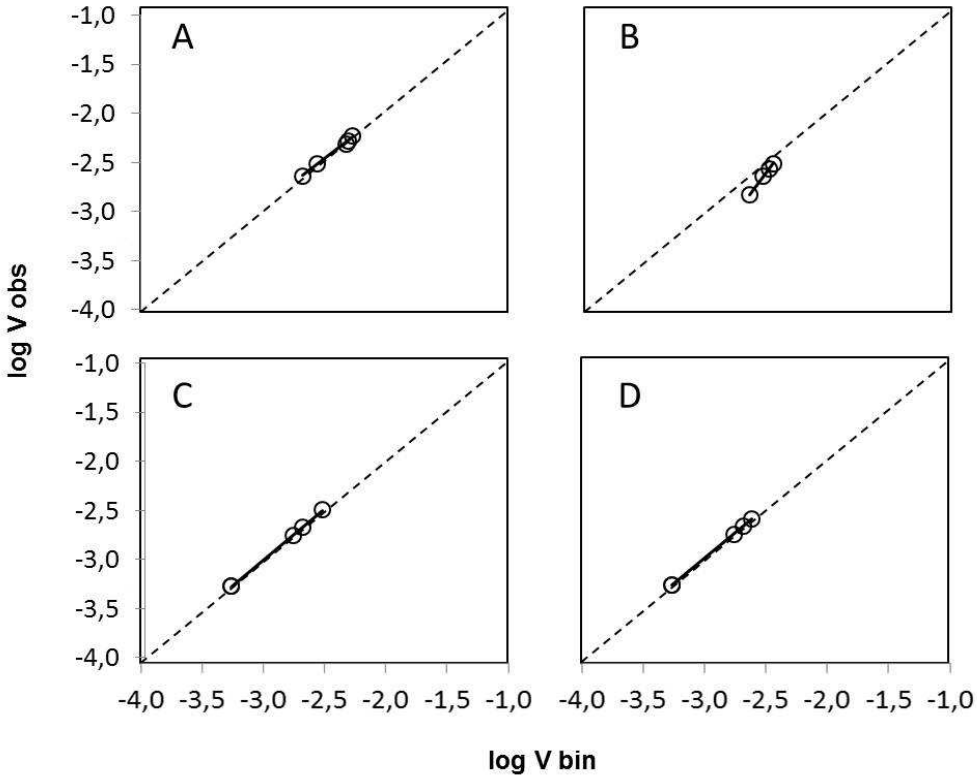

Figura 28 - Aplicação da lei de Taylor modificada. Relação entre o logaritmo da variância observada [log (V_{obs})] e o logaritmo da variância binomial [log (V_{bin})] para os dados das parcelas A, B, C e D do **Campo 2, 2011**, em Sumaré – SP

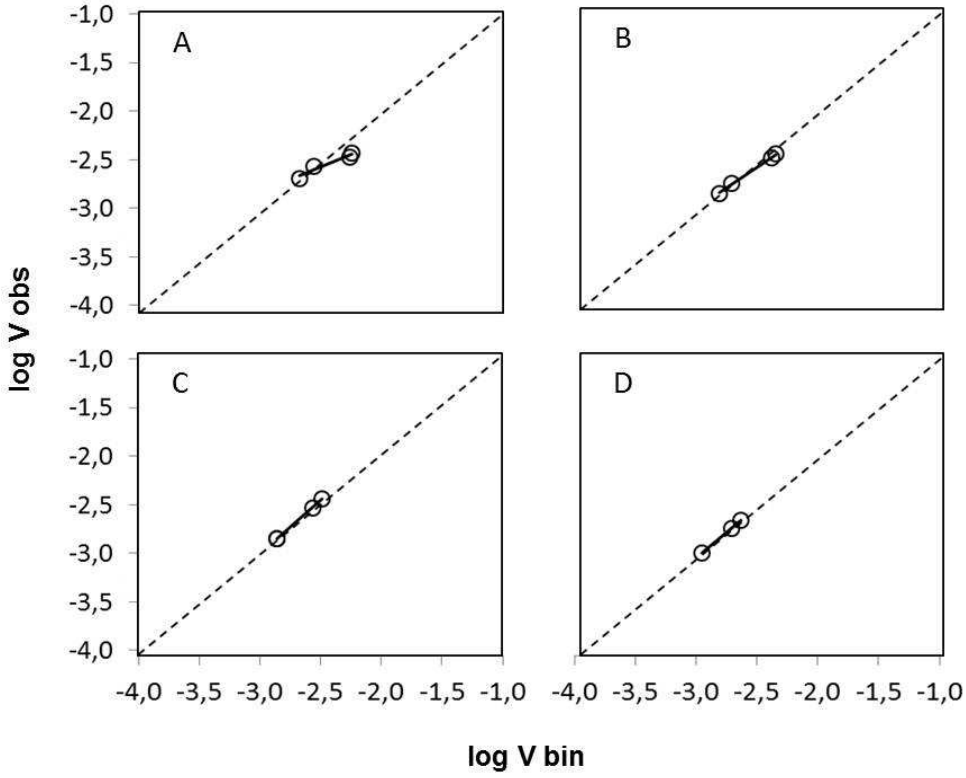

Figura 29 - Aplicação da lei de Taylor modificada. Relação entre o logaritmo da variância observada [log (V_{obs})] e o logaritmo da variância binomial [log (V_{bin})] para os dados das parcelas A, B, C e D do **Campo 3, 2011**, em Sumaré – SP

