



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOPATOLOGIA**

**Ocorrência natural de espécies virais e avaliação de potenciais hospedeiras
experimentais de begomovírus, potyvírus e tospovírus em plantas arbóreas e berinjela
(*Solanum melongena*)**

JOSIANE GOULART BATISTA

**Brasília - DF
2014**

JOSIANE GOULART BATISTA

**Ocorrência natural de espécies virais e avaliação de potenciais hospedeiras
experimentais de begomovírus, potyvírus e tospovírus em plantas arbóreas e berinjela
(*Solanum melongena*)**

Dissertação apresentada à
Universidade de Brasília como requisito
parcial para a obtenção do título de
Mestre em Fitopatologia pelo Programa
de Pós Graduação em Fitopatologia.

Orientadora

Dra. Rita de Cássia Pereira Carvalho

**BRASÍLIA
DISTRITO FEDERAL – BRASIL 2014**

FICHA CATALOGRÁFICA

Batista, G.J.

Ocorrência natural de espécies virais e avaliação de potenciais hospedeiras experimentais de begomovírus, potyvírus e tospovírus em plantas arbóreas e berinjela (*Solanum melongena*).

Josiane Goulart Batista.

Brasília, 2014

Número de páginas p.: 183

Dissertação de mestrado - Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia,
Universidade de Brasília, Brasília.

Árvores, berinjela, vírus, resistência.

I. Universidade de Brasília. PPG/FIT.

II. Título. **Ocorrência natural de espécies virais e avaliação de potenciais hospedeiras experimentais de begomovírus, potyvírus e tospovírus em plantas arbóreas e berinjela (*Solanum melongena*).**

Dedico a minha pequena linda filha Giovanna, ao meu pai Josvaldo, a minha mãe

Nelma, ao meu namorado Airton, a minha irmã Josefa e minha sobrinha Júlia.

Agradecimentos

A Deus. Aos meus pais Josvaldo e Nelma.

A minha filha Giovanna, minha irmã Josefa e minha sobrinha Júlia.

A minha orientadora Professora Rita de Cássia.

Aos colegas do mestrado e doutorado Rafaela, Marcella, Juliana, Ícaro, Cléia, Monica, Elenice, William, Rayane e Nédio.

Aos colegas de laboratório Lucas, Niquele, Jamili, Antônio e André. Em especial a minha amiga Caroline Amaral.

Aos funcionários do departamento de fitopatologia Ângela, José Ribamar, José Cezar, Arlindo, Arenildo, Maria e Mariza Sanchez.

Aos professores: Juvenil Cares, Cléber Furlanetto, Helson Mário, Adalberto Café, Carlos Uesugi, Renato Resende, Alice Nagata, Robert Miller, José Carmine Dianese e Luís Eduardo Blum.

Aos funcionários da Estação Experimental de Biologia, Fábio Fonseca, Evandro Calixto, Aldo Mostardi, Francisco e Olinda.

A Embrapa Hortaliças e aos seus pesquisadores Miguel Michereff, Leonardo Silva Boiteux, Antônio Moita e especialmente Mirtes Freitas Lima. Ao funcionário Lúcio Flávio.

As estagiárias da Embrapa Hortaliças Camila, Larissa e Deborah.

A Companhia Urbanizadora da Nova Capital (NOVACAP) e seu funcionário Silomar.

Ao Centro de Referência em Áreas Degradadas do Bioma Cerrado (CRAD-UnB), e as estagiárias Omolabake e Mikaela.

A pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Simone Ribeiro.

Ao Programa de Pós Graduação em Fitopatologia da Universidade de Brasília.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa.

Trabalho realizado junto ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação da **Dra. Rita de Cássia Pereira Carvalho**. Apoio Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Embrapa Hortaliças.

Ocorrência natural de espécies virais e avaliação de potenciais hospedeiras experimentais de begomovírus, potyvírus e tospovírus em plantas arbóreas e berinjela (*Solanum melongena*).

JOSIANE GOULART BATISTA

DISSERTAÇÃO APROVADA em __/__/____por:

Dra. Mirtes Freitas Lima
(Examinador Externo)

Dr. Leonardo Silva Boiteux
(Examinador Externo)

Dra. Rita de Cássia Pereira Carvalho
(Orientadora Presidente)

BRASÍLIA – DISTRITO FEDERAL
BRASIL

2014

Sumário

Resumo Geral	1
General Abstract	2
Introdução Geral	4
Objetivos Gerais	8
Objetivos Específicos	8
CAPÍTULO 1.....	9
Revisão Bibliográfica.....	9
1. Espécies florestais e arbóreas	9
1.2. Dados econômicos florestais: Mundo	10
1.3. Dados econômicos florestais: Brasil	12
1.4. Produtos Florestais Madeireiros (PFMs) e Produtos Florestais Não Madeireiros (PFNMs) e arbóreos	13
1.4.1. Produtos Florestais Não Madeireiros - PFNMs e arbóreos	14
1.4.1.1. Algumas aplicações de Produtos Florestais Não Madeireiros.....	15
1.5. Espécies destinadas à arborização - importância e indicações.....	18
1.5.1. Espécies indicadas para arborização: Brasil e Distrito Federal	19
1.5.2. Problemas enfrentados com pragas e patógenos na arborização	20
1.6. Patologia Florestal	21
1.6.1. Vírus em espécies florestais e arbóreas: exemplos de estudos clássicos	22
1.6.2. Vírus em espécies arbóreas no Brasil	31
1.6.3. Vírus em espécies florestais e arbóreas: metagenômica.....	32
2. Berinjela (<i>Solanum melongena</i>) taxonomia, centro de origem e importância econômica.	34
2.1. Patógenos da berinjela.....	35
3. Espécies virais importantes para a família <i>Solanaceae</i>	36
3.1. Família <i>Geminiviridae</i>	37
3.1.1. Gênero <i>Begomovirus</i>	38
3.1.1.1. Gênero <i>Begomovirus</i> e o seu vetor <i>Bemisia tabaci</i>	41
3.2. Família <i>Potyviridae</i>	43
3.2.1. Gênero <i>Potyvirus</i>	45
3.3. Família <i>Bunyaviridae</i>	47
3.3.1. Gênero <i>Tospovirus</i>	47

