



**ETIOLOGIA, OCORRÊNCIA E
EPIDEMIOLOGIA DE UMA
BEGOMOVIROSE DO MARACUJAZEIRO NA
REGIÃO SUDOESTE DA BAHIA**

GISELE BRITO RODRIGUES

2017

GISELE BRITO RODRIGUES

**ETIOLOGIA, OCORRÊNCIA E EPIDEMIOLOGIA DE UMA
BEGOMOVIROSE DO MARACUJAZEIRO NA REGIÃO
SUDOESTE DA BAHIA**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientador: Prof. *D.Sc.* Quelmo Silva de Novaes

VITÓRIA DA CONQUISTA
BAHIA-BRASIL
2017

R696e Rodrigues, Gisele Brito.
Etiologia, ocorrência e epidemiologia
de uma begomovirose do maracujazeiro na
região Sudoeste da Bahia / Gisele Brito
Rodrigues, 2017.
65f.
Orientador (a): D.Sc. Quelmo Silva de Novaes.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual do
Sudoeste da Bahia,
Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Área
de concentração
Fitotecnia, Vitória da Conquista, 2017.
Inclui referência F. 59 – 65.
1. Maracujazeiro – Doenças e Pragas. 2. Passiflora
edulis.
3. Fitopatologia. I. Novaes, Quelmo Silva de. II.
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia,
Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Área
de concentração Fitotecnia. III. T.

CDD: 634.425

Catlogação na fonte: Juliana Teixeira de Assunção – CRB 5/1890
UESB – Campus Vitória da Conquista - BA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Área de Concentração em Fitotecnia

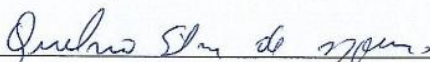
Campus de Vitória da Conquista - BA

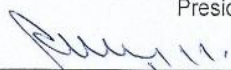
DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

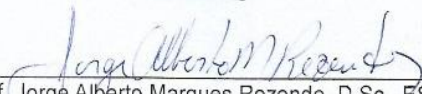
Titulo: "ETIOLOGIA, OCORRÊNCIA E EPIDEMIOLOGIA DE UMA
BEGOMOVIROSE DO MARACUJAZEIRO NA REGIÃO SUDOESTE DA BAHIA".

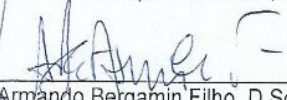
Autor: Gisele Brito Rodrigues

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTORA EM
AGRONOMIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FITOTECNIA, pela Banca Examinadora:


Prof. Quelmo Silva de Novaes, D. Sc., UESB
Presidente


Prof. Abel Rebouças São José, D.Sc., UESB


Prof. Jorge Alberto Marques Rezende, D.Sc., ESALQ/USP


Prof. Armando Bergamin Filho, D.Sc., ESALQ/USP


Profa. Maria Aparecida Castellani, D.Sc., UESB

Data de realização: 10 de maio de 2017.

Estrada do Bem Querer, Km 4 – Caixa Postal 95 – Telefone: (77) 3425-9383 – Fax: (77) 3424-1059
– Vitória da Conquista – BA – CEP: 45031-900

e-mail: ppgagronomia@uesb.edu.br

*“Quem caminha sozinho pode até chegar mais rápido, mas
aquele que vai acompanhado, com certeza, vai mais longe.”*

Clarice Lispector

*Aos meus pais, Geraldo Rodrigues e Veranice David, pelo incentivo e
amor incondicional*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ninguém faz nada sozinho, ninguém chega a lugar algum sem apoio, orientação e participação. Por isso, hoje gostaria de externar a gratidão que há em meu coração.

A Deus sou grata pela vida, pela saúde, pela família e pelos amigos com os quais fui presenteada.

Ao querido orientador e amigo Quelmo Silva de Novaes me faltam palavras que definam a gratidão que tenho pelos ensinamentos e apoio em todos os momentos.

Aos meus pais, Geraldo e Vera, ao irmão, Érico, e a toda a família sou grata pela presença constante sempre me incentivando e apoiando com amor.

Ao meu amigo e irmão Geraldo Gomes sempre serei grata pela amizade, atenção, carinho e ajuda no decorrer de todo o curso.

Aos professores Jorge Alberto Marques Rezende, Armando Bergamin Filho e Lilian Amorim da ESALQ/USP agradeço pela valiosa contribuição e ensinamentos.

À Dr^a Tatiana Mituti e aos demais pesquisadores do Laboratório de Virologia Vegetal da ESALQ/USP sou grata pela recepção, amizade e contribuição com o meu aprendizado.

Aos amigos Aloísio Alan e Fabrísio Spínola sou imensamente grata por estarem ao meu lado durante todo o meu tratamento de saúde e me apoiarem no decorrer do desenvolvimento de minha pesquisa.

Aos docentes e discentes do programa de pós-graduação em Agronomia agradeço pelo carinho e contribuição em meu crescimento profissional.

Aos queridos amigos dos Laboratórios de Virologia Vegetal e Fitopatologia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia agradeço pelos momentos agradáveis de convivência e por todo o aprendizado.

Aos muitos amigos que estiveram comigo lado a lado, incentivando-me e me dando forças em momentos de desânimo; saibam que serei eternamente agradecida.

A FAPESB pela concessão da bolsa de doutorado agradeço.

RESUMO

RODRIGUES, G. B. **Etiologia, ocorrência e epidemiologia de uma begomovirose do maracujazeiro na região sudoeste da Bahia.**

Vitória da Conquista – BA: UESB, 2017. 65p. (Tese – Doutorado em Agronomia, Área de Concentração em Fitotecnia).*

Com este trabalho, objetivou-se identificar a espécie de begomovírus que infecta maracujazeiros e a sua distribuição no sudoeste da Bahia, bem como realizar a análise espacial e temporal dessa begomovirose em dois cultivos de maracujazeiros no município de Dom Basílio, Bahia, Brasil. O levantamento da ocorrência e a distribuição da begomovirose no sudoeste da Bahia foi realizado em pomares de 57 propriedades, localizadas em 10 municípios, quando foram avaliados quanto à presença ou ausência de plantas com sintomas típicos de begomovírus. A confirmação da infecção foi feita por PCR, de uma amostra composta de cada município. Âmplicons de 1.200 pb foram sequenciados. O estudo da epidemiologia da begomovirose foi realizado durante os meses de fevereiro a junho de 2012, em dois pomares comerciais de maracujá amarelo localizados no município de Dom Basílio, BA. Foi avaliada, quinzenalmente, a incidência da begomovirose, baseada na presença ou ausência de plantas com sintomas característicos da doença. A confirmação da infecção com o begomovírus foi feita mediante a realização de PCR, a partir de DNA total extraído de plantas sintomáticas coletadas nas áreas experimentais. Na análise espacial, foram calculados o índice de dispersão e a Lei de Taylor modificada, enquanto, na análise temporal, testes de ajuste da curva de progresso da epidemia ao modelo exponencial foram realizados. No levantamento da incidência da begomovirose, 235.000 plantas avaliadas visualmente exibiram sintomas característicos da doença, no mês de julho de 2014. As sequências de nucleotídeos das amostras coletadas revelaram uma identidade de 97-99% com o PSLDV. Os testes moleculares concluíram que o begomovírus causador da begomovirose nos dois pomares de maracujá amarelo localizados em Dom Basílio foi o *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV). Com o índice de dispersão, verificou-se padrão agregado de distribuição de plantas sintomáticas em campo, para ambas as áreas, com aleatoriedade na área 2, até os 50 dias após o plantio. Igualmente, com a Lei de Taylor, constatou-se agregação da doença nas áreas 1 e 2. A curva de progresso da begomovirose ajustou-se ao modelo exponencial.

Palavras-chave: *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, begomovírus, incidência de doença, PSLDV.

* **Orientador:** Quélmo Silva de Novaes, D.Sc. - UESB

ABSTRACT

RODRIGUES, G.B. **Etiology, Occurrence and Epidemiology of the Passionfruit Begomovirus Diseases in Bahia Southwest State, Brazil.** Vitória da Conquista – BA: UESB, 2017. 65p. (Tese – Doutorado em Agronomia, Área de Concentração em Fitotecnia).*

The objectives of this work were to study the disease begomovirose distribution on southwest Bahia and the spatial and temporal dynamic of Passionfruit begomovirus diseases. The experiment was conducted in two stages. The first experimental stage consisted in a begomovirus diseases survey for occurrence and distribution in southwest of Bahia. Orchards from 57 properties, located in 10 cities, were evaluated for presence or absence of typical begomovirus symptoms. The infection confirmation was made using PCR on a sample for each city. Amplicons of 1200 pb were sequenced. During the months of February to June of 2012, in the city of Dom Basilio, Bahia state, two yellow passionfruit commercial orchards were evaluated fortnightly for begomovirus diseases incidence based in presence or absence of plants showing characteristics symptoms. The disease confirmation was realized by PCR of symptomatic plants harvested in the experimental areas. The epidemiological analyzes consisted in studying the spatial and temporal progress of disease. The dispersion index and the Taylor's Law were calculated. Adjustment tests were realized to adapt the disease progress curve to a mathematical model. The begomovirus diseases survey at Bahia southwest shows 235000 plants visually exhibiting symptoms characteristics of the diseases. The nucleotide sequences from the collected samples revealed a 97-99% identity with the PSLDV. The molecular tests showed that the begomovirus responsible for the begomovirus disease in both yellow passionfruit orchards in Dom Basilio was the *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV). The dispersion index displays an aggregate pattern of distribution for symptomatic plants on the field, for both areas, with randomness in area 2, until 50 days after planting. Equally, the Taylor's Law confirm diseases aggregation in areas 1 and 2. The begomovirus disease progress curve fitted to the exponential model.

Keywords: *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, begomovirus, *Bemisia tabaci*, disease incidence, PSLDV

* Advisor: Quelmo Silva de Novaes, D.Sc. – UESB

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Representação dos componentes genômicos DNA-A (à esquerda) e DNA-B (à direita) do gênero begomovírus. As posições e orientações dos genes estão representadas pelas setas. A região comum (RC) está indicada pela sequência dos nanonucleotídeos TAATATTAC. Figura adaptada do site: <http://www.apsnet.org/publications/apsnetfeatures/Pages/cassava.aspx> 16
- Figura 2 – Mapa do Estado da Bahia destacando os municípios da região sudoeste do estado em que foi realizado o levantamento da ocorrência da begomovirose: 1, Brumado; 2, Livramento de Nossa Senhora; 3, Dom Basílio; 4, Rio de Contas; 5, Jussiape; 6, Ituaçu; 7, Tanhaçu; 8, Contendas do Sincorá; 9, Barra da Estiva; 10, Manoel Vitorino. 24
- Figura 3 – Sintomas causados pelo *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV) em ramo (A), folha (B) e fruto (C) de maracujazeiro. 25
- Figura 4. Croqui das áreas experimentais de maracujazeiros, localizados no município de Dom Basílio-BA. O número 1 indica a área experimental 1, enquanto o 2, indica a localização da área experimental 2. A região do entorno dos campos experimentais é indicada pelas letras maiúsculas. As letras A, B e C representam a barragem, o plantio de manga (cerca de seis meses de idade) e a vegetação nativa, respectivamente. 27
- Figura 5 - Ramo e fruto de maracujazeiro sadio (à esquerda) e com sintomas causados pelo *Passionfruit severe leaf distortion virus* -PSLDV (à direita)...32
- Figura 6 - Árvore filogenética obtida do alinhamento das sequências parciais de nucleotídeos do DNA-A, compreendendo a região do gene AC1 (Rep), a região comum (AC4) e parte do gene da capa proteica (CP) de vários begomovírus. A árvore foi construída com o programa MEGA 7.0, por meio do método Neighbor-Joining. Nos ramos da árvore, foram usados bootstrapped com 2.000 repetições..... 34
- Figura 7 - Análise filogenética de isolados de begomovírus provenientes de maracujazeiros de dois pomares do município de Dom Basílio, no sudoeste da Bahia (números de acesso: KY073287, KY073288, KY073289, KY073290, KY073291, KY073292, KY073293, KY073294) e outros begomovírus do GenBank, baseada no alinhamento de nucleotídeos referentes à região parcial da ORF AC1 (Rep), à região comum (AC4) e à parte da ORF AV1 (CP) do DNA-A. Programa Mega versão 7.0, método de “Neighbor-Joining”, com valor de “bootstrap” 2000..... 35
- Figura 8 – Valores médios de absorvância de extratos de folhas de maracujazeiros com sintomas do *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV) (1-39). Positiva para o *Cowpea aphid borne mosaic virus*

(CABMV) (Positiva) e sadia (negativa) em teste de PTA-ELISA. A linha tracejada indica o valor limítrofe para considerar a amostra negativa para o CABMV.....	36
Figura 9 - Incidência da begomovirose do maracujazeiro, causada pelo <i>Passionfruit severe leaf distortion virus</i> (PSLDV), nos campos experimentais 1 (A) e 2 (B), localizados em Dom Basílio-BA, no período de fevereiro a junho de 2012.....	37
Figura 10 - Incidência do <i>Passionfruit severe leaf distortion virus</i> e número de adultos de moscas brancas (colunas) coletados, por meio de armadilhas adesivas amarelas, instaladas aleatoriamente nas áreas experimentais 1 (A) e 2 (B) de maracujazeiros, no período de março a junho de 2012, em Dom Basílio, Bahia.....	38
Figura 11 – Distribuição espacial de plantas de maracujá apresentando sintomas da begomovirose, causada por <i>Passionfruit severe leaf distortion virus</i> (PSLDV), em maracujazeiros da Área 1, localizada em Dom Basílio, Bahia. Quadrados brancos e hachurados indicam plantas assintomáticas e sintomáticas, respectivamente.	40
Figura 12 – Distribuição espacial de plantas de maracujá apresentando sintomas da begomovirose, causada por <i>Passionfruit severe leaf distortion virus</i> (PSLDV), em maracujazeiros da Área 2, localizada em Dom Basílio, Bahia. Quadrados brancos e hachurados indicam plantas assintomáticas e sintomáticas, respectivamente.	41
Figura 13 - Lei de Taylor modificada. Relação entre o logaritmo da variância observada ($\text{Log } V_{obs}$) e o logaritmo da variância binomial ($\text{Log } V_{bin}$) para os dados acumulados da incidência de plantas com sintomas da begomovirose no maracujazeiro, causada por <i>Passionfruit severe leaf distortion virus</i> (PSLDV), em duas áreas experimentais de maracujazeiros em Dom Basílio, Bahia, 2012. Quadrat tamanho 2x2. A linha cheia representa a relação $\text{Log } (V_{obs}) = \text{Log}(A) + b\text{Log } (V_{bin})$ ajustada aos dados de regressão. A linha pontilhada representa a linha binomial ($\text{Log } V_{obs} = \text{Log } V_{bin}$).	44
Figura 14 - Curva de progresso da begomovirose do maracujazeiro (<i>Passionfruit severe leaf distortion virus</i> – PSLDV) (linha pontilhada com círculos cheios) ajustada ao modelo Exponencial e dados originais (linha sólida com losangos) das duas áreas experimentais (A – área 1 e B – área 2) na região sudoeste da Bahia, Brasil.	46
Figura 15 – Gráfico dos resíduos <i>versus</i> valores previstos para as áreas 1 (A) e 2 (B), após teste do modelo exponencial.	47
Figura 16 – Folha de maracujazeiro sendo colonizada por <i>Bemisia tabaci</i> ..	50