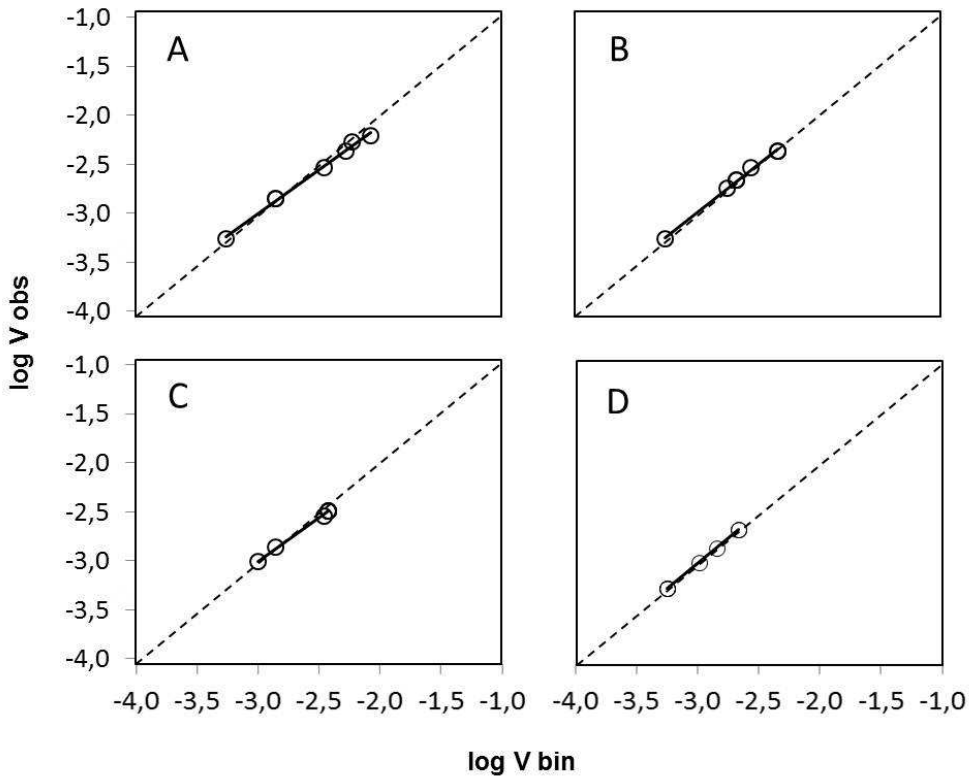

Figura 30 - Aplicação da lei de Taylor modificada. Relação entre o logaritmo da variância observada [log (V_{obs})] e o logaritmo da variância binomial [log (V_{bin})] para os dados das parcelas A, B, C e D do **Campo 4, 2011**, em Sumaré – SP

2.4.4.3 Áreas isópatas

As áreas isópatas foram estabelecidas com base nos mapas de distribuição espacial de plantas doentes da última avaliação em cada campo, demonstrando gradientes de incidência (Figuras 31-37).

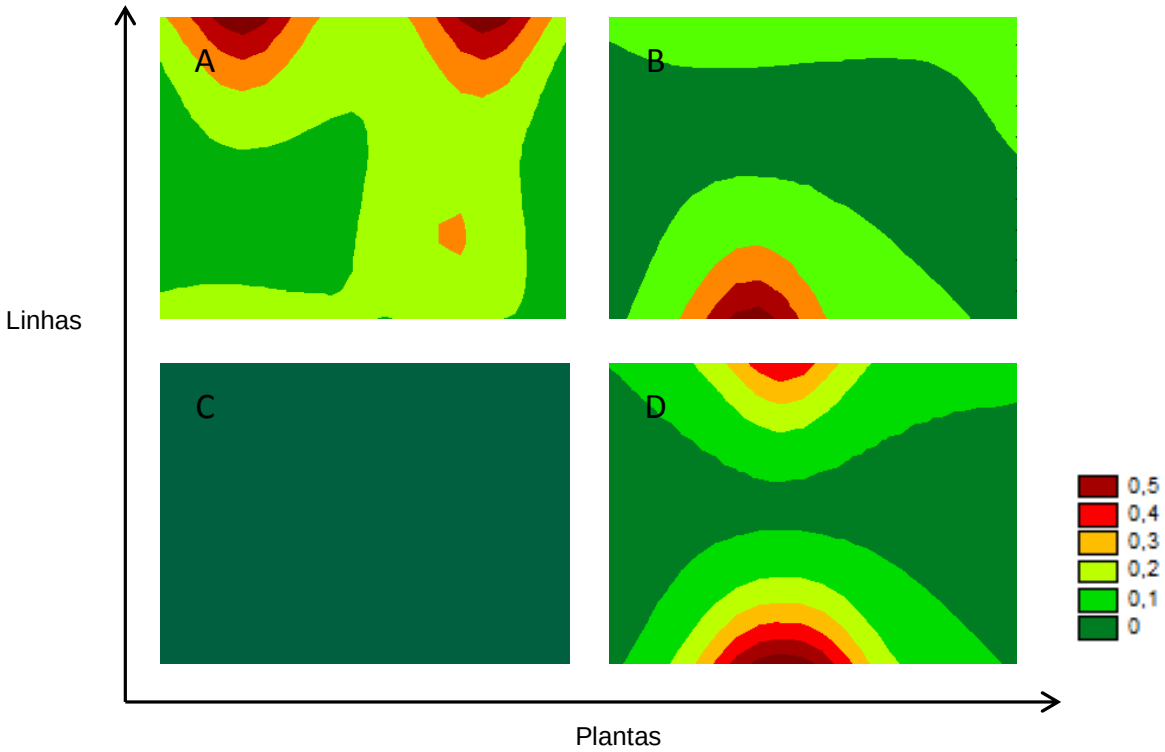

Figura 31 - Áreas isópatas referentes à última avaliação da incidência de plantas infectadas por ToCV, em campo comercial de Sumaré – SP (**campo 1, 2009**). As cores indicam uma variação nos valores de incidência (verde escuro – ausência de plantas sintomáticas; vermelho escuro – maior incidência de plantas sintomáticas)

