



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DE PERNAMBUCO**
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM FITOPATOLOGIA**

Dissertação de Mestrado

**Detecção de begomovírus e ipomovírus em batata-doce
nos estados de Pernambuco e Paraíba e fontes de
resistência a *Tomato chlorotic mottle virus* e *Potato virus Y*
em berinjela**

Caroline do Amaral Souza

**Recife – PE
2013**

CAROLINE DO AMARAL SOUZA

Detecção de begomovírus e ipomovírus em batata-doce nos estados de Pernambuco e Paraíba e fontes de resistência a *Tomato chlorotic mottle virus* e *Potato virus Y* em berinjela

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador: Gilvan Pio Ribeiro (UFRPE)

Co-Orientadora: Genira Pereira de Andrade (UFRPE)

Co-Orientadora: Rita de Cássia Pereira Carvalho (UnB)

**RECIFE – PE
AGOSTO – 2013**

Ficha catalográfica

S729d Souza, Caroline do Amaral
Detecção de begomovírus e ipomovírus em
batata-doce nos estados de Pernambuco e Paraíba e fontes
de resistência a *Tomato chlorotic mottle virus* e *Potato virus Y*
em berinjela / Caroline do Amaral Souza. -- Recife, 2013.
97 f. : il.

Orientador: Gilvan Pio Ribeiro.

Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia,
Recife, 2013.

Inclui referências e anexo(s).

1. *Ipomoea batatas* 2. *Solanum melongena* 3. *Potyvirus*
I. Ribeiro, Gilvan Pio, orientador II. Título

CDD 632

**DETECÇÃO DE BEGOMOVÍRUS E IPOMOVÍRUS EM BATATA-DOCE NOS
ESTADOS DE PERNAMBUCO E PARAÍBA E FONTES DE RESISTÊNCIA A *Tomato
chlorotic mottle virus* E *Potato virus Y* EM BERINJELA**

CAROLINE DO AMARAL SOUZA

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em 22/08/2013.

Prof^o. Dr. Gilvan Pio Ribeiro (UFRPE)

EXAMINADORES:

Prof^o. Dr. Péricles de Albuquerque Melo Filho

Prof^a. Dr^a. Rita de Cássia Pereira Carvalho

Dr^a. Genira Pereira de Andrade

**RECIFE – PE
AGOSTO – 2013**

Agradeço

A Deus, pela vida e fortalecimento espiritual, pelas bênçãos e sustentação nos momentos difíceis.

Dedico

À minha amada mãe, Marilene Amaral, pelo amor e apoio incondicional.

Ofereço

Ao meu namorado Armando Junior, pelo incentivo, confiança, paciência e apoio. E aos meus avós Maria e Osvaldo Amaral (*in memoriam*), pela criação e exemplo.

AGRADECIMENTOS

Percorrer o caminho até aqui não foi tarefa fácil, por isso, primeiramente agradeço a Deus por ter abençoado a minha vida com tantos anjos que colocou em meu caminho.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

À Universidade de Brasília, por oferecer o espaço e a infraestrutura necessária para a execução deste trabalho.

À professora Rita de Cássia Carvalho, pela orientação, amizade, generosidade, paciência, incentivo, atenção e otimismo fundamentais para o desenvolvimento do trabalho.

Aos professores Gilvan Pio Ribeiro e a Genira Andrade, pela orientação, pelos ensinamentos, confiança, paciência e direcionamento sempre de forma gentil e atenciosa.

Aos professores da Área de Fitossanidade da UFRPE pela contribuição para minha formação profissional.

Aos familiares que me apoiaram e incentivaram em todos os momentos da minha vida, em especial ao meu pai, Luiz de Souza e as minhas tias Alzira, Marlene e Dulce Amaral e Lúcia Souza.

Aos amigos Jefferson, Rafael, Sr. Jorge e tia Helena Marinho, por me acolherem como família em Brasília.

Aos amigos Iwanne Coelho, Juliana Barroso, Tamiris Kempner e Gerson Barros (Recife) que foram minha família e com os quais contei em todos os momentos, e Geisianny Augusta, Érica Santos, Kamilla Araújo, Flávia Milene, Nancy Niño, Niquele Nunes, Maurício Rossato e César Castro (Brasília) e todos os colegas que sempre foram tão gentis e prestativos, em especial a André Bertran, pela contribuição durante o trabalho.

À ‘amiga-mãe’ Samara Gonçalves, pelo companheirismo, pelos sábados, domingos e feriados compartilhados no Laboratório! E a ‘amiga-irmã’ Josiane Goulart, pela amizade, contribuição e carinho.

Aos funcionários da Estação Experimental de Biologia da UnB, Sr. Fábio Fonseca, Evandro Calixto e Sr. Aldo Mostardi pela amizade e pela contribuição fundamental na condução dos experimentos.

A todos que de alguma forma contribuíram, o meu muito obrigado!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO GERAL.....	viii
GENERAL ABSTRACT.....	ix
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUÇÃO GERAL.....	2
1. A cultura da batata-doce.....	2
1.1 Vírus que infectam a batata-doce.....	5
1.1.1 Espécies do gênero <i>Potyvirus</i>	5
1.1.2 Espécies do gênero <i>Begomovirus</i>	6
1.1.3 Espécies do gênero <i>Ipomovirus</i>	7
1.1.4 Espécies de outros gêneros descritas na cultura.....	7
1.2 Infecções mistas.....	9
2. A cultura da berinjela.....	10
2.1 Vírus que infectam a berinjela.....	12
3. Descrições de famílias e gêneros virais que têm membros que infectam a batata-doce e berinjela.....	13
3.1 Família <i>Geminiviridae</i>	13
3.1.1 Gênero <i>Curtovirus</i>	13
3.1.2 Gênero <i>Topocuvirus</i>	14
3.1.3 Gênero <i>Mastrevirus</i>	14
3.1.4 Gêneros novos.....	15
3.1.5 Gênero <i>Begomovirus</i> e o vetor <i>Bemisia tabaci</i>	15
3.1.6 Gênero <i>Begomovirus</i> : organização e replicação do genoma.....	17
3.1.7 Variabilidade no gênero <i>Begomovirus</i>	19
3.2 Família <i>Potyviridae</i>	19
3.2.1 Gênero <i>Potyvirus</i> : organização e replicação do genoma.....	20
3.2.2 Gênero <i>Ipomovirus</i>	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23
CAPÍTULO II - Detecção de begomovírus e ipomovírus em genótipos de batata-doce nos estados de Pernambuco e Paraíba.....	46
Resumo.....	47
Abstract.....	48
Introdução.....	49
Material e Métodos	
Local de realização do ensaio.....	51
Origem das amostras utilizadas.....	51
Extração de DNA total.....	51
Detecção de espécies de <i>Begomovirus</i> :	
Reação de RCA.....	52
Reação de PCR.....	52
Digestão.....	53
Purificação.....	53
Sequenciamento.....	54
Detecção de <i>Sweet potato mild mottle virus</i> (SPMMV):	
Dot-ELISA.....	54
Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	55
Caracterização biológica:	
Transmissão por enxertia.....	55

Resultados e Discussão	56
Referências	59
ANEXOS	63
CAPÍTULO III - Avaliação de germoplasma de berinjela (<i>Solanum melongena</i> L.) para resposta à mosca-branca (<i>Bemisia tabaci</i>), <i>Tomato chlorotic mottle virus</i> e <i>Potato virus Y</i>	66
RESUMO	67
INTRODUÇÃO	68
MATERIAL E MÉTODOS	
Local de realização dos ensaios e coleção de germoplasma de berinjela.....	71
Inoculação de <i>Tomato chlorotic mottle virus</i> (ToCMoV) via vetor <i>Bemisia tabaci</i> e avaliação para resistência.....	71
Avaliação de sintomas e detecção de <i>Tomato chlorotic mottle virus</i> (ToCMoV) via hibridização.....	72
Avaliação da colonização das plântulas pelas moscas-brancas.....	72
Inoculação mecânica e avaliação para resistência à <i>Potyvirus</i>	72
RESULTADOS E DISCUSSÃO	
Resposta a inoculação com ToCMoV via vetor <i>B. tabaci</i>	73
Resposta à infestação por <i>Bemisia tabaci</i>	75
Avaliação para PVY via inoculação mecânica.....	77
AGRADECIMENTOS	78
REFERÊNCIAS	78
ANEXOS	82
CONCLUSÕES GERAIS	86

RESUMO GERAL

O cultivo da batata-doce [*Ipomoea batatas* L. (Lam.)] é bastante amplo no Brasil, sendo praticado em grande parte do país onde os maiores produtores são: Rio Grande do Sul, Minas Gerais, Paraná, Paraíba e São Paulo. Esta hortaliça apresenta elevada importância, sobretudo para a população de baixa renda, especialmente pela rusticidade da planta, o fácil cultivo e o baixo custo de produção, além de ser uma boa fonte de energia e diversos nutrientes. Dentre os patógenos que acometem a cultura, os vírus merecem destaque, principalmente algumas espécies classificadas nos gêneros *Potyvirus*, *Begomovirus* e *Ipomovirus*. A batata-doce é hospedeira de uma ampla gama de espécies virais que, muitas vezes, formam complexos e atuam em sinergismo, potencializando a doença e causando considerável redução da produtividade. Um dos objetivos deste trabalho foi verificar a possível presença das espécies do gênero *Begomovirus*, e *Sweet potato mild mottle virus* (SPMMV), do gênero *Ipomovirus* em 55 amostras de batata-doce, provenientes de Pernambuco e Paraíba, sendo 28 de campos comerciais e 27 de um Banco Ativo de Germoplasma (BAG). Para detecção de begomovírus, o DNA das 55 amostras foi extraído, submetido à RCA e PCR usando os primers MA292 e MA293. Amplicóns gerados de 17 amostras do BAG e três amostras de campo foram selecionados, purificados e sequenciados. Após análise confirmou-se a presença de Sweet potato golden vein associated virus - SPGVaV em cinco amostras do BAG e duas de campo e *Sweet potato leaf curl virus* – SLCV em 12 amostras do BAG e uma de campo. O SPMMV foi detectado pelo teste Dot-ELISA através da utilização de anticorpo específico em 24 das 27 amostras do BAG e 25 das 28 amostras de campo. Outra espécie foco de estudo neste trabalho foi a berinjela (*Solanum melongena* L.), cultura alimentar economicamente importante disponível em todo o mundo e com aproximadamente dois milhões de hectares dedicados anualmente para o cultivo. No Brasil, em relação à ocorrência viral nesta solanácea, existem relatos apenas de espécies do gênero *Tospovirus*. Além disto, em plantações de berinjela, praticamente, não se observam sintomas virais, o que pode ser indicativo de ocorrência de resistência a vírus. Dessa forma, outro objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento de genótipos de berinjela como possível fonte de gene(s) de resistência a vírus que normalmente infectam espécies da família Solanaceae. Ensaios foram realizados utilizando-se as espécies *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV), com inoculação via vetor *Bemisia tabaci*, e *Potato virus Y* (PVY) por inoculação mecânica. A avaliação biológica para as duas espécies virais foi feita mediante observação de sintomas. As detecções de ToCMoV e PVY foram feitas usando-se sondas radioativas e teste Dot-ELISA, respectivamente. Os genótipos foram avaliados também quanto à resistência ao

vetor. Os materiais testados mostraram-se promissores para uso em programas de melhoramento tendo em vista a ausência de sintomas e acumulação viral.

Palavras chave: *Ipomoea batatas*, *Solanum melongena*, potyvírus

GENERAL ABSTRACT

The cultivation of sweet potato [*Ipomoea batatas* L. (Lam.)] is quite broad in Brazil, being the species present in most parts of the country where the largest producers are: Rio Grande do Sul, Minas Gerais, Paraná, Paraíba e São Paulo. This crop is very important, especially for the low-income population, due to the rusticity of the plant, which is easy to grow with low production cost, besides being a good source of energy and various nutrients. Among the pathogens that affect sweet potato, the viruses are noteworthy, especially some species classified in the genus *Potyvirus*, *Begomovirus* and *Ipomovirus*. This plant is host of a wide range of viral species that often form complexes and act in synergism, enhancing disease and causing considerable reduction in yield. One of the goals of this work was to detect the presence of *Begomovirus* species and *Sweet potato mild mottle virus* (SPMMV), of the genus *Ipomovirus* in 55 samples of sweet potato from Pernambuco and Paraíba, being 28 from commercial fields and 27 from a germplasm bank (GB). For detecting begomovirus, DNA extracted from the 55 samples was submitted to RCA and PCR using primers MA292 and MA293. Amplicons generated from 17 GB samples and three field samples were selected, purified and sequenced. After analysis, it was confirmed the presence of Sweet potato golden vein associated virus - SPGVaV in five samples from GB and two from field and *Sweet potato leaf curl virus* - SPLCV in 12 samples from GB and one from field. The SPMMV was detected by the serological test Dot-ELISA using specific antibodies in 24 out of 27 BG samples and 25 out 28 field samples. Another focus species of the present study was the eggplant (*Solanum melongena* L.), economically important food crop available worldwide with approximately 2 million hectares devoted to its cultivation annually. In Brazil, regarding to virus presence in this plant there are only a few reports for species of the genus *Tospovirus*. In addition, in eggplant fields, practically, no viral symptoms are observed, indicating a possible occurrence of resistance to virus. Thus, another objective of this study was to evaluate the behavior of eggplant genotypes as a possible source of gene(s) for resistance to virus that normally infect plants of the Solanaceae family. Assays were performed using the species *Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV, inoculated by the vector *Bemisia tabaci*

and *Potato virus Y* by mechanical inoculation. The biological evaluation for the two viral species was undertaken by observing symptoms. The detections of ToCMoV and PVY were done using radioactive probes and by Dot-ELISA, respectively. The genotypes were also evaluated for resistance to the vector. The tested materials were considered promising for use in breeding programs because they remained symptomless and no viral accumulation was observed.

Keywords: *Ipomoea batatas*, *Solanum melongena*, potyvirus

CAPÍTULO I

Introdução Geral

Detecção de begomovírus e ipomovírus em batata-doce nos estados de Pernambuco e Paraíba e fontes de resistência a *Tomato chlorotic mottle virus* e *Potato virus Y* em berinjela

INTRODUÇÃO GERAL

1. A cultura da batata-doce

A família Convolvulaceae, possui vasta distribuição mundial com grande diversidade de espécies nos trópicos e raras espécies nas zonas temperadas (AUSTIN; CAVALCANTE, 1982). Convolvulaceae compreende 55 gêneros, com 1930 espécies, com distribuição nos trópicos e subtropicais de todo o mundo (BARBOSA et al., 2012; CASTRO; ROCHA; ABRANTES, 2008). O Brasil é o maior detentor de número de táxons. Cerca de 310 espécies ocorrem nas mais diversas vegetações brasileiras, desde a Caatinga até a Amazônia, sendo mais frequentes em ambiente abertos ou em bordas de mata (SIMÃO-BIANCHINI; PIRANI, 1997).

Dentro desta família, a batata-doce [*Ipomoea batatas* L. (Lam.)] (SCHULTZ, 1968) é a única espécie que tem cultivo de expressão econômica (CASTRO; ROCHA; ABRANTES, 2008). Aceita-se a origem americana desta espécie herbácea, porém a origem ao certo não é conhecida (JONES, 1965), sendo encontrada desde a Península de Yucatán, no México, até a Colômbia (PEIXOTO; MIRANDA, 1984). A utilização da batata-doce como alimento ocorre há mais de dez mil anos, informação esta, baseada em análises de batatas secas encontradas em cavernas no Peru e em escrituras arqueológicas descobertas na região ocupada pelos Maias, na América Central (SILVA; LOPES; MAGALHÃES, 2004; ZHANG et al., 1997).

A batata-doce é cultivada em grande parte do país e no mundo. No Brasil ela é considerada como uma das principais hortaliças consumidas pela população nordestina, principalmente por apresentar-se como uma boa fonte de energia e por ser rica em sais minerais e vitaminas A, B e C (OLIVEIRA et al., 2008). Aliado às vantagens nutricionais que estimula o seu consumo, cita-se também a rusticidade da planta, o fácil cultivo e o baixo custo de produção, o que torna a cultura atraente e importante, principalmente para a população de baixa renda (OLIVEIRA et al., 2008).

O cultivo desta convolvulácea destina-se às mais diversas formas de utilização, desde a dieta humana e componente de ração animal, até a recente importância que tem adquirido para

a indústria do álcool e derivados (OLIVEIRA et al., 2008). De acordo com Ahmed; Akte e Eun (2011), esta hortaliça é altamente nutritiva, rica em calorias e fitoquímicos biologicamente ativos, tais como betacaroteno, compostos fenólicos e teor de ácido ascórbico.

Pesquisas de retenção e bioacessibilidade de betacaroteno em produtos de batata-doce desenvolvidas por Bechoff et al. (2011), destacaram a importância da farinha da polpa desta raiz como uma importante fonte de vitamina A. Os autores sugeriram ainda que o desenvolvimento e comercialização de produtos feitos com esta farinha cultivados na localidade poderia contribuir para a diminuição da deficiência desta vitamina, destacando a importância da cultura para as populações mais carentes.

Ainda segundo Bechoff et al. (2011), os produtos obtidos após processamento da batata-doce são importantes geradores de renda, especialmente para pequenas empresas. Este grupo desenvolveu estudos na região da África Subsariana e relataram que os produtos secos (chips, amido e farinha) são muito promissores para consumo local. Além disso, o processamento em farinha é menos volumoso e mais estável do que o produto fresco altamente perecível e pode ser utilizado para melhorar os produtos alimentares através da cor, o sabor doce e a adição de nutrientes. Este mercado de produtos transformados, embora ainda seja pouco explorado, apresenta grande potencial de ser explorado (AHMED; AKTE; EUN, 2011; BECHOFF et al., 2011).

Além das vantagens acima citadas, as ramas de desta hortícola, possuem outras características como, considerável porcentagem de proteína bruta, cerca de 12,6 %, e fácil digestibilidade que possibilitam seu uso principalmente na alimentação de gado leiteiro, tanto na forma fresca ou em silagem, sendo estimulante da produção láctea (MONTEIRO et al., 2007). Segundo Viana et al (2011), silagens deste material apresentam teores de proteína, de conteúdos energéticos e um perfil fermentativo adequado, o que a tornam potencial para utilização na alimentação animal.

A propagação desta cultura é feita de forma vegetativa, através de segmentos de ramas ou hastes, denominadas de ramas-semente (OLIVEIRA et al., 2008). A melhor produção ocorre em regiões onde prevalecem condições de clima quente e úmido em que a temperatura média é superior a 24 °C e o índice pluviométrico é alto, aproximadamente de 750 a 1000 mm, sendo que cerca de 500 mm são necessários durante a fase de crescimento (SILVA; LOPES; MAGALHÃES, 2004). Em regiões tropicais, esta cultura pode ser cultivada o ano inteiro (VALVERDE; CLARK; VALKONEN, 2007).

De acordo com os dados do Centro Internacional da Batata (INTERNATIONAL POTATO CENTER, 2010), em nível mundial, a batata-doce é a sexta cultura alimentar mais

importante depois do arroz (*Oryza sativa* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.), batata (*Solanum tuberosum* L.), milho (*Zea mays* L.) e mandioca (*Manihot esculenta* L.), entretanto nos países em desenvolvimento, é a quinta cultura alimentar mais importante. Estima-se que mais de 105 milhões de toneladas são produzidas globalmente a cada ano, 95 % dos quais são cultivados nos países em desenvolvimento.

Segundo a FAO (2011), no quadro mundial, a China destaca-se como a maior produtora de batata-doce, tendo produzido em 2011, mais de 75 milhões de toneladas, seguida pela República da Tanzânia (3.573.300 t) e Nigéria (2.725.000 t). No mesmo ano o Brasil ocupou o 18º lugar no ranking mundial de produção chegando a produzir 544.820 mil toneladas em uma área de 43.843 ha.

No Brasil, esta cultura tem considerável repercussão sócio-econômica, notadamente para a Região Sul (CASTRO; COUTO, 2011). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2011), esta hortícola é cultivada em todas as regiões, embora esteja bem disseminada no país e as regiões Sul e Nordeste têm maior contribuição com 42 % e 33 % respectivamente da produção nacional (IBGE, 2010).

Os maiores estados produtores de batata-doce no Brasil são: Rio Grande do Sul (160 227 t); Minas Gerais (46 653 t); Paraná (45 102 t); Paraíba (45 102 t) e São Paulo (44 128 t), sendo estes Estados responsáveis por aproximadamente 61 % da produção de batata-doce nacional. Por outro lado os estados que destacam-se com maior produtividade são: Mato Grosso (34 812 kg/ha); Santa Catarina (17 923 kg/ha); Paraná (17 714 kg/ha); Minas Gerais (17 466 kg/ha) e Rio de Janeiro (16 024 kg/ha) (IBGE, 2010).

A batata-doce pode ser acometida por bactérias, fungos, nematoides e vírus, sendo que os vírus apresentam o agravante de formarem complexos virais que atuam na maioria das vezes em sinergismo potencializando a doença (COELHO; PIO-RIBEIRO; MARIANO, 1997; UNTIVEROS; FUENTES; SALAZAR, 2007).

A produtividade de aproximadamente 12 kg/ha, no Brasil, ainda é considerada baixa, e isto deve-se principalmente, a má qualidade das mudas, relacionada principalmente a infecção por vírus (CASTRO; COUTO, 2011; IBGE, 2011).

Devido à característica de ser propagada vegetativamente, a incidência de infecção viral, tende a aumentar durante cultivos sucessivos, resultando em uma alta queda na produção, fenômeno denominado como degenerescência (KROTH; DANIELS; PIEROBOM, 2004).

Segundo Rós et al. (2011), plantas oriundas de material vegetativo livre de vírus apresentam maior produtividade que aquelas originárias de campos de produção.

1.1 Vírus que infectam a batata-doce

As características de propagação vegetativa e cultivos sucessivos favorecem o aumento na incidência de vírus podendo levar a reduções da produção comercial variando de 50-90 % (CECÍLIO FILHO et al., 1998; POZZER et al., 1992; POZZER et al., 1994).

Vírus de plantas em geral causam perdas econômicas para produtores afetando o crescimento e desenvolvimento normal das plantas, causando, entre outros danos, morte dos tecidos hospedeiros, redução da produtividade e qualidade, perdas na colheita, aumento da suscetibilidade a outros estresses, o que acaba culminando com a erradicação de plantas infectadas e aumento do custo dos programas de controle e detecção (LANGHAM, 2010).

Pesquisas realizadas em lavouras de batata-doce na Uganda (onde a cultura é a segunda em importância) apontam *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV), gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae*; *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV), gênero *Crinivirus*, família *Closteroviridae*; *Sweet potato mild mottle virus* (SPMMV), gênero *Ipomovirus*, família *Potyviridae*; *Sweet potato chlorotic fleck virus* (SPCFV), gênero *Carlavirus*, família *Flexiviridae* e *Sweet potato caulimo-like virus* (SPCV), gênero *Caulimovirus*, família *Caulimoviridae*, em ordem decrescente de prevalência (ARITUA et al., 2007; MUKASA; RUBAIHA; VALKONEN, 2003a).

No Brasil, o primeiro relato de um vírus nesta cultura foi feito ainda em 1973 (NOME, 1973) e atualmente há registros em vários Estados brasileiros (ALBUQUERQUE et al., 2012; KROTH et al., 2001).

1.1.1 Espécies do gênero *Potyvirus*

Diversos vírus infectam a batata-doce, dentre eles merece destaque o SPFMV, responsável por causar a virose conhecida como ‘mosqueado da batata-doce’ e amplamente distribuída no Brasil tendo sido relatadas em Pernambuco, Paraíba, Distrito Federal, Rio de Janeiro, São Paulo e Rio Grande do Sul (ALBUQUERQUE et al., 2011; KROTH et al., 2001; PIO-RIBEIRO et al., 1993). Além disso, a espécie SPFMV é amplamente encontrada em todo mundo (LOPEZ; SALAZAR, 1987; PIO-RIBEIRO et al., 1993).

Estudos realizados por Colinet et al. (1998) identificaram as estirpes CH do SPFMV (SPFMV-CH), do *Sweet potato latent virus* (SPLV-CH) e do *Sweet potato virus G* (SPVG-CH) em clones de batata-doce na China.

A importância econômica da virose mosquiteada da batata-doce pode variar para determinada área dependendo de alguns elementos como: adaptação da espécie cultivada, estirpe viral presente, inóculo inicial e abundância do inseto vetor (COELHO; PIO-RIBEIRO; MARIANO, 1997).

Outras espécies dentro do gênero *Potyvirus* importantes na batata-doce são: *Sweet potato chlorotic fleck virus* (SPCFV) e *Sweet potato latent virus* (SPLV) (KITAJIMA, 1995).

1.1.2 Espécies do gênero *Begomovirus*

Sweet potato leaf Georgia virus (SPLCGV) e *Sweet potato leaf curl virus* (SPLCV) foram as primeiras espécies de *Begomovirus* infectando plantas de batata-doce que foram molecularmente caracterizadas em uma pesquisa desenvolvida nos Estados Unidos (LOTRAKUL; VALVERDE, 1999; LOTRAKUL et al., 2003). Em estudos posteriores, espécies de *Begomovirus* nesta cultura foram descritas em vários países como: Argentina (PARDINA et al., 2012), China (LUAN et al., 2007), Espanha (LOZANO et al., 2009), Estados Unidos (ZHANG; LING, 2011), Itália (BRIDDON; BULL; BEDFORD, 2006), Peru (FUENTES; SALAZAR, 2003), Uganda (WASSWA et al., 2011) e no Brasil (ALBUQUERQUE et al., 2011) (Tabela 1).

Um importante trabalho sobre caracterização molecular e diversidade genética de *Begomovirus* em batata-doce foi realizado por Paprotka et al. (2010) que observaram uma alta diversidade de espécies de *Begomovirus* ao analisarem 55 amostras sintomáticas de diferentes acessos de batata-doce provenientes do BAG da Embrapa Hortaliças, através da combinação de amplificação por círculo rolante (RCA) com polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição (RFLP) e sequenciamento. Neste estudo foram identificadas duas prováveis espécies novas *Sweet potato golden vein-associated virus* (SPGVaV) e *Sweet potato mosaic-associated virus* (SPMaV), três estirpes de *Sweet potato leaf curl virus*: *Sweet potato leaf curl virus-Ceará* - SPLCV-CE; *Sweet potato leaf curl virus- Rio Grande do Sul* SPLCV-RS1, semelhantes às espécies de begomovírus monopartido já descritas no Japão e na Espanha e *Sweet potato leaf curl virus* – SPLCV-RS1, semelhante às espécies dos Estados Unidos. Além disto, foram encontradas diversas variantes de begomovírus descritas anteriormente. A sequência da variante SPGVaV foi analisada e três pontos de recombinação foram identificados no genoma, demonstrando ser esta recombinante entre isolados de SPLCV e SPLCGV.