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
3	MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1	Detecção e sequenciamento para a identificação do begomovírus	22
3.2	Levantamento da ocorrência do begomovírus no sudoeste da Bahia	23
3.2.1	Caracterização da área experimental	23
3.2.2	Avaliação da incidência	24
3.2.3	Indexação para detecção do vírus	25
3.3	Estudos epidemiológicos da begomovirose do maracujazeiro	26
3.3.1	Caracterização da área experimental	26
3.3.2	Incidência da begomovirose	27
3.3.3	Indexação para detecção do vírus	28
3.3.4	Transmissão do begomovírus por <i>Bemisia tabaci</i>	29
3.3.5	Monitoramento da população de aleirodideos	29
3.3.6	Análises epidemiológicas	30
3.3.6.1	Análise espacial	30
3.3.6.2	Análise temporal	31
4	RESULTADOS.....	32
4.1	Distribuição do <i>Passionfruit severe leaf distortion virus</i> (PSLDV) no sudoeste da Bahia.....	32
4.2	Epidemiologia da begomovirose do maracujazeiro	34
4.2.1	Progresso espacial	40
4.2.2	Progresso temporal	46
5	DISCUSSÃO	50
6	CONCLUSÕES	58
7	REFERÊNCIAS.....	59

1 INTRODUÇÃO

Dentre as espécies e formas de passifloras, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (maracujá amarelo) é a que mais se destaca no Brasil. Sua exploração apresenta importância econômica e social no País, visto que é cultivada essencialmente por pequenos produtores, cujas propriedades têm entre 3 e 5 hectares, gera de 3 a 4 empregos diretos por hectare e ocupa de 7 a 8 pessoas, nos diversos elos da cadeia produtiva. Além disso, o retorno econômico é rápido e garante uma receita distribuída durante grande parte do ano (MELETTI e outros, 2010).

O Brasil é o maior produtor de maracujá do mundo. Desde a década de 1990, alterações na distribuição geográfica dos pomares têm sido observadas (GONÇALVES e SOUZA, 2006). Nesse período, o estado do Pará deixou de ser um grande produtor e cedeu lugar para os estados da Bahia, do Ceará e Espírito Santo. Do mesmo modo, o estado de São Paulo, que se destacou na produção de maracujá no início dos anos 1990, teve uma considerável diminuição na área de produção, em decorrência da elevada incidência de viroses (MELETTI e outros, 2010).

Apesar do potencial de produção da cultura, diversos problemas de ordem fitossanitária afetam o maracujazeiro e têm preocupado os seus produtores. As doenças de etiologia viral têm se destacado como um dos grandes entraves na produção dessa cultura. O endurecimento dos frutos do maracujazeiro, causado pelo *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV), era considerado a principal doença virótica que afeta a cultura, o que pode ocasionar perdas de até 80% da produção (GIORIA e outros, 2000).

Nos anos de 2012 a 2014, em diversas propriedades no sudoeste da Bahia, foi observado um aumento de plantas de maracujazeiros com sintomas similares aos provocados por begomovírus, tais como: a presença de mosaico foliar de coloração amarela intensa, acompanhada de distorção foliar severa,

má formação e distorções dos frutos, bem como redução no crescimento da planta (NOVAES e outros, 2003). Foi verificada ainda, uma grande infestação de moscas brancas, identificadas como *Bemisia tabaci* biótipo B, nas plantas de maracujazeiros em todos os cultivos observados.

Apesar de serem fundamentais para o entendimento da epidemia, os estudos epidemiológicos no patossistema begomovírus-maracujazeiro são inexistentes. A epidemiologia consiste em estudar os diversos fatores envolvidos no processo de introdução e disseminação de uma doença. Seu estudo permite o entendimento da epidemia, o que é de fundamental importância para a adoção de medidas de controle.

Diante da presença de um possível begomovírus responsável por infectar maracujazeiros localizados em municípios baianos e da disseminação desse patógeno na região, objetivou-se com este trabalho identificar a espécie de begomovírus que infecta maracujazeiros e a sua distribuição no sudoeste da Bahia, bem como realizar a análise espacial e temporal dessa begomovirose em dois cultivos de maracujazeiros no município de Dom Basílio, Bahia.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A cultura do maracujá amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) possui significativa importância para o Brasil. No ano de 2013, a produção foi de 838.244 t, em uma área plantada de 58.089 ha, com um incremento de 8% na produção em relação ao ano de 2012. Em 2014, foram cultivados 57.183 hectares com a cultura de maracujá. A área colhida foi de 56.825 hectares com uma produção de 823.284 t, o que representa uma queda de 1,8% em relação a 2013. Maiores quedas na produção foram registradas em 2015, quando houve um decréscimo de 15,6% na produção em relação ao ano de 2014. Dos 51.187ha plantados, foram colhidos 50.837ha, com produção de 694.539t (IBGE 2012; 2013; 2014 e 2015).

O estado da Bahia destaca-se como o maior produtor nacional de maracujá; é responsável por cerca de 40% da produção, com ênfase no polo frutícola de Livramento de Nossa Senhora, que detém metade da produção do estado. Em 2014, a Bahia produziu 381.192 t de maracujá e gerou cerca de R\$ 344 milhões (IBGE, 2014).

Nos últimos anos, a atividade vem ganhando significativo estímulo em decorrência das novas tecnologias geradas; entretanto, ainda enfrenta alguns entraves que limitam o crescimento da cultura, sendo os principais problemas relacionados a pragas, doenças e propagação, falta de padronização e qualidade dos frutos, alto custo de produção, mercado instável e baixa produtividade (SANTOS e outros, 2010).

Os problemas fitossanitários presentes nessa cultura são responsáveis por perdas tanto na produtividade quanto na qualidade dos frutos, além de ameaçar a sua expansão, diminuindo a longevidade e aumentando o custo de produção (PERUCH e outros, 2009). Muitas áreas produtoras podem se tornar economicamente inviáveis para a cultura do maracujá devido aos sérios

problemas causados por fungos, bactérias, nematoides, fitoplasma e vírus (SANTOS FILHO e JUNQUEIRA, 2003).

O gênero *Begomovirus* (família Geminiviridae) contém atualmente 288 espécies reconhecidas pelo Comitê Internacional sobre taxonomia de vírus (ICTV) (<http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>) e infecta diversos hospedeiros em todas as partes do mundo. Os begomovírus caracterizam-se por apresentarem DNA circular de fita simples, com um ou dois componentes genômicos; comumente, são encontrados o DNA-A e DNA-B na maioria das espécies (BROWN e outros, 2012) (Figura 1).

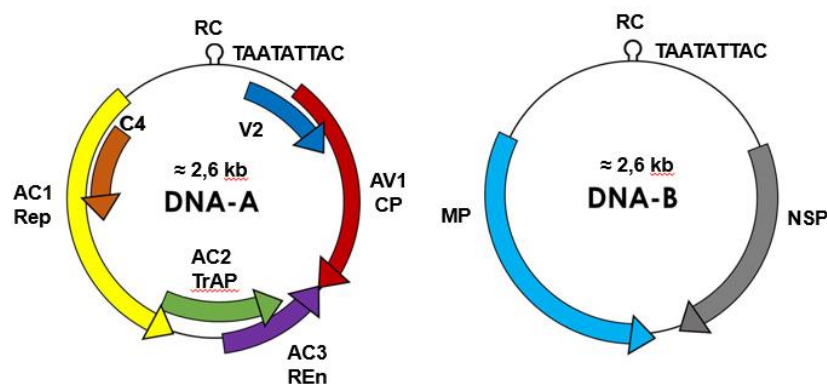


Figura 1 – Representação dos componentes genômicos DNA-A (à esquerda) e DNA-B (à direita) do gênero *Begomovirus*. As posições e orientações dos genes estão representadas pelas setas. A região comum (RC) está indicada pela sequência dos nanonucleotídeos TAATATTAC. Figura adaptada do site: <http://www.apsnet.org/publications/apsnetfeatures/Pages/cassava.aspx>

Os begomovírus, pela sua organização genômica, são distintos dos demais gêneros da família Geminiviridae. Diferem-se também pelo fato de serem transmitidos por aleyrodídeos e serem os únicos dessa família a apresentarem algumas espécies transmitidas mecanicamente a espécies de dicotiledôneas, como feijoeiro, soja, tomateiro, entre outras (FARIA et al., 2000). A capacidade de transmissão mecânica dessa espécie reflete sua habilidade de infectar células da epiderme, além das células do córtex e do mesófilo foliar (TIMMERMANS e outros, 1994).

O primeiro relato de begomovírus infectando maracujazeiro foi feito por BROWN e outros (1993) em Porto Rico. No Brasil, begomovírus causando infecção nessa cultura foi relatado pela primeira vez no município de Livramento de Nossa Senhora, no estado da Bahia, por Novaes e outros (2002) em infecção mista com o *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV). Posteriormente, Novaes e outros (2003) caracterizaram parcialmente o isolado de Livramento de Nossa Senhora, e a espécie viral foi tentativamente denominada de Passion flower little leaf mosaic virus (PLLMV). As folhas infectadas pelo PLLMV apresentam sintoma de mosaico acompanhado por manchas de coloração amarela intensa, distorção severa das folhas, má formação e subdivisões dos frutos e redução no crescimento da planta (NOVAES e outros, 2003). Posteriormente, Silva e outros (2006) extraíram DNA de plantas de maracujazeiros que apresentavam sintomas de mosaico amarelo, redução drástica de crescimento e da área foliar, no município de Anadia, estado de Alagoas, e constataram a presença de um vírus do gênero *Begomovirus*, família Geminiviridae. Neste trabalho, não foi realizado o sequenciamento dos fragmentos para uma definição precisa da espécie viral.

Ferreira e outros (2010), ao realizarem a caracterização biológica e molecular de um begomovírus presente nas plantas de maracujazeiros estudadas por Novaes e outros (2003), encontraram uma segunda espécie de begomovírus, a qual foi denominada *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV).

Espécies de begomovírus também foram encontradas infectando maracujazeiros em São Fidelis (RJ), Paragominas (PA) e Araguari (MG). Em São Fidelis (RJ) e Paragominas (PA), as sequências completas do DNA-A dos isolados apresentaram 90% de similaridade ao *Sida mottle virus* (SiMoV), e, em Araguari (MG), a sequência consenso de nucleotídeos do DNA-A do isolado apresentou 96% de similaridade ao *Sida micrantha mosaic virus* (SimMV) (ALVES, 2011).

Um novo begomovírus infectando maracujazeiros no estado de Valle del Cauca, Colombia, foi relatado por Vaca-vaca e outros (2016). Foi realizado o sequenciamento completo do DNA-A e do DNA-B. O DNA-A apresentou identidade de nucleotídeos de 87,2% com o *Bean dwarf mosaic virus* (M88179) e 77,4% com o *Passionfruit severe leaf distortion virus* (FJ972767). O DNA-B apresentou 80,83% de identidade com o *Bean chlorotic mosaic virus* (JN848772) e 70,66% de identidade com o *Passionfruit severe leaf distortion virus* (FJ972767). Segundo as normas propostas em 2015 pelo Comitê Internacional em Taxonomia de Vírus, os autores propuseram o nome *Passionfruit leaf distortion virus* (PLDV) a esses isolados de begomovírus (KT899302 e KT899303).

Os begomovírus são transmitidos por *Bemisia Tabaci* (**Gennadius, 1889**) (Hemiptera: Aleyrodidae), conhecido popularmente por mosca-branca (HULL, 2014). Estes insetos passaram a ser considerados uma séria praga, tanto em condições de campo quanto em cultivo protegido, após causar infestações no Sudão e nos Estados Unidos, a partir dos anos 1970 e na década de 1980, respectivamente (DE BARRO e outros, 2011).

O primeiro relato de *B. tabaci* no Brasil ocorreu no estado da Bahia, no ano de 1928, em plantas de *Euphorbia hirtella*, e foi descrita como *B. costalimai* (BONDAR, 1928).

A mosca-branca apresenta um complexo de espécies, com 41 biótipos, possui alta variabilidade biológica intraespecífica e genética. Apenas três desses biótipos (A, B e Q) são encontrados no Brasil (BOSCO e outros, 2006; RABELLO e outros, 2008; BARBOSA e outros, 2014).

No ano de 1991, relatou-se pela primeira vez no Brasil o biótipo B de mosca-branca causando altas infestações em hortaliças e ornamentais (LOURENÇÃO e NAGAI, 1994). A partir desse momento, os begomovírus que não ofereciam grandes problemas para a agricultura passaram a causar problemas em diversas culturas; a exemplo, a grande incidência de mosca-branca transmissora de begomovírus vem gerando graves perdas econômicas na agricultura e indústria (POLSTON e ANDERSON, 1997).