3.4. Gênero <i>Cucumovirus</i>	50
3.5. Gênero <i>Tobamovirus</i>	51
CAPÍTULO 2.....	52
Prospecção de vírus em espécies arbóreas	52
Resumo	52
Abstract	53
1. Introdução	54
2. Material e Métodos	59
2.1. Locais de realização dos experimentos.....	59
2.2. Locais de coletas das amostras	59
2.3. Espécies virais avaliadas	64
2.4. Métodos de detecção	64
2.4.1. Método Sorológico - Dot Blot.....	64
2.4.2. Método Molecular: PCR	65
2.4.2.1. Extração de DNA	65
2.4.2.2. Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	66
3. Resultados	66
3.1. Resultados dos testes sorológicos e moleculares	67
3.1.1. Área de Preservação Ambiental da Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília (APA - EEB - UnB)	67
3.2. Centro de Conservação da Natureza e Recuperação em Áreas Degradadas do Bioma Cerrado (CRAD - UnB).....	70
3.3. Coleta: Companhia Urbanizadora da Nova Capital do Brasil (NOVACAP).....	77
CAPÍTULO 3.....	88
Avaliação do potencial de espécies arbóreas como hospedeiras de <i>Tomato chlorothic mottle virus</i> (ToCMoV), <i>Potato virus Y</i> (PVY) e <i>Groundnut ringspot virus</i> (GRSV).....	88
Resumo	88
Abstract	89
1. Introdução	90
2. Material & Métodos.....	93
2.1. Locais dos ensaios	93
2.2. Origem das espécies florestais	93
2.3. Origem dos isolados virais	94
2.4. Origem de população de <i>Bemisia tabaci</i>	95

2.5. Delineamento experimental	95
2.6. Métodos de inoculação.....	95
2.6.1. Inoculação de ToCMoV via moscas-brancas virulíferas em condições de casa de vegetação	96
2.6.2. Inoculação mecânica de GRSV e PVY	96
2.7. Avaliações sintomáticas e detecção viral para ToCMoV, GRSV e PVY.....	97
3. Resultados e Discussão.....	97
3.1. Resposta de espécies arbóreas à inoculação de ToCMoV via vetor <i>Bemisia tabaci</i> 97	
2.1. Resposta de espécies arbóreas a inoculação mecânica com PVY via extrato vegetal tamponado.....	102
3.2. Resposta de espécies arbóreas a inoculação mecânica com GRSV via extrato vegetal tamponado.....	106
4. Conclusão	109
CAPÍTULO 4.....	111
Avaliação do potencial de <i>Solanum melongena</i> (berinjela) como hospedeira de <i>Tomato chlorotic mottle virus</i> (ToCMoV), <i>Potato virus Y</i> (PVY) e <i>Groundnut ringspot virus</i> (GRSV).....	111
Resumo	111
Abstract	112
1. Introdução.....	112
2. Material e Métodos	116
2.1. Locais dos ensaios	116
2.2. Origem dos acessos de berinjela (<i>S. melongena</i>).....	116
2.3. Origem dos isolados de vírus	116
2.4. Origem de população de <i>Bemisia tabaci</i>	117
2.5. Delineamento experimental e análise estatística	117
2.6. Métodos de inoculação.....	118
2.6.1. Inoculação de ToCMoV via moscas-brancas virulíferas em condições de insetário	118
2.6.2. Inoculação mecânica de PVY e GRSV	119
2.7. Avaliação sintomática para resposta à infecção por ToCMoV, GRSV e PVY	119
2.8. Métodos de detecção	119
2.8.1 <i>Begomovirus</i> - ToCMoV.....	119

2.8.1.1.	Extração de DNA	120
2.8.1.2.	Reação em Cadeia da Polimerase - PCR.....	120
2.8.1.3.	Tissue Print	120
2.8.1.3.1.	Sonda marcada com P ³²	121
2.8.1.3.2.	Sonda marcada com digoxigenina	121
2.8.2.	Detecção de PVY e GRSV	122
3.	Resultados e Discussão.....	123
3.1.	Resposta a inoculação por ToCMoV via <i>B. tabaci</i>	123
3.2.	Resposta à inoculação por PVY.....	134
3.3.	Resposta à inoculação por GRSV	137
4.	Conclusão	142
CONCLUSÕES GERAIS.....		143
Referências Bibliográficas.....		144

Índice de Figuras

Capítulo 1

Figura 1. Distribuição de cobertura florestal mundial. Fonte: FAO, 2012.....11

Figura 2. Adulto de mosca-branca (*Bemisia tabaci* biótipo B) em *Guazuma ulmifolia* (mutamba).....42

Capítulo 2

Figura 3. A-D: Espécies arbóreas exibindo sintomas típicos de vírus de plantas coletadas em Área de Preservação Ambiental da Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília (APA - EEB - UnB). A. Jamelão (*Syzygium cumini*). B. Sibipiruna (*Caesalpinia pluviosa*). C. Falsa quaresmeira (*Miconia albicans*) e D. Espécie da família Passifloraceae.....68

Figura 4. A-B: Membranas de teste Dot Blot com amostras de espécies arbóreas provenientes da Área de Preservação Ambiental da Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília (APA - EEB - UnB) para as espécies virais: *Watermelon mosaic virus* (WMV) (A) e *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) (B).....69

Figura 5. A-I: Espécies arbóreas e arbustivas exibindo sintomas típicos de vírus de plantas, coletadas em viveiro do CRAD (Centro de Referência em Áreas Degradadas do Bioma Cerrado da Universidade de Brasília). A. Ipê preto (*Zeyheria tuberculosa*). B. Fedegoso gigante (*Senna alata*). C. Tamboril da mata (*Enterolobium contortisiliquum*). D. Tarumarana (*Buchenavia tomentosa*). E. Capitão do mato (*Terminalia argentea*). F. Angelim (*Andira vermifuga*). G. Ingá mirim (*Inga cylindrica*). H. Jatobá da mata (*Hymenaea courbaril*) e I. Tingui (*Callaeum psilophyllum*).71

Figura 6. A-I: Espécies arbóreas e arbustivas exibindo sintomas típicos de vírus de plantas coletadas em viveiro do CRAD (Centro de Referência em Áreas Degradadas do Bioma Cerrado da Universidade de Brasília). A. Tamanqueira (*Aegiphila integrifolia*) B. Ipê amarelo (*Handroanthus serratifolius*). C. Mamica de porca (*Zanthoxylum rhoifolium*). D. Mama-cadela (*Brosimum gaudichaudii*). E. Olho de cabra (*Abrus arboreus*). F. Carvoeiro (*Sclerolobium melinonii*). G. Guazutibaim (*Rosenbergiodendron longiflorum*). H. Paineira do Cerrado (*Eriotheca pubescens*) e I. Falsa quaresmeira (*Miconia albicans*).72