Albuquerque et al. (2011) trabalharam com amostras de batata-doce e relataram uma provável espécie nova de *Begomovirus* monopartido em batata-doce que foi nomeada como Sweet potato leaf curl São Paulo virus (SPLCSPV) e de uma nova estirpe chamada Sweet potato leaf curl virus-São Paulo (SPLCV-SP) na mesma amostra de batata-doce provenientes de São Paulo.

Clark et al., 2012 realizaram um levantamento e encontraram referências bibliográficas de 13 espécies de *Begomovirus* infectando batata-doce em nível mundial.

1.1.3 Espécies do gênero *Ipomovirus*

A espécie do gênero *Ipomovirus*, SPMMV é muito importante na maioria das regiões produtoras da África Oriental, prevalecendo em batata-doce na Uganda, ocorrendo tanto em infecções simples quanto mistas (MUKASA; RUBAIHAYO; VALKONEN, 2003b).

No Brasil este vírus foi interceptado em plantas oriundas do Japão em 1995 pela Embrapa Cenargen (MARINHO; DUSI, 1995). Diversos levantamentos conduzidos no país com intuito de detectar SPMMV já foram realizados (GAMA, 1988; KITAJIMA, 1984; PIO-RIBEIRO et al. 1993; POZZER et al. 1992; POZZER, 1994), entretanto não houve detecção viral em nenhum deles.

1.1.4 Espécies de outros gêneros descritas na cultura

Diversos vírus têm sido relatados em batata-doce conforme relacionados na Tabela 1.

Tabela1. Espécies virais pertencentes a diferentes gêneros e família descritas até o presente na cultura da batata-doce (adaptada e modificada de CLARK et al., 2012)

Família	Gênero	Espécie	Referência
<i>Bromoviridae</i>	<i>Cucumovirus</i>	<i>Cucurbit mosaic virus</i> (CMV)	Cohen; Loebenstein, 1991
<i>Caulimoviridae</i>	<i>Badnavirus</i>	<i>Sweet potato pakakuy virus</i> (SPPV)	Kreuze et al., 2009
	<i>Cavemovirus</i>	Sweet potato caulimo-like virus (SPCV)/ <i>Sweet potato collusive virus</i> (SPCV)	Cuellar et al., 2011a
	<i>Solendovirus</i> ¹	<i>Sweet potato vein clearing virus</i> (SPVCV)	Cuellar et al., 2011

<i>Secoviridae</i>	<i>Nepovirus</i>	Sweet potato ringspot virus (SPRV)	Brown; Brunt; Hugo, 1988
<i>Closteroviridae</i>	<i>Crinivirus</i>	<i>Sweet potato chlorotic stunt virus</i> (SPCSV)	Cuellar et al., 2011b
<i>Flexiviridae</i>	<i>Carlavirus</i>	Sweet potato C-6 virus (Virus C-6)	Loebenstein et al., 2009
		<i>Sweet potato chlorotic fleck virus</i> (SPCFV)	Aritua et al., 2009
<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i>	Ipomoea crinkle leaf curl virus (ICLCV)	Cohen et al., 1997
		<i>Ipomoea yellow vein virus</i> (IYVV)	Li; Salih; Hurtt, 2004
		<i>Sweet potato leaf curl virus</i> (SPLCV)	Kokkinos; Clark, 2006
		<i>Sweet potato leaf curl Canary virus</i> (SPLCCaV)	Lozano et al., 2009
		<i>Sweet potato leaf curl China virus</i> (SPLCV-CN)	Luan et al., 2007
		<i>Sweet potato leaf curl Georgia virus</i> (SPLCGV)	Lotrakul; Valverde; Clark, 2003
		<i>Sweet potato leaf curl Lanzarote virus</i> (SPLCLaV)	Lozano et al., 2009
		<i>Sweet potato leaf curl Spain virus</i> (SPLCESV)	Lozano et al., 2009
		Sweet potato leaf curl South Carolina virus (SPLCSCV)	Ling et al., 2010
		Sweet potato leaf curl Uganda virus (SPLCUV)	Wasswa et al., 2011
		Sweet potato symptomless virus 1 (SPSMV-1)	Kreuze et al., 2009
		Sweet potato mosaic associated virus (SPMaV)	Paprotka et al., 2010
Sweet potato golden vein associated virus (SPGVaV)	Paprotka et al., 2010		

<i>Luteoviridae</i>	<i>Polerovirus</i>	<i>Sweet potato leaf speckling virus</i> (SPLSV)	Fuentes et al., 1996	
<i>Potyviridae</i>	<i>Potyvirus</i>	<i>Sweet potato feathery mottle virus</i> (SPFMV)	Chen et al., 2008	
		<i>Sweet potato latent virus</i> (SPLV)	Colinet; Kummert; Lepoivre, 1997	
		<i>Sweet potato mild speckling virus</i> (SPMSV)	Kwak et al., 2007	
		Sweet potato vein mosaic virus (SPVMV)	Nome et al., 1973	
		<i>Sweet potato virus 2</i> (SPV2)	Ateka et al., 2004	
		<i>Sweet potato virus C</i> (SPVC)	Kokkinos; Clark, 2006	
		<i>Sweet potato virus G</i> (SPVG)	Colinet et al., 1998	
		<i>Ipomovirus</i>	Sweet potato yellow dwarf virus (SPYDV)	Liao et al., 1979
			<i>Sweet potato mild mottle virus</i> (SPMMV)	Mukasa; Rubaihayo; Valkonen, 2003

1- Gênero recentemente aceito por uma ratificação do ICTV.

1.2 Infecções mistas

De acordo com Untiveros; Fuentes e Salazar (2007), diferentemente do SPLCV e SPCSV, a maioria das infecções simples em batata-doce induzem sintomas leves, e conseqüentemente, não há redução significativa na produção. Além disso, muitas vezes há uma dificuldade na detecção viral devido à falta ou baixa intensidade de sintomas o que na maioria das vezes acarreta a disseminação dos vírus, pelos produtores, através de propagação de material infectado (GUTIÉRREZ; FUENTES; SALAZAR, 2003). Por este motivo tem-se grande número de relatos de co-infecções virais a partir de quase todas as regiões produtoras (DI FEO et al., 2000; ROSSEL; THOTTAPPILLY, 1988).

Além das infecções virais simples pode ocorrer ainda a presença de complexos virais, o que muitas vezes acentua os prejuízos da doença por causarem sinergismo (UNTIVEROS;

FUENTES; SALAZAR, 2007). Geralmente, essas doenças virais são provocadas por infecções mistas de duas ou mais espécies.

Algumas sinergias causam considerável redução do rendimento. Segundo Cecílio Filho et al. (1998), o acúmulo de vírus promove danos consideráveis, como redução e deformação foliar, com reflexos sobre o rendimento das raízes de batata-doce.

A interação clássica e mais detalhadamente estudada é a Sweet potato virus disease (SPVD). Esta doença é causada por SPCSV e SPFMV e é considerada restritiva para a produção de batata-doce em todas as áreas produtoras devido a intensidade dos sintomas de mosaico, clorose, nanismo e deformação foliar, que levam a reduções de produtividade muitas vezes superior a 70 % (GUTIÉRREZ; FUENTES; SALAZAR, 2003; ROSSEL; THOTTAPPILLY, 1988).

Cuellar et al. (2011a) relataram pela primeira vez uma interação sinérgica entre os vírus de DNA SPCV e Sweet potato vein clearing virus (SPVCV) com um vírus de RNA (SPCSV), observando que as plantas manifestaram sintomas mais intensos quando infectadas com as três espécies juntas do que com infecções únicas ou duplas.

Estudos indicam que espécies de *Crinivirus* podem suprimir o silenciamento gênico da planta através da expressão de p22 (LI; DING, 2006). Esta supressão pode ser uma explicação para o sinergismo entre espécies virais e a potencialização da doença.

Esta variabilidade de interações é importante, dado que SPCSV é distribuído mundialmente e pode auxiliar outros vírus a causarem doenças graves em batata-doce (UNTIVEROS; FUENTES; SALAZAR, 2007).

2. A cultura da berinjela

A família Solanaceae é representada por 3000 espécies distribuídas em 90 gêneros (VORONTSOVA; KNAPP, 2012). Esta família inclui culturas alimentares de importância mundial, tais como a batata (*Solanum tuberosum* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), pimenta (*Capsicum* spp.) e berinjela (*Solanum melongena* L.) (FILGUEIRA, 2008; VORONTSOVA; KNAPP, 2012).

A berinjela é originária de regiões tropicais do Oriente, tendo sido introduzida no Brasil pelos árabes, os quais já a cultivavam há muitos séculos (FILGUEIRA, 2008; JOLY, 1998). Devido a sua origem, é mais adaptada às condições de clima tropical, mas pode ser cultivada o ano todo em regiões de clima subtropical (REIS; BOITEUX; LOPES, 2011).

A berinjela é uma cultura alimentar economicamente importante disponível em todo o mundo, com aproximadamente dois milhões de hectares dedicados anualmente para o seu cultivo (FAO, 2011). A Ásia é a maior produtora de berinjela, com destaques para a China (27.728.135 t) e a Índia (11.896.000 t), correspondendo a 83 % da produção mundial (FAO, 2011).

No Brasil, o cultivo desta hortaliça ainda não é expressivo, apresentando uma área plantada de um pouco mais de 1.500 ha, sendo seu maior consumo nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Paraná (REIS et al., 2007).

Segundo Muñoz-Falcón et al. (2009), existe poucas cultivares populares no comércio mundial. Em todo o mundo, a diversidade varietal da berinjela está diminuindo (ALI et al., 2011), entretanto várias regiões da Ásia, como, em toda a Filipinas, sul da China, Sudeste Asiático e Índia são ricas em número de cultivares podendo ser encontradas, diversas materiais tradicionais locais que exibem uma vasta variabilidade de morfologia, de sabor e com resistência a patógenos (LIU et al., 2012; MEYER et al., 2012). Além disto, de acordo com Moncada et al. (2013), as cultivares de berinjela diferem em tamanho, forma e cor dos frutos, sendo a roxa o tipo mais cultivado.

A demanda desta hortaliça tem aumentado, motivada pela procura por parte dos consumidores de produtos mais saudáveis e com propriedades medicinais por ser uma importante fonte para redução do nível de colesterol, e fonte de antocianinas e minerais para a dieta humana (FILGUEIRA, 2008; REIS et al., 2007). As antocianinas são pigmentos localizados nos vacúolos das células vegetais e pertencem ao grupo de flavonóides, poderosos antioxidantes (MONCADA et al., 2013; VINSON et al., 1998). Além disso, alguns nutrientes na berinjela são considerados como tendo efeitos anti-doença eficazes (por exemplo, anti-tumoral) (NODA et al., 2000).

Flavonóides isolados de *S. melongena* mostraram uma grande atividade antioxidante e seu consumo na dieta está associado a um menor risco de acidente vascular cerebral, e doenças cardíacas (KNEKT et al., 1997). Contudo, estas características ainda não foram bem exploradas devido ao limitado conhecimento disponível do seu genoma (LIU et al., 2012).

O estudo e compreensão das doenças que afetam esta solanácea são de grande importância, pois apesar de ser uma cultura bastante rústica, sendo mais tolerante a doenças que outras olerícolas da família, há uma ampla gama de doenças em comum a diversas plantas desta família (DOGANLAR et al. 2002; REIS; BOITEUX; LOPES, 2011; ZAMBOLIM; VALE; COSTA, 2000).

2.1 Vírus que infectam a berinjela

A berinjela é acometida por fungos, nematóides, bactérias e vírus. Dentre estes patógenos citam-se espécies de *Colletotrichum*, de *Meloidogyne* e *Ralstonia solanacearum* (REIS; BOITEUX; LOPES, 2011). Vários vírus já foram relatados em berinjela no Mundo, sendo a maioria pertencente ao gênero *Potyvirus* destacando-se a espécie Eggplant green mosaic virus (EGMV) (LADIPO et al., 1988a), Eggplant severe mottle virus (ESMV), (LADIPO et al., 1988b); *Pepper veinal mottle virus* (PVMV) (IGWEGBE; WATERWORTH, 1982); Brinjal mild mosaic virus (BMMV) (NAQVI; MAHMOOD, 1976) e PVY (SASTRY et al., 1974).

Segundo Scholthof et al. (2011), PVY ocupa a quinta posição entre as dez espécies de vírus mais relevantes no Mundo em importância científica e econômica. Espécies de *Begomovirus* também compõem a lista.

Três espécies de *Begomovirus* (com genoma bipartido) já foram relatadas em berinjela. Green et al. (2003) relataram as espécies: *Tomato yellow leaf curl Thailand virus* (TYLCTHV) e *Ageratum yellow vein virus* (AYVV), infectando berinjela na Tailândia e Pratap; Kashikar e Mukherjee (2011) detectaram a espécie *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV) na Índia.

Recentemente, Dombrovsky et al. (2011) relataram em Israel, a espécie *Eggplant mild leaf mottle virus* (EMLMV), gênero *Ipomovirus*, família *Potyviridae* que é transmitido mosca branca *Bemisia tabaci* (família, Aleyrodidae e ordem Hemiptera).

Os tospovírus são importantes patógenos que acometem culturas relevantes. A doença viral conhecida como ‘Vira-cabeça’ apresenta sintoma característico de necrose no topo da planta, que decorre em paralisação do crescimento da mesma (REIS; BOITEUX; LOPES, 2011).

Segundo Lima et al. (2002), infecções com *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), uma das espécies do complexo Vira-cabeça, tem ocorrido naturalmente em berinjela em alguns países mas sem relatos no Brasil, entretanto estes autores inocularam mecanicamente TSWV, *Groundnut ringspot virus* (GRSV), *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV) e *Chrysanthemum stem necrosis virus* (CSNV) em plantas de berinjela e constataram a suscetibilidade da planta após o desenvolvimento de sintomas.

Em um levantamento de doenças da berinjela recentemente realizado no Brasil, Reis; Boiteux e Lopes (2011) relataram como doença viral apenas o Vira-cabeça, causada por uma ou mais espécies do gênero *Tospovirus*: TSWV, GRSV, TCSV e CSNV.

3. Descrições de famílias e gêneros virais que têm membros que infectam a Batata-doce e berinjela

3.1. Família *Geminiviridae*

A família *Geminiviridae* tem como característica a morfologia de partículas icosaédricas geminadas e genoma composto por DNA de fita simples circular (HANLEY-BOWDOIN et al., 1999). As partículas medem em torno de 22 x 38 nm, contendo um total de 110 subunidades de proteínas capsidiais, organizadas como 22 capsômeros (BROWN et al., 2011; PRATAP; KASHIKAR; MUKHERJEE, 2011).

Esta família encontra-se atualmente representada pelos gêneros *Becurtovirus*, *Begomovirus*, *Curtovirus*, *Eragrovirus*, *Mastrevirus*, *Topocuvirus* e *Turncurtovirus* (ICTV, 2013) separados de acordo com a organização do genoma, as hospedeiras que infectam e o tipo de inseto vetor (ADAMS; KING; CARSTENS, 2013; BROWN et al., 2011; FAUQUET et al., 2008; GUTIERREZ, 1999; HERNANDÉZ-ZEPEDA, VARSANI; BROWN, 2013; HEYDARNEJAD et al., 2013).

As espécies classificadas nos gêneros *Becurtovirus*, *Eragrovirus*, *Mastrevirus*, *Curtovirus*, *Topocuvirus* e *Turncurtovirus* possuem apenas um componente genômico enquanto aquelas classificadas no gênero *Begomovirus* podem apresentar um ou dois componentes genômicos sendo denominadas monopartidas (apenas um componente) ou bipartidas (dois componentes) (BROWN et al., 2011; HERNANDÉZ-ZEPEDA; VARSANI; BROWN, 2013; HEYDARNEJAD et al., 2013; ICTV, 2013).

Os membros da família *Geminiviridae* são os menores vírus conhecidos até o momento e são transmitidos por insetos vetores das famílias Aleyrodidae, Cicadellidae e Membracidae (BRIDDON; STANLEY, 2009).

3.1.1 Gênero *Curtovirus*

Espécies deste gênero são caracterizadas pelo genoma monopartido com um tamanho de 2.9 a 3.0 kb (STENGER, 2002).

O gênero *Curtovirus*, espécie tipo *Beet curly top virus* (BCTV) agrupa sete espécies definitivas e uma tentativa. Estas espécies são transmitidas na natureza por *Circulifer tenellus* (ordem: Hemiptera e família: Cicadellidae) e a relação estabelecida entre vírus e vetor é do

tipo circulativa não propagativa (BROWN et al., 2011; CHEN, 2008). O material genômico é composto por seis ou sete ORFs, sendo três no sentido viral: V1 que codifica a proteína capsial (CP); V2 que codifica a proteína de movimento (MP) e V3 envolvida na regulação dos níveis de ssDNA e dsDNA (BROWN et al., 2011; STENGER, 2002). No sentido complementar encontram-se quatro ORFs: C1 que codifica a proteína associada à replicação (Rep); C2 que atua como fator de patogenicidade em algumas hospedeiras; C3 que codifica a proteína potencializadora da replicação (Rep–replication enhancer protein) e C4, relacionada com a determinação da sintomatologia e também participa na regulação do ciclo celular da hospedeira (BROWN et al., 2011; STENGER, 2002).

3.1.2 Gênero *Topocuvirus*

Este gênero monotípico contém apenas a espécie *Tomato pseudo-curly top virus* (TPCTV) e apresenta organização genômica semelhante às espécies de *Curtovirus*, codificando seis proteínas. Além disto, a capa protéica é relacionada com as das espécies do gênero *Curtovirus*. Entretanto, a sequência de nucleotídeos de TPCTV é semelhante à dos membros do gênero *Begomovirus*. Este fato sugere que eles divergiram depois de uma recombinação que alterou a especificidade do inseto vetor, tendo em vista que a transmissão de TPCTV é feita pelo vetor da família Membracidae: *Micrutalis malleifera* (HULL, 2002, FAUQUET et al., 2008; BROWN et al., 2011).

3.1.3 Gênero *Mastrevirus*

A espécie tipo do gênero é *Maize streak virus* (MSV). Espécies de *Mastrevirus* apresentam apenas um componente genômico e duas regiões intergênicas: uma curta de, aproximadamente 50 nucleotídeos e uma longa com aproximadamente 200 nucleotídeos. As espécies apresentam quatro ORFs, sendo duas no sentido viral: MP (proteína de movimento) e CP (capa protéica) e outras duas no sentido complementar rep A e rep B (PALMER; RYBICKI, 1998; GUTIERREZ, 1999; MUHIRE et al., 2013). Espécies de *Mastrevirus* infectam um restrito círculo de hospedeiras, limitados a espécies da família Poaceae (exceção para *Tobacco yellow dwarf virus* (TYDV), *Bean yellow dwarf virus* (BeYDV) e a espécie tentativa Chickpea chlorotic dwarf virus (CpCDV) que infectam plantas dicotiledôneas). As espécies são transmitidas por *Cicadulinam bilae* a relação estabelecida entre vírus e vetor é do

tipo circulativa (Ordem: Hemiptera e família: *Cicadellidae*) (FAUQUET et al, 2008; HULL, 2002; MORRIS-KRSINICH et al., 1985).

3.1.4 Gêneros novos

Os gêneros *Becurtovirus*, (HEYDARNEJAD et al., 2013), *Turncurtovirus* e *Eragrovirus*, foram recentemente incluídos à família através de uma ratificação do International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) (ADAMS; KING; CARSTENS, 2013).

Recentemente foi proposta a re-classificação de *Beet curly top Iran virus* (BCTIV) e inclusão da nova espécie *Spinach curly top Arizona virus* (SCTAV) sugerindo o estabelecimento do novo gênero: *Becurtovirus*, com base em análises filogenéticas, organização do genoma e transmissão por *Circulifer haematoceps* (HEYDARNEJAD et al., 2013).

Eragrostis curvula streak virus (ECSV) é a espécie tipo do novo gênero *Eragrovirus* (ICTV, 2013). O outro novo gênero *Turncurtovirus* tem como espécie tipo *Turnip curly top virus* (TCTV). O gênero diferencia-se de *Curtovirus* devido o produto da ORF V2 não apresentar nenhuma semelhança significativa com quaisquer proteínas disponíveis em bases de dados públicas. Além disto, produto da ORF V1 (que codifica a CP de geminivírus) mostra baixa identidade de sequência com a CP de *Curtovirus*, entre outras diferenças (ICTV, 2013).

3.1.5 Gênero *Begomovirus* e o vetor *Bemisia tabaci*

O gênero *Begomovirus* possui o maior número de espécies (192 espécies definitivas e 86 espécies tentativas) dentre os gêneros de vírus que infectam plantas (BROWN et al., 2011).

Espécies classificadas neste gênero podem ser divididas em dois grandes grupos: originárias do Novo Mundo (Américas- Hemisfério Ocidental) e do Velho Mundo (Europa, Ásia e África – Hemisfério Oriental) (FARIA; ZERBINI, 2000). Espécies de *Begomovirus* com genoma monopartido, em sua maioria, só foram relatados no Velho Mundo, com exceção do complexo de espécies SPLCD reportado infectando plantas de batata-doce no Brasil São Paulo- SP, Rio Grande do Sul-RS, Pernambuco-PE e Paraíba- PB e ou outros países (ALBUQUERQUE et al., 2011, FUENTES; SALAZAR, 2003). As espécies que infectam plantas de batata-doce e outras do gênero *Ipomoea*, são monopartidas (LOZANO et al., 2009; ZHANG; LING, 2011) e são, monofileticamente agrupadas separadamente de outros begomovírus (LOZANO et al., 2009).

Os critérios para estabelecimento de uma nova espécie no gênero *Begomovirus* incluem: o número de componentes do genoma, presença ou ausência da ORF AV2, identidade de sequência dos nucleotídeos (identidade menor que 89 % do DNA-A, geralmente indica espécies distintas), replicação e componentes genômicos, produção de pseudo-recombinantes viáveis, características da capa proteica (identidade menor que 90 %, pode indicar espécies distintas), hospedeiros naturais e sintomatologia (FAUQUET et al., 2008).

O agente vetor das espécies classificadas no gênero *Begomovirus* é a mosca branca, *B. tabaci* (BROWN et al., 2011).

Bemisia tabaci coloniza cerca de 600 espécies de plantas hospedeiras distribuídas em 74 famílias botânicas (BROWN; FROHLICH; ROSELL, 1995) e está amplamente disseminada em regiões tropicais e subtropicais sendo considerada uma das mais importantes pragas para a agricultura (HARRISON, 1985; PERRING et al., 1993; BROWN, 1994 e POLSTON; ANDERSON 1999). Estes insetos provocam danos de forma direta, e indireta atuando como vetores de vírus de plantas. Segundo Jones (2003), 114 espécies de vírus são transmitidas por *B. tabaci* sendo que 90 % pertencem ao gênero *Begomovirus*, além de outras espécies em *Potyvirus*, *Crinivirus* e *Carlavirus*.

Para a aquisição eficiente, estudos mostraram variação, de 10 a 60 minutos no período mínimo de acesso de aquisição (PAA) sendo o período de acesso de inoculação (PAI) de 10 a 30 minutos, tanto para muitos vírus no Velho e Novo Mundo (IDRIS; BROWN, 1998; SANTOS; ÁVILA; RESENDE, 2003). O período de latência é de 17-20 horas e permanece virulífera durante 7-20 dias (MEHTA et al., 1994).

Possivelmente o centro de origem da *B. tabaci* é o Oriente ou o Paquistão, e acredita-se que a mosca-branca tenha sido introduzida nas Américas, na África e Europa pelo transporte de material vegetal (BROWN; BIRD, 1992).

Raças ou biótipos vêm sendo descritos a partir da década de 50, baseado em observações de populações morfológicamente idênticas, porém com características distintas quanto à transmissão de vírus, gama de hospedeiros, colonização das plantas e resistência a inseticidas (BROWN et al., 1995; BERRY et al., 2004). Assim, De Barro; Trueman e Frohlich, (2005) identificaram um complexo formado por aproximadamente 41 biótipos, onde o mais adaptado e mais amplamente distribuído é o biótipo B (PERRING, 2001). Estudos recentes de acordo com De Barro et al., (2011) mosca-branca forma um complexo que engloba 11 grupos bem determinados contendo aproximadamente 24 espécies sem diferenças morfológicas.

3.1.6 Gênero *Begomovirus*: organização e replicação do genoma

As espécies deste gênero podem apresentar o genoma composto por um componente de DNA fita simples (ssDNA) circular, com tamanho entre 2,5 a 3,0 kb, enquanto as espécies de genoma bipartido são encapsidadas separadamente, sendo requeridos os dois componentes denominados DNA-A e DNA-B para que a infecção sistêmica ocorra, apesar de já existirem estudos sobre a capacidade do DNA-A sozinho estabelecer uma infecção sistêmica, como por exemplo o *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) (GALVÃO et al., 2003; ROJAS et al., 2005).

Não existe identidade de sequências entre os componentes DNA-A e DNA-B, exceto por uma região comum denominada RC de aproximadamente 200 pb que contém a sequência necessária para o início da replicação viral (FARIAS; ZERBINI, 2000; OROZCO; HANLEY-BOWDOIN, 1996).

Cada um dos componentes (DNA-A e DNA-B) é responsável por etapas distintas do processo de infecção. No DNA-A estão contidas as informações para a replicação da partícula e esta, ocorre autonomamente e forma os vírions, enquanto no DNA-B as informações codificadas permitem ao vírus o movimento intra e intercelular (FARIAS; ZERBINI, 2000; HOFER et al., 1997; HANLEY-BOWDOIN et al., 1999).

No componente A, a ORF AV1 codifica a capa proteica (CP) e AV2 codifica a proteína de movimento (MP) que são transcritas no sentido viral (HOFER et al., 1997). No sentido complementar a ORF AC1 codifica uma proteína associada à replicação (Rep), AC2 codifica uma proteína transativadora (TrAP), AC3 codifica para uma proteína potencializadora da replicação viral (SETTLAGE; SEE; HANLEY-BOWDOIN, 2005) e AC4/C4 é importante na manifestação de sintomas, e pode suprimir a resposta do hospedeiro à expressão da Rep (VANITHARANI et al., 2004). Em espécies de *Begomovirus* bipartidos do Novo Mundo a ORF AV2 não está presente (HOFER et al., 1997).

No componente B a ORF BV1 codifica uma proteína com função de movimento (NSP) e é transcrita no sentido viral e a ORF BC1 (MP) no sentido complementar (BRIDDON; MARKHAM, 2001; HANLEY-BOWDOIN et al., 1999; PALMER; RYBICKI, 1998); Em espécies de *Begomovirus* bipartidos, três proteínas atuam para que o vírus se movimente sistemicamente na planta. Duas destas proteínas codificadas pelo componente B (MP e a NSP), enquanto a terceira delas é codificada pelo componente A (coat protein -CP) (HEHNLE; WEGE; JESKE, 2004). Estudos têm mostrado que a CP em espécies de *Begomovirus* bipartidos, pode auxiliar no movimento sistêmico viral, mas não é essencial,

diferentemente do que ocorre em espécies de *Begomovirus* monopartidos onde a CP é essencial para este tipo de movimento (GAFNI; EPEL, 2002, GUEVARA-GONZÁLEZ; RAMOS; RIVERA-BUSTAMANTE, 1999; WARD; LAZAROWITZ, 1999).