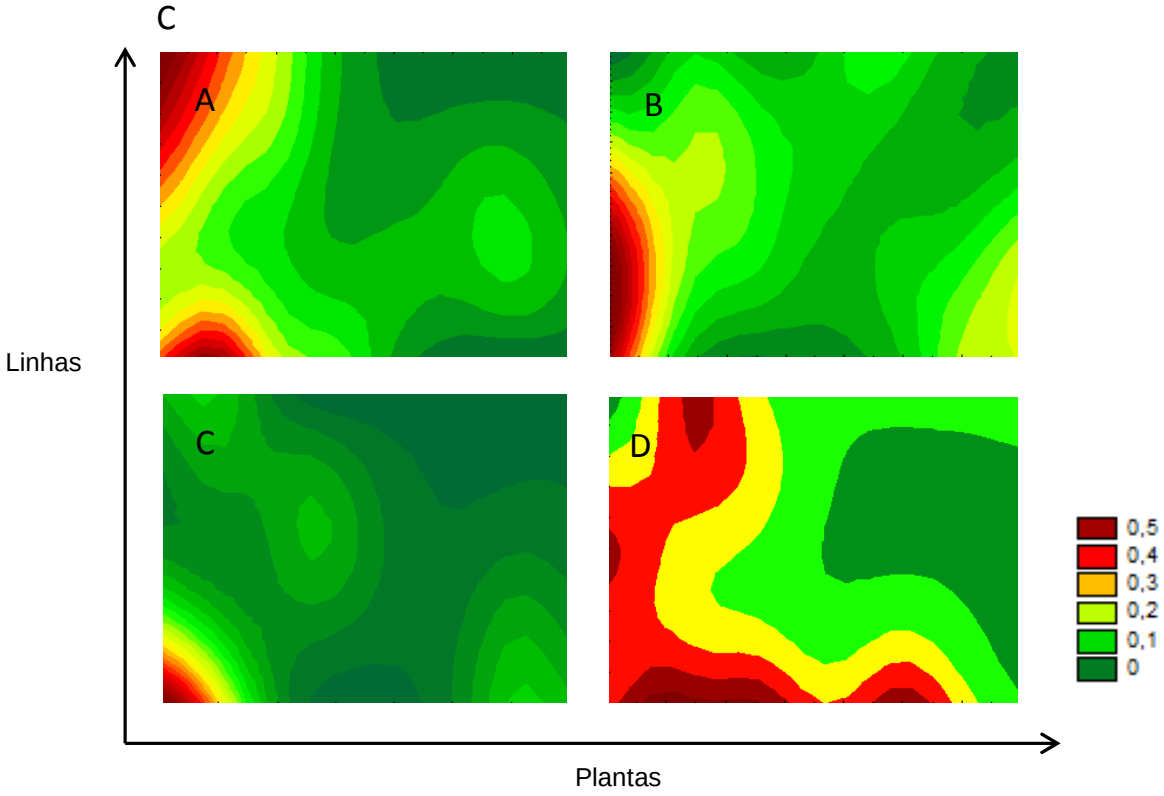

Figura 32 - Áreas isópatas referentes à última avaliação da incidência de plantas infectadas por ToCV, em campo comercial de Sumaré – SP (**campo 1, 2010**). As cores indicam uma variação nos valores de incidência (verde escuro – ausência de plantas sintomáticas; vermelho escuro – maior incidência de plantas sintomáticas)