Figura 7. A-B: Membranas de Dot Blot com amostras de espécies arbóreas provenientes do CRAD - UnB (Centro de Referência em Áreas Degradadas do Bioma Cerrado da Universidade de Brasília) exemplificadas para dois vírus: *Papaya ringspot virus* (PRSV) (A) e *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) (B).....73

Figura 8. A-I: Espécies arbóreas e arbustivas exibindo sintomas típicos de vírus de plantas coletadas em viveiro da NOVACAP (Companhia Urbanizadora da Nova Capital do Brasil). A. Jabuticaba

(*Plinia trunciflora*). B Eucalipto (*Eucalyptus* spp.). C. Lofantera (*Lophanthera lactescens*). D. Jenipapo (*Genipa americana*). E. Ligustro (*Ligustrum lucidum*). F. Amburana (*Amburana cearensis*). G. Plumbago (*Plumbago auriculata*) e H/I. Pequi (*Caryocar brasiliense*).....77

Figura 9. A-I: Espécies arbóreas exibindo sintomas típicos de vírus de plantas coletadas em viveiro da NOVACAP (Companhia Urbanizadora da Nova Capital do Brasil). A. Quaresmeira (*Tibouchina granulosa*). B. Aroeira (*Myracrodun urundeuva*). C. Copaíba (*Copaifera langsdorfii*). D. Ipê caraíba (*Tabebuia aurea*). E. Pau santo (*Platymiscium ulei*). F. Jacarandá mimoso (*Jacaranda mimosifolia*). G. Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) e H/I. Ipê roxo (*Handroanthus impetiginosus*).78

Figura 10. A-B: Membranas de Dot Blot com amostras de espécies arbóreas provenientes do NOVACAP (Companhia Urbanizadora da Nova Capital do Brasil) exemplificadas para dois vírus: *Groundnut ringspot virus* (GRSV) (A) e *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) (B).80

Capítulo 3

Figura 11. A-G: Plantas inoculadas com *Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV (gênero *Begomovirus*) via vetor *Bemisia tabaci*. A. Planta de Mutamba (*Guazuma ulmifolia*) com alta presença de adultos de *B. tabaci* na face abaxial da folha aos 20 dias de inoculação B. e C. Planta de Amburana (*Amburana cearensis*) (B) e copaíba (*Copaifera langsdorfii*) (C) apresentando pontos cloróticos coincidindo com ninfas na face abaxial foliar aos 14 dias após término da inoculação (dati). D, E e F Plantas de Araçá (*Psidium araca*) (D), Cabeludinha (*Eugenia tomentosa*) (E) e Mutamba (F) sem sintomas de vírus aos 45 dias após término das inoculações.G. Plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) cv. Santa Clara com sintomas.99

Figura 12. A-G: Plantas inoculadas mecanicamente com *Potato virus Y* (PVY). A e B. Plantas assintomáticas de Jenipapo (*Genipa americana*) e Baru (*Coumarouna alata*). C. Planta de Copaíba (*Copaifera langsdorfii*) com sintoma de redução foliar e bronzeamento. D. Planta de Ipê caraíba (*Tecoma aurea*) com sintomas de encarquilhamento e necrose próximo aos bordos foliares. E. Planta de Ipê amarelo (*Handroanthus serratifolius*) com sintoma de necrose. F e G. Plantas de fumo (*Nicotiana tabacum*) cv. TNN com sintomas (controle positivo, inoculado) e sem sintomas (controle negativo, não inoculado).102

Figura 13. A-I: Plantas de fumo (*Nicotiana tabacum* cv. TNN) inoculadas mecanicamente com extrato vegetal de espécies arbóreas previamente inoculadas com *Potato virus Y* (PVY). Os sintomas ilustrados nesta figura foram observados aos 26 dias após inoculações (dai). Na ordem espécies arbóreas usadas como fonte para as inoculações: A. ipê amarelo (*Handroanthus serratifolius*). B. cadeludinha (*Eugenia tomentosa*). C. ipê caraíba (*Tecoma aurea*). D. copaíba (*Copaifera langsdorfii*). E. quaresmeira (*Tibouchina granulosa*). F. jenipapo (*Genipa americana*). G. ipê branco (*Handroanthus roseo - albus*). H. amburana (*Amburana cearensis*) e I. controle inoculado somente com tampão.104

Figura 14. A-F: Plantas inoculadas mecanicamente com *Groundnut ringspot virus* (GRSV). A. Planta de copaíba (*Copaifera langsdorfii*) com sintoma de bronzeamento foliar. B. Planta de ipê amarelo (*Handroanthus serratifolius*) com sintoma leve de amarelecimento. C e D. Plantas de baru (*Coumaruna alata*) e ipê branco (*Handroanthus roseo - albus*) assintomáticas. E e F. Plantas de *Datura stramonium*, controle positivo (inoculado) e controle negativo (inoculado apenas com tampão de inoculação) respectivamente.107

Figura 15. A-B: Plantas de *Datura stramonium* inoculadas a partir de espécies arbóreas infectadas com *Groundnut ringspot virus* (GRSV). A. Planta inoculada com amostra de copaíba (*Copaifera langsdorfii*) exibindo sintomas de encarquilhamento e desvio de cor 26 dias após inoculações (dai). B. Controle inoculado apenas com tampão. C. Membrana de Dot Blot para GRSV. Somente os controles positivos foram detectados (posições 6D, 6E e 6F).108

Capítulo 4

Figura 16. A-E: Plantas de acessos de berinjela (*Solanum melongena*) provenientes do Banco de Germoplasma da Embrapa Hortaliças (BAG - CNPH) inoculadas via *B. tabaci* com *Tomato chlorotic mottle virus* ToCMoV (A, B, C e D) e tomate (*Solanum lycopersicum*) controles negativo e positivo (E). A. Acessos de berinjela assintomáticos 20 dias após o término das inoculações (dati). B. Folha de berinjela acesso CNPH 395 exibindo pontos cloróticos na face adaxial coincidindo com ninfas de *B. tabaci* na face abaxial da folha. C. Planta de tomate (*Solanum lycopersicum*) com sintomas de amarelecimento e encarquilhamento disposta em Delineamento inteiramente casualizado (DIC). D. Plantas de berinjela acesso CNPH 7 assintomáticas aos sete dati (3 plantas da esquerda foram inoculadas e a planta da direita não foi inoculada). E. Plantas de tomate controle negativo (à esquerda) assintomático, e controle positivo (à direita), com sintomas severos de nanismo e encarquilhamento.124