A replicação do ssDNA ocorre no núcleo pelo mecanismo de amplificação em círculo rolante (RCA) através da formação de um DNA de fita dupla chamado de forma replicativa (RF) que em seguida, será o molde para a transcrição viral e para a síntese de novas fitas de ssDNA (ALBERTER; REZAIAN; JESKE, 2005; GUTIERREZ, 1999).

Dentro da região comum, conforme mencionado anteriormente, localiza-se uma sequência conservada de nove nucleotídeos denominada TATABox que está presente em todos os begomovírus, contendo o domínio funcional da origem de replicação, que é bidirecional, além dos promotores de síntese dos mRNAs virais. Os nove nucleotídeos mencionados anteriormente encontram-se dentro de um contexto de 29 a 32 sequências de nucleotídeos capazes de formar uma estrutura em forma de grampo ou “stem loop” (HEYRAUD et al., 1993).

A replicação inicia-se a partir da ligação do promotor a sequência específica na região comum onde é estabelecido o complexo Rep, Ren e os fatores da hospedeira (STANLEY, 1995). A Rep se liga a ‘iterons’ por meio de uma ligação fosfodiéster no terminal 5’, enquanto que o terminal 3’-OH é usado como um iniciador para a síntese de uma nova fita de DNA para a formação ou não de pseudo recombinantes viáveis, não sendo considerada uma replicase e sim uma enzima associada a replicação, já que a atividade de DNA polimerase é realizada por enzimas do hospedeiro (FARIA; ZERBINI, 2000; TIMMERMANS; DAS; MESSING, 1994).

A ORF AC2 codifica a proteína transativadora da transcrição TrAP influenciando a transcrição e subsequente expressão dos genes CP e NSP no sentido viral dos componentes A e B, respectivamente. Além disto, envolvido na supressão de RNAi (BROWN et al., 2011; PRATAP; KASHIKAR; MUKHERJEE, 2011).

A ORF AC3 codifica a proteína REn (*replication enhancer protein*) de aproximadamente 16kDa, que é requerida para replicação eficiente do DNA viral, sendo considerada como um fator potencializador da replicação possivelmente por interagir com a Rep no reconhecimento da origem de replicação (SETTLAGE et al., 1996).

Para realizar uma infecção eficiente da planta hospedeira, o vírus necessita movimentar-se a partir da célula inicialmente infectada, e isto pode ocorrer de duas maneiras: movimentando-se de célula-a-célula (via plasmodesma) e a longa distância via sistema vascular da hospedeira (VUORINEN; KELLONIEMI; VALKONEN, 2011).

O movimento de espécies bipartidas no interior de uma planta é mediado pelas proteínas codificadas pelos genes presentes no DNA-B. A proteína NSP realiza o tráfico intracelular pelo núcleo e a proteína MP está envolvida no movimento célula-célula, via plasmodesmas (CARVALHO; TURGEON; LAZAROWITZ, 2006). Por outro lado, nas espécies monopartidas a CP atua na dispersão viral também através de interações com os plasmodesmas (GAFNI; EPEL, 2002).

3.1.7 Variabilidade no gênero *Begomovirus*

Um importante estudo desenvolvido por Paprotka et al. (2010), confirmou uma elevada diversidade de espécies de *Begomovirus* infectando batata-doce e comprovou também eventos de recombinação gerando variabilidade de espécies. A recombinação gera evolução das espécies decorrendo no surgimento de espécies e estirpes novas (ALBUQUERQUE et al., 2012).

É conhecido que patógenos apresentam grande variabilidade por diferentes mecanismos. Vírus com genoma multipartido podem ser favorecidos para ocorrência de eventos de recombinação. Em espécies de *Begomovirus* os principais eventos que geram variabilidade são: pseudo-recombinação, recombinação e mutação (PADIDAM; BEACHY; FAUQUET, 1995; PREISS; JESKE, 2003).

As alterações causadas pela recombinação podem gerar novas espécies, além de ocasionar também modificações no genoma que influenciam tanto na replicação do vírus quanto no movimento e acúmulo deste, alteração na patogenicidade, fatores que possuem importante papel na evolução e epidemiologia desses vírus, além de levar à diferenciação na gama de hospedeiras e desenvolvimento de sintomas (SANTOS et al., 2004; STENGER; DAVIS; BISARO, 1994).

3.2 Família *Potyviridae*

Esta família abrange agentes patogênicos que infectam diversas espécies desde dicotiledôneas a monocotiledôneas (GIBBS; OHSHIMA, 2010).

Em *Potyviridae* estão incluídos sete gêneros: *Brambyvirus* (uma espécie), *Bymovirus* (seis espécies), *Ipomovirus* (cinco espécies), *Macluravirus* (seis espécies), *Poacevirus* (duas espécies) *Rymovirus* (três espécies), *Tritimovirus* (cinco espécies), e *Potyvirus* com o maior número de espécies, 146 espécies definitivas e 19 espécies tentativas (ADAMS et al., 2011).

Todos os gêneros apresentam genoma monopartido, com partículas alongadas e flexuosas entre 650–900 nm de comprimento, com exceção de *Bymovirus* que são bipartidos com tamanho de partículas entre 250–300 e 500–600 nm (ADAMS et al., 2011).

Espécies da família apresentam genoma composto de RNA senso positivo, com uma proteína denominada VPg ligada covalentemente à extremidade 5' e uma cauda poliadenilada no terminal 3' (CARRINGTON et al., 1993; RIECHMANN et al., 1989).

As espécies são caracterizadas por apresentarem uma única 'frente aberta de leitura' (ORF) que codifica uma proteína chamada poliproteína que sofre autoclivagem em sítios específicos gerando várias proteínas funcionais (DOUGHERTY et al., 1988).

A transmissão pode ocorrer de diversas maneiras. A transmissão via vetores é bem diversificada entre os diferentes gêneros da família (SHUKLA, et al., 1994). Assim membros de *Potyvirus* e *Macluravirus* têm afídeos vetores e estabelecem com estes uma relação não circulativa. Espécies classificadas em *Rymovirus* e *Tritimovirus* são transmitidas por ácaros e apresentam uma relação do tipo não circulativa semi-persistente. Espécies de *Bymovirus* são transmitidas por *Polomyxa graminise* espécies de *Ipomovirus* podem ser transmitidas por mosca-branca de maneira não persistente (ADAMS et al., 2011; MUKASA et al., 2003a).

3.2.1 Gênero *Potyvirus*: organização e replicação do genoma

A espécie-tipo do gênero é a *Potato virus Y* (PVY). O gênero *Potyvirus* é a segundo maior em termos de números de espécies infectando uma ampla variedade de plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas (ADAMS et al., 2011).

Até o presente momento foram relatadas 146 espécies definitivas e 32 tentativas no gênero *Potyvirus* (ADAMS et al., 2011).

O genoma de *Potyvirus* é constituído de uma única molécula de RNA fita simples (ssRNA) com cerca de 10kb, senso positivo, linear e possui apenas uma ORF, que é traduzida em uma poliproteína de 340 a 370 kDa (ADAMS et al., 2011).

A poliproteína sofre autoclivagem, por três proteases virais (P1, NIa e HC-Pro), e origina diversas proteínas, que em sua maioria desempenham mais de uma função: P1 - promove a replicação facilitada pela ativação do gene que codifica a HC-Pro (Helper Component-Protease) (VERCHOT; CARRINGTON, 1995); a HC-Pro possui as funções de transmissão pelo inseto vetor e de supressão do silenciamento gênico da planta (THORNBURY et al., 1985; KASSCHAU; CARRINGTON, 1995; KASSCHAU; CARRINGTON, 1998). A função da proteína P3 ainda não está totalmente elucidada, porém há indicações de atuação na replicação e de que também esteja ligada a gama de hospedeiros e no desenvolvimento de

sintomas (KLEIN et al., 1994). NIa-Pro, atua na clivagem da maioria dos sítios da poliproteína e NIB é um RNA dependente de RNA polimerase, ambas atuam na formação de inclusões nucleares (RIECHMANN; LAIN; GARCIA, 1992; URCUQUI-INCHIMA; HAENNI; BERNARDI, 2001; HONG; HUNT, 1996). CI (*Cylindrical Inclusion protein*), atua juntamente com a NIB na formação de corpos de inclusão citoplasmáticos e também na ativação da helicase (CARRINGTON et al., 1998; KNUHTSEN; HIEBERT; PURCIFULL, 1974). A proteína 6K1 é uma proteína pequena assim como a 6K2 que está envolvida na ligação do complexo de replicação ao retículo endoplasmático (SHAAD; JENSEN; CARRINGTON, 1997). A proteína CP que desempenha funções de encapsidação, movimento e transmissão pelo inseto vetor (ALLISON; JOHNSTON; DOUGHERTY, 1986; ATREYA; ATREYA; PIRONE, 1991; DOLJA et al., 1994; MAHAJAN; DOLJA; CARRINGTON, 1996).

VPg (Viral Protein genome-linked) – proteína com maior número de funções no ciclo da infecção localiza-se no terminal 5' do genoma e está envolvida na replicação, na interação com fatores da célula entre outros (SHAAD et al., 1996; RIECHMANN et al., 1992). Chung et al. (2008), relataram a descoberta de uma pequena ORF, denominada PIPO, dentro do cistron P3 da poliproteína. Esta ORF é conservada e tem uma forte estrutura de codificação bioinformática dentro da família *Potyviridae*.

3.2.2 Gênero *Ipomovirus*

Classificadas no gênero *Ipomovirus* estão cinco espécies consideradas definitivas. Estas espécies infectam uma vasta gama de hospedeira, sendo SPMMV a espécie tipo (ADAMS et al., 2011), a qual foi reportada pela primeira vez na África Oriental a partir de plantas de batata-doce exibindo sintomas de mosqueado, clorose das nervuras e pouco desenvolvimento.

O gênero distingue-se dos outros membros da família *Potyviridae* por diferenças na análise filogenética e pelo fato de ser o único onde as espécies são transmitidas por mosca branca (ADAMS et al., 2011).

Espécies do gênero *Ipomovirus* são filamentosos e flexuosos com 800 a 950 nm de comprimento. O genoma possui entre 9069 e 10818 nucleotídeos e na estrutura e organização são muito semelhantes aos dos demais membros da família *Potyviridae* (COLINET; KUMMERT; LEPOIVRE, 1996) salvo algumas características que podem estar principalmente influenciando na transmissão por vetor (características da HC-Pro e CP) (HOLLINGS; STONE; BOCK, 1976; SÁENZ et al., 2002).

A espécie SPMMV, em comparação com a maioria dos outros vírus que infectam batata doce é a ampla gama de hospedeiros, que inclui espécies de diversas famílias de plantas (MOYER; SALAZAR, 1989).

A espécie SPMMV foi detectada em cultivares de batata-doce no lago Victoria região de Uganda (GIBSON et al., 1998). Este vírus prevalece em áreas de cultivo de batata-doce na Uganda, ocorrendo tanto em infecções únicas como em infecções mistas (MUKASA et al., 2003b).

Apesar da sweet potato virus disease (SPVD), desencadeada pela interação entre SPFMV e SPCSV, ser considerada a doença mais importante da batata-doce, infecções mistas de SPMMV com SPCSV também estão associadas a sintomas de doença graves, porém, ao contrário de SPCSV e SPFMV, estudos de variabilidade de sequência de SPMMV não foram realizados (MUKASA et al., 2003a).

O controle químico na maioria das vezes se apresenta como uma medida eficiente de controle de doenças de plantas, porém não é aplicável para algumas bactérias e para os vírus (TORRES; TEXEIRA; POZZERR, 1998).

A cultura de tecidos vegetais (cultura de ápices caulinares e a micro enxertia) vem sendo utilizada como uma opção para contornar o problema da falta de material propagativo sadio (CASTRO, 1991). Outras medidas que podem ser utilizadas em conjunto são: o tratamento da planta matriz a compostos químicos (quimioterapia), ao congelamento (criopreservação), ao calor (termoterapia), e eletroterapia (choques elétricos) (TORRES; TEXEIRA; POZZER, 1998). Para realização de técnicas de limpeza clonal, é importante se conhecer as espécies ocorrente na cultura.

Dessa forma, objetivou-se detectar a presença de membros do gênero *Begomovirus* e a espécie de *Ipomovirus* SPMMV em plantas de batata-doce originárias do Banco Ativo de Germoplasma da UFRPE e de algumas regiões produtoras nos Estados de Pernambuco e Paraíba, uma vez que a diagnose correta de espécies virais e o ajuste de metodologias visando uma rápida e eficiente detecção viral fornecerá suporte para ensaios futuros em programas de produção de batata-doce livre de vírus. Ainda na linha de controle outro objetivo foi avaliar o comportamento de acessos de berinjela (espécie rústica e fonte promissora de genes de resistência) em um Banco de Germoplasma de berinjela frente à *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) e PVY, espécies virais classificadas nos gêneros *Begomovirus* e *Potyvirus*. respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, M. J.; ZERBINI, F. M.; FRENCH, R.; RABENSTEIN, F.; STENGER, D. C.; VALKONEN, J. P. T. Family *Potyviridae*. In: KING, A. M. Q.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B.; LEFKOWITZ, E. J. (eds.) **Virus taxonomy. 9th report of the international committee on taxonomy of viruses**. San Diego: Elsevier Academic Press. pp. 1069-1089, 2011.

ADAMS, M. J.; KING, A. M. Q. CARSTENS, E. B. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses. **Archives of Virology**, Wien, fev. 2013.

AHMED, M.; AKTER, S.; EUN, J. Optimisation of drying conditions for the extraction of β -carotene, phenolic and ascorbic acid content from yellow-fleshed sweet potato using response surface methodology. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 46, p. 1356–1362, fev. 2011.

ALBERTER, B.; ALI REZAIAN, M.; JESKE, H. Replicative intermediates of *Tomato leaf curl virus* and its satellite DNAs. **Virology**, New York, v. 331, n. 2, p.441–448, Jan. 2005.

ALBUQUERQUE, L. C.; INOUE-NAGATA, A. K.; PINHEIRO, B.; RESENDE, R. O.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J. Genetic diversity and recombination analysis of sweepoviruses from Brazil. **Virology Journal**, London, v. 9, n. 1, p. 241 – 253, 2012.

ALBUQUERQUE, L. C.; INOUE-NAGATA, A. K.; PINHEIRO, B.; RIBEIRO, S. G.; RESENDE, R. O.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J. A novel monopartite *Begomovirus* infecting sweet potato in Brazil. **Archives of Virology**, Wien, v. 156, n. 7, p. 1291–1294, mai. 2011.

ALI, Z.; XU, Z. L.; ZHANG, D. Y.; HE, X. L.; BAHADUR, S.; YI, J. X. Molecular diversity analysis of eggplant (*Solanum melongena*) genetic resources. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 10, n. 2, p. 1141-1155, 2011.

ALLISON, R.; JOHNSTON, R. E.; DOUGHERTY, W. G. The nucleotide sequence of the coding region of tobacco etch virus genomic RNA: evidence for the synthesis of a single polyprotein. **Virology**, New York, v. 15, n. 154, p. 9–20, out. 1986.

ARITUA, V.; BARG, E.; ADIPALA, E.; GIBSON, R. W.; LESEMANN, D. E.; VETTEN, H. J. Host range, purification, and genetic variability in Sweet potato chlorotic fleck virus. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 93, n.1, p. 87-93, jan. 2009.

ARITUA, V.; BUA B.; BARG, E.; VETTEN, H. J.; ADIPALA E, GIBSON ,R. W. Incidence of five viruses infecting sweet potatoes in Uganda; the first evidence of sweet potato caulimovirus-like virus in Africa. **Plant Pathology**, Oxford, v. 56, n. 2, p. 324–331, abr. 2007.

ATEKA, E. M.; BARG, E.; NJERU, R. W.; LESEMANN, D. E.; VETTEN, H. J. Further characterization of ‘sweet potato virus 2’: A distinct species of the genus *Potyvirus*. **Archives of Virology**, Wien, v. 149, n. 2, p. 225-239, fev. 2004.

ATREYA, P. L.; ATREYA, C. D.; PIRONE, T. P. Amino acid substitutions in the coat protein result in loss of insect transmissibility of a plant virus. **Proceedings of the National Academy of Sciences, USA**, v. 88, n.17, p. 7887-7891, set. 1991.

AUSTIN, D.F.; CAVALCANTE, P. Convolvulaceas da Amazônia. **Publicações avuls. Belém: Museu Paraense Emílio Goeld**, Belém, v. 36, p. 1-134, 1982.

BARBOSA, L. M. M. A.; DANTAS, I. C.; FELISMINO. D. C.; COSTA SOBRINHA, L. Levantamento taxonômico da família Convolvulaceae no Sítio Imbaúba, Lagoa Seca, Paraíba. **BioFar: Revista de Biologia e Farmácia**, Paraíba, v. 8, n. 1, p. 111-124, 2012.

BARRO, P. D. *Bemisia tabaci* biotype B: A review of its biology, distribution and control. Ed. **CSIRO Australia Division of Entomology**. 2ª edição. pp. 58, 1995.

BECHOFF, A.; POULAERT, M.; TOMLINS, K. I.; WESTBY, A.; MENYA, G.; YOUNG, S.; DHUIQUE-MAYER, C. Retention and Bioaccessibility of β -Carotene in Blended Foods containing Orange-Fleshed Sweet Potato Flour. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 59, n. 18, p. 10373–10380, ago. 2011.

BERRY, S. D.; FONDONG, V. N.; REY, C.; ROGAN, D.; FAUQUET, C. M.; BROWN, J. K. Molecular evidence for five distinct *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) geographic

haplotypes associated with cassava plants in Sub-Saharan Africa. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 97, n. 4, p. 852-859, 2004.

BRIDDON, R. W.; BULL, S. E.; BEDFORD, I. D. Occurrence of *Sweet potato leaf curl virus* in Sicily. **Plant Pathology**, Oxford, v. 55, n. 2, p. 286-286, abr. 2006.

BRIDDON, R. W.; MARKHAM, P. G. Complementation of bipartite begomovirus movement functions by topocuviruses and curtoviruses. **Archives of Virology**, Wien, v. 146, n. 9, p. 1811–1819, 2001.

BRIDDON, R. W.; STANLEY, J. Sub-viral agents associated with plant-infecting single-stranded DNA viruses. **Virology**, New York, v. 344, n. 1, p. 198–210, jan. 2009.

BROWN, J. K.; FAUQUET, C. M.; BRIDDON, R. W.; ZERBINI, M.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J. Family *Geminiviridae*. In: KING, A.M.Q.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B.; LEFKOWITZ, E.J. (eds.) **Virus taxonomy. 9th report of the international committee on taxonomy of viruses**. San Diego: Elsevier Academic Press. pp. 1069-1089, 2011

BROWN, J. K. Current status of *Bemisia tabaci* as a plant pest and virus vector in agro-ecosystems worldwide. **Serie: Boletín Fitosanitario**, FAO, v. 42, n.1/2, p. 3-32, 1994.

BROWN, J.K.; BIRD, J. Whitefly-transmitted geminiviruses associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 76, n. 3, p. 220-225, 1992.

BROWN, J. D.; BRUNT, A. A.; HUGO, S. A. Studies on viruses isolated from sweet potato (*Ipomoea batatas*). Report of the Glasshouse Crops Research Institute for 1986-8, Littlehampton, p. 104-108, 1988.

BROWN, J. K.; FROHLICH, D. R.; ROSELL, R. C. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: Biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex? **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 40, p. 511-534, jan. 1995.

- CARRINGTON, J. C.; HALDEMAN, R.; DOLJA, V. V.; RESTREPO-HARTWIG, M. A. Internal cleavage and trans-proteolytic activities of the VPg-proteinase (NIa) of tobacco etch potyvirus in vivo. **Journal of Virology**, Washington, v. 67, n. 12, p. 6995–7000, dez. 1993.
- CARRINGTON, J. C.; JENSEN, P. E.; SCHAAD, M. C. Genetic evidence for an essential role for potyvirus CI protein in cell-to-cell movement. **The Plant Journal**, v. 14, n. 1, p. 393–400, 1998.
- CASTRO, L. L. Cultivo de tejidos para La producción de semilla básica de papa. In: ROCA, W.; MROGINSKI, L. A. (eds.). **Cultivo de tejidos em la agricultura: Fundamentos e Aplicaciones**. Colombia: CIAT, p. 447-468, 1991.
- CASTRO, L. A. S.; COUTO, M. E. O. Monitoramento de Viroses em Lavouras de Batata doce no Rio Grande do Sul. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, 140: **Embrapa Clima Temperado**, Pelotas, 2011.
- CASTRO, L. A. S.; ROCHA, N. E. M.; ABRANTES, V. L. Avaliação biológica de viroses em plantas matrizes e mudas de batata-doce (*Ipomoea batatas*). **Circular Técnica**, 75: **Embrapa Clima Temperado**, Pelotas, 2008.
- CASTRO, L. A. S.; OLIVEIRA, R. P.** (2007) Sistema de Produção da Batata-Doce. Pelotas: Embrapa Clima Temperado (Sistemas de Produção, 10). Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 18 de maio de 2013.
- CARVALHO, M. F.; TURGEON, R.; LAZAROWITZ, S. G. The geminivirus nuclear shuttle protein NSP inhibits the activity of AtNSI, a vascular-expressed Arabidopsis acetyltransferase regulated with the sink-to-source transition. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 140, n. 4, p. 1317–1330, fev. 2006.
- CHEN, L. F. Investigation of curtovirus-plant-insect vector interactions Role of the acquisition host and pathway of virus movement through the beet leafhopper vector, **University of California**, Davis, 2008, 177p.
- CHEN, L.; DU, Z.; HAMAGUCHI, T.; SUGITA, T.; NAGATA, R.; TERAOKA, H.; TSUZUKI, E. Clonal propagation and quick detection of virus-free plants of sweet potato, *Ipomoea batatas*. **Bull. Minamikyushu Univ.** v. n. 38, p. 1-5, 2008.

CHUNG, B. Y.W.; MILLER, W. A.; ATKINS, J.; FIRTH, A. E. An overlapping essential gene in the *Potyviridae* **Proceedings of the National Academy of Sciences**, United States, v. 105, n. 15, p. 5897–5902, April, 2008.

CECÍLIO FILHO, A. B.; REIS, M. S.; SOUZA, R. J.; PASQUAL, M. Degenerescência em cultivares de batata-doce. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 1, p. 82-84, mai. 1998.

CLARK, C. A.; DAVIS, J. A.; ABAD, J. A.; CUELLAR, W. J.; FUENTES, S.; KREUZE, J. F.; GIBSON, R. W.; MUKASA, S. B.; TUGUME, A. K.; TAIRO, F. D.; VALKONEN, J. P. T. Sweetpotato Viruses: 15 Years of Progress on Understanding and Managing Complex Diseases. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 96, n. 2, p. 168-185, 2012.

COELHO, R. S. B., PIO-RIBEIRO, G.; MARIANO, R. L. R. Doenças da batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**, 1997.

COHEN, J.; LOEBENSTEIN, G. Role of a whitefly transmitted agent in infection of sweet potato by cucumber mosaic virus. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 75, n. 3, p. 291- 292, mar. 1991.

COHEN, J.; MILGRAM, M.; ANTIGNUS, Y.; PEARLSMAN, M.; LACHMAN, O.; LOEBENSTEIN, G. Ipomoea crinkle leaf curl caused by a whitefly transmitted Gemini-like virus. **Annals of Applied Biology**, London, v. 131, n. 2, p. 273-282, out. 1997.

COLINET, D.; KUMMERT, J.; LEPOIVRE, P. Evidence for the assignment of two strains of SPLV to the genus *Potyvirus* based on coat protein and 3'non-coding region sequence data. **Virus Research**, Amsterdam, v. 49, n. 1, p. 91-100, mai. 1997.

COLINET, D.; KUMMERT, J.; LEPOIVRE, P. Molecular evidence that the whitefly transmitted sweet potato mild mottle virus belongs to distinct genus of the *Potyviridae*. **Archives of Virology**, Wien, v. 141, n. 1, p. 125–135, 1996.

COLINET, D.; NGUYEN, M.; KUMMERT, J.; LEPOIVRE, P.; XIA, F. Z. Differentiation Among Potyviruses Infecting Sweet Potato Based on Genus and Virus-Specific Reverse

Transcription Polymerase Chain Reaction. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 82, n. 2, p. 223-229. Feb. 1998.

CUELLAR, W. J.; CRUZADO, R. K.; FUENTES, S.; UNTIVEROS, M.; SOTO, M.; KREUZE, J. F. Sequence characterization of a Peruvian isolate of *Sweet potato chlorotic stunt virus*: Further variability and a model for p22 acquisition. **Virus Research**, Amsterdam, v. 157, n. 1, p. 111-115, abr. 2011b.

CUELLAR, W. J.; SOUZA, J.; BARRANTES, I.; FUENTES, S.; KREUZE, J. F. Distinct cavemoviruses interact synergistically with *Sweet potato chlorotic stunt virus* (genus *Crinivirus*) in cultivated sweet potato. **Journal of General Virology**, London, v. 92, n. 5, p.1233–1243, feb. 2011a.

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

DE BARRO, P. J.; TRUEMAN, J. W. H.; FROHLICH, D. R. *Bemisia argentifolii* is a race of *B. tabaci*: The molecular genetic differentiation of *B. tabaci* populations around the world. **Bulletin of Entomological Research**, v. 95, n. 3, p. 193-203, jun. 2005.

DE SOUZA, J.; CUELLAR, W. J. Sequence analysis of the replicase gene of ‘sweet potato caulimo-like virus’ suggests that this virus is a distinct member of the genus *Cavemovirus*. **Archives of Virology**, Wien, v. 156, n. 3, p. 535–537, mar. 2011.

DI FEO L.; NOME, S. F.; BIDERBOST, E.; FUENTES, S.; SALAZAR, L. F. Etiology of Sweet Potato Chlorotic Dwarf Disease in Argentina. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 84, n. 1, p. 35-39, Jan. 2000.

DOGANLAR, S.; FRARY, A.; DUANAY, M.-C.; LESTER, R. N.; TANKSLEY, S. D. A comparative genetic linkage map of eggplant (*Solanum melongena*) and its implications for genome evolution in the Solanaceae. **Genetics**, Austin, v. 161, n.4, p. 1697-1711, ago. 2002.