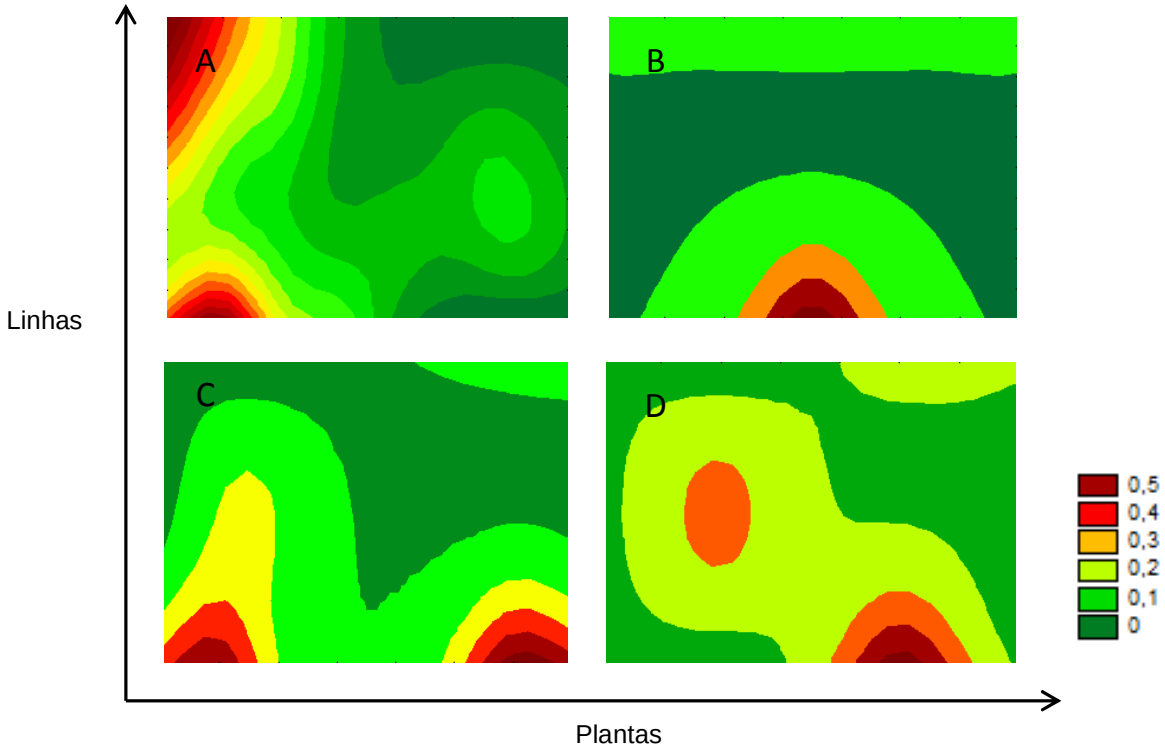

Figura 33 - Áreas isópatas referentes à última avaliação da incidência de plantas infectadas por ToCV, em campo comercial de Sumaré – SP (**campo 2, 2010**). As cores indicam uma variação nos valores de incidência (verde escuro – ausência de plantas sintomáticas; vermelho escuro – maior incidência de plantas sintomáticas)

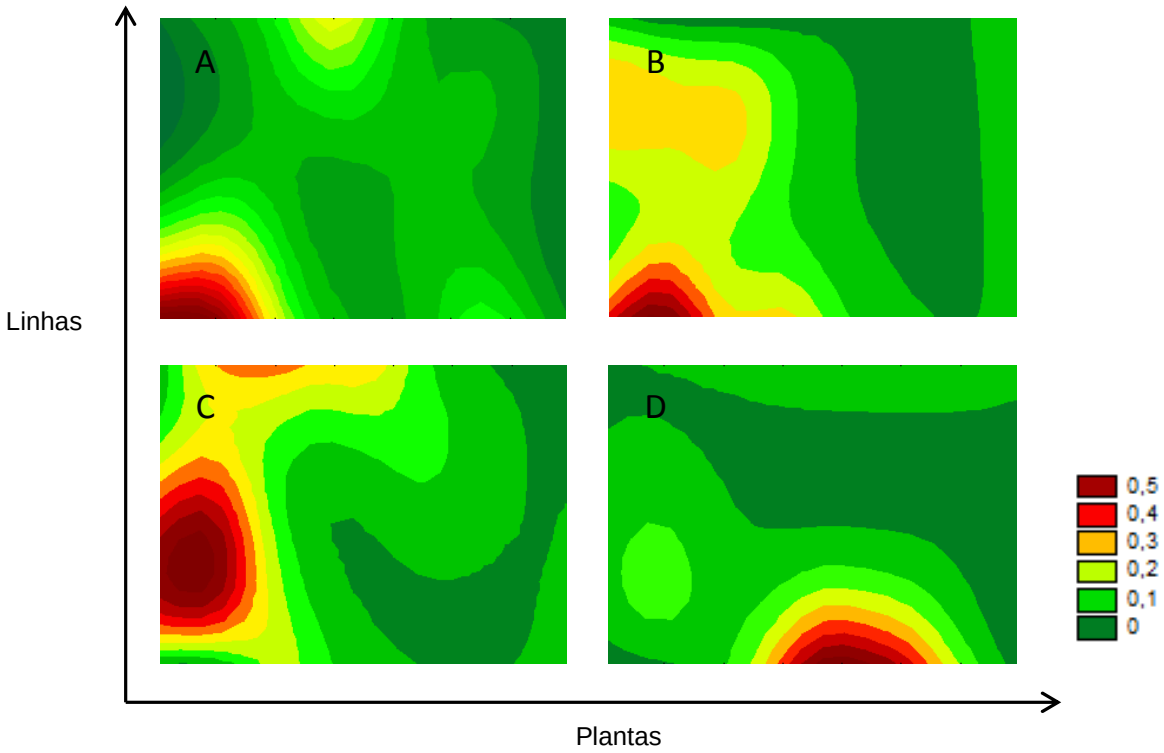

Figura 34 - Áreas isópatas referentes à última avaliação da incidência de plantas infectadas por ToCV, em campo comercial de Sumaré – SP (**campo 1, 2011**). As cores indicam uma variação nos valores de incidência (verde escuro – ausência de plantas sintomáticas; vermelho escuro – maior incidência de plantas sintomáticas)