Em condições favoráveis, a *B. tabaci* biótipo B pode ter de 11 a 15 gerações por ano, possui alto potencial reprodutivo, e cada fêmea pode colocar de 100 a 300 ovos durante o seu ciclo de vida (BROWN e BIRD, 1992). Os adultos apresentam, aproximadamente, 01mm de comprimento, com dois pares de asas membranosas, são altamente polívoros, com aparelho bucal do tipo sugador e se alimentam sugando a seiva do floema, o que causa danos diretos ou indiretos (BYRNE e BELLOWS, 1991). Possui grande gama de hospedeiros, alta fecundidade e capacidade de dispersão (BEDFORD e outros, 1994; GREATHEAD, 1986).

A transmissão dos begomovírus por *B. tabaci* para dicotiledôneas dá-se de maneira persistente e circulativa (BRAGARD e outros, 2013). Assim, o inseto adquire o vírus ao se alimentar do floema de uma planta infectada, e, posteriormente, a partícula do vírus circula pelo corpo do inseto, passando pelo canal alimentar, esôfago, câmara-filtro até o intestino. As partículas virais vão para a hemolinfa do inseto e seguem para as glândulas salivares, onde permanecem por um período, e, por fim, o vetor é capaz de inocular o patógeno em uma planta sadia durante o processo de salivação (GOTZ e outros, 2012).

As ninfas também podem adquirir o vírus durante a alimentação, e este pode permanecer no inseto após as ecdises até o estágio adulto; as fêmeas são consideradas mais eficientes em transmitir vírus do que os machos (HOGENHOUT e outros, 2008).

O período de aquisição do vírus é variável de acordo com a espécie; na literatura, relata-se que, para a aquisição de begomovírus por moscas

brancas, são necessárias aproximadamente 4 horas (LASTRA, 1993). No entanto, menores períodos foram encontrados por Firmino e outros (2009), que observaram um período mínimo de 30 minutos como tempo suficiente para a aquisição do *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV). Menores períodos para aquisição também foram observados por Freitas (2012) e Toloy (2015), os quais verificaram a capacidade de adultos de *B. tabaci* biótipo B adquirirem o *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) durante períodos mínimos de alimentação de 1 minuto, em tomateiros infectados. Vale salientar que, com o período de aquisição de 5 minutos, a eficiência de transmissão verificada por Freitas (2012) foi de 10%, enquanto, num período de alimentação de 24 horas, a eficiência de transmissão foi de 75%.

A latência é o período de tempo entre a aquisição do patógeno pelo vetor e a sua capacidade de inoculá-lo em outra planta (HOGENHOUT e outros, 2008). Para alguns autores, o período de latência para geminivírus varia entre 6 e 12 horas (ROSELL; TORREZ-JEREZ; BROWN, 1999). Um período de latência de 16 horas foi encontrado por Firmino e outros (2009) para o begomovírus *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV).

Estudos recentes têm apontado a presença de bactérias endossimbiontes em moscas brancas, evidência de que essa associação pode influenciar sua biologia e a interação com outros organismos e com o ambiente (GOTTLIEB e outros, 2008). Gottlieb e outros (2010) demonstraram que o endossimbionte secundário *Hamiltonella* produz a proteína GroEL de *Bemisia tabaci* biótipo B, que atua na transmissão do TYLCV.

Os endossimbiontes *Hamiltonella*, *Rickettsia*, *Wolbachia*, *Arsenophonus*, *Cardinium* e *Fritschea* foram encontrados infectando espécie de mosca branca coletada nos estados da Bahia, Minas Gerais, São Paulo e Paraná, como se vê em Marubayashi e outros (2014). Estes autores também verificaram a presença de infecção tripla com *Hamiltonella*, *Rickettsia* e *Cardinium* em *B. tabaci* advinda de Dom Basílio, Bahia.

Em maracujazeiro, não é comum a presença de begomovírus causando infecções, possivelmente por essa espécie vegetal não ser a preferida

pela *B. tabaci* (inseto vetor) para a sua alimentação e colonização (NUNES e outros, 2008). Apesar disso, altas infestações de moscas brancas associadas à presença de begomovírus em pomares de maracujá foram relatadas por Novaes e outros (2003) e Silva e outros (2006) nos estados da Bahia e Alagoas, respectivamente.

As ocorrências de begomovirose, ou mesmo a emergência de novas espécies de begomovírus, podem estar diretamente relacionadas ao aumento da população de *B. tabaci* biótipo B, à sua introdução em alguns locais ou à sua adaptação a outros hospedeiros (BROWN e outros, 1992; JONES, 2003; DE BARRO, 2005; NAVAS-CASTILLO e outros, 2011).

A epidemiologia é a ciência responsável por estudar as populações de patógenos, de plantas, de vetores e suas interações sobre a influência do ambiente e das atividades humanas (KRANZ, 1974). O padrão de distribuição das doenças no tempo e no espaço será em função das diferentes maneiras de sobrevivência e disseminação, da gama de hospedeiros e relação com o vetor, bem como sofrerá influência do ambiente e do manejo aplicado pelo homem (HARRISON, 1983).

O parâmetro incidência da doença é utilizado como método de avaliação da doença no campo, que gera dados binários (ausência ou presença de doença) para descrever e quantificar o padrão espacial e temporal da epidemia (MADDEN e outros 1995, CAMPBELL e MADDEN, 1990). O padrão espacial dependerá da forma de dispersão do patógeno e de seu arranjo no campo, podendo ser de três tipos: aleatório, agregado e regular (GILLIGAN, 1982; CAMPBELL e MADDEN, 1990). O padrão temporal é estabelecido por dados acumulados de incidência ou severidade, retratado pela curva de progresso da doença (VANDERPLANK, 1963; KRANZ, 1974).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Detecção e sequenciamento para a identificação do begomovírus

O DNA total das amostras foi extraído segundo o protocolo descrito por Doyle e Doyle (1990). A reação de PCR foi realizada com os oligonucleotídeos “universais” PALIv1978/PAR1c496 (ROJAS e outros, 1993), que amplificam um fragmento de aproximadamente 1,2 Kb do DNA-A, compreendendo a região parcial da ORF (“*Open Reading Frame*” – fase aberta de leitura) AC1 (Rep), a região comum (AC4) e parte da ORF AV1 (CP). Os amplicons obtidos foram purificados utilizando-se o Kit Wizard Gel and PCR Clean-up System (Promega) e enviados para sequenciamento (Macrogen Inc. - Seoul, Coréia do Sul).

Os eletroferogramas gerados, primers 1978 (senso) e 496 (anti-senso), foram analisados com o auxílio do BioEdit versão 7.2.5. Procedeu-se, então, com a “limpeza” dos eletroferogramas, utilizando-se a posição 1978 (senso), e, no caso de alguma dúvida, foram checados os eletroferogramas 496 (anti-senso), por meio de seu complementar invertido. Foram gerados os consensos de cada amostra.

Para o depósito das sequências de nucleotídeos no GenBank, foram montados os arquivos Fasta e o Features. Após o depósito, foram disponibilizados os seguintes números de acesso para cada amostra: KY073287, KY073288, KY073289, KY073290, KY073291, KY073292, KY073293, KY073294 (isolados coletados nos pomares de Dom Basílio, BA) e KX033408, KX033409, KX033410, KX033411, KX033412, KX033413, KX033414, KX033415, KX033416 e KX033417 (isolados coletados nos pomares de 10 municípios do sudoeste da Bahia), os quais foram utilizados na comparação das sequências de nucleotídeos entre si e com outros

begomovírus depositados no GenBank. Foi gerada uma matriz com as porcentagens de identidade com o auxílio do Clustal Omega (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) (THOMPSON e outros, 1994). Árvores filogenéticas foram construídas usando-se o método neighbor-joining com o método Maximum Composite Likelihood (TAMURA e outros, 2004), com o auxílio do software MEGA versão 7.0 (KUMAR e outros, 2015).

3.2 Levantamento da ocorrência do begomovírus no sudoeste da Bahia

3.2.1 Caracterização da área experimental

O levantamento da ocorrência e a distribuição do vírus foram realizados durante o mês de julho de 2014, em 57 plantações de maracujazeiros, com 5 a 6 meses de idade, nos municípios de Barra da Estiva, Brumado, Contendas do Sincorá, Dom Basílio, Ituaçu, Jussiape, Livramento de Nossa Senhora, Manoel Vitorino, Rio de Contas e Tanhaçu, localizados no sudoeste da Bahia (Figura 2).

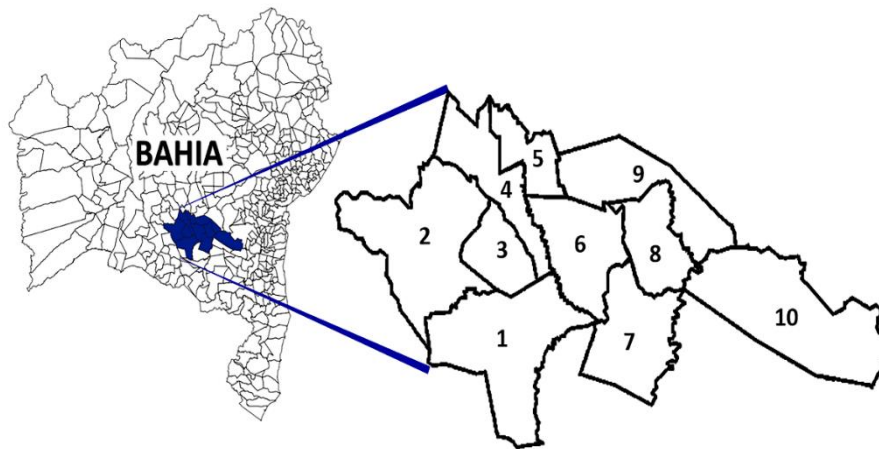


Figura 2 – Mapa do Estado da Bahia destacando os municípios da região sudoeste do estado em que foi realizado o levantamento da ocorrência da begomovirose: 1, Brumado; 2, Livramento de Nossa Senhora; 3, Dom Basílio; 4, Rio de Contas; 5, Jussiape; 6, Ituaçu; 7, Tanhaçu; 8, Contendas do Sincorá; 9, Barra da Estiva; 10, Manoel Vitorino.

3.2.2 Avaliação da incidência

A avaliação baseou-se na observação da presença ou ausência de sintomas típicos de begomovírus nos maracujazeiros (Figura 3).

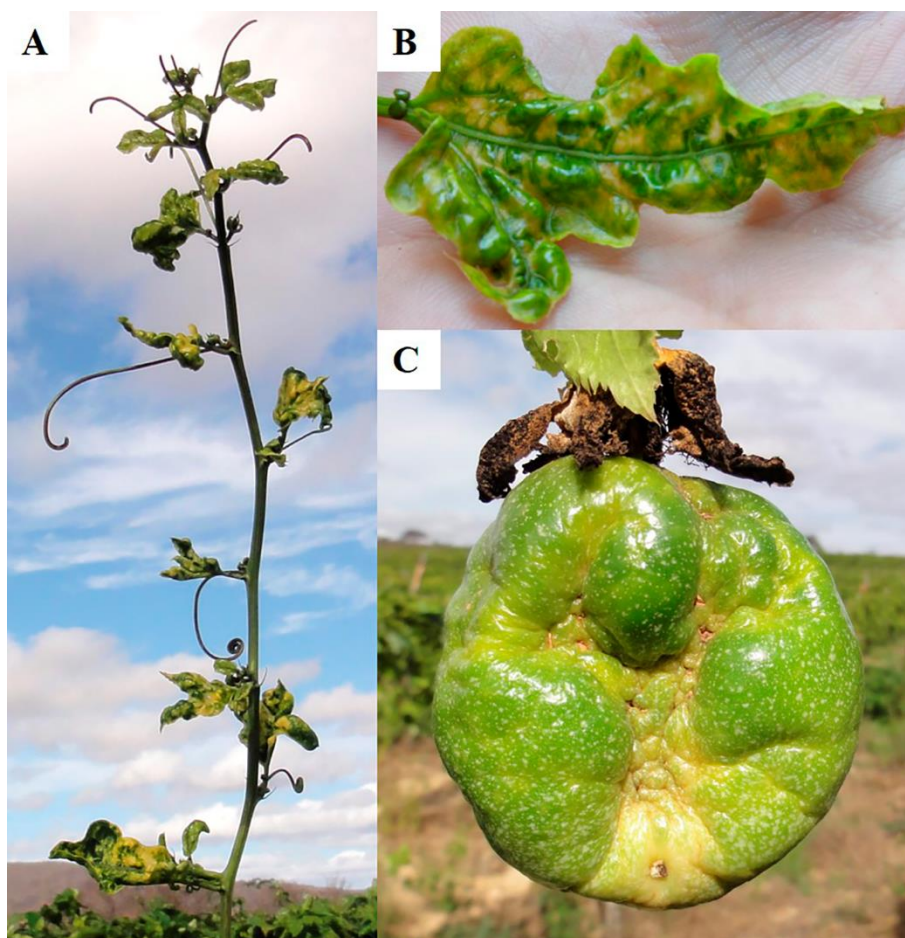


Figura 3 – Sintomas causados pelo *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV) em ramo (A), folha (B) e fruto (C) de maracujazeiro.

3.2.3 Indexação para detecção do vírus

Em cada município, folhas de 4 plantas de maracujazeiros, com sintomas de aparente infecção por begomovírus, foram coletadas

aleatoriamente, para compor uma única amostra por município e realizar o PCR conforme descrito no item 3.1.

3.3 Estudos epidemiológicos da begomovirose do maracujazeiro

3.3.1 Caracterização da área experimental

O estudo foi realizado em duas áreas comerciais de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.), na Fazenda Baixa da Barriguda, localizada no município de Dom Basílio, estado da Bahia, Brasil. Esta situa-se a 471 m de altitude, latitude 13°45' S e longitude 41°45' W e possui clima tropical com estação seca, conforme classificação de Köppen-Geiger.

As áreas experimentais foram demarcadas no interior da propriedade, divididas por um carreador de aproximadamente 6 metros de largura. Dessa maneira, a Área 1 apresentava-se limitada em um dos lados com a área 2, e os demais lados, com um plantio de manga (com, aproximadamente, seis meses de idade), com vegetação nativa e com uma parte de uma barragem de terra, respectivamente. A Área 2, além de fazer limite com a área 1, tinha um dos lados completamente delimitado por uma barragem, e os demais, por vegetação nativa (Figura 4).