DOLJA, V. V.; HALDEMAN, R.; ROBERTSON, N. L.; DOUGHERTY, W. G.; CARRINGTON, J. C. Distinct functions of capsid protein in assembly and movement of

tobacco etch potyvirus in plants. **The EMBO Journal**, Oxford, v. 15, n. 13, p. 1482–1491, Mar. 1994.

DOMBROVSKY, A.; SAPKOTA, R.; LACHMAN, O.; ANTIGNUS, Y. Eggplant mild leaf mottle virus (EMLMV), a new putative member of the genus *Ipomovirus* that harbors an HC-Pro gene. **Virus Genes**, Boston, v. 44, n. 2, p. 329–337, abr. 2012.

DOMBROVSKY, A.; SAPKOTA, R.; LACHMAN, O.; PEARLSMAN, M.; ANTIGNUS, Y. A new eggplant disease caused by an unusual whitefly borne virus assigned to the family *Potyviridae*. **4th Conference of the International Working Group on Legume and Vegetable Viruses (IWGLVV)**, Spain, Mai. 2011.

DOUGHERTY, W. G.; CARRINGTON, J. C.; CARY, S. M.; PARKS, T. D. Biochemical and mutational analysis of a plant-virus polyprotein cleavage site. **The EMBO Journal**, Oxford, v. 7, n. 5, p. 1281–1287, mai. 1988.

FARIA, J. C.; ZERBINI, F. M. Família *Geminiviridae* - taxonomia, replicação e movimento. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 8, p. 27-57, ago. 2000.

FAUQUET, C. M.; BRIDDON, R. W.; BROWN, J. K.; MORIONES, E.; STANLEY, J.; ZERBINI, M.; ZHOU, X. Geminivirus strain demarcation and nomenclature. **Archives of Virology**, Wien, v. 153, n. 4, p. 783-821, abr. 2008.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2008. 421p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Faostat** (2012). Disponível em:

<<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em: 28 de abr. 2012.

FRISCHMUTH, S.; WEGE, C.; HÜLSER, D.; JESKE, H. The movement protein BC1 promotes redirection of the nuclear shuttle protein BV1 of Abutilon mosaic geminivirus to the plasma membrane in fission yeast. **Protoplasma**, Wien, v. 230, n. 1-2, p. 117-123, fev. 2007.

FUENTES, S.; MAYO, M. A.; JOLLY, C. A.; NAKANO, M.; QUERCI, M.; SALAZAR, L. F. A novel luteovirus from sweet potato, *sweet potato leaf speckling virus*. **Annals of Applied Biology**, London, v. 128, n. 3, p. 491-504, jun. 1996.

FUENTES, S.; SALAZAR, L. First report of *Sweet potato leaf curl virus* in Peru. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 87, n. 1, p. 98, jan. 2003.

GAFNI, Y.; EPEL, B. L. The role of host and viral proteins in intra-and inter-cellular trafficking of geminiviruses. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 60, n. 5, p. 231-241, mai. 2002.

GALVÃO, R. M.; MARIANO, A. C.; LUZ, D. F.; ALFENAS, P. F.; ANDRADE, E. C.; ZERBINI, F. M.; ALMEIDA, M. R.; FONTES, E. P. B. A naturally occurring recombinant DNA-A of a typical bipartite begomovirus does not require the cognate DNA-B to infect *Nicotiana benthamiana* systemically. **Journal of General Virology**, London, v. 84, n. 3, p. 715-726, mar. 2003.

GAMA, M. I. C. S. Produção de plantas de batata-doce livres de vírus por termoterapia e cultura de meristema. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 13, n. 3, p. 283-286, 1988.

GIBBS, A.; OHSHIMA, K. Potyviruses and digital revolution. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 48, p. 205-223, set. 2010.

GIBSON, R. W.; MPEMBE, I.; ALICAI, T.; CAREY, E. E.; MWANGA, R. O. M.; SEAL, S. E.; VETTEN, H. J. Symptoms, etiology and serological analysis of sweet potato virus disease in Uganda. **Plant Pathology**, Oxford, v. 47, n. 1, p. 95-102, 1998.

GREEN, S. K.; TSAI, W. S.; SHIH, S. L.; REZAIAN, M. A.; DUANGSONG, U. Molecular Characterization of a New Begomovirus Associated with Tomato Yellow Leaf Curl and Eggplant Yellow Mosaic Diseases in Thailand. **Disease Notes**, Wien, v. 87, n. 4, p. 446, abr. 2003.

GUEVARA-GONZALEZ, R.G.; RAMOS, P.L.; RIVERA-BUSTAMANTE, R.F.

Complementation of coat protein mutants of pepper huasteco geminivirus in transgenic tobacco plants. **Phytopathology**, Ithaca, v. 89, n.7, p. 540-545, 1999.

GUTIERREZ, C. Geminivirus DNA replication. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 56, n. 3-4, p. 313-329, out. 1999.

GUTIÉRREZ, D. L.; FUENTES, S.; SALAZAR, L. F. Sweet potato Virus Disease (SPVD): Distribution, Incidence, and Effect on Sweet potato Yield in Peru. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 87, n. 3, p. 297-302, mar. 2003.

HALLIWELL, B.; AERCHABACH, R.; LOLOGER, J.; ARUOMA, O. I. **Food and Chemistry Toxicology**, v. 33, n. 7, p. 601-617, 1995.

HANLEY-BOWDOIN, L.; SETTLAGE, S. B.; OROZCO, B. M.; NAGAR, S.; ROBERTSON, D. Geminiviruses: models for plant DNA replication, transcription, and cell cycle regulation. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, v. 35, n. 2, p. 105–140, jan. 1999.

HARRISON, B. D. Advances in geminivirus research. **Annual Review of Phytopathology**, v. 23, p. 55-82, 1985.

HEHNLE, S.; WEGE, C.; JESKE, H. Interaction of DNA with movement proteins of geminiviruses revisited. **Journal of Virology**, Washington, v. 78, n. 14, p. 7698–7706, jul. 2004.

HERNÁNDEZ-ZEPEDA, C.; VARSANI, A.; BROWN, J. K. Intergeneric recombination between a new, spinach-infecting curtovirus and a new geminivirus belonging to the genus *Becurtovirus*: first New World exemplar. **Archives of Virology**, Wien, mai. 2013.

HEYDARNEJAD, J.; KEYVANI, N.; RAZAVINEJAD, S.; MASSUMI, H.; VARSANI, A. Fulfilling Koch's postulates for beet curly top Iran virus and proposal for consideration of new genus in the family *Geminiviridae*. **Archives of Virology**, Wien, v. 158, n. 2, p. 435–443, fev. 2013.

HEYRAUD, F.; MATZEIT, V.; SCHAEFER, S.; SCHELL, J.; GRONENBORN, B. The conserved nonanucleotide motif of the geminivirus stem-loop sequence promotes replicational release of virus molecules from redundant copies. **Biochimie**, Paris, v. 75, n. 7, p. 605-15, 1993.

HÖFER, P.; BEDFORD, I. D.; MARKHAM, P. G.; JESKE, H.; FRISCHMUTH, T. Coat protein gene replacement results in whitefly transmission of an insect non-transmissible geminivirus isolate. **Virology**, New York, v. 236, n. 2, p. 288–295, set. 1997.

HOLLINGS, M.; STONE, O. M.; BOCK, K. R. Purification and properties of sweet potato mild mottle, a whitefly borne virus from sweet potato (*Ipomoea batatas*) in East Africa. **Annals of Applied Biology**, London, v. 82, n. 3, p. 511–528, abr. 1976.

HONG, Y.; HUNT, A. G. RNA polymerase activity catalyzed by a potyvirus-encoded RNA-dependent RNA polymerase. **Virology**, New York, v. 226, n. 1, p. 146-151, dez. 1996.

HULL, R. *Matthews' Plant Virology*. San Diego: Academic Press, 2002.

IDRIS, A. M.; BROWN, J. K. *Sinaloa tomato leaf curl geminivirus*: biological and molecular evidence for a new subgroup III virus. **Phytopathology**, Ithaca, v. 88, n. 7, p. 648-657, jul. 1998.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Culturas temporárias 2010**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/>>. Acesso em: 28 de Abr. 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola Municipal, 2011**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/>>. Acesso em: 28 de Abr. 2012.

ICTV online. 2013. Disponível em:

<http://www.ictvonline.org/Official_ICTV_Proposals.htm> Acesso em: 10 de jul. 2013.

IGWEGBE, E. C. K.; WATERWORTH, H. E. Properties and serology of a strain of pepper veinal mottle virus isolated from eggplant (*Solanum melongena* L.) in Nigeria. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 103, n. 1, p. 9–12, jan. 1982.

INTERNATIONAL POTATO CENTER. **Sweet potato**. (2010). Disponível em: <<http://cipotato.org/sweetpotato>>. Acesso em: 28 de Abr. 2012.

JOLY, B. A. Botânica: introdução à taxonomia vegetal. Companhia Editora Nacional, p. 586-590, 1998.

JONES, A. Cytological observations and fertility measurements of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.]. **Proceedings of the American Society of Horticultural Sciences**, Geneva, v. 86, p. 527-537, 1965.

JONES, D. R. Plant viruses transmitted by whiteflies. **European Journal of Plant Pathology**, v. 109, n. 3, p. 195-219, mar. 2003.

KASSCHAU, K. D.; CARRINGTON, J. C. A counter defensive strategy of plant viruses: Suppression of posttranscriptional gene silencing. **Cell**, Cambridge, v. 95, n. 4, p. 461-470, nov. 1998.

KASSCHAU, K. D.; CARRINGTON, J. C. Requirement for HC-Pro processing during genome amplification of tobacco etch potyvirus. **Virology**, New York, v. 209, n. 1, p. 268-273, mai. 1995.

KITAJIMA E.W. Lista de publicações sobre viroses e enfermidades correlatas de plantas no Brasil (1986-1993). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, n.1, p. 1-92. 1995.

KITAJIMA, E.W.; RIBEIRO, R. L. D.; LIN, M. T.; RIBEIRO, M. I. S. D.; KIMURA, O. COSTA, C. L.; PIMENTEL, J. P. Lista comentada de vírus e organismo do tipo micoplasma em plantas cultivadas e silvestres do Estado do Rio de Janeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 9, n.3, p. 607-625, out. 1984.

KLEIN, P. G.; KLEIN, R. R.; RODRÍGUEZ-CEREZO, E.; HUNT, A. G.; SHAW, J. G. Mutational analysis of the tobacco vein mottling virus genome. **Virology**, v. 204, n. 2, p. 759-769, 1994.

KNEKT, P.; JARVINEN, R.; SEPPANEN, R.; HELIOVAARA, M.; TEPPONEN, L.; PUKKALA, E.; AROMAA, A. Dietary Flavonoids and the Risk of Lung Cancer and Other Malignant Neoplasms. **American Journal of Epidemiology**, v. 146, n. 3, p. 223-230, 1997.

KNUHTSEN, H.; HIEBERT, E.; PURCIFULL, D.E. Partial purification and some properties of tobacco etch virus induced intranuclear inclusions. **Virology**, New York, v.61, n. 1, p. 200-209, set. 1974.

KREUZE, J. F.; PEREZ, A.; UNTIVEROS, M.; QUISPE, D.; FUENTES, S.; BARKER, I.; SIMON, R. Complete viral genome sequence and discovery of novel viruses by deep sequencing of small RNAs: A generic method for diagnosis, discovery and sequencing of viruses. **Virology**, New York, v. 388, n. 1, p. 1-7, mai. 2009.

KOKKINOS, C. D.; CLARK, C. A. Real-time PCR assays for detection and quantification of sweetpotato viruses. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 90, n. 6, p. 783-788, jun. 2006.

KROTH, L. L.; DANIELS, J.; PIEROBOM, C. R. Degenerescência da batata-doce no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 1, p. 79-82, jan-mar, 2004.

KROTH, L. L.; FUENTES, S.; SALAZAR, L. F.; DANIELS, J. Detecção sorológica de vírus por ncm-elisa em lavouras de batata-doce no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.7, n. 2, p. 117-119, mai-ago, 2001.

KWAK, H. R.; KIM, M. K.; JUNG, M. N.; LEE, S. H.; PARK, J. W.; KIM, K. H.; KO, S. J.; CHOI, H. S. Genetic diversity of *Sweet potato feathery mottle virus* from sweet potatoes in Korea. **Plant Pathology**, Oxford, v. 23, n. 1, p. 13- 21, 2007.

LADIPO, J. L.; LESEMANN, D. E.; KOENIG, R. Further studies on a virus causing green mosaic disease of eggplant in Nigeria. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 121, n. 2, p. 159-65, fev. 1988a.

LADIPO, J. L.; LESEMANN, D. E.; KOENIG, R. Host ranges, serology and cytopathology of eggplant and tomato strains of eggplant severe mottle virus, a new potyvirus from Nigeria. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 122, n. 4, p. 359–71, ago. 1988b.

LANGHAM, M. A.C. Vírus Fitopatogênicos. In: TRIGIANO, R. N.; WINDHAM, M. T.; WINDHAM, A. S. **Fitopatologia: conceitos e exercícios de laboratório**, Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 39-52.

LI, F.; DING, S. W. Virus counter defense: diverse strategies for evading the RNA-silencing immunity. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 60, p. 503– 531, 2006.

LI, R.; SALIH, S.; HURTT, S. Detection of geminiviruses in sweet potato by polymerase chain reaction. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, n. 12, p. 1347-1351, dec. 2004.

LIAO, C. H.; CHIEN, K.; CHUNG, M. L.; CHIU, R. J.; HAN, Y. H. A study on sweetpotato virus disease in Taiwan. I. Sweet potato yellow spot virus disease. **Journal of Agricultural Research**, v. 28, n. 4, p. 127-137, 1979.

LIMA, G. D. A.; LAU, D.; PICOLI, E. A. T.; ASSUNÇÃO, I. P.; BROMMONSCHENKEL, S. H.; OTONI, W. C. Reação de genótipos de berinjela a quatro espécies de tospovírus. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v. 28, n. 3, p. 242-247, jul/set. 2002.

LING, K. S.; JACKSON, D. M.; HARRISON, H.; SIMMONS, A. M.; PESIC VANESBROECK, Z. Field evaluation of yield effects on the USA heirloom sweetpotato cultivars infected by Sweet potato leaf curl virus. **Crop Protection**, v. 29, n. 7, p. 757-765, 2010.

LIU, H.; FU, D.; ZHU, B.; YAN, H.; SHEN, X.; ZUO, J.; ZHU, Y.; LUO, Y. Virus-induced Gene Silencing in Eggplant (*Solanum melongena*). **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 54, n. 6, p. 422–429, 2012.

LOEBENSTEIN, G.; THOTTAPPILLY, G.; FUENTES, S.; COHEN, J. Virus and phytoplasma diseases. Pages 105-134 in: The Sweetpotato. G. Loebenstein and G. Totthappilly, eds. Springer Sciences Business Media BV, Dordrecht, The Netherlands. 2009.

LOTRAKUL, P.; VALVERDE, R. A. 1999. Cloning of a DNA-A-like genomic component of sweet potato leaf curl virus: nucleotide sequence and phylogenetic relationships. *Molecular Plant Pathology On-Line* publication. Disponível em:

<<http://bspp.org.uk/mppol/1999/0422lotrakul/>> Acesso em: 27 de mai. 2013.

LOTRAKUL, P.; VALVERDE, R. A.; CLARK, C. A. Properties of Begomovirus Isolated From Sweet Potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] Infected with *Sweet potato leaf curl virus*. **Revista Mexicana de Fitopatologia**, Mexico, v. 21, n. 2, p. 128-136, fev. 2003.

LOURENÇÃO, A. L.; NAGAI, H. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no estado de São Paulo. **Bragantia**, Campinas, v. 53, n. 1, p.53-59, 1994.

LOZANO, G.; TRENADO, H. P.; VALVERDE, R. A.; NAVAS-CASTILLO, J. Novel begomovirus species of recombinant nature in sweet potato (*Ipomoea batatas*) and *Ipomoea indica*: taxonomic and phylogenetic implications. **Journal of General Virology**, London, v. 90, n. 10, p. 2550–2562, out. 2009.

LUAN, Y. S.; ZHANG, J.; LIU, D. M.; LI, W. L. Molecular characterization of sweet potato leaf curl virus isolate from China (SPLCV-CN) and its phylogenetic relationship with other members of the *Geminiviridae*. **Virus Genes**, Boston, v. 35, n. 2, p. 379–385, out. 2007.

MAHAJAN, S.; DOLJA, V. V.; CARRINGTON, J. C. Roles of the sequence encoding tobacco etch virus capsid protein in genome amplification: Requirements for the translation process and a cis-active element. **Journal of Virology**. Washington, v. 70, n. 7, p. 4370-4379, jul.1996.

MARINHO, V. L. A., DUSI, A. N. Interceptação de vírus em germoplasma de batata-doce (*Ipomoea Batatas* (L.) Lam.) introduzido do Japão, pela Quarentena do Cenargen/Embrapa / Detection of viruses in sweet-potato germplasm (*Ipomoea batatas*) introduced by the quarantine system at Cenargen/Embrapa. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 115-117, 1995.

MEHTA, P.; WYMAN, J. A.; NAKHLA, M. K.; MAXWELL, D. P. Transmission of tomato yellow leaf curl geminivirus by *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park MD, v. 87, n. 5, p. 1291-1297, set. 1994.

MELO, P. Mosca branca ameaça produção de hortaliças. Campinas, SP, Brazil: Asgrow do Brasil Sementes Ltda. **Technical Bulletin**, 1992.

MEYER, R. S.; KAROL, K. G.; DAMON, P. L.; C, NEE, M. H.; LITT, A. Phylogeographic relationships among Asian eggplants and new perspectives on eggplant domestication. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 63, n. 3, p. 685–701, jun. 2012.

MONCADA, A.; MICELI, A.; VETRANO, F.; MINEO, V.; PLANETA, D.; D'ANNA, F. Effect of grafting on yield and quality of eggplant (*Solanum melongena* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 149, p. 108–114, 2013.

MONTEIRO, A. B.; MASSAROTO, J A.; GASPARINO, C. F.; SILVA, R. R.; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R.; FILHO, J. C. S. Silagens de cultivares e clones de batata doce para alimentação animal visando sustentabilidade da produção agrícola familiar. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Fortaleza, v. 2, n. 2, p. 978- 981, out. 2007.

MORRIS-KRSINICH, B. A. M.; MULLINEAUX, P. M.; DONSON, J.; BOULTON, M. I.; MARKHAM, P. G.; SHORT, M. N.; DAVIES, J. W. Bidirectional transcription of maize streak virus DNA and identification of the coat protein gene. **Nucleic Acids Research**, v.13, n. 20, p. 7237-7256, out. 1985.

MOYER, J. W.; SALAZAR, L. F. Virus and viruslike diseases of sweet potato. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 73, p. 451-455, 1989.

MUHIRE, B.; MARTIN, D. P.; BROWN, J. K.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; ZERBINI, F. M.; RIVERA-BUSTAMANTE, R.; MALATHI, V.; BRIDDON, R. W.; VARSANI, A. A genome-wide pairwise-identity-based proposal for the classification of viruses in the genus *Mastrevirus* (family *Geminiviridae*). **Archives of Virology**, Wien, v. 158, n. 6, p. 1411–1424, jun. 2013.

MUKASA, S. B.; RUBAIHAYO, P. R.; VALKONEN, J. P. T. Incidence of viruses and virus-like disease of sweet potato in Uganda. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 87, n. 4, p. 329–350, abr. 2003a.

MUKASA, S. B.; RUBAIHAYO, P. R.; VALKONEN, J. P. T. Sequence variability within the 3'-proximal part of the *Sweet potato mild mottle virus* genome. **Archives of Virology**, Wien, v. 148, n. 3, p. 487–496, mar. 2003b.

MUNÓZ-FALCÓN, J.E.; PROHENS, J.; VILANOVA, S.; NUEZ, F. Diversity in commercial varieties and landraces of black eggplants and implications for broadening the breeders' genepool. **Annals of Applied Biology**, London, v. 154, n. 3, p. 453–465, jun. 2009.

NAQVI, Q.A.; MAHMOOD, K. Studies on brinjal mild mosaic virus. **Indian Phytopathology**, v. 29, p. 138–42, 1976.

NASH, T. E., DALLAS, M. B.; REYES, M. I.; BUHRMAN, G. K.; TRINIDAD ASCENCIO-IBAÑEZ, J.; HANLEY-BOWDOIN, LINDA. Functional Analysis of a Novel Motif Conserved across Geminivirus Rep Proteins. **Journal of Virology**, Washington, v. 85, n. 3, p. 1182–1192, Fev. 2011.

NODA, Y.; KNEYUKI, T.; IGARASHI, K.; MORI, A.; PACKER, L. Antioxidant activity of nasunin, an anthocyanin in eggplant peels. **Toxicology**, Amsterdam, v. 148, p. 119–123, 2000.

NOME, S. F. Sweet potato vein mosaic in Argentina. **Phytopathology**, Ithaca, v. 77, n. 1, p. 44-45, mai. 1973.

OLIVEIRA, M. R. V.; HENNEBERRY, T. J.; ANDERSON, P. History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. **Crop Protection**, v. 20, p. 709-723, 2001.

OLIVEIRA, M. K. T.; NETO, F. B.; CÂMARA, F. A.; DOMBROSKI, J. L. D.; FREITAS, R. M. O. Multiplicação *in vitro* de batata-doce (*Ipomoea batatas* Lam). **Revista Caatinga**, Mossoró, v.21, n.4, p.129-134, out./dez. 2008.

OROZCO, B. M.; HANLEY-BOWDOIN, L.A DNA structure is required for geminivirus origin function. **Journal of Virology**, Washington, v. 270, p. 148-158, 1996.

PADIDAM, M.; BEACHY, R.N.; FAUQUET, C.M. Classification and

identification of geminiviruses using sequence comparisons. **Journal of General Virology**, London, v. 76, p. 249-263, 1995.

PADIDAM, M.; SAWYER, S.; FAUQUET, C. M. Possible emergency of new geminiviruses by frequent recombination. **Virology**, v. 265, p. 218-225, 1999.

PALMER, K. E.; RYBICKI, E. P. The molecular biology of mastreviruses. **Advances in Virus Research**. New York, v. 50, p. 183-234, 1998.

PAPROTKA, T.; BOITEUX, L.S.; FONSECA, M.E.N.; RESENDE, R.O.; JESKE, H.; FARIA, J. C.; RIBEIRO, S. G. Genomic diversity of sweet potato geminiviruses in a Brazilian germplasm bank. **Virus Research**, Amsterdam, v. 149, p. 224-233, 2010.

PARDINA, P. R.; LUQUE, A.; NOME, C.; LÓPEZ COLOMBA, E.; FUENTES DELGADO, S.; DI FEO, L. First report of *Sweet potato leaf curl virus* infecting sweet potato in Argentina. **Australasian Plant Disease Notes**, Germany, v.7, p.157-160, 2012.

PEIXOTO, N.; MIRANDA, J. E. C. O cultivo da batata-doce em Goiás. Goiânia. ENGOPA-DDI, 1984. 24 p. (ENGOPA.Circular técnica, 7).

PERRING, T. M. The *Bemisia tabaci* species complex. **Crop Protection**, v. 20, p. 725-737, 2001.

PERRING, T. M.; COOPER, A. D.; RODRIGUEZ, R. J.; FARRAR, C.A, BELLOWS Jr, T. S. Identification of a whitefly species by genomic and behavioural studies. **Science**, Washington, v. 259, p. 74-77, 1993.

PIO-RIBEIRO, G.; ASSIS, F.O.; F. M.; PAZ, C. D.; PIRES, C. R. C. Ocorrência do "*Sweet potato feathery mottle virus*" em germoplasma de batata-doce no Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 458-460, 1993.

POLSTON, J. E.; ANDERSON, P. K. Surgimiento y distribución de geminivirus transmitidos por moscas blancas en tomate en el Hemisferio Occidental. **Manejo Integrado de Plagas**, v. 53, p. 24-42, 1999.

POZZER, L.; SILVA, J. B. C.; DUSI, A. N. Avaliação de perdas por virose no cultivo da batata-doce. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 10, n. 1, p. 65, 1992.

POZZER, L.; SILVA, J. B. C.; DUSI, A. N.; KITAJIMA, E.W. Avaliação da taxa de reinfecção de plantas de batata-doce livre de vírus pelo *Sweet potato feathery mottle virus* em condições de campo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 2, p.231-234, 1994.

PRATAP, D.; KASHIKAR, A. R.; MUKHERJEE, S. K. Molecular characterization and infectivity of a *Tomato leaf curl New Delhi virus* variant associated with newly emerging yellow mosaic disease of eggplant in India. **Virology Journal**, London, v. 8, n. 305, 13 p. 2011.

PREISS, W.; JESKE, H. Multitasking in replications is common among geminiviruses. **Journal of Virology**, Washington, v. 77, n.5, p. 2972-2980, 2003.

REIS, A.; BOITEUX, L. S.; LOPES, C. A. Doenças da berinjela no Brasil. **Circular Técnica**, 97. Embrapa Hortaliças, Brasília, dez. 2011.

REIS, A.; LOPES, C. A.; MORETTI, C. L.; RIBEIRO, C. S. C.; CARVALHO, C. M. M.; FRANÇA, F. H.; HENZ, G. P.; SILVA, H. R.; BIANCHETTI, L.B.; VILELA, N. J.; MAKISHIMA, N.; FREITAS, R. A.; DE SOUZA, R. B.; CARVALHO, S. I. C.; BRUNE, S.; MAROUELLI, W. A.; NASCIMENTO, W. M.; PEREIRA, W.; MELO, W. F. Berinjela (*Solanum melongena* L.). Embrapa Hortaliças, **Sistemas de Produção**, versão eletrônica nov. 2007, Disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Beringela/Beringela_Solanum_melongena_L/. Acesso em: 20 de abril de 2013.

REVERS, F.; GALL, O.L.; CANDRESSE, T.; MAULE, A.J. New advances in understanding the molecular biology of plant/potyvirus interactions. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Saint Paul, v. 12, p. 367-376, 1999.

RIECHMANN, J. L.; LAIN, S.; GARCIA, J. A. Highlights and prospects of potyvirus molecular biology. **Journal of General Virology**, London, v. 73, p. 1-16, 1992.

RIECHMANN, J. L.; LAIN, S.; GARCIA, J. A. The genome-linked protein and 5' end RNA sequence of plum pox potyvirus. **Journal of General Virology**, London, v. 70, n. 10, p. 2785-2789, 1989.

ROHDE, WOLFGANG .; RANGLES, J. W.; LANGRIDGE, P.; HANOLD, D. Plant-viruses with circular single-stranded DNA. **Nature**, London, v. 27, p. 760-762, 1977.

ROJAS, M. R.; HAGEN, C.; LUCAS, W. J.; GILBERTSON, R. L. Exploiting chinks in the plant's armor: evolution and emergence of geminiviruses. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 43, p. 361-394, 2005.

RÓS, A. B.; NARITA, N.; HIRATA, A. C. S.; SANTOS, H. S. Produtividade de plantas de batata-doce oriundas de matrizes livres de vírus. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 2011.