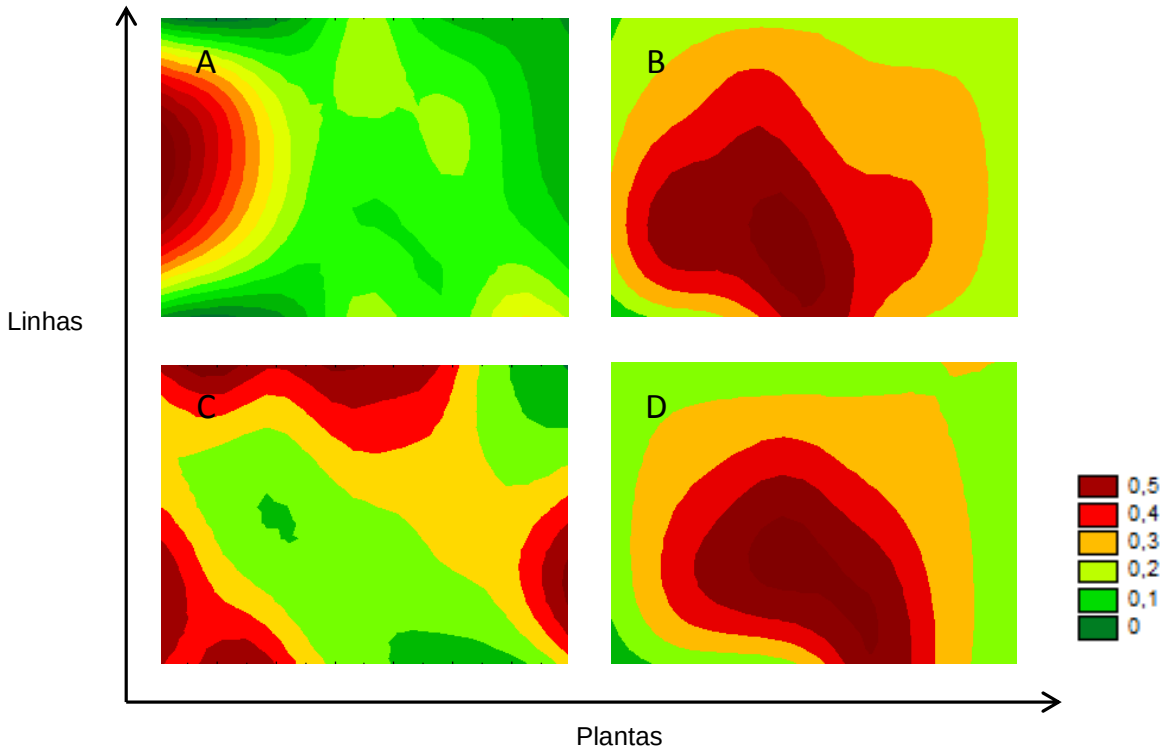

Figura 35 - Áreas isópatas referentes à última avaliação da incidência de plantas infectadas por ToCV, em campo comercial de Sumaré – SP (**campo 2, 2011**). As cores indicam uma variação nos valores de incidência (verde escuro – ausência de plantas sintomáticas; vermelho escuro – maior incidência de plantas sintomáticas)

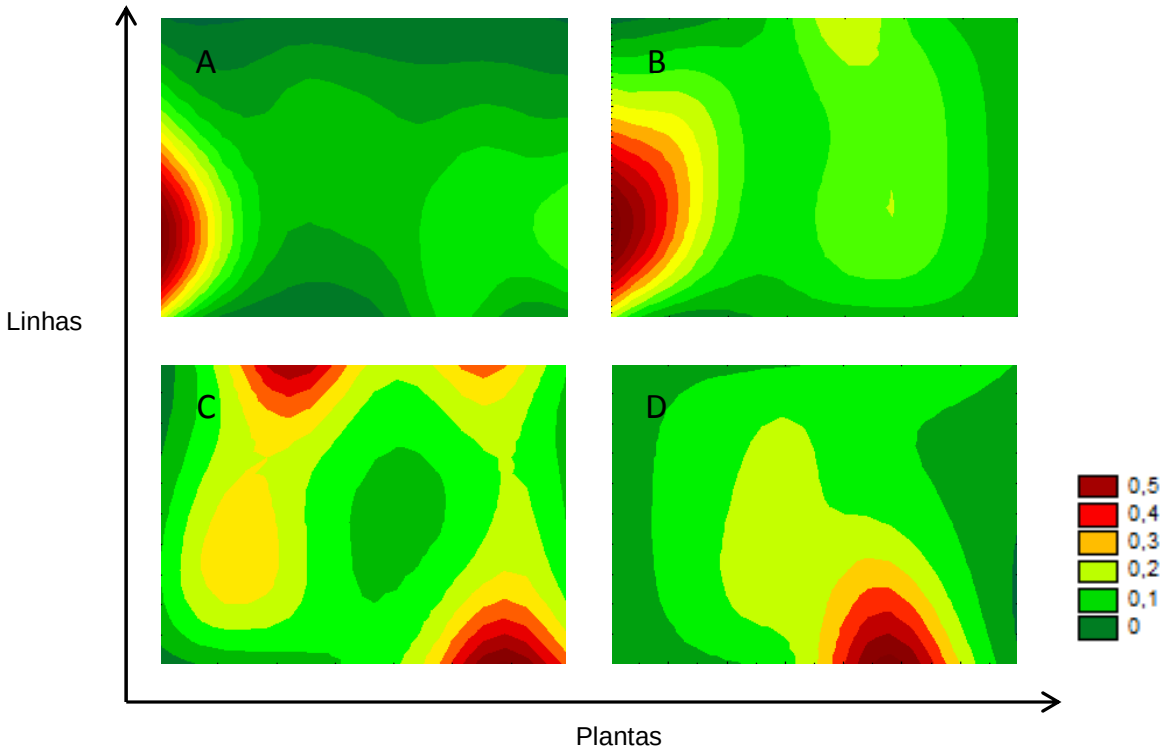

Figura 36 - Áreas isópatas referentes à última avaliação da incidência de plantas infectadas por ToCV, em campo comercial de Sumaré – SP (**campo 3, 2011**). As cores indicam uma variação nos valores de incidência (verde escuro – ausência de plantas sintomáticas; vermelho escuro – maior incidência de plantas sintomáticas)