Ambas as áreas foram implantadas em janeiro de 2012, com sistema de irrigação do tipo microaspersão. A Área 1 tinha 1932 plantas, e a Área 2 tinha 1848 plantas, com espaçamento de 3 metros entre linhas duplas, 2 metros entre linhas simples e 1 metro entre plantas.



Figura 4. Croqui das áreas experimentais de maracujazeiros, localizados no município de Dom Basílio-BA. O número 1 indica a área experimental 1, enquanto o 2 indica a localização da área experimental 2. A região do entorno dos campos experimentais é indicada pelas letras maiúsculas. As letras A, B e C representam a barragem, o plantio de manga (cerca de seis meses de idade) e a vegetação nativa, respectivamente.

3.3.2 Incidência da *begomovirose*

Baseado na presença dos sintomas característicos da *begomovirose* (Figura 3), avaliou-se, aproximadamente a cada 15 dias, a incidência da doença em ambas as áreas experimentais. Um total de 10 avaliações foram realizadas durante os meses de fevereiro a junho de 2012, em ambas as áreas. Cada avaliação consistiu na demarcação em mapas das plantas que apresentaram sintomas típicos da virose.

3.3.3 Indexação para detecção do vírus

A confirmação da identidade do begomovírus de 8 amostras de folhas de maracujazeiros com sintomas característicos de begomovírus, coletadas aleatoriamente nas áreas experimentais, foi feita por meio de PCR e sequenciamento, conforme descrito anteriormente. Para a verificação de uma possível infecção mista com o *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV), trinta e nove amostras de folhas de maracujazeiro com sintomas típicos de begomovírus foram coletadas aleatoriamente, durante a última avaliação de incidência e submetidas ao teste PTA-ELISA (MOWAT E DAWSON, 1987).

Amostras individuais de tecido vegetal foram maceradas em almofariz e diluídas em tampão carbonato (0,015 M Na₂CO₃, 0,035 M NaHCO₃, pH 9,6), na proporção 1:20. Foram colocados 100 µL de cada amostra por pocinho, em uma placa de Elisa, com dois pocinhos por amostra. Amostras de plantas de maracujá infectadas com o CABMV e amostras sadias foram usadas como controle, positivo e negativo, respectivamente. Em dois pocinhos, colocou-se água destilada; estes foram considerados os brancos. A placa foi incubada por 1,5 h a 37 °C e, depois, lavada três vezes consecutivas com PBS-Tween (0,0015 M KH₂PO₄, 0,14 M NaCl, 0,004 M Na₂HPO₄, 0,003 M KCl, pH 7,4 + 0,5 mL Tween 20 L-1). A seguir, foram adicionados 100 µL de antissoro específico diluído 1:1.000 em tampão Tris-HCl (0,2 M Tris-HCl, 0,15 M NaCl, pH 7,2). Depois de um período de incubação de 1,5 h, a 37 °C, a placa foi novamente lavada por três vezes com PBS-Tween.

Posteriormente, foram colocados 100 µL de imunoglobulina G (IgG), conjugada com fosfatase alcalina diluída 1: 32.000 em tampão Tris HCl, pH 7,2 em cada pocinho. A placa foi incubada por mais 1,5 h, a 37 °C. Depois de lavada como anteriormente, foram colocados 100 µL de p-fosfato de nitrofenil (SIGMA N-9389), diluído em tampão dietanolamina pH 9,8 (0,6 mg mL⁻¹), e a placa foi incubada à temperatura ambiente, no escuro, onde ocorreu a reação enzimática (60 a 120 minutos).

A absorvância de cada um dos pocinhos foi medida no leitor de ELISA, utilizando-se filtro de 405 nm. A reação foi considerada positiva, quando o valor médio da absorvância excedeu em três vezes o valor médio da absorvância do extrato da planta sadia.

3.3.4 Transmissão do begomovírus por Bemisia tabaci

Coletaram-se 100 adultos de *Bemisia tabaci* em plantas colonizadas de maracujazeiros com sintomas típicos de begomovirus, em condições naturais na Bahia. Os insetos foram colocados em gaiola coberta com tecido tipo voil, com 5 mudas de maracujá amarelo sadias em seu interior. Os insetos alimentaram-se durante 24 horas e, depois, foram eliminados. As mudas foram mantidas em gaiolas protegidas, para posterior observação dos sintomas.

3.3.5 Monitoramento da população de aleirodideos

O monitoramento populacional de moscas brancas foi realizado por meio da instalação de dez armadilhas adesivas amarelas/propriedade (dimensões 10x14cm), a 1,5 m de altura do solo, distribuídas em zig zag, de forma aleatória nas linhas de plantio. As armadilhas permaneciam em campo durante 15 dias, eram trocadas a cada avaliação e encaminhadas ao Laboratório de Virologia Vegetal da UESB, para a realização da contagem dos insetos com o auxílio de um microscópio estereoscópico.

3.3.6 Análises epidemiológicas

3.3.6.1 Análise espacial

Dados cumulativos e não cumulativos de incidência da doença no espaço para as duas áreas comerciais de maracujá amarelo, localizada no município de Dom Basílio, estado da Bahia, Brasil, foram usados para análises epidemiológicas. A primeira etapa consistiu do mapeamento da área a partir de dados binários (presença ou ausência de sintomas do begomovírus), provenientes dos mapas originais. A cada levantamento, as novas plantas sintomáticas foram incorporadas aos mapas anteriores; obteve-se, assim, o número acumulado de plantas afetadas e suas respectivas posições para cada data de avaliação. Após a análise preliminar dos dados, foi definido o quadrat de tamanho 2x2 plantas.

Determinou-se a proporção de plantas afetadas em cada avaliação, para cada quadrat, e calculou-se a incidência pela fórmula: $p = D/T$, em que: T = número total de plantas e D = número total de plantas doentes no mapa. Os valores de incidência (p) foram utilizados para o cálculo do índice de dispersão e para a aplicação da lei de Taylor modificada.

O cálculo do índice de dispersão (ID) foi realizado para cada área e cada avaliação por meio da relação entre a variância observada (V_{obs}) e variância binária (V_{bin}), através da equação $ID = V_{obs}/V_{bin}$ (MADDEN e outros, 2007). A variância observada foi calculada pela equação $V_{obs} = S((X_i - np)^2 / n^2(N-1))$, sendo X_i = n° de plantas doentes no quadrat e N= n° total de quadrats. O cálculo da variância binária foi através da equação $V_{bin} = p(1-p)/n$, sendo n = n° de plantas no quadrat.

Aplicou-se o teste do Qui-Quadrado (χ^2) para verificar se o valor calculado do índice de dispersão havia sido maior ou igual a 1, ao nível de significância de 5%. Valores de D=1 indicam padrão aleatório de distribuição,

e valores de D significativamente maiores que 1 indicam padrão de distribuição agregado, e menores que 1 indicam padrão regular.

A lei de Taylor, que relaciona a variância observada (V_{obs}) e a variância binomial esperada (V_{bin}), foi calculada através da equação $\log(V_{obs}) = \log(A) + b \log(V_{bin})$. Aplicou-se a regressão linear a todos os dados obtidos nas duas áreas experimentais conjuntamente, por meio do método dos quadrados mínimos, com a variância binomial como variável independente e a variância observada como variável dependente. Pelo teste t a 5% de probabilidade, foi determinada a significância da regressão entre o $\log(V_{obs})$ e o $\log(V_{bin})$ (MADDEN e HUGHES, 1995), e a adequação do ajuste foi avaliada mediante observação do coeficiente de determinação (R^2) e pela análise da distribuição dos resíduos. Considerou-se distribuição espacial ao acaso quando $A = 0$ e $b = 1$ e distribuição agregada quando $A > 0$ e $b > 1$, com base no teste t a 5% de probabilidade.

3.3.6.2 Análise temporal

Os dados de progresso da doença ao longo do tempo foram analisados e ajustados ao modelo exponencial, segundo a equação $x(t) = 1 - (1 - b_1) \exp(-b_2 t)$, em que $x(t)$ é a proporção de plantas afetadas no tempo t ; t é o tempo (dias); b_1 é o parâmetro relacionado ao inóculo inicial, e b_2 é o parâmetro da taxa de progresso da doença. A análise da incidência (%) da doença e o tempo (dias) foi feita por meio de regressão não-linear, com o auxílio do Statistica 6.0 (STATSOFT, TULSA, OK, EUA). O grau de ajuste do modelo aos dados foi avaliado em função do coeficiente de determinação (R^2) entre os valores observados e previstos, do padrão de distribuição dos resíduos e dos valores médios do desvio padrão dos parâmetros b_1 e b_2 .

4 RESULTADOS

4.1 Distribuição do *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV) no sudoeste da Bahia

Na avaliação visual da incidência da begomovirose, as plantas de todas as propriedades, em um total de aproximadamente 235.000 plantas avaliadas, em 57 plantações localizadas em 10 municípios baianos, apresentaram sintomas típicos de begomovirose (Figura 5).



Figura 5 – Ramo e fruto de maracujazeiro sadio (à esquerda) e com sintomas causados pelo *Passionfruit severe leaf distortion virus* -PSLDV (à direita).

Todos os isolados coletados na amostragem foram positivos para begomovírus. As sequências de nucleotídeos dos isolados apresentaram idênticas entre 97-99,7% quando comparadas entre si. A identidade de aminoácidos deduzidos (aad) entre os isolados analisados foi de 97-100% e 94,8-99%, para a região parcial da ORF AC1 (Rep) e a região comum (AC4), respectivamente. Quando comparadas as sequências de nucleotídeos dos isolados com as sequências correspondentes de outros begomovírus depositadas no GenBank, foram encontrados maiores valores de identidade com o *Passionfruit severe leaf distortion virus* - PSLDV (FJ972767), o *Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV (AF490004) e o *Tomato mottle leaf curl virus* - ToMoLCV (JF803248). Idênticas entre 97-99% foram verificadas ao comparar as sequências de nucleotídeos dos isolados com o PSLDV (FJ972767); além disso, foi verificado agrupamento desses isolados no clado do PSLDV (Figura 6), enquanto para o ToCMoV e o ToMoLCV, os percentuais de identidade foram de 84-86% e 85-86%, respectivamente. A identidade de aad entre os isolados e o PSLDV foi de 97,8-100% e 95,9-99%, para a região parcial da ORF AC1 (Rep) e a região comum (AC4), respectivamente.

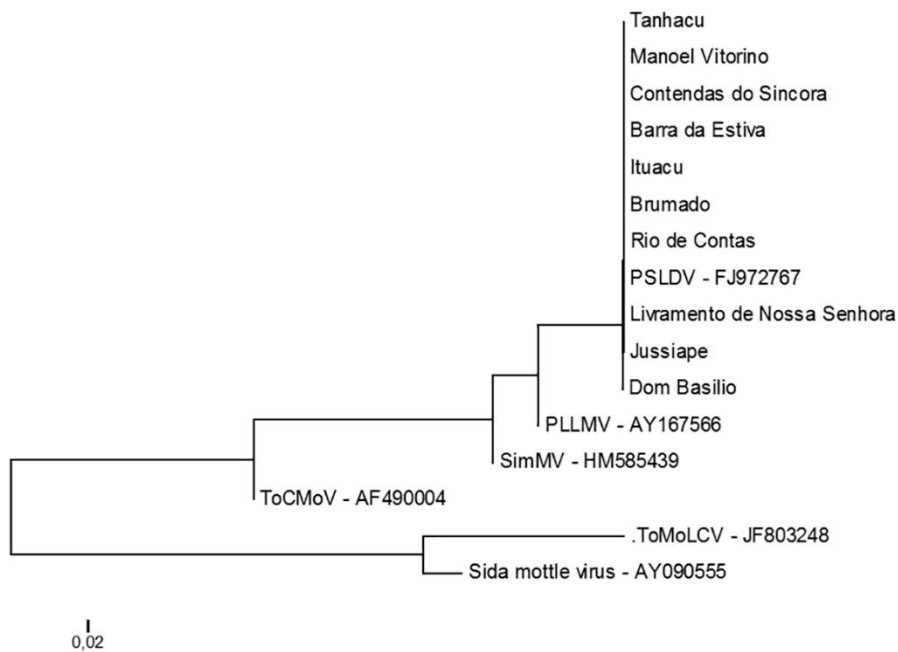


Figura 6 – Árvore filogenética obtida do alinhamento das seqüências parciais de nucleotídeos do DNA-A, compreendendo a região do gene AC1 (Rep), a região comum (AC4) e parte do gene da capa proteica (CP) de vários begomovírus. A árvore foi construída com o programa MEGA 7.0, usando-se o método Neighbor-Joining. Nos ramos da árvore, foram usados bootstrapped com 2.000 repetições.

4.2 Epidemiologia da begomovirose do maracujazeiro

Os resultados da análise filogenética baseados no sequenciamento parcial do DNA-A, compreendendo os genes da região parcial do gene AC1 (Rep), a região comum (AC4) e parte do gene da capa proteica (CP), mostraram que todos os isolados coletados para o estudo epidemiológico da begomovirose, no município de Dom Basílio, estado da Bahia, em 2012, agruparam-se no mesmo lado do *Passionfruit severe leaf distortion virus* –

PSLDV (FJ972767) (Figura 7). Entre os isolados, a identidade de nucleotídeos mostrou variação de 98,3 a 98,9% com o PSLDV. Quando comparados aos outros begomovírus do GenBank, foram encontradas porcentagens de identidades com variação de 76,4 a 83,8% com o ToCMoV (AY090557), de 74 a 75,7% com o ToYVSV (EF417915) e de 73,7 a 84,7 % com o PLDV (KT899302). Nenhum dos isolados apresentou identidade com o PLLMV (AY167566).