ROSSEL, H. W.; THOTTAPPILLY, G. 1988. Complex virus diseases of sweet potato. Pages 291-302 in: Exploration, Maintenance and Utilization of Sweet potato Genetic Resources. Rep.1st Sweet potato Planning Conf., International Potato Center, Lima, Peru.

SÁENZ, P.; SALVADOR, B.; SIMÓN-MATEO, C.; KASSCHAU, K. D.; CARRINGTON, J. C.; GARCÍA, J. A. Host-specific involvement of the HC protein in the long-distance movement of potyviruses. **Journal of Virology**, Washington, v. 76, n.4, p. 1922-31, fev, 2002.

SANTOS, C. D. G.; ÁVILA, A. C.; INOUE-NAGATA, A. K.; RESENDE, R.O. Espécies vegetais hospedeiras de begomovírus isolados de tomateiro em Goiás e no Distrito Federal. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n.4, p. 450-455, 2004.

SANTOS, C. D. G.; ÁVILA, A. C.; RESENDE, R. O. Estudo da interação de um begomovírus isolado de tomateiro com a mosca branca vetora. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. p. 664-673, 2003.

SASTRY, K. S.; SASTRY, K. S. M.; SINGH, S. J.; NAYUDU, V. A mosaic of eggplant (*Solanum melongena* L.). **Phytopathologia Mediterranea**, Italy, v.13, p.176, 1974.

SCHAAD, M. C.; HALDEMAN-CAHILL, R.; CRONIN, S.; CARRINGTON, J. C. Analysis of the VPg-proteinase (NIa) encoded by tobacco etch potyvirus: effects of mutations on subcellular transport, proteolytic processing, and genome amplification. **Journal of Virology**, Washington, v. 70, p. 7039-7048, 1996.

SCHAAD, M. C.; JENSEN, P. E.; CARRINGTON, J. C. Formation of plant RNA virus replication complexes on membranes: role of an endoplasmic reticulum-targeted viral protein. **The EMBO Journal**, Oxford, v. 16, p. 4049-4059, 1997.

SCHOLTHOF, K. B. G.; ADKINS, S.; CZOSNEK, H.; PALUKAITIS, P.; JACQUOT, E.; HOHN, T.; HOHN, B.; SAUNDNERS, K.; CANDRESSE, T.; AHLQUIST, P.;HEMENWAY, C.; FOSTER,G.D. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 12, p. 938–954, 2011.

SCHULTZ, A.R. Introdução ao estudo da botânica sistemática. 3 ed.. Porto Alegre; Globo, v. 2, 1968.

SETTLAGE, S. B.; MILLER, A. B.; HANLEY-BOWDOIN, L. Interactions between geminivirus replication proteins. **Journal of Virology**, Washington, v. 70, p.6790-6795, 1996.

SETTLAGE, S. B.; SEE, R. G.; HANLEY-BOWDOIN, L. Geminivirus C3 protein: replication enhancement and protein interactions. **Journal of Virology**, Washington, v. 79, p. 9885–9895, 2005.

SHUKLA, D. D.; LAURICELLA, R.; WARD, C. W.; BRUNT, A. A. The *Potyviridae*. Wallingford, UK: CAB International, 1994, 516p.

SILVA, J. B. C.; LOPES, C. A.; MAGALHÃES, J. S. (2004) Cultura da batata-doce (*Ipomoea batatas* L.). Brasília: Embrapa-CNPq. (Sistema de produção, n. 6). Disponível em: <[http://www.cnpq.embrapa.br/sistprod/ batata doce](http://www.cnpq.embrapa.br/sistprod/batata%20doce)>. Acesso em: 18 de maio de 2013.

- SIMÃO-BIANCHINI, R.; PIRANI, J.R. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Convolvulaceae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 16, p. 125-149, 1997.
- STANLEY, J. Analysis of African cassava mosaic virus recombinants suggests strand nicking occurs within the conserved nonanucleotide motif during the initiation of rolling circle DNA replication. **Virology**, New York, v. 206, p. 707–712, 1995.
- STENGER, D. 2002. Genus *Curtovirus*. Springer-Verlag Index of Plant Viruses.
- STENGER, D. C.; DAVIS, K. R.; BISARO, D. M. Recombinant *Beet curly top virus* genomes exhibit both parental and novel pathogenic phenotypes. **Virology**, New York, v. 200, p. 677-685, 1994.
- STRATMANN, J. W.; HIND, S. R. Gene silencing goes viral and uncovers the private life of plants. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 140, p. 91-102, mai. 2011.
- TIMMERMANS, M. C. P.; DAS, O. P.; MESSING, J. Geminiviruses and their uses as extra chromosomal replicons. **Annual Review of Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 45, p. 79-112, 1994.
- TORRES, A.C.; TEIXEIRA, S.L.; POZZER, L. Cultura de ápices caulinares e recuperação de plantas livres de vírus. In: TORES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa, v. 1, p. 133-145, 1998.
- THORNBURY, D. W.; HELLMANN, G. M.; RHOADS, R. E.; PIRONE, T. P. Purification and characterization of potyvirus helper component. **Virology**, New York, v. 114, p. 260-267, 1985.
- UNTIVEROS, M.; FUENTES, S.; SALAZAR, L. F. Synergistic Interaction of Sweet potato chlorotic stunt virus (Crinivirus) with Carla-, Cucumo-, Ipomo-, and Potyviruses Infecting Sweet Potato. **Plant Disease**, Saint Paul, v.91, n.6, p. 669-676, jun. 2007.
- URCUQUI-INCHIMA, S.; HAENNI, A. L.; BERNARDI, F. Potyvirus proteins: a wealth of functions. **Virus Research**, Amsterdam, v. 74, p. 157-175, 2001.

VALVERDE, R. A.; CLARK, C. A.; VALKONEN, J. P. T. Viruses and Virus Disease Complexes of Sweet potato. **Plant Viruses**, Australia, v.1, n.1, p.116-126, mai. 2007.

VANITHARANI, R.; CHELLAPPAN, P.; PITA, J. S.; FAUQUET, C. M. Differential roles of AC2 and AC4 of cassava geminiviruses in mediating synergism and suppression of posttranscriptional gene silencing. **Journal of Virology**, Washington, v. 78, p. 9487–9498, 2004.

VERCHOT, J.; CARRINGTON, J. C. Evidence that the Potyvirus P1 Proteinase Functions in trans as an Accessory Factor for Genome Amplification. **Journal of Virology**, Washington, v. 69, n. 6, p. 3668–3674, jun. 1995.

VIANA, D. J. S.; JÚNIOR, V. C. A.; RIBEIRO, K. G.; PINTO, N. A. V. D.; NEIVA, I. P.; FIGUEIREDO, J. A.; LEMOS, V. T.; PEDROSA, C. E.; AZEVEDO, A. M. Potencial de silagens de ramas de batata-doce para alimentação animal. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 8, p. 1466-1471, ago. 2011.

VINSON, J.A.; HAO, Y.; XUEHUI, S. U.; ZUBIC, L. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 46, n.9, p. 3630-3634, ago. 1998.

VORONTSOVA, M. S.; KNAPP, S. A new species of *Solanum* (Solanaceae) from South Africa related to the cultivated eggplant. **PhytoKeys**, v. 8, p. 1–11, jan. 2012.

VUORINEN, A. L.; KELLONIEMI, J.; VALKONEN, J. Why do viruses need phloem for systemic invasion of plants? **Plant Science**, v. 181, n. 4, p. 355-363, out. 2011.

WARD, B. M.; LAZAROWITZ, S. G. Nuclear export in plants: use of geminivirus movement proteins for a cell-based export assay. **The Plant Cell Online**, Rockville, v. 11, n. 7, p. 1267-1276, jul. 1999.

WASSWA, P.; OTTO, B.; MARUTHI, M. N.; MUKASA, S. B.; MONGER, W.; GIBSON, R. W. First identification of a sweet potato begomovirus (sweepovirus) in Uganda: characterization, detection and distribution. **Plant Pathology**, Oxford, v. 60, n. 6, p.1030–1039, dez. 2011.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; COSTA, H. Controle de doenças de plantas: hortaliças. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, v. 1, p. 879, 2000.

ZHANG, D. P.; GHISLAIN, M.; HUAMÁN, Z.; CERVANTES, J. C.; CAREY, E. E. AFLP Assessment of Sweet potato Genetic Diversity in Four Tropical American Regions. **CIP Program Report**, v. 47, p. 303-310, 1997.

ZHANG, S. C.; LING, K. Genetic diversity of sweet potato begomoviruses in the United States and identification of a natural recombinant between sweet potato leaf curl virus and sweet potato leaf curl Georgia virus. **Archives of Virology**, Wien, v. 156, n. 6, p. 955–968, fev. 2011.

CAPÍTULO II

Detecção de begomovírus e ipomovírus em genótipos de batata-doce nos estados de Pernambuco e Paraíba

1 **Detecção de begomovírus e ipomovírus em genótipos de batata-doce nos Estados de**
2 **Pernambuco e Paraíba**

3 Caroline A Souza¹; Gilvan Pio-Ribeiro¹; Genira P Andrade¹; Renato O Rezende²; Rita C
4 Pereira-Carvalho²

5 ¹Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Área de
6 Fitossanidade, 52171-900, Recife-PE caroline.fito@gmail.com, gilvan@depa.ufrpe.br,
7 genira@depa.ufrpe.br ²Universidade de Brasília, Departamento de Fitopatologia, Área de
8 Virologia Vegetal, 70910-900 Brasília-DF carvalhorcp@unb.br, rresende@unb.br.

9

10

Resumo

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

A batata-doce é uma importante hortaliça que se destina tanto a dieta humana quanto a componente em ração animal. O principal problema na cultura advém da ocorrência de complexos virais e a característica de propagação vegetativa da planta que além de facilitar a acumulação viral, proporciona a disseminação desses patógenos no campo. Levantamentos de espécies virais ocorrendo na cultura no país são importantes para dar suporte a programas de melhoramento na busca de materiais resistentes e produção de batata-doce livre de vírus via cultura de tecidos. Neste trabalho o objetivo foi detectar espécies do gênero *Begomovirus* (família *Geminiviridae*) e a espécie *Sweet potato mild mottle virus* (SPMMV) do gênero *Ipomovirus*, família *Potyviridae* em amostras obtidas de acessos do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Universidade Federal Rural de Pernambuco e de diferentes áreas produtoras do Estado de Pernambuco (RPP) e Paraíba. Um total de 55 amostras de batata-doce foi analisado, sendo 27 do BAG e 27 das RPP e uma da Paraíba. Amostras confirmadas como positivas por PCR usando primers para a capa proteica viral foram selecionadas e seus amplicons sequenciados. Dos 17 isolados referentes às amostras do BAG, 12 apresentaram identidade de sequência variando de 89 a 99 % com o isolado PE do *Sweet potato leaf curl virus* (SPLCV) e cinco apresentaram identidade variando entre 95 e 99% com isolado RO do *Sweet potato golden vein associated virus* (SPGVaV). Dos três isolados das amostras de campo purificados e sequenciados dois mostraram-se com sendo da espécie SPLCV (98 e 99 % de identidade) e um da SPGVaV-RO (99 % e identidade). Para detecção do SPMMV, realizou-se Dot-ELISA. A presença do vírus foi confirmada em 24 das 27 amostras do BAG e em 25 das 28 amostras de campo.

Palavras-chave: *Ipomoea batatas*, Dot-ELISA, RCA

Abstract

Detection of begomovirus and ipomovirus in genotypes of sweet potato in the states of Pernambuco and Paraíba

The sweet potato is an important vegetable that provide component for both human diet and animal feeding. The main problem of this crop originates from the occurrence of the viral complexes and the vegetative propagation of the plant, that facilitates not only the viral accumulation but also promotes the viral spread in the field. Surveys of viral species occurring in the country are important for supporting breeding programs aiming to produce resistant materials and virus-free clones of sweet potato by tissue culture. In this work the purpose was to detect species of *Begomovirus* (family *Geminiviridae*) and species *Sweet potato mild mottle virus* (SPMMV) of the genus *Ipomovirus*, and family *Potyviridae* in samples from the germoplasm bank (GB) of the Universidade Federal Rural de Pernambuco and different producing areas of the states of Pernambuco (RPP) and Paraíba. A total os 55 samples, 27 from the GB, 27 from the RPP and one from Paraíba were analyzed. Samples confirmed as positive by PCR using primers for viral coat protein were selected and their amplicons sequenced. Out of 17 isolates from GB samples, 12 showed sequence identity ranging from 89-99 % with the isolate PE of the *Sweet potato leaf curl virus* (SPLCV) and five showed identity ranging between 95 and 99 %, with the isolate RO of the Sweet potato golden vein associated virus (SPGVaV). Out of three isolates from field samples that were purified and sequenced, two shown to belong to (98 % identity and 99 %) and the other to SPGVaV (99 % identity). For detection SPMMV was held Dot-ELISA. The presence of virus was confirmed in 24 of 27 samples of the BAG and 25 of 28 samples of field.

Keyword: *Ipomoea batatas*, Dot- ELISA, RCA

Introdução

69

70

71 A batata-doce [*Ipomoea batatas* L. (Lam.)] é a única espécie que tem cultivo de expressão
72 econômica dentro da família Convolvulaceae (Castro *et al.*, 2008). A origem desta planta não
73 é conhecida com exatidão, no entanto é aceito que seja Americana, compreendendo a faixa
74 que vai do México ao norte da América do Sul (Austin, 1977).

75 A cultura encontra-se em sexto lugar em importância mundial depois do arroz, trigo,
76 batata, milho e mandioca. O Brasil, atualmente ocupa a 18^o posição no ranking mundial de
77 produção, chegando a produzir 544.820 mil toneladas em uma área de 43.843 ha (FAO,
78 2011). No país a Região Sul se destaca através do Rio Grande do Sul que é o maior produtor
79 de batata-doce, porém se tratando do consumo, a Região Nordeste apresenta maior
80 importância, devido à cultura apresentar características favoráveis aos pequenos produtores,
81 como rusticidade além de ser uma fonte nutritiva (Oliveira *et al.*, 2008).

82 Dentre todos os patógenos que acometem a cultura, os vírus destacam-se podendo formar
83 complexos virais, onde as espécies podem atuar em sinergismo potencializando a doença e
84 aumentando os níveis de perdas econômicas (Untiveros *et al.*, 2007). Um dos gêneros
85 virais com espécies mais frequentemente relatadas em batata-doce é o *Begomovirus*. Espécies
86 de *Begomovirus* apresentam genoma na forma de DNA circular de fita simples podendo ser
87 monopartido ou bipartido e são transmitidos às plantas dicotiledôneas na natureza pelo vetor
88 mosca-branca (*Bemisia tabaci*) com interação do tipo circulativa não propagativa (Rubinstein
89 & Czosnek, 1997).

90 A propagação da batata-doce é realizada através de ramas-semente o que tende a aumentar
91 a incidência de infecção viral durante cultivos sucessivos e elevar a queda na produção (Kroth
92 *et al.*, 2004).

93 As espécies de gênero *Begomovirus* que infectam a batata-doce são diferenciadas das
94 demais espécies de *Begomovirus* do Novo Mundo (Américas – Hemisfério Ocidental)
95 apresentando maiores semelhanças (com base na análise das sequências das proteínas C1 e
96 V2) às espécies de *Begomovirus* do Velho Mundo (Europa, Ásia e África – Hemisfério
97 Oriental), uma vez que assim como estas, são monopartidas (Lozano *et al.*, 2009).

98 No Brasil as doenças causadas por espécies do gênero *Begomovirus* foram agravadas a
99 partir da década de 1990 com a entrada do biótipo B da mosca branca que se disseminou para
100 várias regiões a partir do Estado de São Paulo (Lourenção & Nagai, 1994).

101 Atualmente 14 espécies da família *Geminiviridae* infectam a batata-doce: uma do gênero
102 *Mastrevirus* - Sweet potato symptomless virus 1 (SPSMV-1) e 13 espécies classificadas no

103 gênero *Begomovirus* – *Ipomoea crinkle leaf curl virus* (ICLCV), *Ipomoea yellow vein virus*
104 (*IYVV*), *SPLCV*, *Sweet potato leaf curl Canary virus* (*SPLCCaV*), *Sweet potato leaf curl*
105 *Lanzarote virus* (*SPLCLaV*), *Sweet potato leaf curl Spain virus* (*SPLCESV*), *Sweet potato*
106 *leaf curl China virus* (*SPLCV-CN*), *Sweet potato leaf curl Georgia virus* (*SPLCGV*), *Sweet*
107 *potato leaf curl South Carolina virus* (*SPLCSCV*), *Sweet potato leaf curl Uganda virus*
108 (*SPLCUV*), *Sweet potato symptomless virus 1* (*SPSMV-1*), *Sweet potato mosaic associated*
109 *virus* (*SPMaV*), *Sweet potato golden vein associated virus* (*SPGVaV*) (Clark *et al.*, 2012). Em
110 estudo recente realizado no Brasil, Albuquerque *et al.* (2012) relataram a espécie nova *Sweet*
111 *potato leaf curl São Paulo virus*.

112 No Brasil existem relatos de 13 espécies de *Begomovirus* (Albuquerque *et al.*, 2012).

113 Em batata-doce, já foram relatadas também as espécies do gênero *Potyvirus* *Sweet potato*
114 *feathery mottle virus* (*SPFMV*), *Sweet potato latent virus* (*SPLV*), *Sweet potato mild*
115 *speckling virus* (*SPMSV*), *Sweet potato virus 2* (*SPV2*), *Sweet potato virus C* (*SPVC*), *Sweet*
116 *potato virus G* (*SPVG*), *Sweet potato vein mosaic virus* (*SPVMV*) e também do gênero
117 *Ipomovirus* *Sweet potato yellow dwarf virus* (*SPYDV*) and *Sweet potato mild mottle virus*
118 (*SPMMV*). Os gêneros *Potyvirus* e *Ipomovirus* encontram-se classificados na família
119 *Potviridae* (Clark *et al.*, 2012).

120 A maioria destes vírus prevalece em áreas de cultivo de batata-doce na Uganda,
121 ocorrendo tanto em infecções simples como em infecções mistas (Mukasa *et al.*, 2003).

122 Em 1995 no Brasil, Marinho & Dusi, (1995) relataram a interceptação de *SPMMV* pela
123 Embrapa Cenargen em plantas oriundas do Japão.

124 Diversas pesquisas foram conduzidas no Brasil com intuito de detectar *SPMMV* (Kroth
125 *et al.*, 2001). Nestes trabalhos, foram incluídos testes investigar espécies dos gêneros
126 *Potyvirus* e *Ipomovirus*, porém apenas potyvírus foram detectados.

127 A diagnose viral em batata-doce é dificultada pela leve manifestação de sintomas, estágio
128 de desenvolvimento da planta, condições ambientais e pela ocorrência de infecções mistas
129 (Fernandes & Dusi, 2013).

130 O controle de vírus de planta baseia-se principalmente no controle dos vetores e de
131 material propagativo livre de vírus. Assim, a cultura de tecidos vegetais (cultura de ápices
132 caulinares e a microenxertia) vem sendo utilizada como uma opção para contornar o problema
133 da falta deste tipo de material (Castro, 1991). Visando maior eficiência no controle podem ser
134 utilizadas concomitantemente algumas técnicas como: o tratamento da planta matriz com
135 compostos químicos (quimioterapia), com congelamento (criopreservação), calor
136 (termoterapia) e eletroterapia (choques elétricos) (Torres *et al.*, 1998).

137 Com isso, o objetivo deste trabalho foi detectar a presença de espécies do gênero
138 *Begomovirus* e a espécie de *Ipomovirus* SPMMV em genótipos de batata-doce do Banco
139 Ativo de Germoplasma (BAG) da Universidade Federal Rural de Pernambuco e de regiões
140 produtoras do Estado de Pernambuco e Paraíba para em etapas posteriores dar suporte a
141 programas que visem à produção de batata-doce livre de vírus via cultura de tecidos.

142

143

Material e Métodos

144

Local de realização dos ensaios

146 O trabalho foi realizado no Laboratório de Virologia Vegetal do Departamento de
147 Fitopatologia da Universidade de Brasília – UnB e em casa de vegetação e telados da Estação
148 Experimental de Biologia da UnB (EEB-UnB).

149

Origem das amostras utilizadas

151 Neste trabalho foram utilizadas amostras foliares exibindo sintomas de desvios de cor
152 (mosaico, mosqueado e pontuações cloróticas) e deformações foliares (distorções)
153 provenientes do Banco Ativo de Germoplasma - BAG da UFRPE (27 acessos) e de 10 regiões
154 produtoras de Pernambuco - RPP (27 acessos) e um da Paraíba totalizando 55 acessos.

155 Cada acesso do BAG forneceu estacas para transplante de triplicatas (81 plantas BAG)
156 enquanto acessos provenientes das regiões produtoras forneceram uma estaca para transplante
157 (28 plantas RPP) totalizando 109 plantas.

158 As 109 plantas foram mantidas em vasos em casa de vegetação na EEB.

159

Extração de DNA total

161 A extração do DNA genômico total das 109 amostras, foi feita pelo método CTAB, com
162 adaptações. Folhas sintomáticas foram coletadas e três discos foliares foram macerados em
163 nitrogênio líquido e colocados em tubos de microcentrífuga com capacidade de 1,5 mL, onde
164 adicionou-se 600 µL de tampão de extração (0,1 M Tris-HCl pH 8,0, 0,1 M EDTA pH8,0, 1,4
165 M NaCl, 0,01 M Sulfito e 2 % de CTAB). Em seguida os tubos foram incubados em banho-
166 maria a 65 °C por 10 minutos (min) e adicionou-se 600 µL de clorofil (clorofórmio + álcool
167 isoamílico na proporção de 24:1) às amostras e agitou-se por 1 min em vórtex. As amostras
168 foram centrifugadas a 13.200 rpm por 10 min. Após a centrifugação, 450 uL do sobrenadante
169 foi retirado e transferido para um novo tubo onde adicionou-se 300 µL de isopropanol. Os
170 tubos foram invertidos lenta e manualmente para homogeneização das amostras e levados ao

171 freezer por 15 min para precipitação do DNA. Centrifugou-se a 13.200 rpm por 15 min. Em
172 seguida o sobrenadante foi descartado e lavou-se o precipitado com 50 µL de etanol 70 %
173 gelado, centrifugando-se por 5 min. As amostras foram secas a temperatura ambiente. Após a
174 secagem, o pellet foi ressuscitado em 50 µL de água ultrapura (Mili-Q).

175 A qualidade da extração de DNA foi verificada pipetando-se alíquotas de 5 µL de cada
176 amostra de DNA, misturadas com 2 µL de tampão de carregamento (0,25 % de azul de
177 bromofenol e 40 % de sucrose -p/v, 0,25 % de xileno cianol) em gel de agarose a 1 % em
178 tampão TBE (0,1 M Tris-HCl, 0,1 M ácido bórico e 0,02 mM EDTA pH 8,0). O gel foi
179 submetido à eletroforese (80 V/cm). As bandas foram coradas com brometo de etídio (10
180 mg/mL) e observadas através de transiluminador UV. Todas as amostras de DNA extraídas
181 foram mantidas a -20 °C.

182 A quantificação de DNA total foi realizada no espectrofotômetro Nanodrop
183 (Spectrophotometer, ND-100, Thermo) (resultados não mostrados).

184

185 **Deteccção de espécies de *Begomovirus*:**

186 **Reação de RCA**

187 Inicialmente, selecionou-se uma amostra de cada planta ao acaso. Após confirmação da
188 qualidade do DNA, o mesmo foi submetido a uma reação de Rolling Cycle Amplification
189 (RCA) (Inoue-Nagata *et al.*, 2004). O DNA foi amplificado através de uma reação com 10 µL
190 de volume final contendo: 0,1 µL de Phi-29 DNA polimerase (1.000 U/ µL), 1 µL de DNA
191 buffer (10X), 1 µL de BSA (10 X), 1 µL de dNTPs (10 mM-Fermentas), 1 µL de *primer* (50
192 mM-Tioprottegido), 4,9 µL de água MiliQ e o 1 µL de DNA da amostra. A reação foi
193 submetida à 30 °C por 18 horas. Após esse período a reação foi submetida a 65 °C por 10 min.
194 Após a RCA procedeu-se a verificação do resultado pipetando 1 uL de produto (DNA) em gel
195 de agarose a 1 % como descrito anteriormente.

196

197 **Reação de PCR**

198 A PCR foi realizada com DNA proveniente da extração de DNA total e da reação de
199 RCA. Para a reação de PCR os oligonucleotídeos MA 292 (+) (5' –
200 CCYTAGGGTTCGAGCTVTGTTCCGG – 3') e MA 293 (-) (5' –
201 TTTATTAATTDTRTGC GAATC – 3') foram utilizados, obtendo-se um amplicón de
202 aproximadamente 823 bp do gene da capa proteica do DNA-A (Lozano *et al.*, 2009).

203 Para a amplificação, preparou-se uma reação para 25 µL de volume final contendo 2,5 µl
204 de Tampão 10 X da enzima *Taq* Polymerase (100 mM Tris-HCl, pH 8,3 e 500 mM KCl,

205 Invitrogen), 0,75 µL de MgCl₂ (50 mM, Invitrogen), 0,25 µL dNTPs (2,5 mM, Invitrogen),
206 0,5 µL de cada primer MA292/MA293 (10 uM), 0.1 µL da enzima *Taq* Polimerase (5 U/µL,
207 Invitrogen), 19,9 de água MiliQ e 1 µL da RCA (ou 1,5 µL de DNA).

208 No termociclador (Biocycler) seguiram-se as seguintes condições de PCR: **desnaturação**
209 **inicial** a 94 °C por 2,5 min, seguida de 40 ciclos a 94 °C por 30 segundos (**desnaturação**), 48
210 °C por 1 min (**anelamento**) e 72 °C por 1,5 min (**extensão**). Após os 40 ciclos procedeu-se
211 uma extensão final a 72 °C por 10 min.

212 Uma alíquota de 5 µL da reação foi misturada a 2 µL de tampão de carregamento em gel
213 de agarose 1 % em tampão TBE. Os fragmentos foram separados por eletroforese a 80 V/cm e
214 observados em transiluminador – UV.

215 Para aumentar o volume de DNA para 100 uL (para as purificações necessárias),
216 procedeu-se novas reações conforme mencionado anteriormente. Em alguns casos foi
217 necessário realizar novas reações a partir da reação inicial de PCR.

218

219 **Digestão**

220 O produto da amplificação da RCA das 54 amostras BAG e RPP e uma da Paraíba, foi
221 digerido com duas enzimas de restrição (BamHI e SacI), para observação dos perfis de banda
222 e futura seleção de amostras a serem enviadas para sequenciamento. Para ambas as enzimas
223 de restrição foram utilizados 1,5 µL de RCA, 1 µL de tampão da enzima (10X), 1 µL de BSA
224 (10X), 0,2 µL da enzima e 6,3 µL de água MiliQ, totalizando 10uL de reação total. A reação
225 foi incubada overnight a 37 °C. Após esse período a reação foi submetida a 65 °C por 10 min
226 e procedeu-se a verificação do resultado pipetando 4 uL de produto em gel de agarose a 1 %
227 como descrito anteriormente (resultados não mostrados).