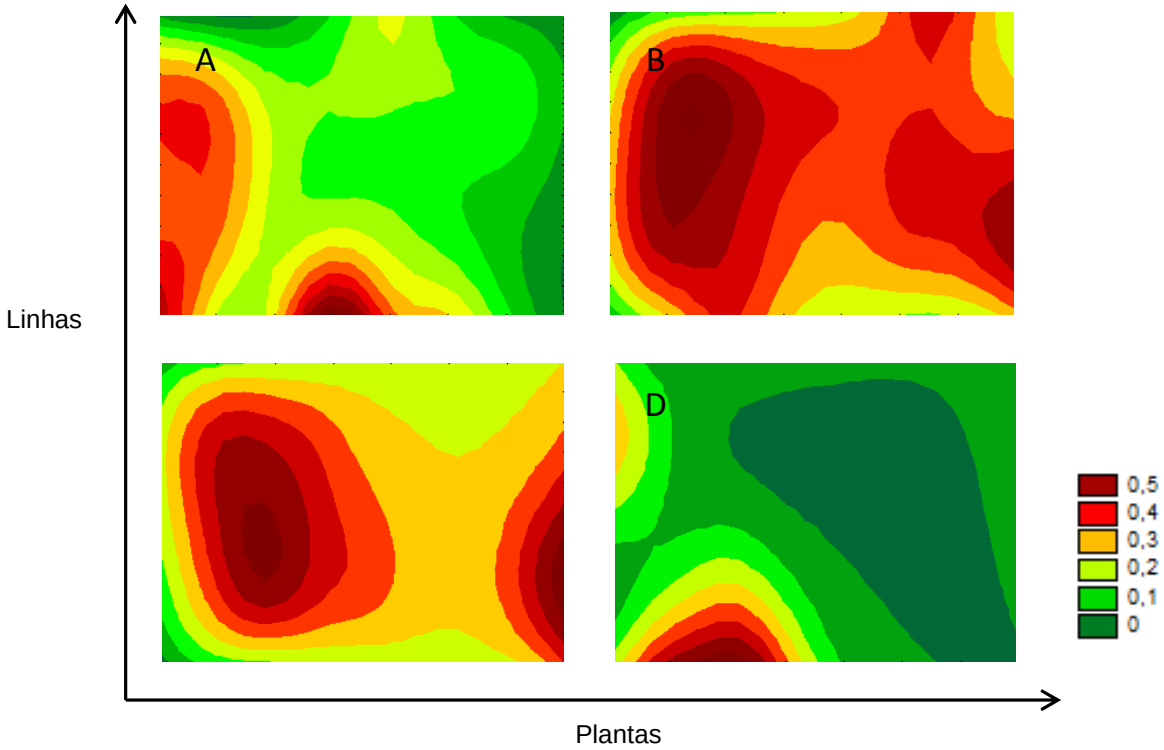

Figura 37 - Áreas isópatas referentes à última avaliação da incidência de plantas infectadas por ToCV, em campo comercial de Sumaré – SP (**campo 4, 2011**). As cores indicam uma variação nos valores de incidência (verde escuro – ausência de plantas sintomáticas; vermelho escuro – maior incidência de plantas sintomáticas)

De forma geral, a análise das áreas isópatas mostra um forte efeito de bordos, o que corrobora com a hipótese de fontes externas de inóculo.

As áreas do campo 1 de 2010 e campo 4 de 2011 mostram uma tendência de coalescimento (parcela D, campo 1 de 2010; parcela B, campo 4 de 2011), o que pode indicar focos de disseminação secundária, embora a infecção primária predomine.

Nos dados apresentados por Polston et al. (1996), em um estudo da dinâmica espacial do *Tomato mottle geminivirus* na Flórida durante dois anos, em 10 campos comerciais, através da análise de sequências ordinárias, foi observado que a disseminação primária tem papel predominante em relação à secundária no aumento de plantas doentes.

Apesar de contarem com baixa incidência, os ensaios conduzidos apontam para uma distribuição da virose semelhante à já observada para o *Tomato yellow vein streak virus* TYVSV por Della Vechia (2006) e para o *Tomato severe rugose virus* - ToSRV por Barbosa (2007).

Comportamentos similares foram observados também em outros trabalhos com vírus transmitidos por mosca branca. Forgette et al. (1993) verificaram que a epidemiologia de begomoviroses em mandioca (*Manihot esculenta*), quiabo (*Abelmoschus esculentus*) e fumo (*Nicotiana tabacum*) na África e na Índia, é controlada por variáveis em comum. Segundo os autores a dinâmica espacial destas doenças se caracteriza por um forte efeito de borda nos talhões devido à acumulação de moscas brancas, graças à influência dos ventos predominantes.

3 CONCLUSÕES

O isolado do ToCV diagnosticado nos plantios dos ensaios conduzidos para este trabalho apresentou alta similaridade com os isolado diagnosticado por Barbosa et al. (2008).