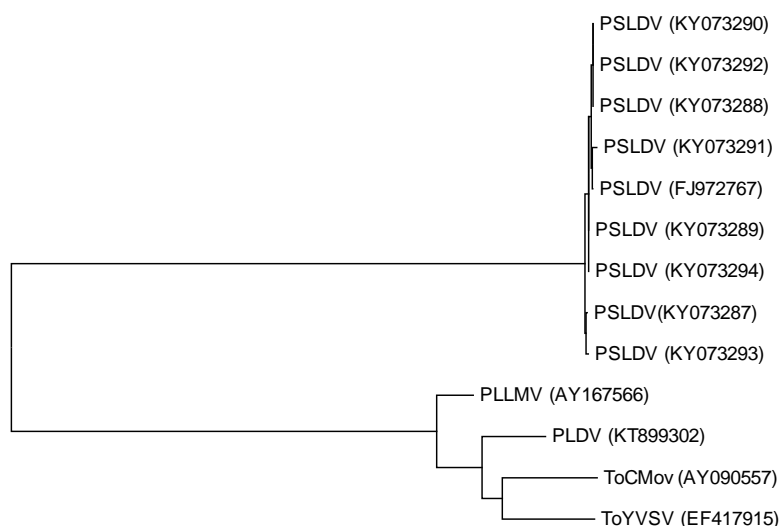


Figura 7. Análise filogenética de isolados de begomovírus provenientes de maracujazeiros de dois pomares do município de Dom Basílio, no sudoeste da Bahia (números de acesso: KY073287, KY073288, KY073289, KY073290, KY073291, KY073292, KY073293, KY073294) e outros begomovírus do GenBank, baseada no alinhamento de nucleotídeos referentes à região parcial da ORF AC1 (Rep), à região comum (AC4) e à parte da ORF AV1 (CP) do DNA-A. Programa Mega versão 7.0, método de “Neighbor-Joining”, com valor de “bootstrap” 2000.

Com a realização do teste sorológico Elisa, verificou-se que todas as amostras avaliadas foram negativas para a presença de *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV), o que descarta a possível infecção mista com o begomovírus *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV) (Figura 8), nas amostras advindas das duas áreas avaliadas em Dom Basílio, estado da Bahia, Brasil.

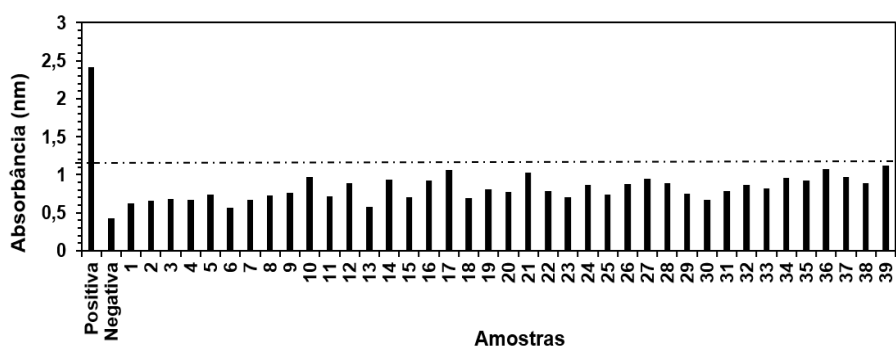


Figura 8. Valores médios de absorbância de extratos de folhas de maracujazeiros com sintomas do *Passiofruit severe leaf distortion virus* (PSLDV) (1-39). Positiva para o *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV) (Positiva) e sadia (negativa) em teste de PTA-ELISA. A linha tracejada indica o valor limítrofe para considerar a amostra negativa para o CABMV.

Alta incidência da begomovirose foi observada nas duas áreas experimentais com maracujazeiros. As primeiras plantas sintomáticas foram observadas aos 36 dias após o plantio (DAP), quando as áreas 1 e 2 apresentaram 0,1% e 0,05% de incidência, respectivamente, na segunda avaliação. Aos 141 DAP, valores de incidência de 69% e 49%, nas áreas 1 e 2, respectivamente, foram observados. Incidência de 100% foi verificada em ambas as áreas, aos 156 DAP (Figura 9A e B).

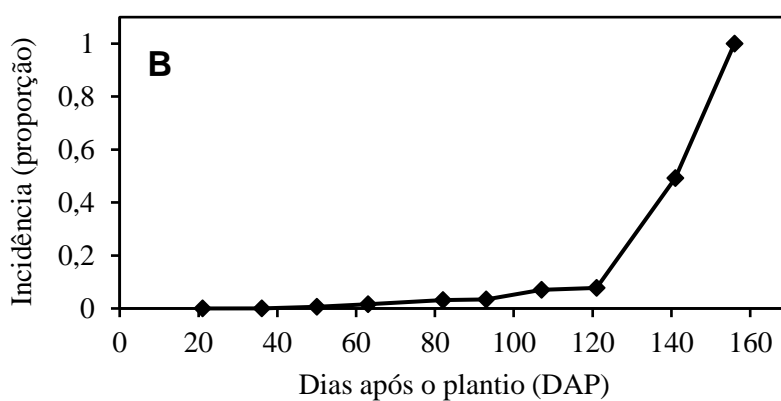
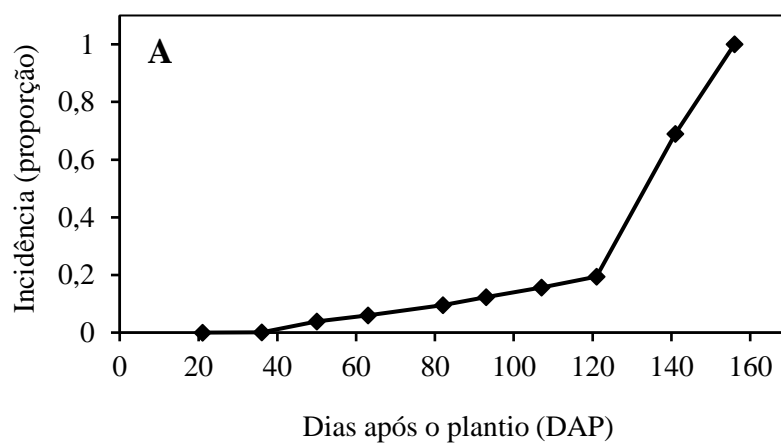


Figura 9. Incidência da begomovirose do maracujazeiro, causada pelo *Passifruit severe leaf distortion virus* (PSLDV), nos campos experimentais 1 (A) e 2 (B), localizados em Dom Basílio-BA, no período de fevereiro a junho de 2012.

As 5 plantas de maracujá utilizadas no teste de transmissão apresentaram sintomas característicos de begomovírus após 21 dias após a inoculação. Portanto, a *B. tabaci* transmitiu o PSLDV para mudas saudáveis de maracujá.

Com o monitoramento da população de *B. tabaci*, verificou-se que o número de insetos adultos de moscas brancas coletadas nas armadilhas foi semelhante para ambas as áreas, em quase todas as avaliações, exceto aos 141 DAP, em que foi observada uma maior densidade populacional de moscas brancas na área 2. Aos 107 dias após o plantio, houve uma explosão na população de moscas nos campos, e, posteriormente, aos 121 DAP, um incremento na incidência da doença foi verificado e alcançou índices de 100% aos 156 DAP (Figura 10A e B).

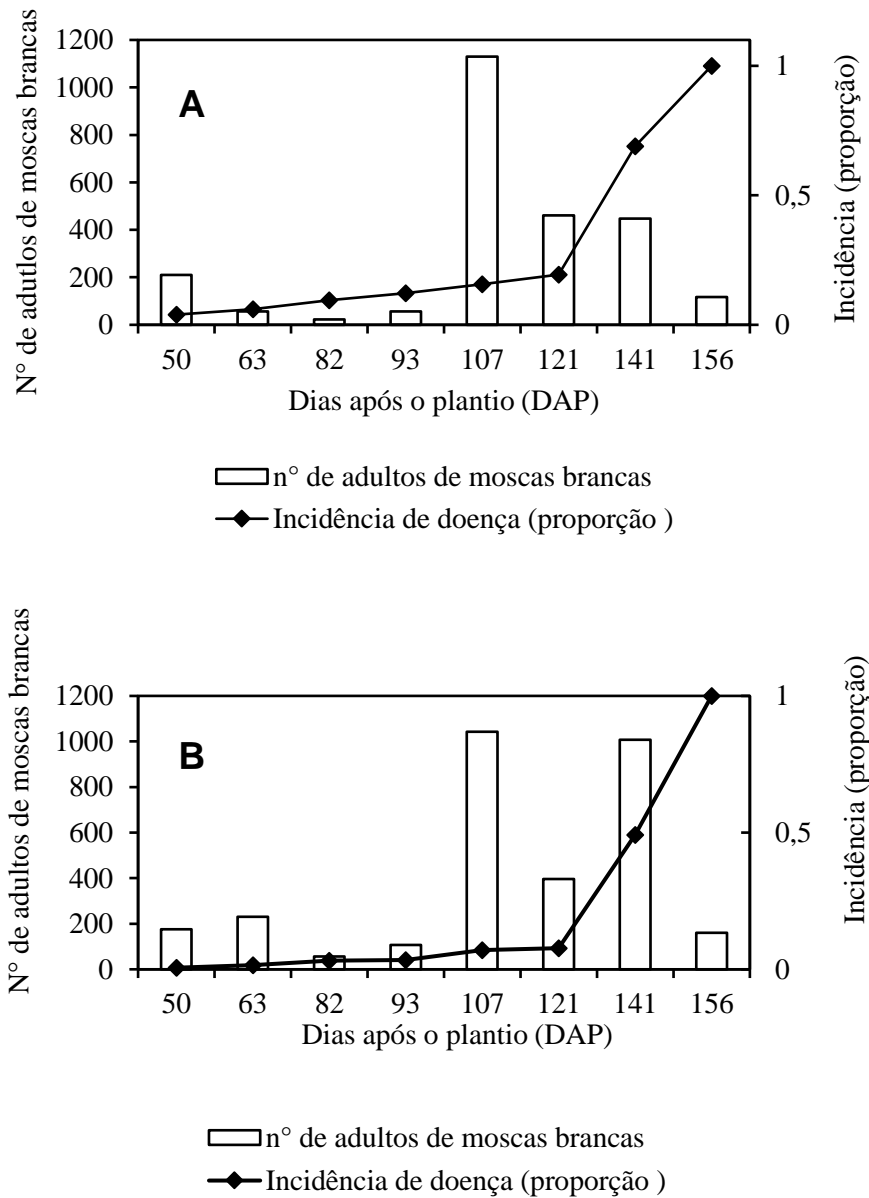


Figura 10. Incidência do *Passifruit severe leaf distortion virus* e número de adultos de moscas brancas (colunas) coletados, por meio de armadilhas adesivas amarelas, instaladas aleatoriamente nas áreas experimentais 1 (A) e 2 (B) de maracujazeiros, no período de março a junho de 2012, em Dom Basílio, Bahia.

4.2.1 Progresso espacial

Mapas de distribuição de plantas de maracujá sintomáticas para o begomovírus são apresentados para a visualização da distribuição espacial da doença ao longo das avaliações (Figuras 11 e 12).

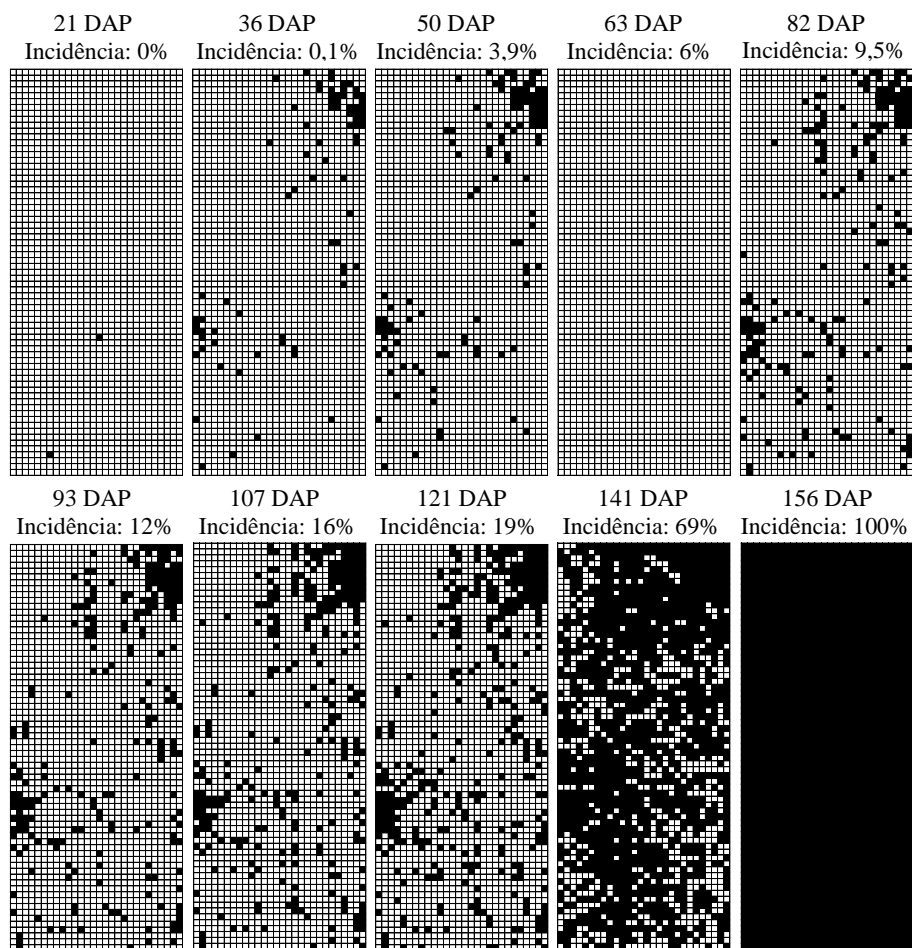


Figura 11 – Distribuição espacial de plantas de maracujá com sintomas da begomovirose, causada por *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV), em maracujazeiros da Área 1, localizada em Dom Basílio, Bahia. Quadrados brancos e hachurados indicam plantas assintomáticas e sintomáticas, respectivamente.