228

229 **Purificação**

230 Dezesete amostras do BAG e oito de RPP foram selecionadas para serem purificadas. A
231 pré-seleção das amostras foi feita através dos perfis observados nas digestões com SacI e
232 BamHI. Para as plantas de RPP buscou-se selecionar pelo menos uma amostra amplificada
233 para cada localidade.

234 Após a reação de PCR observou-se para cada amostra a amplificação de dois fragmentos.

235 Para separação do fragmento alvo (aproximadamente 823 pb) a banda correspondente foi
236 identificada através da comparação com o marcador utilizado, (1 Kb Ladder/Fermentas). A
237 banda foi eluída do gel utilizando-se o kit de purificação GFX (GE Healthcare) de acordo com
238 o manual do fabricante descrito abaixo.

239 A banda de aproximadamente 823 pb foi retirada do gel com auxílio de um bisturi foi
240 colocada em um tubo de microcentrífuga de 1,5 mL e pesada em balança analítica. Em
241 seguida foram adicionados 300 µL do ‘Tampão de Captura’ para cada banda que pesasse até
242 300 mg. Acima de 300 mg adicionava-se 100 µL para cada 100 mg adicional. A amostra com
243 o ‘Tampão de Captura’ foi misturada por inversão e homogeneizada em banho-maria a 60 °C
244 por 10 min, com inversões a cada três min. Após esse período, 600 µL da mistura dissolvida
245 de cada amostra foram depositados em uma coluna GFX e incubados a temperatura ambiente
246 por 1 minuto. Em seguida, a coluna foi colocada em um tubo coletor e centrifugada a 13.200
247 rpm por 30 segundos. O filtrado foi descartado e adicionou-se 500 µL do ‘Tampão de
248 Lavagem’ e centrifugou-se novamente a 13.200 rpm por 30 segundos, descartando-se
249 novamente o filtrado. A coluna foi transferida para um novo tubo de microcentrífuga de 1,5
250 mL e adicionado 40 µL do ‘Tampão de Eluição’. Incubou-se por 1 min e centrifugou-se a
251 13.200 rpm por 1 min. O DNA purificado foi estocado a – 20 °C.

252

253 Sequenciamento

254 Os amplicóns purificados (**BAG**: Angico, Branca do Talo Roxo, Carpinteira, CR-06, L7-
255 Bege, Mãe de família, Olho de urubu, Pedra, Pérola, Pincel, Var. J. G. Pierre, 010-CNPH,
256 Balão roxo, Centenial, Mineira, Talo Roxo, UFRPE-1.88 e **RPP**: Branca, Batata-Roxa e
257 Parece), quantificadas em aproximadamente 60 ng/µL, foram enviadas para o sequenciamento
258 (Macrogen) com os *primers* MA292 e MA293. As sequências obtidas foram comparadas com
259 as sequências disponíveis no Blast (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) e alinhadas através do
260 ‘software’ MEGA 5 com o programa Clustal W.

261

262 Detecção de *Sweet potato mild mottle virus* (SPMMV):

263 Dot-ELISA

264 Para realização do teste Dot-ELISA foi utilizada Membrana de Nitrocelulose Hybond C.
265 Selecionou-se uma planta de cada repetição do BAG (27 amostras) e todas as amostras de
266 campo (28 amostras). Um disco foliar foi retirado de folhas sintomáticas da terceira posição
267 do ápice para baixo. Este foi macerado em nitrogênio líquido dentro de um tubo de
268 microcentrífuga, e adicionado 1 mL da solução tampão PBS-1X, com 0,1 % de sulfito de
269 sódio, obtendo-se o extrato bruto. Cada amostra foi diluída para proporção de 1:10 p/v (Pio-
270 Ribeiro *et al.*, 1993). Aplicou-se na membrana 2 µL de ambas amostras (extrato bruto e extrato
271 diluído). Esperou-se até que a membrana secasse e aplicou-se a solução de bloqueio PBS-
272 Tween 2 % (PBS-T) + 5 % p/v de leite desnatado. Após a incubação à temperatura ambiente

273 por uma hora sob agitação, a membrana foi lavada três vezes com 10 mL de PBS-T, 10 min
274 por vez. Em seguida adicionou-se o anticorpo policlonal para SPMMV na proporção de
275 1:1000 e incubou-se a temperatura ambiente por duas horas sob agitação. A membrana foi
276 novamente lavada com PBS-T por três vezes de 5 min sob agitação. Adicionou-se o anticorpo
277 secundário (anti-rabbit-SIGMA) (1:30.000) seguindo-se incubação a temperatura ambiente
278 por três horas em agitação. Após novas lavagens de 15 min cada em agitação, adicionou-se 10
279 mL da solução fosfatase alcalina e nesta adicionou-se 33 µL de BCIP (5-bromo-4-cloro-3-
280 indolil fosfato) e 66 µL de NBT (Cloreto Nitroazul de Tetrazólio). Esta solução ficou sob
281 agitação até que se observasse a formação de manchas púrpuras no local de deposição das
282 amostras, indicando a presença viral. A reação de revelação foi interrompida através de
283 lavagens da membrana com água destilada.

284

285 **Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)**

286 Com o objetivo de detectar a presença de partículas virais nas amostras, folhas exibindo
287 sintomas fortes de oito acessos de batata-doce (Carpinteira, L7-Bege, Mãe de família, Pedra
288 02-batata-Recife, Pérola, Talo-roxo, UFRPE-1.88, 010-CNPH) e duas de *I. setosa* enxertadas
289 com plantas de batata-doce (Centenial e Angico) foram selecionadas também por exibirem
290 fortes sintomas e preparadas pela técnica Leaf dip que permite a visualização das partículas
291 através de contrastação negativa.

292 As amostras foram preparadas cortando-se um fragmento fino de cada folha na interseção
293 do sintoma e macerando-o, com a ponta de uma pinça, em duas gotas de ácido fosfotúngstico
294 - 2 % (PTA). Em seguida, colocou-se a telinha porta-espécime de cobre, com a parte de cima
295 em contato com o PTA contendo a amostra por 5 min. Passado o tempo retirou-se o excesso e
296 a telinha foi armazenada em recipiente próprio para a observação ao MET (modelo: JEM
297 1011 - JEOL).

298

299 **Caracterização biológica:**

300 **Transmissão por enxertia**

301 Plantas de *I. setosa* com 20 dias e dois pares de folhas definitivas, foram utilizadas como
302 porta-enxerto para ramos de batata-doce. O enxerto foi fixado com parafilm, acondicionado
303 em saco plástico por dois dias, e as plantas foram mantidas em casa de vegetação sob
304 temperatura ambiente. Foram enxertadas 17 plantas do BAG que foram avaliadas por seis
305 semanas.

306

Resultados e Discussão

307

308 Diferentes vírus infectam batata-doce no Brasil e no Mundo. Dentre estes destacam-se
309 espécies classificadas nos gêneros *Cavemovirus*, *Potyvirus*, *Crinivirus* e *Ipomovirus* (Cuellar
310 *et al.*, 2011), entretanto espécies de *Begomovirus* são as mais ocorrentes na cultura (13
311 espécies) seguida por espécies de gêneros classificados na família *Potyviridae* (9 espécies)
312 (Fernandes & Dusi, 2013). As plantas utilizadas neste trabalho, pertencentes ao BAG
313 apresentavam sintomas predominantemente de pontuações cloróticas e clorose em alguns
314 casos. Por outro lado plantas provenientes de RPP apresentavam sintomas que incluíam além
315 dos desvios de cor acima citados, clareamento de nervuras e deformações foliares conforme
316 ilustrado na Figura 1.

317

Alguns destes sintomas são similares aqueles exibidos por plantas infectadas com
318 espécies de *Begomovirus* (família *Geminiviridae*). Estas espécies podem afetar importantes
319 culturas econômicas além da batata-doce (Jones, 2003).

320

Neste trabalho, para detecção das espécies de *Begomovirus*, o DNA extraído de 27
321 amostras do BAG e 27 RPP e uma da Paraíba foi usado diretamente em uma reação de PCR e
322 também submetido a uma RCA (Inoue Nagata *et al.*, 2004) antes da PCR com o intuito de
323 comparar estes dois resultados.

324

Em um primeiro momento, a RCA de 17 amostras foi usada como molde para reação de
325 PCR usando os *primers* MA292 e MA293 (amplamente utilizados para begomovírus de
326 batata-doce), permitindo obter amplicóns (mais ou menos 823 pb) de todas as 17 amostras. A
327 reação de PCR realizada diretamente com DNA extraído destas 17 amostras também permitiu
328 a observação de 17 amplicóns (823 pb) mostrando não haver diferença entre a PCR usando
329 RCA como molde e a PCR usando o DNA extraído sem passar por RCA.

330

Segundo Varadarajan & Prakash (1991) isso deve ocorrer devido à grande quantidade de
331 polissacarídeos presentes nas plantas de batata-doce que pode interferir no resultado da PCR,
332 apesar da sensibilidade da técnica. Desta forma, a utilização de RCA é uma meio eficiente
333 para realizar amplificação principalmente de vírus presente em baixa concentração. A técnica,
334 aplicada para vírus com genoma circular, permite um aumento inicial da concentração viral
335 presente na amostra o que facilitará a detecção mais tarde por PCR. Assim, a RCA tem sido
336 amplamente utilizada para amplificar o DNA de espécies de *Begomovirus* que infectam
337 plantas de batata-doce (Albuquerque *et al.*, 2012; Lozano *et al.*, 2009) apresentando como
338 principais vantagens a simplicidade e sensibilidade da técnica (Haible *et al.*, 2006).

339

Em um trabalho de comparação de métodos de detecção viral, Barreto (2012) comparou a
340 detecção de begomovírus usando o DNA diretamente na PCR e usando RCA para PCR. O

341 resultado obtido foi uma maior eficiência na detecção quando realizou RCA. Resultado
342 semelhante foi observado no presente trabalho.

343 Os resultados confirmam a sensibilidade da técnica de RCA que além de ser utilizada
344 para espécies de *Begomovirus* pode ser usada também para detecção de espécies de *Nanovirus*
345 (família *Nanoviridae*) (Grigoras *et al.*, 2010). Além disto, a RCA associada ao uso de enzimas
346 de restrição pode ser utilizada eficientemente como método de detecção de begomovírus
347 (Haible *et al.*, 2006). A detecção viral para espécies de *Begomovirus* foi realizada mediante
348 comparação das sequências de nucleotídeos da capa protéica (CP) com sequências
349 depositadas no Gen Bank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

350 Dentre as espécies de *Begomovirus* que infectam a batata-doce, SPLCV-PE foi a de
351 ocorrência mais frequente nas amostras utilizadas neste estudo, seguida da espécie
352 recombinante SPGVaV-RO. Estas duas espécies foram detectadas em plantas provenientes do
353 BAG e RPP (Tabela 2).

354 A amostra Ligeirinha proveniente da Paraíba foi confirmada positiva nas reações de PCR,
355 entretanto a baixa concentração do DNA viral após a purificação, não permitiu o seu envio
356 para sequenciamento.

357 Das 17 amostras do BAG, 12 apresentaram similaridade com SPLCV-PE com identidade
358 variando entre 89 a 99 % e cinco apresentaram similaridade com SPGVaV-RO com
359 identidade variando entre 95 a 99 %. Das três amostras de campo duas apresentaram
360 similaridade com SPLCV-PE (98 e 99 % de identidade) e uma com SPGVaV-RO (99 % de
361 identidade), como pode ser observado na Tabela 1.

362 Resultado semelhante foi observado por Albuquerque *et al.* (2012), quando estudaram
363 plantas de batata-doce de regiões produtoras dos Estados de São Paulo (cinco amostras),
364 Paraíba (uma amostra), Pernambuco (duas amostras), e Rio Grande do Sul (sete amostras),
365 além de dezenove amostras do BAG da Embrapa Hortaliças. Neste mesmo estudo, SPGVaV-
366 RO foi detectado apenas em amostras do BAG enquanto que SPLCV-PE foi detectado em
367 ambas amostras.

368 Sabe-se que há uma considerável diversidade de begomovírus infectando a batata-doce
369 no Brasil caracterizando uma potencial epidemia destes vírus, o que pode favorecer a
370 ocorrência de recombinação entre as espécies proporcionando alterações na organização do
371 genoma e na maneira de replicação, causando um aumento na diversidade e contribuindo para
372 a evolução do vírus (Padidam *et al.*, 1999; Paprotka *et al.*, 2010).

373 No presente trabalho, testes de enxertia também foram realizados com amostras
374 provenientes do BAG e demonstraram resultado positivo com manifestação de sintomas
375 principalmente de clareamento das nervuras e deformação foliar (resultados não mostrados).

376 Fernandes & Dusi (2013) afirmam que os vírus da batata-doce são de difícil transmissão
377 mecânica e que a enxertia em *I. setosa* (indicadora amplamente utilizada para indexação de
378 vírus da batata-doce) é o método de indexação mais eficiente para o caso.

379 Embora muitas espécies afetem a cultura, neste trabalho a detecção visou os gêneros
380 *Begomovirus* e *Ipomovirus*.

381 Entre outros sintomas, foi observado clareamento de nervuras intenso em *I. setosa*
382 enxertada com batata-doce. Partículas virais alongadas e flexuosas semelhantes às de
383 potyvírus foram visualizadas por meio de microscopia eletrônica de transmissão (MET) em
384 todas as amostras testadas, sendo maior a concentração em material de *I. setosa*. As plantas
385 analisadas por MET mostraram reação positiva para o SPMMV em teste sorológico.

386 Fernandes & Dusi (2013) citam alguns vírus, dentre eles, o SPMMV referenciando os
387 autores Kroth *et al.* (2001), entretanto consultando o trabalho destes autores, verifica-se a
388 inconstância da informação visto que o mesmo relata a não ocorrência de tal espécie no país.
389 Outras referências citadas por Kroth *et al.* (2001) também não confirmam a informação.

390 Através do teste Dot-ELISA usando antissoro contra SPMMV foi possível confirmar a
391 presença desta espécie em 24 amostras de batata-doce do BAG e 24 de RPP e uma da Paraíba
392 (Figura 2), demonstrando assim, a primeira detecção deste vírus na cultura da batata-doce no
393 Nordeste Brasileiro.

394 A maioria das amostras provenientes do BAG e RPP apresentaram infecção mista
395 (confirmada por PCR para *Begomovirus* e Dot-ELISA para *Ipomovirus*) concordando com os
396 resultados de Untiveros *et al.* (2007) que pesquisaram os vírus presentes em batata-doce.

397 Para a cultura de batata-doce, o desenvolvimento de material propagativo isento de vírus,
398 obtido por meio de limpeza clonal com realização ou não de termoterapia é uma boa opção
399 para melhor produção (Clark *et al.*, 2012).

400 Com isso, conclui-se que a diversidade de espécies virais presentes na mesma planta de
401 batata-doce pode ser elevada, reforçando-se a importância da indexação e identificação destes
402 vírus para estabelecimento de tratamentos *in vitro* e produção de mudas sadias de maneira
403 eficiente e que permita aumentar a produtividade no campo.

404

405

406

Referências

- 407
408
409 ALBUQUERQUE, LC; INOUE-NAGATA, AK; PINHEIRO, B; RESENDE, RO;
410 MORIONES, E; NAVAS-CASTILLO, J. 2012. Genetic diversity and recombination analysis
411 of sweetpotviruses from Brazil. *Virology Journal* 9: 241-254.
412
- 413 AUSTIN, D.F. 1977. Hybrid haploids in *Ipomoea* section *batatas*. *Journal of Heredity* 68:
414 259-260.
415
- 416 BARRETO, SS. Estudo de plantas invasoras como fonte de begomovírus para o tomateiro.
417 2012. 136 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Instituto de Ciências Biológicas,
418 Universidade de Brasília, Brasília. 2012.
- 419 CASTRO, LL. 1991. Cultivo de tejidos para la producción de semilla básica de papa. In:
420 ROCA, W; MROGINSKI, LA. (eds.). *Cultivo de tejidos em la agricultura: Fundamentos e*
421 *Aplicaciones*. Colombia: CIAT, 447p.
- 422 CASTRO, LAS; ROCHA, NEM; ABRANTES, VL. 2008. Avaliação biológica de viroses em
423 plantas matrizes e mudas de batata-doce (*Ipomoea batatas*). *Circular Técnica*, 75.
424
- 425 CLARK, CA; DAVIS, JA; ABAD, JA; CUELLAR, WJ; FUENTES, S; KREUZE, JF;
426 GIBSON, RW; MUKASA, SB; TUGUME, AK; TAIRO, FD; VALKONEN, JPT. 2012.
427 Sweetpotato Viruses: 15 Years of Progress on Understanding and Managing Complex
428 Diseases. *Plant Disease* 96: 168-185.
429
- 430 CLARK, CA; HOY, MW. 2006. Effects of common viruses on yield and quality of
431 Beauregard sweet potato in Louisiana. *Plant Disease* 90: 83-88.
432
- 433 CUELLAR, WJ; SOUZA, J; BARRANTES, I; FUENTES, S; KREUZE, F. 2011. Distinct
434 cavemoviruses interact synergistically with sweet potato chlorotic stunt virus (genus
435 Crinivirus) in cultivated sweet potato. *Journal of General Virology* 92: 1233–1243.
436
- 437 FERNANDES, FR; DUSI, AN. 2013. Viroses da batata-doce no Brasil: importância e
438 principais medidas de controle. *Circular Técnica*: 126.
439

- 440 FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 2011.
441 *Faostat* Disponível em [http:// www.faostat.fao.org](http://www.faostat.fao.org). Acessado em 28 de abril de 2012.
442
- 443 GRIGORAS, I; VETTEN, H-J; SULTANOVA, NF; WINTER, S; HUSEYNOVA, IM;
444 MAMEDOV, ACH; KHEYR-POUR, A; GRONENBORN, B. 2010. Single-Stranded DNA
445 Plant Viruses in Azerbaijan, the State of the Art. *Proceedings of ANAS (Biological Sciences)*
446 65: 152-157.
447
- 448 HAIBLE, D; KOBER, S; JESKE, H. 2006. Rolling circle amplification revolutionizes
449 diagnosis and genomics of geminiviruses. *Journal of Virological Methods* 135: 9–16.
450
- 451 ICTV online. 2013. Disponível em http://www.ictvonline.org/Official_ICTV_Proposals.htm.
452 Acessado em 10 de junho 2013.
453
- 454 INOUE-NAGATA, AK; ALBUQUERQUE, LC; ROCHA, WB; NAGATA, T. 2004. A
455 simple method for cloning the complete begomovirus genome using the bacteriophage phi 29
456 DNA polymerase. *Journal of Virological Methods* 116: 209-211.
457
- 458 JONES, DR. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. *European Journal of Plant*
459 *Pathology* 109: 195-219.
- 460 KROTH, LL; DANIELS, J; PIEROBOM, CR. 2004. Degenerescência da batata-doce no rio
461 grande do sul. *Revista Brasileira Agrociência* 10: 79-82.
462
- 463 KROTH, LL; FUENTES, S; SALAZAR, LF; DANIELS, J. 2001. Detecção sorológica de
464 vírus por ncm-elisa em lavouras de batata-doce no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.
465 *Revista Brasileira de Agrociência*. 7: 117-119.
466
- 467 LOURENÇÃO, AL; NAGAI, H. 1994. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no Estado de
468 São Paulo. *Bragantia* 53: 53-59.
469
- 470 LOZANO, G; TRENADO, HP; VALVERDE, RA; NAVAS-CASTILLO, J. 2009. Novel
471 begomovirus species of recombinant nature in sweet potato (*Ipomoea batatas*) and *Ipomoea*
472 *indica*: taxonomic and phylogenetic implications. *Journal of General Virology* 90: 2550-
473 2562.

474

475 MARINHO, VLA; DUSI, AN. 1995. Interceptação de vírus em germoplasma de batata-doce
476 (*Ipomoea Batatas* (L.) Lam.) introduzido do Japão, pela Quarentena do Cenargen/Embrapa /
477 Detection of viruses in sweet-potato germplasm (*Ipomoea batatas*) introduced by the
478 quarantine system at Cenargen/Embrapa. *Fitopatologia Brasileira* 20: 115-117.

479

480 MUKASA, SB; RUBAIHAYO, PR; VALKONEN, JPT. 2003. Sequence variability within
481 the 3'-proximal part of the *Sweet potato mild mottle virus* genome. *Archives of Virology*
482 148: 487-496.

483

484 OLIVEIRA, MKT; NETO, FB; CÂMARA, FA; DOMBROSKI, JLD; FREITAS, RMO.
485 2008. Multiplicação *in vitro* de batata-doce (*Ipomoea batatas* Lam). *Revista Caatinga* 21:
486 129-134.

487

488 PADIDAM, M; SAWYER, S; FAUQUET, CM. 1999. Possible emergency of new
489 geminiviruses by frequent recombination. *Virology* 265: 218-225.

490

491 PAPROTKA, T; BOITEUX, LS; FONSECA, MEN; RESENDE, RO; JESKE, H; FARIA, JC;
492 RIBEIRO, SG. 2010. Genomic diversity of sweet potato geminiviruses in a Brazilian
493 germplasm bank. *Virus Research* 149: 224-233.

494

495 PIO-RIBEIRO, G; ASSIS, FO; FM; PAZ, CD; PIRES, CRC. 1993. Ocorrência do "*Sweet*
496 *potato feathery mottle virus*" em germoplasma de batata-doce no Estado de Pernambuco.
497 *Fitopatologia Brasileira* 18: 458-460.

498

499 RUBINSTEIN G; CZOSNEK H. 1997. Long-term association of *Tomato yellow leaf curl*
500 *virus* with its withefly vector *Bemisia tabaci*: effect on the insect transmission capacity,
501 longevity and fecundity. *Journal of General Virology* 78: 2683-2689.

502

503 RUKARWA, RJ; MASHINGAIDZE, AB; KYAMANYWA, S; MUKASA, SB. 2010.
504 Detection and elimination of sweet potato viruses. *African Crop Science Journal* 18: 223-233.

505

506 TORRES, AC; TEIXEIRA, SL; POZZER, L. 1998. Cultura de ápices caulinares e
507 recuperação de plantas livres de vírus. In: TORES, AC; CALDAS, LS; BUSO, JA. *Cultura de*
508 *tecidos e transformação genética de plantas* 1: 133-145.

509

510 UNTIVEROS, M; FUENTES, S; SALAZAR, LF. 2007. Synergistic Interaction of *Sweet*
511 *potato chlorotic stunt virus* (*Crinivirus*) with Carla-, Cucumo-, Ipomo-, and Potyviruses
512 Infecting Sweet potato. *Plant Disease* 91: 669-676.

513

514 VARADARAJAN, GS; PRAKASH, CS. 1991. A rapid and efficient method for the
515 extraction of total DNA from the sweet potato and its related species. *Plant Molecular*
516 *Biology Reporter* 9: 6–12.

517

518

519

520

521

522

523

524

525

526

527

528

529

530

531

532

533

534

535

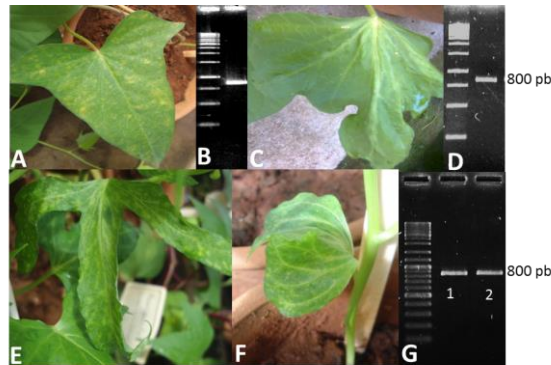
536

537

538

539

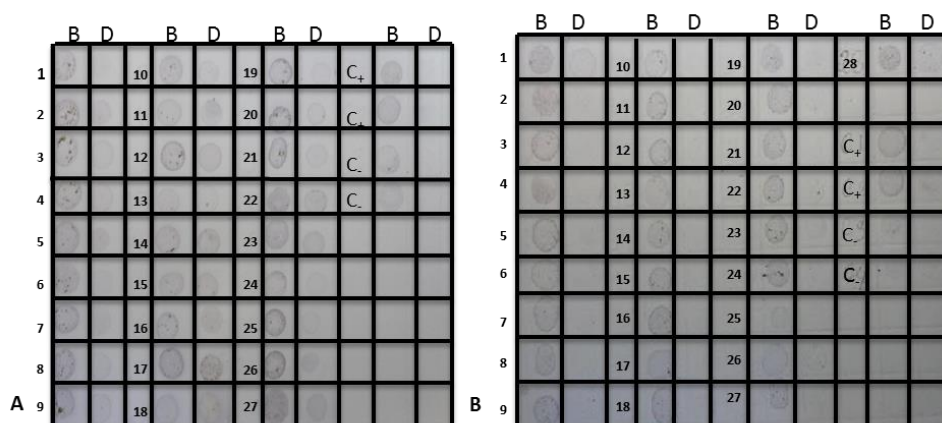
540 ANEXOS



541

542 **Figura 1.** Sintomas em folhas de diferentes cultivares de batata-doce (*Ipomoea batatas*)
 543 proveniente de um Banco Ativo de Germoplasma - BAG (A e C) e do campo (E e F) e
 544 confirmação do DNA viral purificado (B, D e G). **A-** Pontuações cloróticas em Angico. **B-**
 545 DNA viral purificado de Angico. **C-** Deformação foliar em Centenial. **D-** DNA viral
 546 purificado de Centenial. **E-** Deformação foliar e pontuações cloróticas em Batata-Roxa. **F-**
 547 Clareamento de nervura e deformação foliar em Parece. **G** - DNA viral purificado de Batata-
 548 Roxa (1) e Parece (2). (Symptoms on leaves of different sweet potato (*Ipomoea batatas*)
 549 cultivars from a germoplasm bank (GB) (A and C) and field (E and F) and confirmation of
 550 purified viral DNA (B, D and G). **A** – Very small chlorotic spots in Angico. **B-** purified viral
 551 DNA from Angico. **C** - Leaf distortion in Centenial. **D-** purified viral DNA from Centenial.
 552 **E-** Leaf distortion and very small chlorotic spots in Batata-roxa. **F-** vein clearing and leaf
 553 distortion in Parece. **G** – purified viral DNA from Batata-roxa (1) Parece (2)). Brasília,
 554 Universidade de Brasília, 2013.