Em geral, foi observado um padrão aleatório de distribuição de plantas doentes. Porém, nas parcelas em que houve agregação, esta variou com o aumento da incidência.

Foi observado um forte efeito de bordos, apontando para fontes de inóculo externas à lavoura.

A distribuição espacial da virose causada pelo ToCV foi semelhante à de outras viroses transmitidas pela mosca-branca, como as causadas pelos Begomovirus.

REFERÊNCIAS

ABOU-JAWDAH, Y.; EL MOHTAR, C.; ATAMIAN, H.; SOBH, H. First Report of *Tomato chlorosis virus* in Lebanon. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 90, n. 3, p. 378, Mar. 2006.

ACCOTTO, G.P.; VAIRA, A.M.; VECCHIATI, M.; FINETTI SIALER, M.M.; GALLITELLI, D.; DAVINO, M. First report of *Tomato chlorosis virus* in Italy. **Plant Disease,** Saint Paul, v. 85, n. 11, p. 1208, 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO COMÉRCIO DE SEMENTES E MUDAS. **Tomate lidera crescimento e lucratividade no setor de hortaliças.** Disponível em: <http://www.abcsem.com.br/noticia.php?cod=284>. Acesso em: 13 abr. 2010.

BARBOSA, J.C. **Epidemiologia de begomiviroses em tomateiro em condições de campo e de cultivo protegido.** 2007. 109 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

BARBOSA, J.C.; COSTA, H.; GIORIA, R.; REZENDE, J.A.M. Occurrence of *Tomato chlorosis virus* in tomato crops in five Brazilian States. **Tropical Plant Pathology,** 2011. No Prelo.

BARBOSA, J.C.; TEIXEIRA, A.P.M.; MOREIRA, A.G.; CAMARGO, L.E.A.; BERGAMIN FILHO, A.; KITAJIMA, E.W.; REZENDE, J.A.M. First report of *Tomato chlorosis virus* infecting tomato crops in Brazil. **Plant Disease,** Saint Paul, v. 92, p. 1709-1709, 2008.

BERGAMIN FILHO, A. Curvas de progresso da doença. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia:** princípios e conceitos. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 602-626.

BESE, G.; BÓKA, K.; KRIZBAI, L.; TAKÁCS, A. First report of Tomato chlorosis virus in tomato from Hungary. **Plant Disease,** Saint Paul, v. 95, n. 3, p. 363, 2011.

BROWN, J. Whitefly spreads emerging plant viruses. [Entrevista]. **New Releases - APSnet.** Disponível em: <http://www.apsnet.org/about/newsroom/releases/Pages/07Whitefly.aspx> Acesso em: 13 jun. 2010.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. (Ed.). **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley, 1990. 532 p.

CARVALHO, J.L.; PAGLIUCA, L.G. Tomate: um mercado que não para de crescer globalmente. **Hortifruti Brasil**, São Paulo, v. 6, n. 58, p. 6-14, 2007.

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

ÇEVIK, B.; ERKIŞ, G. First report of *Tomato chlorosis virus* in Turkey. **New Disease Reports**, v. 16, n. 18, 2007. Disponível em: <http://www.ndrs.org.uk/article.php?id=016018>. Acesso em: 08 jan. 2010.

COLARICCIO, A.; EIRAS, M.; CHAVES, A.L.R.; ROGGERO, P.; CHAGAS, C.M. Diversidade de Tospovirus em diferentes regiões produtoras de olerícolas do Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica,** Botucatu, v. 27, n. 2, p. 177-182, 2001.

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

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

DELLA VECCHIA, M.G.S. **Avaliação da dinâmica temporal e espacial do Tomato yellow vein streak virus na região de Campinas-SP**. 2006. 97 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

DOVAS, C.I.; KATIAS, N.I.; AVGELIS, A.D. Multiplex detection of Criniviruses associated with epidemics of yellowing disease of tomato in Greece, **Plant Disease,** Saint Paul, v. 86, p. 1345-1349, 2002.

FNP CONSULTORIA E COMÉRCIO. **Agrianual 2008:** anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 2008. 520 p.

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

GOTTWALD, T.R.; CAMBRA, M.; MORENO, P.; CAMARASA, E.; PIQUER, J. Spatial and temporal analyses of citrus tristeza in earstern Spain. **Phytopathology,** Saint Paul, v. 86, p. 45-55, 1996.

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

HUGHES, G.; MADDEN, L.V. Agregation and incidence of disease. **Plant Pathology,** London, v. 41, p. 657-660, 1992.

KARASEV, A.V. Genetic diversity and evolution of closteroviruses. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 38, p. 293–324, 2000.

KRAUSE, R.; FERNANDES, J.J.; AVILA, A.C.; BEZERRA, I.C.; RIBEIRO, S.G.; RESENDE, R.O.; LIMA, M.F.; FONTES, E.P.B.; ZERBINI, F.M. Widespread occurrence of tomato geminiviruses in Brazil, associated with new biotype of the whitefly vector. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON BEMISIA AND GEMINIVIRAL DISEASES, 2., 1998, San Juan. **Program & abstracts...** San Juan, 1998. p. 46.

LIU, H-Y.; WISLER, G.C.; DUFFUS, J.E. Particle lengths of whitefly-transmitted Criniviruses. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 84, p. 803–805, 2000.

LIU, T.X.; OETTING, R.D.; BUNTIN, G.D. Population dynamics and distribuition of *Trialeuroides vaporariorum* and *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on poinsettia following applications of three chemical insecticides. **Journal of Entomological Science,** Athens, v. 28, n. 1, p. 126-135, 1993.