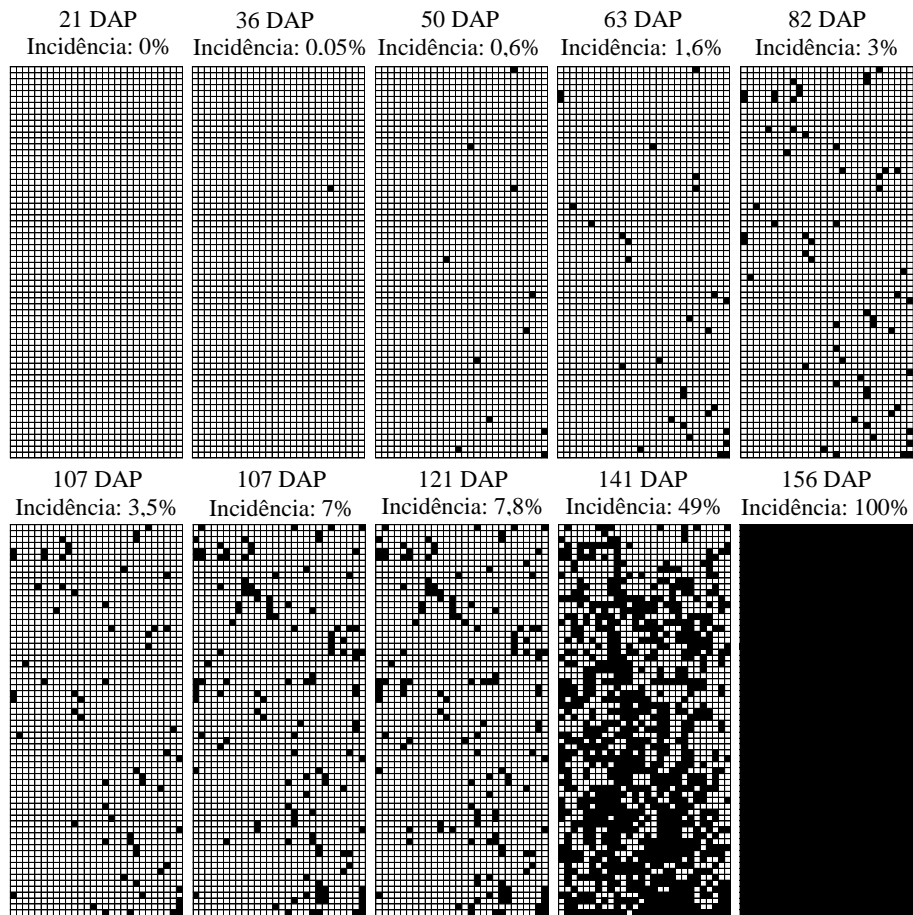


Figura 12 – Distribuição espacial de plantas de maracujá com sintomas da begomovirose, causada por *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV), em maracujazeiros da Área 2, localizada em Dom Basílio, Bahia. Quadrados brancos e hachurados indicam plantas assintomáticas e sintomáticas, respectivamente.

Foi adotado o quadrat de tamanho 2x2 para o cálculo dos valores dos índices de dispersão das áreas experimentais. Para as duas áreas, padrão agregado de distribuição de plantas sintomáticas foi observado, com exceção nas primeiras avaliações da área 2, que apresentou aleatoriedade até os 50 dias após o plantio (DAP) (Tabela 1).

Tabela 1 – Incidência (I) e Índice de Dispersão (D) da begomovirose no maracujazeiro, causada por *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV), para as duas áreas experimentais localizadas na região sudoeste da Bahia, Brasil. Quadrat 2x2.

DAP ^a	Área 1		Área 2	
	I (%)	D	I (%)	D
21	0	-	0	-
36	0,10	-	0,054	1,00
50	3,93	1,84*	0,59	0,98
63	6,00	2,02*	1,57	1,24*
82	9,52	1,85*	3,14	1,23*
93	12,27	1,89*	3,46	1,28*
107	15,63	1,98*	7,03	1,60*
121	19,41	1,93*	7,79	1,65*
141	68,94	1,57*	49,24	1,81*
156	100	-	100	-

Significâncias (*) foram calculadas pela distribuição de chi-quadrado (x²).
Valores significativos indicam agregação de plantas sintomáticas (P < 0,05)
a Dias após o plantio.

Foram calculados os parâmetros $\log(A)$ e b , para o quadrat 2x2, pela regressão dos valores dos logaritmos das variâncias observadas e variâncias binárias, de cada avaliação, com os dados conjuntos das duas áreas (Tabela 2). Padrão agregado de distribuição da doença, em todas as avaliações, foi constatado. Quanto mais distantes as retas de ajustes dos dados estiverem da reta da casualidade, maior é o indicativo de agregação (Figura 13).

Tabela 2 – Valores do $\log(A)$, b e R^2 da equação de ajuste à Lei de Taylor Modificada da begomovirose no maracujazeiro, causada por *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV), utilizando-se o conjunto de dados de dois pomares de maracujá da região sudoeste da Bahia, Brasil. Quadrat 2x2.

Parâmetros	
$\log(A)$	0,6587*
b	1,2549*
R^2	0,9899

*Valores de b significativamente superior a 1 ou $\log(A)$ superior a 0 pelo teste t ($p < 0,05$).

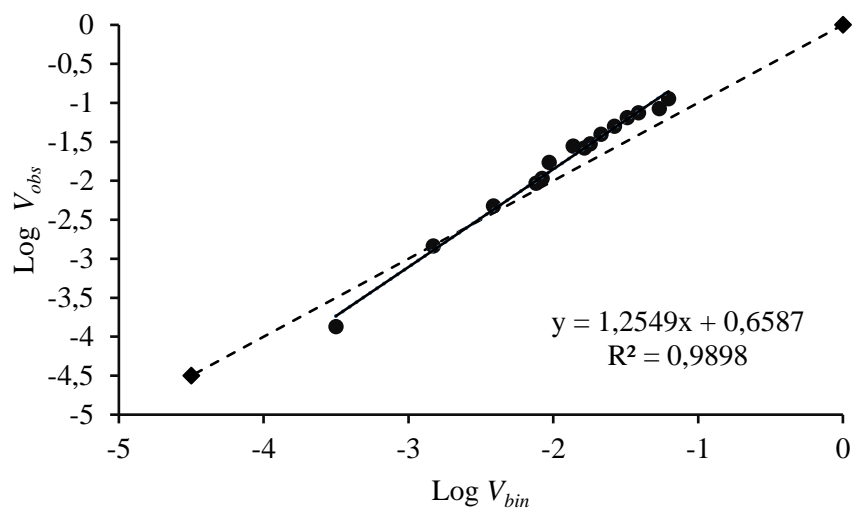


Figura 13. Lei de Taylor modificada. Relação entre o logaritmo da variância observada ($\text{Log } V_{obs}$) e o logaritmo da variância binomial ($\text{Log } V_{bin}$) para os dados acumulados da incidência de plantas com sintomas da begomovirose no maracujazeiro, causada por *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV), em duas áreas experimentais de maracujazeiros em Dom Basílio, Bahia, 2012. Quadrat tamanho 2x2. A linha cheia representa a relação $\text{Log } (V_{obs}) = \text{Log } (A) + b\text{Log } (V_{bin})$ ajustada aos dados de regressão. A linha pontilhada representa a linha binomial ($\text{Log } V_{obs} = \text{Log } V_{bin}$).

4.2.2 Progresso temporal

O ajuste dos dados de incidência da begomovirose do maracujazeiro, para as duas áreas experimentais, foi ao modelo exponencial (Figura 14 A e B). Valores de coeficientes de determinação $R^2=0,98$ e $R^2=0,99$ foram encontrados para a área 1 e 2, respectivamente (Tabela 3). Ao se observar o gráfico de resíduos (Figura 15), considerando-se os valores próximos a zero e a inexistência de padrão dos resíduos, reforça-se a adequação do modelo exponencial para o ajuste aos dados da begomovirose do maracujazeiro.

As áreas 1 e 2 apresentaram as taxas de progresso da doença $r=0,036$ e $r=0,054$, respectivamente. Maior valor de inóculo inicial (y_0) foi verificado na área 1 quando comparado à área 2 (Tabela 3).

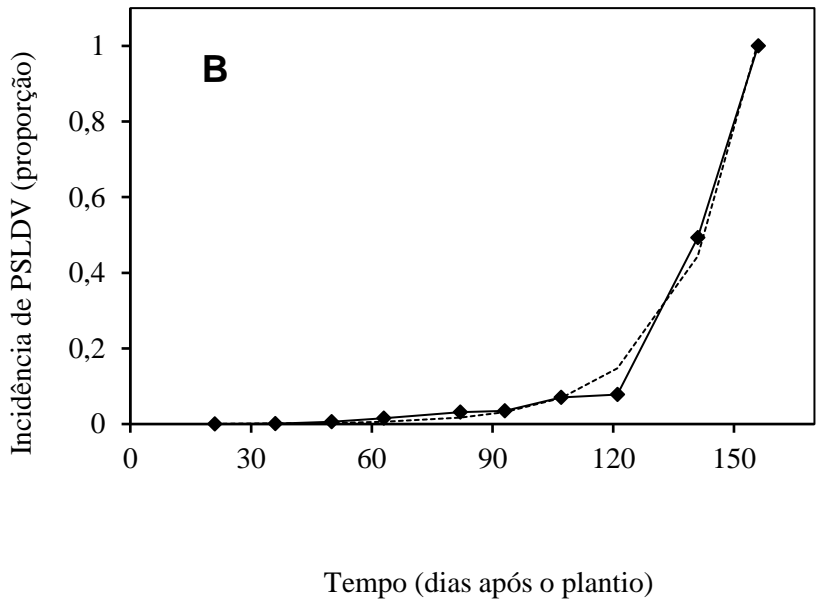
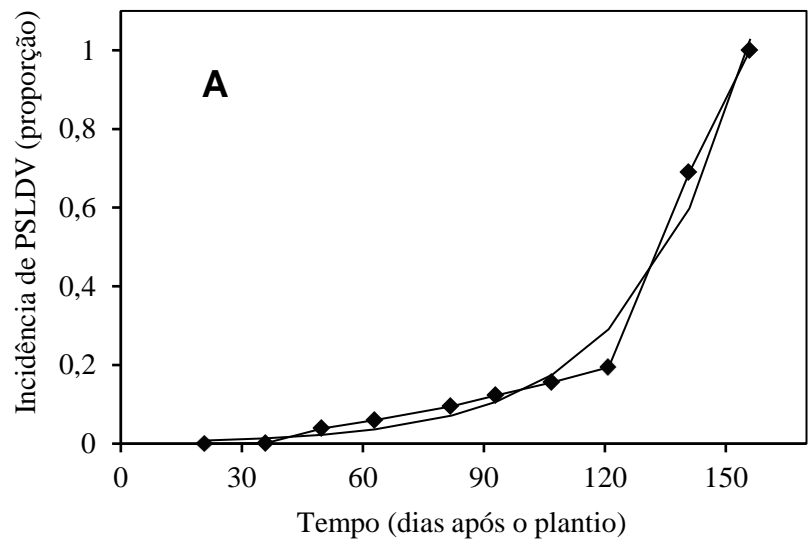


Figura 14 - Curva de progresso da begomovirose do maracujazeiro (*Passionfruit severe leaf distortion virus* – PSLDV) (linha pontilhada) ajustada ao modelo Exponencial e dados originais (linha sólida com losangos) das duas áreas experimentais (A – área 1 e B – área 2) na região sudoeste da Bahia, Brasil.

A área 1 apresentou maiores valores de inóculo inicial (y_0), enquanto a área 2 apresentou maiores valores de taxa de progresso da doença (r) (Tabela 3).

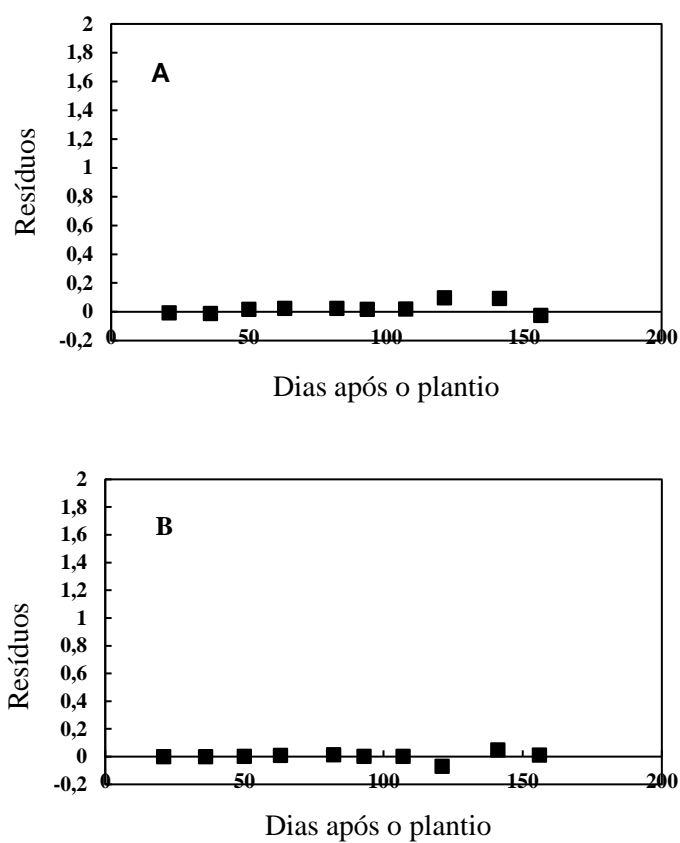


Figura 15 – Gráfico dos resíduos *versus* valores previstos para as áreas 1 (A) e 2 (B), após teste do modelo exponencial.

Tabela 3. Valores dos parâmetros Y_0 , r e coeficiente de determinação (R^2) dos dados da begomovirose no maracujazeiro, causada pelo *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV), ao modelo exponencial, em duas áreas de maracujá localizadas na região sudoeste da Bahia, Brasil.

Parâmetros	Modelo Exponencial	
	Área 1	Área 2
Y_0	0,003723	0,000191
r	0,036023	0,054964
R^2	0,98	0,99

Y_0 e r são parâmetros do inóculo inicial e taxa de progresso da doença, respectivamente.