Figura 17. Resultado da hibridização de 14 acessos de berinjela (*Solanum melongena*) para *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV).125

Figura 18. A-F: Plantas de acessos de berinjela (*Solanum melongena*) provenientes do Banco de Germoplasma de Berinjela - Embrapa Hortaliças (BGB - CNPH) e controles (*Nicotiana tabacum* - TNN) inoculados e não inoculados mecanicamente com *Potato virus Y* (PVY). A e B. Acesso CNPH 337 aos 14 dai e CNPH 38 aos 7 dai com sintomas de lesão necrótica na parte adaxial da folha no local da inoculação. C. Acesso CNPH 20 assintomático aos 28 dai. D. Acesso CNPH 339 assintomático aos 28 dai. E. Acesso CNPH 7 assintomático aos 28 dai. F. Plantas de *Nicotiana tabacum* cv TNN controle positivo à esquerda sintomático e controle negativo à direita, assintomático.135

Figura 19. Resultado de Dot-Blot realizado com 14 acessos de berinjela proveniente do Banco de Germoplasma de Berinjela (*Solanum melongena*) - Embrapa Hortaliças (BGB - CNPH) e plantas de controle positivo e negativo (*Nicotiana tabacum* cv TNN) inoculadas mecanicamente com *Potato virus Y* - PVY.....136

Figura 20. A-F: Plantas de acessos de berinjela (*Solanum melongena*) provenientes do Banco de Germoplasma de Berinjela - Embrapa Hortaliças (BGB - CNPH) e controles (*Datura stramonium*) inoculados e não inoculada mecanicamente com *Groundnut ringspot virus* (GRSV). A. Acesso CNPH 15 aos 7 dias após a re-inoculação com sintomas de pontos necróticos. B. Acesso CNPH 27 aos 28 dai com sintomas de bolhosidades. C. Acesso CNPH 337 assintomático aos 28 dai. D. Acesso CNPH 38 assintomático aos 28 dai. E. Acesso CNPH 33 assintomático aos 28 dai. F. Plantas de *D. stramonium* controle positivo à esquerda, e controle negativo, à direita, assintomático.....138

Figura 21. Resultado de Dot-Blot realizado com 32 acessos de berinjela proveniente do Banco de Germoplasma de Berinjela (*Solanum melongena*) - Embrapa Hortaliças (BGB - CNPH) e plantas do controle positivo e negativo de *Datura stramonium* inoculadas mecanicamente com *Groundnut ringspot virus* - (GRSV).....141

Índice de Tabelas

Capítulo 1

Tabela 1: Vírus relatados em espécies arbóreas listadas pelo nome científico. Adaptada de Nienhaus & Castello, 1989 com atualizações.24

Capítulo 2

Tabela 2: Lista de espécies arbóreas/arbustivas pelo local de coleta, Bioma brasileiro ou centro de origem, hábito, nome popular, científico e família botânica.61

Tabela 3: Lista de espécies arbóreas coletadas por nome científico, nome comum (quantidade de amostras de plantas distintas), sintomas e resultados de detecção sorológica diretamente das espécies coletadas.75

Tabela 4: Lista de espécies por nome científico, nome comum (quantidade de amostras de plantas distintas), sintomas e resultado de detecção sorológica.81

Capítulo 3

Tabela 5: Quatorze espécies arbóreas avaliadas neste trabalho frente às espécies virais *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV), *Potato virus Y* (PVY) e *Groundnut ringspot virus* (GRSV) listadas de acordo com o nome comum, científico e família botânica.94

Tabela 6: Relação de espécies arbóreas quanto à colonização de moscas-brancas (*Bemisia tabaci* biótipo B) virulíferas (*Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV).100

Capítulo 4

Tabela 7: Relação de onze acessos de berinjela (*Solanum melongena*), quanto à colonização (ovos, ninfas de diferentes ínstares e adultos) pelo aleirodídeo mosca-branca (*Bemisia tabaci*) virulífero (*Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV).128

Tabela 8: Relação de vinte e oito acessos de berinjela (*Solanum melongena*) quanto à colonização (ovos, ninfas de diferentes ínstares e adultos) pelo aleirodídeo mosca-branca (*Bemisia tabaci*) virulífero (*Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV).129

Tabela 9: Relação de cinquenta e quatro acessos de berinjela (*Solanum melongena*) quanto à colonização (ovos, ninfas de diferentes ínstares e adultos) pelo aleirodídeo mosca-branca (*Bemisia tabaci*) virulífero (*Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV).132

Resumo Geral

Batista, Josiane Goulart. **Ocorrência natural de espécies virais e avaliação de potenciais hospedeiras experimentais de begomovírus, potyvírus e tospovírus em plantas arbóreas e berinjela (*Solanum melongena*)**. 2014. Número de páginas (183p). Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília, DF.