LOURENÇÃO, A.L; ALVES, A.C.; FUGI, C.G.O.; MATOS, E.S. Outbreaks of *Trialeurodes vaporariorum* (West.) (Hemiptera: Aleyrodidae) under field conditions in the State of São Paulo, Brazil. **Neotropical Entomology,** Londrina, v. 37, p. 89-91, 2008.

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

LOURO, D.; VAIRA, A.M.; ACCOTTO, G.P.; VICENTE, M.; NOLASCO, G. The emergence of Criniviruses in Portugal. In: CONGRESS OF THE EUROPEAN FOUNDATION OF PLANT PATHOLOGY, 5., 2000, Taormina. **Biodiversity in plant pathology.** Taormina: EFPP, 2000. p. 51.

LOZANO, G.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO J. First report of sweet pepper (*Capsicum annuum*) as a natural host plant for Tomato chlorosis virus. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, p. 224, 2003.

MADDEN, L.V.; HUGHES, G. Plant disease incidence: distributions, heterogeneity, and temporal analysis. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 33, p. 529-564, 1995.

MARTELLI, G.P.; AGRANOVSKY, A.A.; BAR-JOSEPH, M.; BOSCIA, D.; CANDRESSE, T.; COUTTS, R.H.; DOLJA, V.V.; FALK, B.W.; GONSALVES, D.; JELKMANN, W.; KARASEV, A.V.; MINAFRA, A.; NAMBA, S.; VETTEN, H.J.; WISLER, G.C.; YOSHIKAWA, N. The family *Closteroviridae* revised. **Archives of Virology**, New York, v. 147, p. 2039–2044, 2002.

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

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

MENEZES, M. Considerações epidemiológicas de doenças fúngicas da cultura do inhame. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DO INHAME E TARO, 1., 2002, João Pessoa. **Palestra...** Disponível em: <fitodisease.blogspot.com/.../consideracoes-epidemiologicas-de.htm>. Acesso em: 18 jun. 2011.

MOREIRA, S.R.; EIRAS, M.; CHAVES, A.L.R.; GALLETI, S.R.; COLARICCIO, A. Caracterização de uma nova estirpe do *Tomato mosaic virus* isolada de tomateiro no estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 602-607, 2003.

MORRIS, J.; STEEL, E.; SMITH, P.; BOONHAM, N.; SPENCE, N.; BARKER, I. Host range studies for Tomato chlorosis virus, and Cucumber vein yellowing virus transmitted by Bemisia tabaci (Gennadius). **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 114, p. 265–273, 2006.

NAVAS-CASTILLO, J.; CAMERO, R.; BUENO, M.; MORIONES, E. Severe yellowing Outbreaks in Tomato in Spain associated with infections of *Tomato chlorosis virus.* **Plant Disease**, Saint Paul, v. 84, p. 835-837, 2000.

PAPAYIANNIS, L.C.; IOANNOU, N.; DOVAS, C.I.; MALIOGKA, V.I.; KATIS, N.I. First report of Tomato chlorosis virus in Cyprus. **Plant Pathology,** Saint Paul, v. 55, p. 567, 2006.

POLSTON, J.E. **Viral threats to Solanaceous crops in the U.S.** Disponível em: <http://dpm.ifas.ufl.edu/plant_pest_risk_assessment/documents/EMERGINGVIRUSESINSOLANACEOUSCROPS.pdf>. Acesso em: 27 dez. 2010.

POLSTON, J.E.; CHELLEMI, D.O.; SCHUSTER, D.J.; McGOVERN, R.J.; STANSLY, P.A. Spatial and temporal dynamics of tomato mottle geminivirus and Bemisia tabaci (Genn.) in Florida tomato fields. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 80, p. 1022-1028, 1996.

POWER**,** A.G. Insect transmission of plant viruses: a constraint on virus variability. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 3, p. 336-340, 2000.

SEGEV, L.; WINTERMANTEL, W.M.; POLSTON, J.E.; LAPIDOT, M. First report of *Tomato chlorosis virus* in Israel. **Plant Disease,** Saint Paul, v. 88, n. 10, p. 1160, Oct. 2004.

SPASSOVA, M.I.; PRINS, T.W.; FOLKERTSMA, R.T.; KLEIN-LANKHORST, R.M.; HILLE, J.; GOLDBACH, R.W.; PRINS, M. The tomato resistance gene *Sw-5* is a member of the coiled coil, nucleotide binding, leucine-rich repeat class of plant resistance genes and confers resistance to TSWV in tobacco. **Molecular Breeding,** Berlin, v. 7, p. 151-161, 2001.

TAYLOR, L.R. Assessing and interpreting the spatial distributions of insects populations. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 29, p. 321-357, 1984.

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

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

WINTERMANTEL, W.M. Emergence of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) Transmitted Criniviruses as Threats to Vegetable and Fruit Production in North America. **APSnet Features,** 2004. Disponível em: http://www.apsnet.org/publications/apsnetfeatures/Pages/GreenhouseWhitefly.aspx . Acesso em: 13 abr. 2010.

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

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

WINTERMANTEL, W.M.; WISLER, G.C.; ANCHIETA, A.G.; LIU, H.; KARASEV, A.V.; TZANETAKIS, I.E. The complete nucleotide sequence and genome organization of Tomato chlorosis virus. **Archives of Virology**, New York, v. 150, p. 2287-2298, July 2005.

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

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