555



556

557 **Figura 2.** Membranas de nitrocelulose apresentando resultados do Dot-ELISA contra
 558 *Sweet potato mild mottle virus* (SPMMV). **(A)** vinte e sete amostras do Banco Ativo de
 559 Germoplasma (BAG) e **(B)** vinte e sete regiões produtoras de Pernambuco (RPP) e uma da
 560 Paraíba. Controle positivo (C₊): cv. Branquinha, controle negativo (C₋): *Ipomoea setosa*. **A** –

561 Amostras: 1- Angico, 2- Balão roxo, 3- Banca do talo roxo, 4- Carpinteira, 5- Centenial, 6-
562 CR-06, 7- L7-Bege, 8- Mãe de família, 9- Mineira, 10- Olho de urubu, 11- Pérola, 12- Pedra,
563 13- Pincel, 14- Talo roxo, 15- UFRPE, 16- Var. J. G. Pierre, 17- 010-CNPH, 18- Agrestina,
564 19- Branca de altinho, 20- Bom nome, 21-Coroatã, 22- CO Roxa, 23- Eucalipto, 24- Grossa
565 da paz, 25- Rabo de boi, 26- RC-03 e 27-Vitorinha. As amostras 13, 25 e 26 foram negativas
566 **B** – Amostra: 1- Batateira/Itapissuma, 2-Batateira/Goiana, 3-Granfina, 4- Vitória, 5-
567 Ligeirinha/PB, 6- Batata roxa, 7- Princesa, 8-Granfina/Itambé, 9- Parece, 10- Paulistinha, 11-
568 Muciliana, 12-Granfina do talo roxo, 13- Acesso 1202/IPA, 14- Acesso 1219/IPA, 15- Acesso
569 1007/IPA, 16-Acesso 1189/IPA, 17- Acesso 1213/IPA, 18- CO Roxa, 19- Pé de pombo, 20 a
570 24-Branquinha, 25 e 26- Pé de pombo, 27- Branca e 28- Orelha de Burro. As amostras 04, 10
571 e 25 foram negativas (Nitrocellulose membranes presenting results of Dot-ELISA against
572 *Sweet potato mild mottle virus* (SPMMV). (**A**) twenty-seven samples of the germoplasm (GB)
573 and (**B**) twenty-seven producing regions of Pernambuco (RPP) and one of Paraíba. Positive
574 control (C +): cv. Branquinha, negative control (C-): *Ipomoea setosa*. **A**- Samples: 1- Angico,
575 2- Balão roxo, 3- Banca do talo roxo, 4- Carpinteira, 5- Centenial, 6-CR-06, 7- L7-Bege, 8-
576 Mãe de família, 9- Mineira, 10- Olho de urubu, 11- Pérola, 12- Pedra, 13- Pincel, 14- Talo
577 roxo, 15- UFRPE, 16- Var. J. G. Pierre, 17- 010-CNPH, 18- Agrestina, 19- Branca de altinho,
578 20- Bom nome, 21- Coroaã, 22- CO Roxa, 23- Eucalipto, 24- Grossa da paz, 25- Rabo de
579 boi, 26- RC-03 e 27- Vitorinha. Samples 13, 25 and 26 were negatives. **B** – Samples: 1-
580 Batatateira/Itapissuma, 2- Batatateira/Goiana, 3- Granfina, 4- Vitória, 5- Ligeirinha/PB, 6-
581 Batata roxa, 7- Princesa, 8- Granfina/Itambé, 9- Parece, 10- Paulistinha, 11- Muciliana, 12-
582 Granfina do talo roxo, 13- Acesso 1202/IPA, 14- Acesso 1219/IPA, 15- Acesso 1007/IPA,
583 16- Acesso 1189/IPA, 17- Acesso 1213/IPA, 18- CO Roxa, 19- Pé de pombo, 20 a 24-
584 Branquinha, 25 e 26- Pé de pombo, 27- Branca e 28- Orelha de Burro. Samples 04, 10 and 25
585 were negative). Brasília, Universidade de Brasília, 2013.

586

587

588

589

590

591

592

593

594 **Tabela 1.** Resultado do sequenciamento de dezessete amostras do Banco de
 595 Germoplasma (BAG) e três de regiões produtoras de Pernambuco (RPP): Paudalho, Itambé e
 596 Camocim de São Félix (Results of sequencing of seventeen samples of. the germoplasm bank
 597 (GB) and three regions of Pernambuco (RPP): Paudalho, Itambé and Camocim São Félix).
 598 Brasília, Universidade de Brasília, 2013

Amostra	Origem	Espécie viral	Identidade
Angico	BAG	<i>Sweet potato leaf curl virus (SPLCV)-PE</i>	99%
Batata-roxa	RPP	<i>Sweet potato leaf curl virus (SPLCV)-PE</i>	98%
Branca do talo roxo	BAG	<i>Sweet potato leaf curl virus (SPLCV)-PE</i>	93%
Carpinteira	BAG	<i>Sweet potato leaf curl virus (SPLCV)-PE</i>	97%
CR-06	BAG	<i>Sweet potato leaf curl virus (SPLCV)-PE</i>	95%
L7-Bege	BAG	<i>Sweet potato leaf curl virus (SPLCV)-PE</i>	99%
Mãe de família	BAG	<i>Sweet potato leaf curl virus (SPLCV)-PE</i>	99%
Olho de urubu	BAG	<i>Sweet potato leaf curl virus (SPLCV)-PE</i>	89%
Parece	RPP	<i>Sweet potato leaf curl virus (SPLCV)-PE</i>	99%
Pedra	BAG	<i>Sweet potato leaf curl virus (SPLCV)-PE</i>	99%
Pérola	BAG	<i>Sweet potato leaf curl virus (SPLCV)-PE</i>	98%
Pincel	BAG	<i>Sweet potato leaf curl virus (SPLCV)-PE</i>	98%
Var. J. G. Pierre	BAG	<i>Sweet potato leaf curl virus (SPLCV)-PE</i>	97%
010-CNPH	BAG	<i>Sweet potato leaf curl virus (SPLCV)-PE</i>	97%
Balão roxo	BAG	<i>Sweet potato golden vein associated virus</i> (SPGVaV)-RO	98%
Branca	RPP	<i>Sweet potato golden vein associated virus</i> (SPGVaV)-RO	99%
Centenial	BAG	<i>Sweet potato golden vein associated virus</i> (SPGVaV)-RO	94%
Mineira	BAG	<i>Sweet potato golden vein associated virus</i> (SPGVaV)-RO	95%
Talo roxo	BAG	<i>Sweet potato golden vein associated virus</i> (SPGVaV)-RO	99%
UFRPE-1.88	BAG	<i>Sweet potato golden vein associated virus</i> (SPGVaV)-RO	99%

CAPÍTULO III

Avaliação de germoplasma de berinjela (*Solanum melongena* L.) para resposta à mosca-branca (*Bemisia tabaci*), *Tomato chlorotic mottle virus* e *Potato virus Y*

Avaliação de germoplasma de berinjela (*Solanum melongena* L.) para resposta à mosca-branca (*Bemisia tabaci*), *Tomato chlorotic mottle virus* e *Potato virus Y*

Caroline A. Souza¹; Gilvan Pio-Ribeiro¹; Genira P. Andrade¹; Leonardo S. Boiteux²; Simone G. Ribeiro³; Renato O. Rezende⁴; Rita C. Pereira-Carvalho⁴

¹Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, 52171-900, Recife, PE, Brasil; ²Embrapa Hortaliças, Laboratório de Melhoramento, Cx. Postal 218, 70359-970, Brasília-DF, Brasil; ³Laboratório de Interação Molecular Planta-Praga/ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 70770-917, Brasília-DF, Brasil; ⁴Departamento de Fitopatologia, Área de Virologia Vegetal, Universidade de Brasília, 70910-900, Brasília-DF, Brasil

Autor para correspondência: Rita C. Pereira-Carvalho, e-mail: carvalhorcp@unb.br

RESUMO

Severas epidemias causadas por espécies de *Begomovirus* e *Potyvirus* são frequentes em diversas hospedeiras da família *Solanaceae*. Embora descrita em diferentes regiões do mundo, a infecção natural da berinjela (*Solanum melongena* L.) por espécies desses dois gêneros virais tem sido pouco frequente nas condições brasileiras. Além disso, pouco se sabe sobre a resposta de genótipos de berinjela a infestação pelo complexo de espécies de *Bemisia tabaci* vetoras de diferentes espécies de *Begomovirus*. No entanto, as medidas adotadas para o controle de viroses devem ser preventivas, sendo o uso de variedades resistentes ao vírus e/ou ao vetor uma das opções mais viáveis em termos de manejo. Neste contexto, a primeira etapa do presente trabalho foi avaliar o comportamento de uma coleção de 45 acessos de berinjela frente a uma espécie do complexo de *Begomovirus* que afetam o tomateiro no Brasil (*Tomato chlorotic mottle virus* – ToCMoV). Após a inoculação (via vetor *B. tabaci*). Após um período de 20 dias as plantas foram pulverizadas com imidacloprid e a terceira folha de cada repetição foi coletada visando avaliar a presença de ToCMoV e os níveis de infestação (número de ovos e ninfas) de *B. tabaci* nos acessos de berinjela. A cultivar de tomate ‘Santa Clara’ foi utilizada como controle positivo. Embora apresentando níveis distintos de suscetibilidade, todos os acessos avaliados foram visitados pelo vetor e mostraram, em sua maioria, altas taxas de oviposição. As avaliações dos sintomas de ToCMoV foram realizadas aos sete, 14, 21, 28, 45, 60 e 120 dias após o fim do período de inoculação (dafpi). Mesmo sob intensa visita da

mosca-branca, nenhuma amostra de berinjela apresentou resultado positivo para ToCMoV como indicado pelo teste de hibridização (conduzido com amostras coletadas aos 35 dafpi). Além disso, as plantas permaneceram assintomáticas durante todo o período de avaliação. Em um segundo ensaio, plântulas de 26 acessos de berinjela foram mecanicamente inoculadas (aos 40 dias após a germinação) com um isolado de *Potato virus Y* – PVY (*Potyvirus*). As avaliações visuais de sintomas foram conduzidas entre sete e 120 dias após inoculação (dai). Plantas de *Nicotiana tabacum* ‘TNN’ foram usadas como controle positivo. O teste Dot-ELISA com anticorpo específico para PVY (conduzido aos 35 dai) indicou a ausência do vírus em todos os acessos. Esses resultados sugerem que a berinjela apresenta uma resposta de resistência do tipo “não hospedeira” para ambos os isolados virais. A resistência a ToCMoV observada nesse grupo de genótipos de berinjela não pode ser inicialmente explicada por uma interferência com a biologia do inseto vetor. Mesmo os genótipos classificados como altamente suscetíveis à infestação por *B. tabaci* se mostraram isentos de sintomas virais. A identificação de fontes de fontes de resistência vírus e/ou seus vetores em *S. melongena* poderá ser de grande interesse para o melhoramento genético tanto via métodos clássicos de quanto via estratégias de transgenia/cisgenia.

Palavras-chave: *Solanácea*, *Begomovirus*, *Potyvirus*.

INTRODUÇÃO

A família *Solanaceae* representa, entre as plantas cultivadas, a terceira mais importante em termos econômicos (Wu; Tanksley, 2010). No grupo das hortaliças, as solanáceas ocupam o primeiro lugar, incluindo culturas importantes tais como a berinjela (*Solanum melongena* L.), o tomateiro (*S. lycopersicum* L.), a batata (*S. tuberosum* L.), o jiloeiro (*S. aethiopicum* L. var. *gilo*), os pimentões (*Capsicum annuum* L.) e as pimentas (Wu; Tanksley, 2010).

O centro de origem da berinjela é o subcontinente indiano, sendo considerada uma espécie tropical perene, porém cultivada como anual devido a sua sensibilidade ao frio (Filgueira, 2008). O cultivo da berinjela ocupa mundialmente dois milhões de hectares por ano, apresentando maior importância na Ásia (FAO, 2011). No Brasil, a produção da berinjela apresenta expressiva importância para a agricultura familiar, tendo seu cultivo mais disseminado nas regiões Sul e Sudeste (Santos *et al.*, 2006).

De acordo com Scholthof *et al.* (2011) espécies de *Begomovirus* e *Potyvirus* destacam-se dentro de um grupo das dez espécies mais importantes para a agricultura em termos globais. Espécies classificadas dentro do gênero *Begomovirus* possuem ácido nucléico do tipo ssDNA

encapsidado separadamente em uma partícula (espécies com genoma monopartido) ou em duas partículas (espécies com genoma bipartido) (Seal et al., 2006). As espécies de begomovírus são transmitidas em condições naturais por um complexo de espécies de mosca-branca (*Bemisia tabaci* Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) vetoras (De Barro et al., 2011). O gênero *Potyvirus* (família *Potyviridae*) é composto por cerca de 190 espécies (Adams et al., 2011). As partículas virais são alongadas e flexuosas (680 a 900 nm e 11 a 13 nm de diâmetro). O genoma das espécies de *Potyvirus* é constituído por um ssRNA (aproximadamente 10 kb) de senso positivo que é traduzido em uma poliproteína que é posteriormente clivada em diferentes polipeptídios via proteases codificadas pelo próprio vírus (Riechman et al., 1992). Entre as espécies classificadas no gênero *Potyvirus* merece destaque a espécie-tipo *Potato virus Y* considerada por Scholthof et al. (2011) em quinto lugar dentre os vírus mais importantes. Em condições naturais, as espécies de *Potyvirus* são transmitidas por uma ampla gama de espécies de pulgões (afídeos) e experimentalmente também por inoculação mecânica.

A berinjela é uma planta bastante rústica e os relatos de doenças virais são escassos quando comparados com outras solanáceas. Severas epidemias causadas por espécies de *Begomovirus* e *Potyvirus* são reportadas com maior frequência em outras espécies hospedeiras da família *Solanaceae*, incluindo o tomateiro, tabaco (fumo), batata e *Capsicum* spp. Um dos poucos relatos sobre a infecção da berinjela por begomovírus se restringem as espécies *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV) e *Tomato yellow leaf curl Thailand virus* (TYLCTHV) no continente asiático (Green et al., 2003; Al-Ani et al., 2011; Pratap et al., 2011). Os sintomas causados em berinjela foram severos e incluíram nanismo, mosqueado e enrolamento foliar, além de anormalidades no fruto. No Brasil, até o presente momento, não existem relatos de espécies de *Begomovirus* infectando berinjela. No entanto, em outras solanáceas importantes como tomateiro, as epidemias de begomovírus têm sido frequentes, causando sérios prejuízos econômicos em diversas regiões produtoras do país (Fernandes et al., 2008). As espécies reportadas em solanáceas no Brasil apresentam genoma bipartido e formam um complexo de cerca de 20 espécies. Até o presente momento existem relatos de espécies monopartidas apenas em batata-doce no Brasil (Paprotka et al., 2010).

O ciclo de vida do vetor *B. tabaci* apresenta metamorfose incompleta com fases de ovo e quatro estádios de ninfas (o último estádio conhecido por pupa ou pseudo-pupa) e adulto (Lourenção & Nagai, 1994). Desde a expansão global de *B. tabaci* biótipo B houve também um crescente número de relatos de doenças causadas por espécies de *Begomovirus* (Ribeiro et al., 2003). Mais recentemente, De Barro et al. (2011) re-classificaram os antigos 41 biótipos

em 11 grupos contendo 24 espécies indistinguíveis morfológicamente e infestando uma vasta gama de plantas hospedeiras. No entanto, pouco ainda se sabe sobre a resposta de genótipos de berinjela a infestação pelas diferentes espécies do complexo *B. tabaci*.

Espécies do gênero *Potyvirus* têm sido reportadas infectando a berinjela em diferentes regiões de produção com destaque para as espécies *Eggplant mosaic virus* (EMV) (Briand et al., 1997), *Eggplant severe mottle virus* (ESMV) (Ladipo et al., 1988) e *Potato virus Y – PVY* (Sastry et al., 1974). No Brasil, o único relato de infecção por *Potyvirus* foram feitos por Brioso et al. (1988) que identificaram plantas de berinjela com sintomas de mosaico no Rio de Janeiro e constataram (via sorologia) a presença de um isolado relacionado com PVY.

Embora descrita ocorrendo em diferentes regiões do mundo, a infecção natural da berinjela por espécies de *Begomovirus* e *Potyvirus* praticamente não tem sido detectada nas condições brasileiras. Em um levantamento das doenças da berinjela no Brasil, Reis et al. (2011) mencionaram apenas espécies do gênero *Tospovirus* como sendo importantes no cultivo dessa hortaliça em condições de campo. No entanto, a natureza do parasitismo obrigatório, a vasta gama de plantas solanáceas hospedeiras e as dificuldades inerentes ao controle de vetores demandam que as medidas adotadas para controle das doenças induzidas por espécies virais devam ter, obrigatoriamente, caráter preventivo. Neste contexto, a melhor opção seria o uso de cultivares resistentes que podem ser obtidas via melhoramento clássico ou via transgenia (Boiteux et al., 2012). Nas duas estratégias, o primeiro passo envolve a busca de fontes de resistência em bancos de germoplasma disponíveis para a hospedeira e/ou espécies afins. Isolados de PVY e *Tomato chlorotic mottle virus – ToCMoV* (uma das espécies virais do complexo de *Begomovirus* bipartido que infecta tomate e outras solanáceas no Brasil) foram escolhidos para nossos estudos exploratórios no germoplasma de berinjela devido à importância e a vasta distribuição dessas espécies virais, especialmente no cultivo de solanáceas. A identificação em acessos de *S. melongena* de fontes de fontes de resistência a estas espécies virais e/ou seus vetores poderá ser de grande interesse para transferência dos potenciais genes de resistência para germoplasma elite de berinjela e também para potencial mobilização desses fatores via estratégias de transgenia/cisgenia (Boiteux et al., 2012) para outras espécies de solanáceas suscetíveis.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de realização dos ensaios e coleção de germoplasma de berinjela

O trabalho foi realizado no Laboratório de Virologia Vegetal do Departamento de Fitopatologia da Universidade de Brasília – UnB e também em casa de vegetação e telados da Estação Experimental de Biologia da UnB (EEB) em Brasília-DF. Os acessos de berinjela (*S. melongena* L.) utilizados no presente trabalho pertencem ao Banco de Germoplasma de Berinjela da Embrapa Hortaliças (BGB – CNPH).

Inoculação de *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) via vetor *Bemisia tabaci* e avaliação para resistência

As sementes de 45 acessos de berinjela foram semeadas em bandejas de isopor (128 células), contendo substrato PlantMax[®]. Em cada bandeja foram semeados 15 acessos e o tomate *S. lycopersicum* ‘Santa Clara’ foi utilizado como controle interno positivo. Foram semeadas 30 sementes de cada acesso, distribuídas em oito células, para germinação. Após 25 dias, 12 plântulas foram selecionadas e distribuídas em quatro repetições por bandeja (Figura 1) totalizando três bandejas para cada acesso, que foram redistribuídas em delineamento inteiramente casualizado (DIC) para a inoculação via vetor *B. tabaci*. O biótipo do vetor foi previamente confirmado e trata-se do biótipo B. Separadamente foram preparadas as bandejas do controle não inoculado com os mesmos genótipos que seriam levados ao telado para inoculação, sendo neste caso quatro repetições em uma única bandeja. As plantas foram mantidas em uma casa de vegetação livre de mosca-branca. As bandejas foram levadas para um insetário contendo moscas-brancas (biótipo B) virulíferas (contaminadas com um isolado de ToCMoV) (Figura 2), onde permaneceram por 20 dias. Para assegurar a visita das moscas-brancas aos acessos de berinjela, periodicamente as folhas das plantas de tomate (fonte de inóculo) eram agitadas para estimular a migração do inseto. As bandejas foram rotacionadas (em intervalos de três dias), visando aumentar a homogeneidade da visita pela mosca-branca nos genótipos em teste. Ao vigésimo dia as bandejas foram retiradas do telado e pulverizadas com inseticida Imidacloprid, juntamente com as bandejas contendo os controles não inoculados. Antes da pulverização uma folha de cada acesso foi coletada para contagem dos diferentes estágios de *B. tabaci*. Em seguida, as plântulas foram transplantadas, uma por vaso, contendo terra autoclavada. Foram formados três blocos (com quatro plantas de cada repetição) e dentro destes, as plantas foram dispostas em DIC.

Avaliação de sintomas e detecção de *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) via hibridização

As avaliações (plantas inoculadas e não inoculadas) foram realizadas aos 7, 14, 21, 28, 45,60 e 120 dias após a pulverização, para observar a expressão de sintomas. Aos 35 dias após a pulverização realizou-se uma hibridização de ácidos nucleicos para detecção viral. Aos 35 dias após a pulverização, realizou-se a técnica de tissue blot. Cortou-se a segunda folha apical de cada planta avaliada e pressionou-se cuidadosamente sobre a membrana de náilon (Amersham Hybond –N+). Antes da hibridização a membrana foi tratada com NaOH 0.2 % por 5 minutos (min), Tris-HCl 1 M pH 7.4 por 5 min, SSC 2 X por 5 min (Brasileiro & Carneiro, 1998). A detecção viral, foi realizada através de sondas radioativas (para uma região do componente A viral) utilizando-se o kit Rediprime II Labeling System (GE healthcare) e $\alpha^{32}\text{PdCTP}$, conforme instruções do fabricante. A pré-hibridização e a hibridização de ácidos nucleicos foi feita com tampão Church modificado a 55 °C e as lavagens com SSC 2 X, SDS 0,1 % e SSC 1 X, SDS 0,1 % na mesma temperatura. As membranas foram expostas no Imaging plate BAS-MS (FujiFilm) e analisadas em um equipamento BioImaging Analyser FLA 3000 (FujiFilm) (Fontenele et al., 2010).

Avaliação da colonização das plântulas pelas moscas-brancas

Após 20 dias sob inoculação, antes da pulverização, coletou-se a terceira folha, a partir da folha apical, de cada planta para a contagem dos diferentes estágios de *B. tabaci*. Para verificação da colonização das plantas pelas moscas-brancas, realizou-se a contagem de adultos, ovos, ninfa de 1º, 2º, 3º e 4º instares de cada folha coletada (Michereff-Filho et al., 2012; Pereira-Carvalho, 2009). Para verificar a colonização das moscas-brancas nas plantas de berinjela foi realizada a análise estatística com os dados da contagem de adultos, ovos e ninfas através da transformação em raiz quadrada de $x + 1.0$, e análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5 % de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Sisvar.

Inoculação mecânica e avaliação para resistência à *Potyvirus*

Sementes de 26 acessos, foram semeadas em bandejas de isopor (128 células), contendo substrato PlantMax. Vinte e cinco dias após semeio, 12 plântulas foram transplantadas, uma por vaso contendo terra autoclavada formando-se três blocos com quatro repetições de cada acesso por bloco. Como controle positivo plantas de fumo TNN foram utilizadas. Utilizou-se também duas plantas de cada acesso e do fumo TNN como controle

não inoculado. Foram realizadas avaliações visuais aos 7, 14, 21, 28, 45, 60 e 120 dias após a inoculação, para observar a expressão de sintomas. Após 15 dias do transplante, as plântulas foram inoculadas mecanicamente com um isolado de PVY. O inóculo foi mantido e multiplicado em fumo (*Nicotiana tabacum* variedade 'TNN'). A inoculação foi feita macerando as folhas de fumo em tampão de inoculação Fosfato de potássio (0,5 M pH 7,0) gelado contendo sulfito de sódio a 0,1 %. O macerado foi inoculado em todas as folhas utilizando-se carborundum (400 mesh) como abrasivo. Um teste de Dot-ELISA foi conduzido visando detectar a presença de PVY no tecido foliar inoculado. Para realização do Dot-ELISA foi utilizada a membrana de Nitrocelulose Hybond C. Discos foliares (um disco foliar por planta) foram coletados e macerados individualmente em nitrogênio líquido dentro de um tubo de microcentrífuga. Foi adicionado em cada amostra 1 mL da solução tampão PBS-1 X, com 0,1 % de sulfito de sódio. Aplicou-se na membrana 2 µL das amostras. Esperou-se até que a membrana secasse e aplicou-se a solução de bloqueio PBS-Tween (2 %) + 5 % p/v de leite desnatado. Após a incubação a temperatura ambiente por uma hora sob agitação, a membrana foi lavada três vezes com 10 mL de PBS-T, 10 min por vez. Em seguida foi adicionado o anticorpo específico para PVY na proporção de 1:1.000 e incubada a temperatura ambiente por duas horas sob agitação. A membrana foi novamente lavada com PBS-T por três vezes de cinco minutos sob agitação. Adicionou-se o anticorpo secundário (goat-anti-rabbit-SIGMA/A3887-1 mL) (1:30.000) seguindo-se incubação a temperatura ambiente por três horas em agitação. Após novas lavagens de 15 min cada em agitação, foi colocado 10 mL da solução fosfatase alcalina e nesta adicionou-se 33 µL de BCIP (5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato) e 66 µL de NBT (Cloro Nitroazul de Tetrazólio). Esta solução ficou sob agitação até que se observasse a formação de manchas púrpuras no local de deposição das amostras, indicando a presença viral. Para interrupção da reação, a membrana foi lavada com água destilada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Resposta a inoculação com ToCMoV via vetor *B. tabaci*

Nas avaliações de sintomas realizadas até os 120 dias após o término da inoculação de ToCMoV foi possível perceber que a cultivar de tomate suscetível 'Santa Clara', utilizada como controle positivo apresentou sintomas severos de desvio de cor e deformação foliar confirmando assim, a eficiência da inoculação. Das 20 plântulas (cinco bandejas para todos os

acessos e quatro tomates em cada uma delas) de tomate utilizadas como controle para inoculação de ToCMoV, oito sobreviveram e exibiram fortes sintomas. Por outro lado plantas não inoculadas mantiveram-se assintomáticas em todas as avaliações. Os sintomas fortes exibidos pelo controle tomate frente ao ToCMoV (importante espécie do complexo de begomovírus presentes no Brasil) confirmam resultados anteriores com esta espécie de *Begomovirus* obtidos por Fernandes-Acioli et al. (2011). Quanto aos 45 acessos de berinjela avaliados, nenhum apresentou sintomas evidentes até aos 120 dafpi, em comparação ao controle positivo. Em sua maioria pontuações cloróticas que coincidiam com a presença de ninfas foram observadas. A hibridização realizada com os 45 acessos de berinjela inoculados e não inoculados, não mostrou resultado positivo para nenhuma amostra. O resultado positivo do controle, tomate, foi observado em forma de pontos escuros no local da membrana onde se efetuou o *tissue print* da amostra (Figura 3A). O tipo de sintoma resultante de infecções virais sofre variações dependendo das condições ambientais, idade da planta, genética viral e da hospedeira. Diferentes respostas por parte da hospedeira podem ser observadas. Assim, em resposta à infecção viral, diz-se que a planta pode apresentar-se como resistente: quando a replicação é limitada pela ineficiência do movimento viral (não é possível observar sintomas) ou a replicação é limitada por fatores da hospedeira (observam-se sintomas locais e denomina-se reação de hipersensibilidade HR); suscetível: ocorre a replicação e movimento viral; tolerante: o vírus se replica, porém a planta não manifesta sintomas e imune (o vírus não se replica em protoplastos) (Hull, 2002). Diante dos resultados obtidos foi possível verificar que os acessos de berinjela testados apresentaram comportamento imune a espécie ToCMoV, uma vez que não apresentaram sintomas de vírus até aos 120 dafpi e não foram detectados por hibridização aos 35 dafpi. Embora Hull (2002) considere que planta imune seria não hospedeira, vale considerar a sutil diferença em que planta não hospedeira seria o caso de nenhuma cultivar ou variedade de determinada espécie se infectar com uma determinada espécie viral. Partindo do pressuposto que uma única cultivar ou variedade da espécie se infecta com esta espécie viral as demais (que não apresentam sintomas e nem replicação viral) seriam imunes. Já existem três relatos de espécies de begomovírus bipartidos em berinjela, entretanto não existe relato de ToCMoV na cultura.