As espécies arbóreas apresentam grande importância no âmbito econômico e social, entretanto, ainda é desconhecido o potencial destas plantas como reservatórios de novas espécies virais ou de vírus reportados em outras hospedeiras. Além disso, a diversidade de espécies virais presentes no Bioma Cerrado ainda tem sido muito pouco estudada. Desta forma, um dos objetivos deste trabalho foi prospectar a presença de vírus em associação com uma coleção de espécies arbóreas e arbustivas. Amostras de 78 espécies arbóreas e arbustivas foram coletadas em ambiente de Área de Proteção Ambiental (APA) e em condições de viveiro. Estas plantas foram avaliadas para doze espécies virais classificadas em cinco gêneros: [*Cucumovirus* (*Cucumber mosaic virus* - CMV), *Tospovirus* (*Groundnut ringspot virus* - GRSV, *Tomato chlorosis spot virus* - TCSV, *Tomato spotted wilt virus* - TSWV e *Zucchini lethal chlorosis virus* - ZLCV), *Potyvirus* (*Potato virus Y* - PVY, *Watermelon mosaic virus* - WMV, *Papaya ringspot virus* - PRSV, *Zucchini yellow mosaic virus* - ZYMV e *Pepper yellow mosaic virus* - PepYMV), *Tobamovirus* (*Pepper mild mottle virus* - PMMoV) e *Begomovirus*]. Os resultados mostraram que em torno de 61% espécies coletadas na APA apresentaram resultado positivo para pelo menos uma espécie viral. Das 27 espécies amostradas no viveiro do CRAD - UnB, 17 foram positivas para pelo menos uma espécie viral. Das 32 espécies coletadas no viveiro NOVACAP 20 foram positivas para pelo menos uma espécie viral. As espécies do gênero *Tospovirus* foram encontradas com maior frequência. Um grupo de 14 espécies arbóreas foi avaliado quanto ao potencial como hospedeiras de três espécies virais que infectam o tomateiro: *Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV (*Begomovirus* transmitido pela mosca-branca *Bemisia tabaci*), PVY e GRSV. A inoculação com ToCMoV foi feita via *B. tabaci* e a avaliação foi feita pela observação de sintomas e PCR. Foram também realizadas contagens de adutos e das diferentes fases do ciclo de vida de *B. tabaci*. PVY e GRSV foram inoculados mecanicamente e as avaliações foram feitas por expressão de sintomas e detecção viral por Dot-Blot. Todas as espécies arbóreas foram negativas para ToCMoV. A avaliação para *B. tabaci* demonstrou que todas as plantas foram visitadas e algumas se mostraram altamente suscetíveis (ex. mutamba - *Guazuma ulmifolia* e quaresmeira - *Tibouchina granulosa*). O PVY somente foi detectado após a recuperação em planta indicadora, sendo encontrados resultados positivos para amburana (*Amburana cearensis*), ipê amarelo (*Handroanthus serratifolius*), ipê branco (*Handroanthus roseo-albus*), ipê caraíba (*Tecoma aurea*), cabeludinha (*Eugenia tomentosa*), copaíba (*Copaifera langsdorfii*), quaresmeira e jenipapo (*Genipa americana*). O GRSV foi detectado em plantas de baru (*Coumarouna alata*), carambola (*Averrhoa carambola*), ipê amarelo, ipê branco, ipê caraíba, jenipapo, mutamba, copaíba, quaresmeira e sucupira branca (*Pterodon emarginatus*). Para araçá (*Psidium araca*) e angico (*Anadenanthera falcata*) não houve detecção viral. Uma coleção de 93 acessos de berinjela (*Solanum melongena*) foi também avaliada para a resposta à *B. tabaci*, ToCMoV e PVY e 88 acessos foram avaliados para GRSV. A avaliação foi realizada essencialmente como descrita para as espécies arbóreas. Nenhum acesso se mostrou suscetível ao ToCMoV. Para *B. tabaci*, sete acessos apresentaram resistência. Como observado para ToCMoV, todos os acessos se mostraram livres de sintomas e foram negativos para PVY, mediante avaliação de sintomas e Dot-Blot, indicando uma resposta do tipo não-hospedeira para essas duas espécies virais. Para GRSV, 56 acessos tiveram pelo menos uma planta positiva mediante Dot-Blot. Alguns dos sintomas observados

foram de lesões necróticas e bolhosidades. Dez acessos apresentaram um maior número de plantas positivas (mais de quatro) e os 46 acessos restantes apresentaram de uma a três plantas positivas na sorologia. Sintomas não foram observados e o Dot-Blot foi negativo para 32 acessos, sendo considerados promissoras fontes de resistência ao GRSV.

Palavras-chave: árvores, berinjela, vírus, resistência.

Orientadora: Rita de Cássia Pereira Carvalho – UnB

General Abstract

Batista, Josiane Goulart. **Assessment of the natural occurrence of viral species and evaluation of potential experimental hosts of begomovirus, potyvirus and tospovirus in woody plants and eggplant (*Solanum melongena*).** 2014. Number of pages (183p). Dissertation (Master in Plant Pathology - Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brazil

Tree species have major importance in the economic and social context, however, it is still unknown if these plants may function as potential reservoirs of new viral species or even of virus reported in other hosts. Moreover, the diversity of viral species naturally occurring in the Brazilian *Cerrado* flora remains to be described. Thus, one objective of the present study was the assessment of viruses occurring in association with a collection of tree and shrubs species. Samples of 78 tree and shrubs species were collected in the Environmental Protection Area (APA) and under nursery conditions. These plants were assessed for twelve virus species classified in five genera: [*Cucumovirus* (*Cucumber mosaic virus* - CMV), *Tospovirus* (*Groundnut ringspot virus* - GRSV, *Tomato chlorosis virus spot* - TCSV, *Tomato spotted wilt virus* - TSWV and *Zucchini lethal chlorosis virus* - ZLCV), *Potyvirus* (*Potato virus Y* - PVY, *Watermelon mosaic virus* - WMV, *Papaya ringspot virus* - PRSV, *Zucchini yellow mosaic virus* - ZYMV and *Pepper yellow mosaic virus* - PepYMV), *Tobamovirus* (*Pepper mild mottle virus* - PMMoV) and *Begomovirus*]. The results showed that 14 species collected in the APA were positive for at least one viral species. Of the 27 species sampled in the nursery of CRAD - UnB, 17 were positive for at least one viral species. Of the 32 species in the nursery of NOVACAP, 20 were positive for at least one viral species. The *Tospovirus* species were found to be the most frequent pathogens. A group of 14 tree species was evaluated as potential hosts of three viral species reported infecting tomatoes: *Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV (*Begomovirus* transmitted by the whitefly *Bemisia tabaci*), PVY and GRSV. Inoculation of ToCMoV was carried out via *B. tabaci* and the evaluation was done by observing symptom development and PCR. The colonization levels of adults as well as the presence of distinct cycle life stages of *B. tabaci* were also evaluated. All tree species were negative for ToCMoV. All plants were visited by *B. tabaci* and some of them were highly susceptible (e.g. mutamba - *Guazuma ulmifolia* and quaresmeira - *Tibouchina granulosa*). GRSV and PVY were inoculated mechanically and evaluations were made by observing symptom expression and via Dot-Blot detection assays. In tree species, PVY was detected only after transmission to herbaceous indicator plants, being positive for amburana (*Amburana cearensis*), ipê amarelo (*Handroanthus serratifolius*), ipê branco (*Handroanthus roseo-albus*), ipê caraíba (*Tecoma aurea*), cabeludinha (*Eugenia tomentosa*), copaíba (*Copaifera langsdorfii*), quaresmeira, and jenipapo (*Genipa americana*). The GRSV was detected in baru (*Coumarouna alata*), carambola (*Averrhoa carambola*), ipê amarelo, ipê branco, ipê caraíba, jenipapo, mutamba, copaíba, quaresmeira and sucupira branca (*Pterodon*