5 DISCUSSÃO

Apesar de terem sido encontradas cinco espécies de begomovírus infectando maracujazeiros, este gênero não constituía uma ameaça a esta cultura.

O Passion flower little leaf mosaic virus (PLLMV) foi o primeiro begomovírus relatado causando infecção em aproximadamente 10.000 plantas de maracujá em um pomar localizado no município de Livramento de Nossa Senhora, BA (NOVAES e outros, 2003). Após essa epidemia, até o momento, esse vírus não foi mais encontrado em campo.

Já o *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV) (FERREIRA e outros, 2010), encontrado em uma única planta, fonte do begomovírus descrito por Novaes e outros (2003), não havia sido encontrado em pomares. Este trabalho relata a primeira epidemia causada pelo PSLDV em dois pomares de maracujá localizados em Dom Basílio, BA, além de verificar a sua disseminação em 10 municípios do sudoeste da Bahia. A distribuição desse begomovírus em um grande número de municípios produtores, localizados em uma região conhecida como polo frutícola do sudoeste da Bahia, que é responsável por aproximadamente 50% da produção de maracujá do estado, torna essa doença uma ameaça aos plantios comerciais de maracujazeiros.

Epidemias causadas por begomovírus na cultura do maracujá não são comuns. Os isolados de *Sida mottle virus* e *Sida micrantha mosaic virus* foram relatados infectando poucos maracujazeiros no município de São Fidelis, estado do Rio de Janeiro, e no município de Paragominas, estado do Pará, respectivamente (ALVES e outros, 2011). Desse modo, até o ano de 2011, os relatos de begomovírus em maracujazeiros eram restritos a poucas plantas infectadas em algumas regiões, não havia disseminação para outras regiões produtoras.

Neste trabalho, além da ocorrência da doença em 10 municípios baianos, constatou-se alta incidência de plantas doentes em campo, em todos os pomares avaliados. Incidências de 100% de plantas com sintomas típicos de begomovírus no maracujazeiro foram constatadas nas propriedades. Além disso, a alta infestação de mosca branca foi verificada em todas as propriedades avaliadas, bem como maracujazeiros sendo colonizados por *B. tabaci*, identificada como sendo da espécie *B. tabaci* biótipo B (atual MEAM1), em trabalho de caracterização de populações de *B. tabaci* coletadas em municípios situados em cinco estados brasileiros, dentre elas, população de moscas brancas advindas de Dom Basílio, Bahia, também envolvida neste estudo (MARUBAYASHI e outros, 2014).

Apesar do relato de colonização do *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* por *Bemisia tabaci*, essa espécie não é a de sua preferência para a colonização (NUNES e outros, 2008). No entanto, em determinadas condições, na ausência de suas espécies preferidas, esse aleyrodídeo tem colonizado o maracujazeiro e se alimentado dele (Figura 16). Portanto, a incidência e a distribuição do PSLDV no polo frutícola do sudoeste da Bahia estão associadas à presença da mosca branca.

Situação similar foi relatada por Novaes e outros (2003) no ano de 2001, em dois pomares de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg., localizados no município de Livramento de Nossa Senhora, Bahia, Brasil. Os autores verificaram plantas infestadas com ninfas e adultos de *B. tabaci* e associaram a presença do begomovírus PLLMV à alta infestação dessa espécie. Naquela ocasião, não houve identificação do biótipo.



Figura 16 – Folha de maracujazeiro sendo colonizada por *Bemisia tabaci*

Uma relação direta entre a incidência da doença e a densidade populacional de moscas brancas foi verificada ao longo das avaliações. Aos 107 dias após o plantio, houve um incremento exponencial na população de moscas em campo, e, posteriormente, aos 121 DAP, um aumento na incidência da doença foi verificado e alcançou índices de 100% aos 156 DAP.

A maior densidade populacional favoreceu o aparecimento de maior número de insetos virulíferos na área e, conseqüentemente, maior incidência de doença; enquanto Barbosa e outros (2015), ao estudarem a dinâmica temporal do ToSRV e *B. tabaci* em campos de tomate em São Paulo, não encontraram correlação entre a incidência da begomovirose no tomateiro e a quantidade de indivíduos de moscas brancas capturadas em armadilhas adesivas, em três campos experimentais, em Sumaré –SP.

Em ensaios preliminares realizados no presente estudo, também foi constatada a transmissão do PSLDV por *Bemisia tabaci*, possivelmente

biótipo B (=Middle East Asia Minor 1 species – MEAM1), um dos maiores causadores de prejuízos econômicos (DINSDALE e outros, 2010). Testes complementares deverão ser realizados para a comprovação da transmissão do PSLDV pelo biótipo B de *B. tabaci*.

As duas áreas avaliadas apresentaram 100% de plantas doentes aos 156 DAP, com as primeiras plantas sintomáticas aos 36 dias após o plantio. Portanto, o vírus entrou nas áreas no momento em que as plantas ainda estavam muito jovens e atingiu rapidamente todo o plantio. Isso é preocupante, pois, quanto mais cedo a planta é infectada, maiores são os danos na produção. Para o PSLDV, ainda não foram publicados trabalhos que quantifiquem os danos causados à produção de maracujá, uma vez que a planta seja infectada. Consta na literatura, em trabalho realizado por Gioria e outros (2000), em condições de telado, que, no caso do CABMV, a redução na produção atinge os 80% quando a planta é infectada aos 2 meses, enquanto, nas mudas infectadas aos 4 e 6 meses, verificaram-se perdas de 74 e 44%, respectivamente.

No caso das duas áreas, houve perda de toda a produção em decorrência da infecção pelo PSLDV. A alta incidência desse begomovírus, bem como a severidade dos sintomas que causam nas plantas, sugere tratar-se de uma espécie com potencial destrutivo para a cultura do maracujazeiro.

O patossistema begomovírus-maracujazeiro é bastante complexo. As curvas de progresso dessa begomovirose, nos dois pomares avaliados, foram melhor ajustadas ao modelo exponencial, o que implica dizer que a velocidade do aumento da doença é proporcional à própria quantidade de doença, portanto níveis maiores de doença sempre levarão a maiores incrementos na epidemia.

Apesar de terem atingido níveis de 100% de incidência, foi verificado um lento incremento inicial das epidemias, nas duas áreas. Isso pode ocorrer porque o incremento inicial de uma fitovirose transmitida por inseto vetor é limitado por fatores como: a quantidade de fonte de inóculo presente na área, a ausência de vetores virulíferos e a baixa taxa de incremento da doença enquanto poucas plantas infectadas permanecem na área (THRESH, 1974).

Quando observada a distribuição espacial de plantas sintomáticas, na área 1, perceberam-se as primeiras plantas doentes e altas incidências próximas às bordas do plantio, com a formação de dois focos principais. Provavelmente, insetos virulíferos advindos de fora do plantio introduziram o vírus na área. Contudo, o fluxo externo de vetores infectando maracujazeiros parece ter continuado ao longo da epidemia. É possível que a disseminação primária tenha ocorrido concomitantemente à disseminação secundária durante o progresso da epidemia nessa área. Na área 2, apesar de não ter havido a formação de focos, pode-se observar que a maioria das plantas que apresentaram sintomas do vírus, no início da epidemia, foram as mais próximas às bordas da área. O progresso da epidemia nessa área também parece ter sido em função, não somente da disseminação secundária, mas também da forte atuação da disseminação primária.

Segundo Vanderplank (1963), as epidemias de doenças de plantas são classificadas em dois grupos: doenças monocíclicas e doenças policíclicas. Para as doenças monocíclicas, o inóculo que causa a infecção não é produzido no decorrer da epidemia; assim, as plantas infectadas no início do ciclo da cultura não serão fonte de inóculo para novas infecções dentro do mesmo ciclo do hospedeiro. Enquanto, nas doenças policíclicas, o inóculo que causa a infecção é produzido durante a epidemia. Dessa maneira, as plantas infectadas durante o ciclo da cultura servirão como fonte de inóculo do patógeno para posteriores infecções no mesmo ciclo.

Em ambos os grupos, o inóculo primário é o responsável pela iniciação da epidemia, contudo o inóculo secundário, que é responsável pela disseminação secundária, atuando no progresso da doença, ocorre somente nas doenças policíclicas. Dessa forma, nas doenças monocíclicas, ocorre somente a infecção primária (MADDEN e outros, 2007).

Recentemente, tem sido proposta uma mudança na classificação de grupos de doenças sugerida por Vanderplank (1963). Bergamin Filho e outros (2016) demonstraram que algumas epidemias, caracterizadas por serem transmitidas por inseto vetor, com infecção sistêmica e com reposição

contínua de fonte de inóculo, não se enquadram em nenhum dos grupos de doenças supracitados. Com isso, os autores exemplificam a Huanglongbing do citrus (HLB) e a begomovirose no tomate como doenças de plantas que apresentam um terceiro padrão epidemiológico, denominado doenças policíclicas com disseminação primária contínua.

Doenças com atuação conjunta da disseminação primária e secundária integram um novo grupo de doenças, denominado doenças policíclicas com disseminação primária contínua (BERGAMIN FILHO e outros, 2016). Assim, esse fluxo contínuo de inóculo externo para o interior do pomar é de extrema importância no desenvolvimento da epidemia e tem profunda implicação no controle daquelas doenças.

A importância da fonte externa de inóculo também foi verificada por Barbosa e outros (2015) no estudo do *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) em campos de tomate em São Paulo, Brasil. Os autores verificaram que o início da epidemia ocorreu nas bordas das parcelas, alcançando uma alta incidência final, o que sugere a atuação de fontes externas de inóculo.

Della Vecchia e outros (2007), ao estudarem o patossistema begomovírus-tomateiro, no estado de São Paulo, sugeriram a importância da infecção primária, advinda de fontes externas de inóculo, ao observarem o efeito de borda e gradiente no início da epidemia, alta densidade populacional de mosca branca, bem como maior incidência de doença na periferia da área do que dentro do campo.

A begomovirose distribuiu-se de forma agregada em ambas as áreas experimentais, com a formação de dois focos na área 1, desde o princípio das avaliações. Inicialmente, foi observada a formação de um foco de plantas sintomáticas próximo ao talude da barragem, no lado esquerdo da área 1, que era um local mais úmido e fresco, quase sem ventos. Associado a isso, grande número de moscas brancas foi observado nessa área, bem como maracujazeiros sendo colonizados por esse inseto. Possivelmente, alguma condição adversa do meio tenha favorecido essa adaptação da mosca branca

ao maracujazeiro, mesmo esta não sendo cultura preferencial para a sua alimentação.

Também foi possível observar que a área 1 apresentou maior inóculo inicial que a área 2. Isso, provavelmente, ocorreu em decorrência da formação dos dois focos nessa área por meio da colonização dos maracujazeiros pela mosca branca.

O progresso da begomovirose do maracujazeiro está intimamente relacionado a seu inseto vetor mosca branca. Desse modo, o controle da *B. tabaci* é uma das principais estratégias de manejo dessa epidemia. No entanto, populações de *B. tabaci* têm apresentado resistência aos químicos piriproxifem (MA e outros., 2010), diafentiurom (SHADMANY e outros, 2014) e inseticidas do grupo dos neonicotinóides e organofosforados (SILVA e outros, 2009; ALON e outros, 2008), o que dificulta o seu controle.

Para o manejo das doenças policíclicas com disseminação primária contínua, é necessário considerar toda a área no entorno da propriedade, pois as medidas de controle devem ser aplicadas no interior e no exterior da propriedade. Portanto, em linhas gerais, para as doenças às quais se aplicam esse conceito, deve-se proceder com um controle regional, adotando medidas de inspeção, erradicação e aplicação de inseticidas. Inspeções frequentes devem ser realizadas nas áreas de plantio para acompanhar o surgimento das primeiras plantas sintomáticas, e a erradicação dessas plantas no início da epidemia podem retardar o aumento da incidência dessa doença, desde que seja reduzida a fonte de inóculo na periferia do plantio. Ademais, a aplicação de inseticidas deve ser realizada dentro do plantio e nas áreas do entorno da propriedade, uma vez que o controle químico não impede a disseminação primária, pois não consegue matar o inseto antes da transmissão do vírus; assim, atua-se mais eficientemente na disseminação secundária.

É notório que o controle desse tipo de doença é bastante complexo, visto que a ação isolada de um único produtor não é capaz de controlar a doença, sendo necessário o envolvimento e a ação coletiva dos produtores de toda a região. Não há material genético resistente ou tolerante ao PSLDV,

assim o manejo da doença está baseado na prevenção de infecção e na adoção de medidas para diminuir a incidência.

Diante disso, a begomovirose é uma doença com potencial destrutivo para a cultura do maracujá, por isso há necessidade imediata de adoção de medidas preventivas para se evitar a disseminação do PSLDV para outras regiões produtoras de maracujá. Sugere-se que esse vírus seja incluído na relação das pragas quarentenárias presentes (A2) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA.

6 CONCLUSÕES

O *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV) é o agente causador da begomovirose do maracujazeiro no sudoeste da Bahia.

O *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV) está distribuído em 10 municípios do sudoeste da Bahia.

A begomovirose do maracujazeiro apresentou padrão agregado de distribuição espacial em campo.

O modelo exponencial foi o que melhor descreveu o progresso da begomovirose do maracujazeiro.