Não existe na literatura trabalhos de busca de fontes de resistência a begomovírus em berinjela, sendo este, portanto, um trabalho inédito. No entanto, outros trabalhos têm sido realizados buscando-se fontes de resistência a espécies de *Begomovirus* (inclusive a espécie em estudo) principalmente em acessos de tomate. Trabalho realizado inicialmente por Santana et al. (2001) mostraram fontes de resistência promissoras que serviu de base para trabalhos

posteriores de introgressão de genes via melhoramento genético em tomateiro. A linhagem de tomate ‘TX-468RG’ com resistência a espécies de *Begomovirus* monopartidos e bipartidos (Giordano et al., 2005; Garcia-Cano et al., 2008) é um exemplo da eficiência dessa estratégia. Neste contexto e visando atender aos requisitos dos programas de melhoramento na busca de resistência ampla, duradoura e estável, os materiais aqui estudados poderão ser usados ainda para verificar a amplitude da resistência frente a outras espécies de *Begomovirus*, bem como outras espécies de importantes gêneros virais e até mesmo de outros grupos de patógenos. A busca e caracterização de materiais resistentes é a base para trabalhos de melhoramento tanto para berinjela quanto para outras espécies de gêneros da família Solanaceae.

Resposta à infestação por *Bemisia tabaci*

Neste trabalho além da avaliação da resistência a espécie viral ToCMoV, os 45 acessos foram avaliados também quanto ao comportamento do vetor diante dos mesmos. A cultivar de tomate ‘Santa Clara’ foi usada como controle suscetível. A avaliação foi feita considerando os diferentes estágios do ciclo de desenvolvimento de *B. tabaci*. O ciclo de vida de *B. tabaci* inicia com oviposição (em torno de 300 ovos/fêmea), passando por ninfa de primeiro ínstar (único estágio que se movimenta), segundo, terceiro, quarto ínstar e adulto. Na Tabela 1, estão apresentados os resultados da avaliação estatística da colonização dos acessos de berinjela pelas moscas-brancas. Dentre os 45 acessos de berinjela avaliados, 16 apresentaram uma menor taxa de oviposição, diferindo estatisticamente da testemunha suscetível usada no experimento. Quanto aos estágios ninfais, observa-se, para o 1º ínstar, que a maioria dos acessos (26) não diferiram estatisticamente da testemunha enquanto que 19 acessos dos 45 apresentaram índices menores, diferindo estatisticamente do controle suscetível. Ninfas de 2º e 3º ínstars não foram avaliadas separadamente. Dentre os 45 acessos testados observou-se que a maioria (28 acessos) diferiu estatisticamente da testemunha mostrando menores índices de indivíduos neste estágio (2º e 3º). Um resultado interessante foi observado para a contagem de adultos e ninfas de 4º ínstar onde 15 e 23 acessos respectivamente apresentaram maiores valores quando comparados ao controle suscetível. De um modo geral todos os acessos foram visitados. Isto foi confirmado uma vez que durante o período de inoculação de ToCMoV a cada três dias as bandejas eram casualizadas e era observado também se todas as plantas dos acessos estavam sendo visitadas pelo vetor.

Acessos aqui considerados também como suscetíveis tiveram comportamento similar a testemunha (cultivar de tomate ‘Santa Clara’) em pelo menos quatro das cinco variáveis avaliadas. Estes acessos foram ‘CNPB-520’, ‘CNPB-539’, ‘CNPB-546’ e ‘CNPB-559’ se

mostraram iguais ou mais suscetíveis que a cultivar de tomate, visto que os dois primeiros apresentaram maiores valores de ninfas de 4º instar e os últimos maiores valores para adultos. Para os acessos ‘CNPH-558’, ‘CNPH-575’ e ‘CNPH-580’ também se observou maiores valores de ninfas de 4º instar e adulto e menores valores de ninfas de 2º e 3º para os dois primeiros e ninfas de 1º instar para o ‘CNPH-575’ quando comparados à testemunha. Comportamento idêntico ao da testemunha foi observado nos acessos ‘CNPH-568’ e ‘CNPH-576’. Por outro lado os acessos ‘CNPH-513’, ‘CNPH-537’, ‘CNPH-549’ e ‘CNPH-574’, diferiram estatisticamente da testemunha nas três primeiras variáveis ao apresentarem menores valores de ovos, ninfas de 1º e 2º/3º instares, e não diferiram para ninfas de 4º instar e adulto.

Como destaque podemos salientar os quatro acessos (‘CNPH-503’, ‘CNPH-542’, ‘CNPH-569’ e ‘CNPH-578’) que se mostraram altamente suscetíveis. Foram observadas nesses acessos elevadas taxas de todos os estágios do ciclo de desenvolvimento de *B. tabaci*. Os valores de ninfas de 1º, 2º e 3º instares nestes acessos não diferiram estatisticamente do controle suscetível. Entretanto, para ninfas de 4º instar e adultos estes acessos mostraram-se mais suscetíveis que a própria testemunha. Esses acessos mostraram-se claramente suscetíveis ao vetor e poderão ser empregados como controles suscetíveis em posteriores ensaios avaliação de resistência a esse inseto em berinjela.

Mecanismos de resistência a insetos já foram descritos para outras espécies do gênero *Solanum*, principalmente o tomate. Baldin et al., 2005 avaliaram nove genótipos de tomate quanto aos mecanismos de resistência a *B. tabaci* e observaram que a cv. Sta. Clara foi a mais atrativa e suscetível as moscas-brancas. Os mecanismos apresentados para resistência de tomate aos vetores são antibiose, antixenose e tolerância. Além disso, os tricomas glandulares podem dificultar a fixação ou aumentar a probabilidade de morte do inseto na planta (Baldin et al., 2005). Alguns acessos diferiram estatisticamente do controle suscetível (para ovos, ninfas de 1º, 2º e 3º instares), mas não diferiram em relação à testemunha para o número de ninfas de 4º instar e adultos. Esses acessos podem apresentar algum tipo de resistência ao vetor manifestada na forma de atraso no desenvolvimento do ciclo de *B. tabaci*. De acordo com Baldin et al. (2005) um comportamento similar foi observado em acessos tomate selvagens frente a colonização do vetor *B. tabaci*, o mesmo poderia ser explicado devido a possíveis efeitos negativos caracterizados como antixenose, que significa uma menor utilização do hospedeiro pelo inseto, podendo ser na alimentação, oviposição ou abrigo.

Avaliação para PVY via inoculação mecânica

Durante avaliações semanais foi possível observar sintomas severos no controle suscetível *N. tabacum* TNN, confirmando assim, a eficiência do procedimento de inoculação. Das 12 plântulas de TNN utilizadas como controle para inoculação de PVY, todas elas exibiram fortes sintomas de deformações foliares e desvios de cor até aos 28 dias após a inoculação. Na inoculação feita aos 35 dai apenas uma planta permaneceu viva. Acredita-se que este fato tenha ocorrido devido à alta pressão de inóculo a qual as plantas foram submetidas.

Nenhum sintoma foi observado nas plantas não inoculadas excluindo a possibilidade de inoculações secundárias que poderiam ser realizadas caso o vetor pulgão (*Myzus persicae*) estivesse presente no ambiente. Nas duas primeiras avaliações (7 e 14 dias) a maioria das plantas apresentou frequente deformação foliar, o que pode ser atribuído a danos causados pela inoculação mecânica, pois nas avaliações seguintes não houve evolução destes sintomas. No Brasil, o único relato de infecção por *Potyvirus* em berinjela foi feito por Briosso *et al.* (1988) que identificaram plantas com sintomas de mosaico no Rio de Janeiro e constataram via sorologia a presença de um isolado relacionado com PVY. Briosso *et al.* (1988), efetuaram inoculação mecânica de PVY em 30 linhagens de berinjela ‘Campinas’ e apenas cinco delas mostraram-se resistentes.

No presente trabalho, nenhuma das plantas avaliadas apresentou sintomas evidentes em comparação ao controle positivo até os 120 dias pós-inoculação. Para detecção de PVY, o teste Dot-ELISA foi realizado. Plantas do controle positivo (fumo ‘TNN’) foram todas positivas para sintomas e para Dot-ELISA (Figura 3A). Nenhum dos 26 acessos avaliados apresentou resultado positivo (Figura 3B). Um fato interessante foi que Briosso *et al.* (1988) identificaram um número restrito de linhagens resistentes a um isolado de PVY obtido originalmente berinjela. Esse dado se mostrou em extremo contraste em relação ao presente trabalho, onde o comportamento resistente foi observado em virtualmente todos os acessos avaliados. Essa discrepância sugere a possibilidade de algum tipo de especificidade por hospedeira dos diferentes isolados de PVY.

As plantas avaliadas tanto para ToCMoV quanto para PVY se mostraram assintomáticas durante todo o período de avaliação. A princípio, esses resultados sugerem que a berinjela apresenta uma resposta de resistência do tipo “não hospedeira” para ambas as espécies virais estudadas. Ensaios adicionais com outros acessos deverão ser conduzidos futuramente e somente a detecção (ou não) de plantas infectadas poderá indicar de maneira inequívoca se o mecanismo envolvido é de imunidade ou do tipo não hospedeira. De qualquer forma, a

resistência a ToCMoV observada nesse grupo de genótipos não pode ser inicialmente explicada por uma interferência com a biologia do inseto vetor. Mesmo os genótipos classificados como altamente suscetíveis à infestação por *B. tabaci* se mostraram isentos de sintomas virais.

A análise dos resultados deste trabalho permite concluir que o comportamento apresentado pelos acessos de berinjela analisados para ToCMoV e PVY é o de resistência extrema. Esses resultados estimulam o desenvolvimento de análises moleculares visando identificar os genes potencialmente envolvidos na expressão fenotípica dessa resistência. De qualquer forma, a identificação em acessos de *S. melongena* de fontes de fontes de resistência a estas espécies virais e/ou seus vetores poderá ser de grande interesse para transferência dos potenciais genes de resistência para germoplasma elite de berinjela via métodos clássicos de melhoramento e também para potencial mobilização desses fatores via estratégias de transgenia/cisgenia (Boiteux et al., 2012) para outras espécies de solanáceas suscetíveis.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão de bolsa de Mestrado à C. Souza.

REFERÊNCIAS

- AL-ANI RA, ADHAB MA, ISMAIL KAH (2011) Eggplant blister mottled virus (EBMV): A possible new Potyvirus characterized from Iraq. *Journal of General and Molecular Virology* 3: 49–52.
- BALDIN ELL, VENDRAMIN JD, LOURENÇÃO AL (2005) Resistência de genótipos de tomateiro à mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera: Aleyroididae). *Neotropical Entomology* 34: 435–441.
- BOITEUX LS, FONSECA MEN, VIEIRA JV, PEREIRA-CARVALHO RC (2012) Breeding for Resistance to Viral Diseases. *In*: FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. (Org.). *Plant Breeding for Biotic Stress Resistance*. 1ed. Berlin – Heidelberg: Springer - Verlag, v. 1, p. 57–79.
- BRASILEIRO ACM, CARNEIRO VT (1998) Manual de transformação genética de plantas, Serviço de Produção de Informação-SPI.

BRIAND JP, BOULEY JP, WITZ J (1997) Self assembly of Eggplant mosaic virus protein. *Virology* 76: 664–669.

BRIOSO PST, CUNHA LFC, KITAJIMA EW, OLIVEIRA S, PIMENTEL JP (1988) *Potato virus Y* – identificação do vírus e resistência em berinjela. *Fitopatologia Brasileira* 13: 144.

DE BARRO PJ, LIU SS, BOYKIN LM, DINSDALE AB (2011) *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Annual review of entomology* 56, 1–19.

FAUQUET CM, MAYO MA, MANILOFF J, DESSELBERGER U, BALL LA (2005) *Virus Taxonomy*. 8th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Academic Press, San Diego, USA.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). 2011. *Faostat* Disponível em <http://www.faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>. Acessado em 28 de abril de 2012.

FERNANDES FR, ALBUQUERQUE LC, GIORDANO LB, BOITEUX LS, DE AVILA AC, INOUE-NAGATA AK (2008) Diversity and prevalence of Brazilian bipartite begomovirus species associated to tomatoes. *Virus Genes* 36: 251–258,

FERNANDES-ACIOLI NAN, PEREIRA-CARVALHO RC, FONTENELE RS, LACORTE C, RIBEIRO SG, FONSECA MEN, BOITEUX LS (2011) First Report of *Sida micrantha mosaic virus* in *Phaseolus vulgaris* in Brazil. *Plant Disease* 95: 1196.

FILGUEIRA FAR (2008) *Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. Viçosa: UFV. 421p.

FONTENELE RS, BLAWID R, LACORTE CC, PEREIRA-CARVALHO RC, RESENDE RO, BOITEUX LS, FONSECA MEN, RIBEIRO SG (2010) Seleção de isolinhas de tomateiro resistentes a *Begomovirus* para estudos de transcriptoma e proteoma. *43º Congresso Brasileiro de Fitopatologia*. Cuiabá: Tropical Plant Pathology (Suplemento).

GARCÍA-CANO E, RESENDE RO, BOITEUX LS, GIORDANO LB, FERNADEZ-MUÑOZ R, MORIONES E (2008) Phenotypic expression, stability and inheritance of a

recessive resistance to monopartite begomoviruses associated with tomato yellow leaf curl disease in tomato. *Phytopathology* 98: 618–627.

GIORDANO LB, SILVA-LOBO VL, SANTANA FM, FONSECA MEN, BOITEUX LS (2005) Inheritance of resistance to bipartite *Tomato chlorotic mottle Begomovirus* derived from *Lycopersicon esculentum* cv. ‘Tyking’. *Euphytica* 143: 27–33.

GREEN SK, TSAI WS, SHIH SL, REZAIAN MA, DUANGSONG U (2003) Molecular characterization of a new begomovirus associated with tomato yellow leaf curl and eggplant yellow mosaic diseases in Thailand. *Plant Disease* 87: 446.

HULL R (2002) *Matthews Plant Virology*, 4th ed. Academic Press. San Diego.

LADIPO JI, LESEMAN DE, KOEING R (1988) Host ranges, serology and cytopathology of eggplant and tomato strains of *Eggplant severe mottled virus*, a new potyvirus from Nigeria. *Journal of Phytopathology* 122: 359–371.

LOURENÇÃO AL, NAGAI H (1994) Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no Estado de São Paulo. *Bragantia* 53: 53–59.

MICHEREFF-FILHO M, MACHINI WDB, MENDONÇA JL, FONSECA MEN, FERNANDES-ACIOLI NAN, BOITEUX LS (2012) Resposta à mosca-branca (*Bemisia tabaci*) e ao *Tomato severe rugose virus* de acessos de *Solanum* subgênero *Leptostemonum*. *Horticultura Brasileira* 30: 440–445.

PEREIRA-CARVALHO RC (2009) *Expressão fenotípica e mecanismos de ação de genes envolvidos na resistência ampla a begomovírus monopartidos e bipartidos em tomate*. Brasília: UnB. 173p (Tese de doutorado).

PRATAP D, KASHIKAR AR, MUKHERJEE SK (2011) Molecular characterization and infectivity of a *Tomato leaf curl New Delhi virus* variant associated with newly emerging yellow mosaic disease of eggplant in India. *Virology Journal* 8: 305.

PAPROTKA T, BOITEUX LS, FONSECA MEN, RESENDE RO, JESKE H, FARIA JC, RIBEIRO SG (2010) Genomic diversity of sweet potato geminiviruses in a Brazilian germplasm bank. *Virus Research* 149: 224–233.

REIS A, BOITEUX LS, LOPES CA (2011) Doenças da berinjela no Brasil. Circular Técnica, 97.

RIECHMANN JL, LAIN S, GARCIA JA (1992) Highlights and prospects of potyvirus molecular biology. *Journal of General Virology* 73:1–16.

SANTANA FM, RIBEIRO SG, MOITA AW, MOREIRA JUNIOR DJ, GIORDANO LB (2001) Sources of resistance in *Lycopersicon* spp. to a bipartite whitefly-transmitted geminivirus from Brazil. *Euphytica* 122:45–51.

SANTOS CAB, ESPINDOLA JAA, ROCHA MVC, ALMEIDA DL, GUERRA JGM, RIBEIRO RLD (2006) Plantio direto de berinjela (*Solanum melongena*), sob manejo orgânico, em solos com cobertura viva permanente de gramínea e leguminosa. *Comunicado Técnico* 91, 4 p.

SASTRY KS, SASTRY KSM, SINGH SJ, NAYUDU V (1974) A mosaic of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Phytopathologia Mediterranea* 13: 176–178.

SCHOLTHOF KBG, ADKINS S, CZOSNEK H, PALUKAITIS P, JACQUOT E, HOHN T, HOHN B, SAUNDNERS K, CANDRESSE T, AHLQUIST P, HEMENWAY C, FOSTER GD (2011) Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 12: 938–954.

SEAL SE, ANDENBOSCH F, JEGER MJ (2006) Factors influencing begomovirus evolution and their increasing global significance: Implications for sustainable control. *Critical Reviews in Plant Sciences* 25:23–46.

WU F, TANKSLEY SD (2010) Chromosomal evolution in the plant family Solanaceae. *BMC Genomics* 11: 182.

ANEXOS:

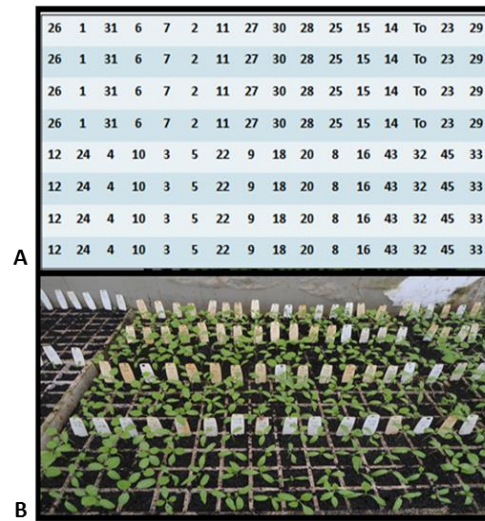


Figura 1. Representação esquemática da distribuição das repetições dos acessos para inoculação por *Bemisia tabaci*. **A-** Distribuição dos acessos na bandeja. **B-** Plântulas aos 15 dias após a germinação.



Figura 2. Plantas de tomate cv. Sta. Clara infectadas com *Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV mantidas no insetário para criação de *Bemisia tabaci* virulífera. **A-** Insetário onde a inoculação das plantas de berinjela foi realizada. **B-** Detalhe dos sintomas de ToCMoV em planta de tomate.

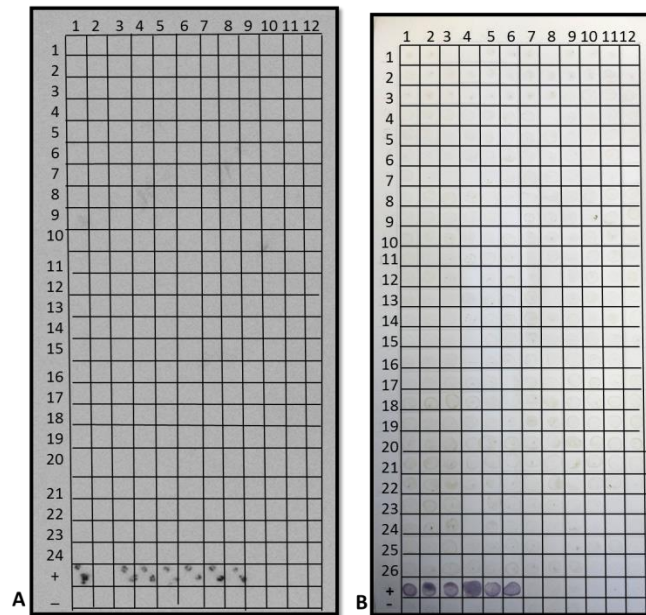


Figura 3. Resultado da hibridização para *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) e teste Dot-ELISA contra *Potato virus Y* (PVY). **A-** Hibridização de 24 acessos de berinjela. Plantas de tomate ‘Sta. Clara’ foram usadas como controle positivo (+): inoculado e negativo (-): não inoculado. A repetição dois da planta de tomate não foi feita na membrana. **B-** Dot-ELISA realizado com 26 acessos de berinjela. Plantas de *Nicotiana tabacum* (TNN) foram usadas como controle positivo (+): inoculado e controle negativo (-): não inoculado. Números na linha indicam o número de acessos e na coluna o número de repetições avaliadas

Tabela 1. Reação de acessos de *Solanum melongena* (berinjela) quanto à colonização por uma população de mosca-branca (*Bemisia tabaci* biótipo B) virulífera (*Tomato chlorotic mottle virus* – ToCMoV)

Acessos de berinjela	Ovos	Ninfas – instares			Adultos
		Primeiro	Segundo e Terceiro	Quarto	
CNPH-500	5.7 b	2.1 a	3.6 a	1.3 a	2.0 a
CNPH-501	5.8 b	2.8 b	3.9 a	1.4 b	2.2 a
CNPH-503	5.9 b	2.9 b	5.4 b	1.4 b	2.4 b
CNPH-504	6.6 b	2.6 a	3.9 a	1.4 b	2.2 a
CNPH-505	5.4 a	2.8 b	3.9 a	1.4 b	2.1 a
CNPH-506	7.3 a	3.2 b	5.2 b	1.5 b	2.3 a
CNPH-509	6.7 a	2.9 b	4.3 a	1.4 b	2.0 a
CNPH-513	4.7 a	2.2 a	3.0 a	1.1 a	2.2 a
CNPH-516	3.8 a	2.1 a	4.2 a	1.5 b	2.8 b
CNPH-517	6.4 b	2.9 b	4.2 a	1.5 b	2.3 a
CNPH-519	6.3 b	2.4 a	3.7 a	1.1 a	2.0 a
CNPH-520	6.4 b	3.3 b	4.8 b	1.5 b	2.2 a
CNPH-523	4.5 a	2.7 a	4.1 a	1.4 b	1.6 a
CNPH-526	5.9 b	2.4 a	4.5 b	1.1 a	1.9 a
CNPH-527	5.7 b	2.2 a	3.4 a	1.1 a	2.2 a
CNPH-528	6.2 b	2.8 b	4.0 a	1.4 b	1.7 a
CNPH-535	7.2 b	3.1 b	4.1 a	1.0 a	2.0 a
CNPH-536	6.3 b	2.9 b	4.2 a	1.4 b	2.0 a
CNPH-537	4.7 a	2.0 a	3.8 a	1.2 a	2.0 a
CNPH-538	3.9 a	2.3 a	4.1 a	1.6 b	2.7 b
CNPH-539	7.8 b	3.6 b	5.3 b	1.3 a	2.7 b
CNPH-542	7.3 b	3.5 b	5.4 b	2.0 b	2.6 b
CNPH-543	6.8 b	2.5 a	4.5 b	1.5 b	2.2 a
CNPH-545	6.6 b	2.7 a	4.5 b	1.2 a	1.9 a
CNPH-546	6.2 b	3.1 b	5.3 b	1.3 a	2.9 b
CNPH-549	3.2 a	1.7 a	2.1 a	1.2 a	1.8 a
CNPH-554	5.9 b	2.8 b	3.9 a	1.2 a	2.4 b

CNPH-555	5.3 a	3.1 b	4.0 a	1.1 a	1.8 a
CNPH-556	6.1 b	2.6 a	4.8 b	1.3 b	1.9 a
CNPH-558	6.7 b	3.2 b	4.2 a	1.4 b	2.4 b
CNPH-559	7.4 b	2.8 b	4.8 b	1.8 b	2.1 a
CNPH-566	7.4 b	3.3 b	4.4 a	1.2 a	2.2 a
CNPH-568	6.4 b	2.9 b	4.5 b	1.3 a	1.7 a
CNPH-569	7.5 b	4.0 b	5.8 b	1.5 b	2.8 b
CNPH-570	4.1 a	2.9 b	3.8 a	1.4 b	2.2 a
CNPH-571	4.8 a	2.1 a	3.3 a	1.2 a	2.4 b
CNPH-572	5.2 a	3.1 b	3.3 a	1.3 a	2.2 a
CNPH-573	6.9 b	2.7 a	5.2 b	1.2 a	2.1 a
CNPH-574	4.3 a	1.8 a	2.9 a	1.1 a	2.1 a
CNPH-575	7.7 b	3.6 a	4.8 b	1.4 b	2.5 b
CNPH-576	5.6 b	3.2 b	5.7 b	1.1 a	2.0 a
CNPH-577	4.7 a	2.8 b	4.2 a	1.3 a	3.0 b
CNPH-578	7.3 b	3.5 b	5.1 b	1.4 b	2.3 b
CNPH-579	4.8 a	2.5 a	3.6 a	1.2 a	2.5 b
CNPH-580	6.3 b	3.1 b	3.9 a	1.4 b	2.3 b
Tomate	6.4 b	4.0 b	5.2 b	1.0 a	1.8 a

¹Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott (5% de significância).

CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES GERAIS

- A cultura da batata-doce é hospedeira de diversas espécies virais. As diferentes cultivares estudadas provenientes do BAG e RPP estavam infectadas em sua maioria com as espécies monopartidas de *Begomovirus: Sweet potato leaf curl virus*–PE (SPLCV-PE), seguida da espécie *Sweet potato golden vein associated virus* – RO (SPGVaV-RO).
- Através do teste Dot-ELISA foi possível confirmar a presença da espécie de *Ipomovirus: Sweet potato mild mottle virus* (SPMMV) nos Estados de Pernambuco e Paraíba. Neste estudo foi possível fazer um dos primeiros registros desta espécie nesta cultura no País, sendo a primeira detecção em amostras do Nordeste brasileiro.
- A berinjela é uma importante solanácea para o Brasil e o mundo. O comportamento de diferentes cultivares demonstra que a mesma pode ser utilizada como promissora fonte de genes de resistência para espécies de *Begomovirus (Tomato chlorotic mottle virus - ToCMoV)* e *Potyvirus (Potato virus Y - PVY)*.