emarginatus). For tree araçá (*Psidium araca*) and angico (*Anadenanthera falcata*) was the plant where no viral detection was observed. A collection of 93 accessions of eggplant (*Solanum melongena*) was also evaluated for response to *B. tabaci*, ToCMoV, and PVY, whereas 88 accessions were evaluated for GRSV. The evaluation was done essentially as described for the tree species. No accession was found to be susceptible to ToCMoV. Seven accessions displayed intermediate resistance to *B. tabaci*. As observed for ToCMoV, all accessions showed no symptoms and were negative for PVY in Dot-Blot, indicating a type of non-host reaction against both virus species. Fifty-six accessions had at least one positive plant to GRSV as indicated by Dot-Blot. Some of the observed symptoms were lesions necrotic and blistering. Ten accessions showed a higher number of positive plants (more than four) and the remaining 46 accessions had one to three plants positive in serological assays. Symptoms were not observed and Dot-Blot assays were negative for 32 accessions and they might be considered as promising sources of GRSV resistance.

Keywords: trees, eggplant, viruses, resistance.

Orientador: Rita de Cássia Pereira Carvalho - UnB

Introdução Geral

As florestas possuem grande importância social, ambiental e econômica. Os produtos e subprodutos extraídos das florestas abastecem o setor florestal que é responsável por cerca de 2% do PIB mundial (FAO, 2012). Os produtos florestais se dividem em produtos florestais madeireiros (PFMs), correspondendo a produtos advindos da madeira e produtos florestais não madeireiros (PFNMs) que são os subprodutos das espécies arbóreas tais como: óleos essenciais, resinas e gomas. Estes subprodutos podem ser empregados nas indústrias farmacêutica, cosmética e de limpeza. Além disto, as espécies arbóreas estão intrinsecamente relacionadas ao aumento da qualidade de vida, tanto pelo fornecimento de matéria prima quanto no seu emprego em arborização.

Um dos problemas dos cultivos de espécies arbóreas refere-se à ocorrência de pragas e doenças. As principais pragas que acometem o cultivo de espécies florestais pré- ou pós-emergência em ambientes tropicais são as formigas cortadeiras e os lepidópteros desfolhadores (Zanúncio *et al.*, 1992; 1993; Della Lucia, 1996), bem como os coleópteros (Gray, 1972). Entre as doenças, as causadas por fungos são as mais importantes, seguido de nematóides, bactérias e vírus (Alfenas *et al.*, 2004).

O amplo e crescente trânsito de material vegetal infectado com vírus representa uma grande ameaça para o crescimento de espécies florestais em ecossistemas naturais e em áreas cultivadas em todo o mundo (Vicent *et al.*, 2014). No entanto, pouca atenção tem sido dada à ameaça que tais vírus representam para espécies arbóreas e seus potenciais impactos na redução da biodiversidade global. Nienhaus & Castello (1989) fizeram uma revisão de espécies virais relatadas infectando espécies florestais e constataram que espécies descritas infectando outras culturas agronomicamente importantes também estão associadas com diferentes tipos de declínios em florestas da Europa e América do Norte. No Brasil, espécies virais também têm sido detectadas em árvores utilizadas na arborização urbana (Lin *et al.*, 1979; Lin *et al.*, 1980; Beserra *et al.*, 2012). Neste contexto, se torna imprescindível o

estabelecimento de um panorama mais detalhado sobre a diversidade de espécies virais, distribuição geográfica e círculo de plantas hospedeiras em culturas florestais de importância econômica e/ou ambiental.

No Brasil os estudos de vírus em espécies arbóreas são incipientes. Devido à escassez de informações e visando contribuir no preenchimento desta lacuna, principalmente, para o importante bioma Cerrado, um dos objetivos deste trabalho foi realizar a prospecção de espécies virais associadas com espécies arbóreas de importância econômica pertencentes aos gêneros: *Begomovirus*, *Cucumovirus*, *Potyvirus*, *Tobamovirus* e *Tospovirus*. Em uma segunda etapa, o objetivo foi avaliar a resposta de espécies arbóreas quando inoculadas separadamente com um grupo seletivo de espécies virais pertencentes a três dos principais gêneros que causam perdas na agricultura mundial: *Begomovirus*, *Potyvirus* e *Tospovirus*.

Principais características dos gêneros *Begomovirus*, *Potyvirus*, *Tospovirus*, *Cucumovirus* e *Tobamovirus*.

Espécies virais classificadas no gênero *Begomovirus* (família *Geminiviridae*) apresentam genoma de DNA fita simples (ssDNA). Estas espécies podem ter um componente (DNA-A) ou dois componentes (DNA-A e DNA-B) genômicos (Brown *et al.*, 2011). Atualmente considera-se *Begomovirus* como o mais importante gênero de vírus de plantas em termos de número de espécies já descritas (Brown *et al.*, 2011). Espécies do gênero *Begomovirus* são responsáveis por perdas em várias culturas de importância econômica (Faria & Zerbini, 2000; Silva, 2006). No Brasil, um complexo viral composto de pelo menos dezesseis espécies em tomateiro é transmitido por *B. tabaci*, merecendo destaque o *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV). Até o presente momento, todas as espécies relatadas em tomateiro são de begomovírus bipartidos.

As espécies de *Tospovirus* (família *Bunyaviridae*) causam perdas significativas no rendimento e qualidade dos produtos vegetais de leguminosas e culturas ornamentais em muitas partes do mundo (Mumford *et al.*, 1996; Pappu, 1997; Persley *et al.*, 2006). Os tospovírus são transmitidos por espécies de tripses (ordem Thysanoptera) em um tipo de relação circulativa e propagativa (Wijkamp, 1993) e ainda por inoculação mecânica. O seu genoma é de RNA fita simples tripartido (Plyusnin *et al.*, 2011). O *Groundnut ringspot virus* (GRSV) é uma das espécies do complexo conhecido como ‘vira-cabeça’. Outras espécies do complexo são: *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Chrysanthemum stem necrosis virus* (CSNV) e *Tomato chlorosis spot virus* (TCSV). Estas espécies infectam várias solanáceas na Brasil, podendo ser observada a predominância de algumas espécies, dependendo da região do país (Nagata *et al.*, 1995; Ávila *et al.*, 1998; Colariccio *et al.*, 2000). Outra espécie importante para cucurbitáceas corresponde ao *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV).