7 REFERÊNCIAS

- ALON, M.; ALON, F.; NAUEN, R.; MORIN, S. Organophosphates resistance in the B-biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) is associated with a point mutation in an ace1-type acetylcholinesterase and overexpression of carboxylesterase. **Insect Biochemistry and molecular biology**, v.38, p.940-949. 2008.
- ALVES, A. C. C. N; INOUE-NAGATA, A. K.; MOREIRA, A.G.; BARBOSA, A. G.; REZENDE, J. A. M. Strains of *Sida mottle virus* and *Sida micrantha mosaic virus* infecting passionflower in different regions of Brazil. **Virus Reviews & Research**. v.16, p.214. 2011.
- BARBOSA, J. C.; REZENDE, J. A. M.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Temporal dynamics of *Tomato severe rugose virus* and *Bemisia tabaci* in tomato fields in São Paulo, Brazil. **Journal of Phytopathology**. doi: 10.1111/jph.12402. Online first. 2015.
- BARBOSA, L. F. et al. Mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo Q identificado no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil In: XXXVII Congresso Paulista de Fitopatologia, Botucatu. 2014.
- BEDFORD, I. D.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J. K.; ROSELL, R. C.; MARKHAM, P. G. Geminivirus transmission and biological characterization of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographic regions. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 125, p. 311-325, 1994.
- BERGAMIN FILHO, A.; INOUE-NAGATA, A. K.; BASSANEZI, R. B.; BELASQUE JR, J.; AMORIM, L.; MACEDO, M. A.; BARBOSA, J. C.; WILLOCQUET, L.; SAVARY, S. The importance of primary inoculum and area-wide disease management to crop health and food security. **Food security**, v.8, p.221-238. 2016.
- BONDAR, G. Aleyrodídeos do Brasil (2ª Contribuição), **Boletim do Laboratório de Pathologia Vegetal**, n.5, p. 27-34, 1928.
- BOSCO, D., LORIA, A., SARTOR, C.; CENIS, J. L. PCR-RFLP Identification of *Bemisia tabaci* Biotypes in the Mediterranean Basin. **Phytoparasitica**, v.34, n.3, p. 243-251, 2006.
- BRAGARD, C.; CACIAGLI, C.; LEMAIRE, O.; LOPEZ-MOYA, J.J.; MACFARLANE, S.; PETERS, D.; SUSI, P.; TORRANCE, L. Status and

prospects of plant virus control through interference with vector transmission. **Annual Review of Phytopathology**, v.51, p.177-201. 2013.

BROWN, J. K.; BIRD, T. J. Whitefly-Transmitted Geminiviruses and Associated Disorders in the Americas and the Caribbean Basin. **Plant Disease**, v. 76, n.3, p.220-225, 1992.

BROWN, J. K.; BIRD, J; FLETCHER, D. C. First report of Passiflora leaf mottle disease caused by a whitefly-transmitted geminivirus in Puerto Rico. **Plant Disease**, St. Paul, v. 77, p. 1264, 1993.

BROWN, J. K.; FAUQUET, C. M.; BRIDDON, R. W.; ZERBINI, F. 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. Ninth report of the international committee on taxonomy of viroses. **Elsevier Academic Press**, London, pp 351-373. 2012.

BYRNE, D.N.; BELLOWS, T.S. Whitefly biology. **Annual Review of Entomology**, v.36, p. 431-457, 1991.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. Introduction to **Plant Disease Epidemiology**. New York. John Wiley & Sons. 1990.

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, n.1, p. 1-19, 2011.

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

DELLA VECHIA, M. G..S.; ROSA, D. D.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M; RIBEIRO, A.. Dinâmica temporal e espacial da begomovirose causada por Tomato yellow vein streak virus em tomateiro na região de Campinas, SP. **Summa Phytopathologica**. v.33, p.388-396. 2007.

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

- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of DNA from fresh tissue. **Focus**. v.12, p.13-15. 1990.
- FARIA, J. C., BEZERRA, I. C., ZERBINI, F. M., RIBEIRO, S. G. & LIMA, M. F. Situação atual das geminiviroses no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.25, p.125-137. 2000.
- FERREIRA, S. S.; BARROS, D. R.; ALMEIDA, M. R.; ZERBINI, F. M.. Characterization of *Passionfruit severe leaf distortion virus*, a novel begomovirus infecting passionfruit in Brazil, reveals a close relationship with tomato-infecting begomoviruses. **Plant Pathology**. v.59, p.221-230. 2010.
- FIRMINO, A. C.; YUKI, V. A.; MOREIRA, A. G.; REZENDE, J. A. M.. *Tomato yellow vein streak virus*: relationship with *Bemisia tabaci* biotype B and host range. **Scientia Agrícola**, v.66, p.793-799, 2009.
- FREITAS, D. M. S. *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) e *Tomato chlorosis virus* (ToCV): relação com a *Bemisia tabaci* biótipo B e eficiência de um inseticida no controle da transmissão do ToSRV. 2012, 74 p. **Tese** (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.
- GILLIGAN, C. A. Statistical analysis of the spatial pattern of *Botrytis fabae* on *Vicia faba*: a methodological study. **Transactions of the British Mycology Society**, v.79, p.193-200, 1982.
- GIORIA, R.; BOSQUÊ, G. G.; REZENDE, J. A. M.; AMORIM, L.; KITAJIMA, E. W. Incidência de viroses de maracujazeiro na Alta Paulista - SP e danos causados pelo “*Passion fruit woodiness virus*”. **Fitopatologia Brasileira**. v. 25, p.182-189.2000.
- GONÇALVES, J. S.; SOUZA, S. A. M. Fruta da paixão: panorama econômico do maracujá no Brasil. **Informações Econômicas**, v.36, n.12, p.29-35, dez 2006.
- GOTTLIEB, Y.; GHANIM, M.; GUEGUEN, G.; KONTSEDALOV, S.; VAVRE, F.; FLEURY, F.; ZCHORI-FEIN, E. Inherited intracellular ecosystem: symbiotic bacteria share bacteriocytes in whiteflies. **The FASEB Journal**, v.22, n.7, p.2591-2599, 2008.
- GOTTLIEB, Y.; ZCHORI-FEIN, E.; MOZES-DAUBE, N.; KONTSEDALOV, S.; SKALJAC, M.; BRUNIM, M.; SOBOL, I.; CZOSNEK, H.; VAVRE, F.; FLEURY, F.. The transmission efficiency of *Tomato yellow leaf curl virus* by the whitefly *Bemisia tabaci* is correlated

with the presence of a specific symbiotic bacterium species. **Journal of Virology**, v.84, p.9310-9317, 2010.

GOTZ, M.; POPOVSKI, S.; KOLLENBERG, M.; GOROVITS, R.; BROWN, J. K.; CICERO, J. M.; CZOSNEK, S. W.; GHANIM, M.. Implication of *Bemisia tabaci* heat shock protein 70 in Begomovirus-whitefly interactions. **Journal of Virology**. v. 86. p. 13241-13252. 2012.

GREATHEAD, A. H.. 1986. Host plants, p.17-25. In M.J.W. Cock (ed.), *Bemisia tabaci* - a literature survey on the cotton whitefly with an annotated bibliography. **Ascot, FAO/CAB**, 121p.

HARRISON, B. D.. Epidemiology of plant virus diseases. In: PLUMB, R. T.; THRESH, J. M.. Plant virus epidemiology: the spread and control of insect-borne viroses. **Oxford: Blackwell Scientific**, p.1-6, 1983.

HOGENHOUT, S. A.; AMMAR, EL-D.; WHITFIELD, A. E.; REDINBAUGH, M.G. Insect vector interactions with persistently transmitted viruses. **Annual Review of Phytopathology**, v.46, p.327-359, 2008.

HULL, R. Plant virology. **Elsevier**, 1104 p. 2014.

IBGE - **Produção Agrícola municipal**: Culturas Temporárias e Permanentes. PAM v.39, p.19. 2012.

IBGE - **Produção Agrícola municipal**: Culturas Temporárias e Permanentes. PAM. v.40, p.19. 2013.

IBGE - **Produção Agrícola municipal**: Culturas Temporárias e Permanentes. PAM. v.41, p.79. 2014.

IBGE - **Produção Agrícola municipal**: Culturas Temporárias e Permanentes. PAM. v.42, p.22. 2015.

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

KRANZ, J.. Comparison of epidemics. **Annual Review of Phytopathology**, v.12, p.355-374, 1974.

KUMAR, S.; GLEN, S.; TAMURA, K.. Mega 7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 bigger datasets. **Molecular Biology and Evolution (submitted)**. 2015.

- LASTRA, R. Las geminivirus: un grupo de fitovirus con características especiales. In: HILJE, J; ARBOLETA, O. Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en America Central y Caribe. **CATIE Informe Técnico 205**, p.26-29, 1993.
- LOURENÇÃO, A. L.; NAGAI, H. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no Estado de São Paulo. **Bragantia**, v.53(1), p.53-59, 1994.
- MA, W.; LI, X.; DENNEHY, T. J.; LEI, C.; WANG, M.; DEGAIN, B. A.; NICHOLS, R. L. Pyriproxyfen resistance of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) biotype B: metabolic mechanism. **Journal of Economic Entomology**, v.103, p.159-165. 2010.
- MADDEN, L. V.; HUGHES, G. Plant disease incidence: distributions, heterogeneity, and temporal analysis. **Annual Review of Phytopathology**, v.33, p. 529-564, 1995.
- MADDEN, L. V.; HUGHES, G.; VAN DEN BOSCH, F.. The study of plant disease epidemics. St Paul, Minnesota, USA: **The American Phytopathology Press**. 2007.
- MARUBAYASHI, J. M.; KLIOT, A.; YUKI, V. A.; REZENDE, J. A. M.; KRAUSE-SAKATE, R.; PAVAN, M. A.; GHANIM, M. Diversity and Localization of Bacterial Endosymbionts from Whitefly Species Collected in Brazil. **Plos One 9**:e108363. 2014.
- MELETTI, L. M. M.; OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C. Maracujá. Jaboticabal: FUNEP, 2010. **Série Frutas Nativas**, 6.
- MOWAT, W. P. e DAWSON, S.. Detection of plant viruses by ELISA using crude sap extracts and unfractionated antisera. **Journal of Virological Methods**,v.15, p.233-247. 1987.
- NAVAS-CASTILLO, J.; FIALLO-OLIVE, E.; SANCHEZ-CAMPOS, S.. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. **Annual Review of Phytopathology**, v. 49, p.219-248, 2011.
- NOVAES, Q. S.; ASTUA, J. F.; JOSÉ, A. R. S.; YUKI, V. A; KITAJIMA, E. W.; REZENDE, J. A. M.. Infecção mista de maracujazeiro com o *Passion fruit woodiness virus* e um begomovirus no Estado da Bahia. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 648, 2002.
- NOVAES, Q. S.; ASTUA, J. F.; YUKI, V. A.; KITAJIMA, E. W.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. Partial characterization of a

bipartite begomovirus infecting yellow passionflower in Brazil. **Plant Pathology**. v. 52, p.648-654. 2003.

NUNES, E. S.; BROWN, J. K.; MOREIRA, A. G.; WATSON, G.; LOURENÇÃO, A. L.; PIEDADE, S. M. S.; REZENDE, J. A. M.; VIEIRA, M. L. C.. First report and differential Colonization of *Passiflora* Species by the B biotype of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Brazil. **Neotropical Entomology**, v.36, p.744-746. 2008.

PERUCH, L. A. M.; SCHROEDER, A. L.; COLARICCIO, A.; GUIMARÃES, L.; CHAGAS, C. M.. Doenças do maracujazeiro amarelo. **EPAGRI. Boletim Técnico**, v.145, 99p, 2009.

POLSTON, J. E, ANDERSON, P. K.. The emergence of whitefly - transmitted geminiviruses in tomato in the western hemisphere. **Plant Disease**, v. 81, p.: 1358-1369, 1997.

RABELLO, A. R.; QUEIROZ, P. R.; SIMÕES, K. C. C.; HIRAGI, C. O.; LIMA, L. H. C.; OLIVEIRA, M. R.V.; MEHTA, A.. Diversity analysis of *Bemisia tabaci* biotypes: RAPD, PCR-RFLP and sequencing of the ITS1 rDNA region. **Genetics and Molecular Biology**, v.31, n.2, p.585-590, 2008.

ROJAS, M. R.; GILBERTSON, R. L.; RUSSEL, D. R.; MAXWELL, D. P.. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. **Plant Disease**. v.77, p.340-347.1993.

ROSELL, R. C., TORREZ-JEREZ, I. & BROWN, J. K. .Tracing the geminiviruses-whitefly transmission pathway by polymerase chain reaction in whitefly extracts, saliva, hemolymph and honeydew. **Phytopathology**, v.89, p.239-246. 1999.

SANTOS FILHO, H. P.; JUNQUEIRA, N.T.. Maracujá: Fitossanidade. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, v.32, 86p., 2003.

SANTOS, C. A. C. et al. Crescimento inicial de plantas de maracujazeiro amarelo submetidas à giberelina. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 1, p. 29-34, 2010.

SHADMANY, M.; OMAR, D.; MUHAMAD, R.. Biotype and insecticide resistance status of *Bemisia tabaci* populations from Peninsular Malaysia. **Journal of Applied Entomology**. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/jen.12131>. Acessado em dezembro de 2016. 2014.

SILVA, L. D.; OMOTO, C.; BLEICHER, E.; DOURADO, P. M.. Monitoramento da suscetibilidade a inseticidas em populações de *Bemisia*

tabaci (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) no Brasil. **Neotropical Entomology**, v.38, p.116-125.2009.

SILVA, S. C.; ASSUNÇÃO, I. P.; CARNAÚBA, J. P.; AMORIM; LIMA, G.A.. Detecção de Begomovirus em maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims) no estado de Alagoas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 28, n. 3, p. 512-513. 2006.

TAMURA, K.; NEI, M.; KUMAR, S.. Prospects of inferring very large phylogenies by using neighbor-joining method. **Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)**, v. 101, p.11030-11035. 2004.

THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J.. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**. v.22, p.4673-4680.1994.

TIMMERMANS, M. C. P., PREM DAS, O. & MESSING, J.. Geminiviruses and their uses as extrachromosomal replicons. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.45,p.79-112. 1994.

TOLOY, R. S.. Período mínimo para a aquisição do Tomato severe rugose virus (ToSRV) por Bemisia tabaci biótipo B em tomateiros e identificação de sítios de aquisição do vírus. 2015, 46p. **Dissertação** (Mestrado em Ciências/Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

THRESH, J.M. Temporal patterns of virus spread. **Annual Review of Phytopathology**. Palo Alto, v.12, p.111-128, 1974.

VACA-VACA, J. C.; CARRASCO-LOZANO, E. C.; LÓPEZ-LÓPEZ, K.. Molecular identification of a new begomovirus infecting yellow passion fruit (*Passiflora edulis*) in Colombia. **Archives of Virology**. 2016.

VANDERPLANK, J. E.. Plant Diseases: epidemics and control. **New York: Academic Press**, 349 p., 1963.