Espécies do gênero *Potyvirus* (família *Potyviridae*) apresentam ampla gama de hospedeiras e possuem genoma composto de RNA de fita simples, de sentido positivo. No processo de tradução o genoma dos potyvírus gera uma poliproteína que se autocliva em dez proteínas maduras (Adams *et al.*, 2011). O *Potato virus Y* (PVY) é a espécie-tipo do gênero e uma das mais importantes espécies dentro desse gênero (Janzac *et al.*, 2008). Outra espécie que vem se destacando em plantios de tomateiro é *Pepper yellow mosaic virus* - PepYMV (Ávila *et al.*, 2004). O PepYMV encontra-se distribuído por importantes regiões produtoras de hortaliças (Palazzo *et al.*, 2004; Dianese *et al.*, 2008). Outras espécies de *Potyvirus* causam perdas em mamão (*Carica papaya*) e outras espécies da família Curcubitaceae como o *Papaya ringspot virus* (PRSV), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) e o *Watermelon mosaic virus* (WMV).

Importantes espécies virais são classificadas dentro do gênero *Cucumovirus* (família *Bromoviridae*) sendo que o *Cucumber mosaic virus* (CMV) é uma espécie com um amplo

círculo de plantas hospedeiras, sendo a economicamente mais importante e também a mais estudada neste gênero (Scholthof *et al.*, 2011; Adams *et al.*, 2011).

No gênero *Tobamovirus* (família *Virgaviridae*) encontram-se vírus de RNA fita simples, sentido positivo (Knapp, 2005; Adams *et al.*, 2011). Os tobamovírus são transmitidos mecanicamente (Tanzi *et al.*, 1986) e também via sementes (Erkan & Delen, 1985; Pares & Gunn, 1989; Cuadrado Gómez, 1994; Duarte, 1995; Pares *et al.*, 1996). Uma importante espécie deste gênero é o *Pepper mild mottle virus* (PMMoV).

Dessa forma, estudos de potenciais hospedeiras e de fontes de resistência a vírus que causam perdas em cultivares agronômicas é indispensável para maior conhecimento da interação dos vírus com essas plantas e uma estratégia de controle com uso de variedades resistentes ao vírus e/ou ao vetor.

Utilização da berinjela como um modelo para estudos de resistência ampla a espécies virais das solanáceas

A berinjela (*Solanum melongena* - família Solanaceae) é considerada uma opção atraente para estudos relativos à resistência de amplo espectro por não apresentar, na maioria das vezes, sintomas severos de vírus em condições de campo mesmo na presença de grandes populações dos principais artrópodes vetores. Assim, um dos objetivos da presente dissertação foi avaliar acessos de berinjela visando identificar materiais resistentes que possam fornecer fatores genéticos a serem potencialmente usados em programas de melhoramento (via convencional ou via transgenia), visando incorporar resistência a espécies de *Begomovirus*, *Tospovirus* e *Potyvirus*. O resultado esperado para este trabalho é a geração de informações importantes para os programas de melhoramento genético de diferentes espécies de solanáceas através da seleção de novas fontes de resistência a distintas espécies virais que infectam de diferentes espécies de solanáceas.

Objetivos Gerais

- Prospectar a presença de espécies virais associadas com espécies arbóreas;
- Avaliar a resposta de algumas espécies arbóreas frente à inoculação controlada com diferentes espécies virais classificadas nos gêneros *Begomovirus*, *Potyvirus* e *Tospovirus*.
- Avaliar a resposta de algumas espécies arbóreas frente à *Bemisia tabaci*, importante inseto vetor de begomovírus.
- Avaliar a resposta de acessos de berinjela frente a espécies virais classificadas nos gêneros *Begomovirus*, *Potyvirus* e *Tospovirus* e que infectam o tomateiro e outras solanáceas.
- Avaliar a resposta de acessos de berinjela frente à *Bemisia tabaci*, importante inseto vetor de begomovírus.

Objetivos Específicos

- Identificar espécies virais em espécies arbóreas coletadas em diferentes locais: (1) Área de Proteção Ambiental da Estação Experimental de Biologia localizada na Universidade de Brasília (APA-EEB-UnB) e (2) Viveiro de produção de mudas de espécies arbóreas e arbustivas do Distrito Federal [Centro de Referência em Áreas Degradadas do Bioma Cerrado da Universidade de Brasília (CRAD - UnB)] e viveiro da Companhia Urbanizadora da Nova Capital do Brasil (NOVACAP).
- Avaliar o papel de acessos de algumas espécies arbóreas quanto ao potencial como hospedeiras de diferentes espécies virais que infectam o tomateiro e outras solanáceas: *Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV (gênero *Begomovirus*), *Potato virus Y* - PVY (gênero *Potyvirus*) e *Groundnut ringspot virus* - GRSV (gênero *Tospovirus*).
- Avaliar a resposta de algumas espécies arbóreas a infestação por *B. tabaci*.
- Avaliar a resposta de acessos de *S. melongena* (berinjela) a inoculação com diferentes espécies virais que infectam o tomateiro e outras solanáceas: ToCMoV, PVY e GRSV.
- Avaliar a resposta de acessos de *S. melongena* (berinjela) a infestação por *B. tabaci*.

CAPÍTULO 1

Revisão Bibliográfica

1. Espécies florestais e arbóreas

De acordo com a sistemática botânica, uma espécie arbórea pode ser definida como um vegetal lenhoso com mais de cinco metros de altura que apresenta tronco ramificado na parte superior (formando a copa). Por sua vez, um arbusto é definido como sendo um vegetal lenhoso de três a cinco metros com um pequeno tronco, apresentando ramificações desde a base (Fernandes, 1998). Na terminologia dendrológica uma espécie arbórea é uma planta lenhosa constituída de uma porção superior folhosa (copa), de um tronco suporte isento de ramificações (= fuste) e de um sistema radicular profundo (Roderjam, 2002).

Segundo definição da FAO (2010): “Floresta é uma área com mais de meio hectare, ocupada com árvores de cinco ou mais metros de altura e cobertura de copa superior a 10%. Essa definição não inclui áreas de predominantemente uso agrícola ou urbano”. Portanto, de acordo com essa definição, um verdadeiro ambiente florestal deve ser constituído quase que exclusivamente por espécies arbóreas. Espécies florestais estão normalmente vinculadas diretamente à produção de madeira, embora existam também os chamados produtos florestais não madeireiros. Desta forma, toda espécie florestal pode ser considerada arbórea, entretanto nem toda espécie arbórea pode ser considerada como florestal. Neste contexto, as espécies arbóreas são importantes em aspectos mais amplos, incluindo o fornecimento de alimentos, combustível e matéria-prima, tais como a madeira, resinas, gomas, ceras e compostos medicinais (Souza & Lorenzi, 2005). Entre outros usos comuns dessas espécies citam-se também a arborização urbana e o uso dos produtos e subprodutos na indústria alimentícia, de cosméticos, de perfumes e de higiene e limpeza.

1.2.Dados econômicos florestais: Mundo

A demanda global por uma economia mais sustentável é cada vez mais evidente em relação a preocupação com as florestas, a silvicultura e com a origem dos produtos (madeireiros e não madeireiros) florestais (FAO, 2011). Segundo relatórios do Banco Mundial, 1,6 bilhão de pessoas dependem das florestas para sua subsistência. Estas populações retiram seu sustento da floresta e aproximadamente 350 milhões delas vivem dentro ou próximo às florestas tropicais (Chao, 2012; World Bank Report, 2012).

A FAO (2010) estimou a área florestal do mundo em pouco mais de 4 bilhões de hectares, o que corresponde a 31% da área terrestre (**Figura 1**). As florestas são importantes do ponto de vista ecológico, social, cultural, paisagístico e econômico. Além disto, as florestas desempenham também um papel importante no ciclo do carbono, armazenando 289 gigatoneladas de carbono na biomassa, protegendo o solo e os recursos hídricos, estabilizando dunas de areia, controlando a desertificação, protegendo as regiões costeiras e proporcionando habitats para uma ampla gama de plantas, animais e microorganismos (FAO, 2010).

A madeira é considerada o mais importante produto advindo do setor florestal, sendo a fonte de matéria-prima para a madeira serrada, celulose, papel, indústria moveleira, bioenergia, biocombustíveis e biomateriais. De acordo com Haggman *et al.* (2013) as florestas fornecem a maior parte do combustível usado para cozinhar e aquecer e, são importantes ainda para o lazer e turismo. Dados da FAO (2006) apontaram que 47% do total das florestais naturais correspondem às florestas tropicais. O restante está distribuído em florestas boreais, temperadas e subtropicais com 33%, 11% e 9%, respectivamente.

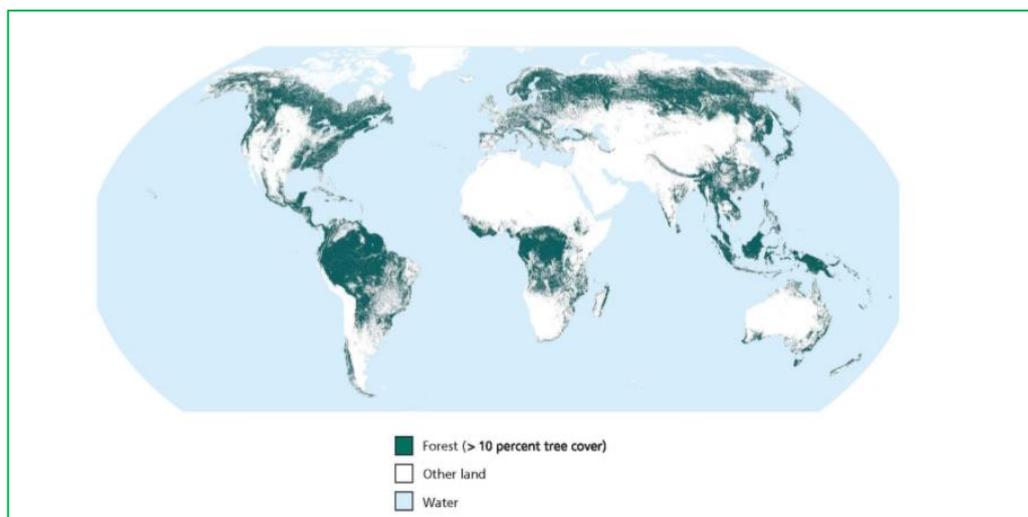


Figura 1. Distribuição de cobertura florestal mundial. Fonte: FAO, 2012.

O *ranking* dos países com maior cobertura de florestas plantadas/nativas é liderado pela Rússia com 22%, Brasil com 14%, Canadá com 9%, Estados Unidos (EUA) e China (com 8% cada). As florestas plantadas correspondem a 264 milhões de hectares e representam 7% de todas as florestas. A área com florestas plantadas tem se expandido, em média, cerca de cinco milhões de hectares/ano (FAO, 2011). A China ocupa a primeira posição em relação a área ocupada por florestas plantadas (29% do total mundial), seguida pelos EUA com 10%, Rússia com 6%, Japão e Índia com 4% e Brasil com 3% (FAO, 2012). O setor florestal movimenta cerca de 132 bilhões de dólares ao ano, correspondendo a uma média de 2% do PIB mundial. Para muitos países em desenvolvimento este setor corresponde a mais de 10% do PIB e estima-se que proporcione empregos diretos para 10 milhões de pessoas e indiretamente entre 30 a 50 milhões de pessoas (FAO, 2012).

O país de maior importância no cenário mundial é a China, devido a sua produção e consumo de produtos florestais, ultrapassando países como Canadá e EUA. A China também se destaca como o principal país importador mundial de madeira em tora industrial e madeira serrada. A China é ainda o maior exportador de painéis à base de madeira (FAO, 2012).

O setor florestal tem importância como fornecedor de energia ou matéria-prima para a indústria da construção civil e de transformação em virtualmente todas as regiões do mundo. Além da importância econômica, as espécies florestais desempenham importante função ambiental e ecológica, contribuindo na conservação da água e na preservação do solo e da biodiversidade.

1.3. Dados econômicos florestais: Brasil

O Brasil ocupa a segunda maior área de florestas do mundo, tendo aproximadamente 463,2 milhões de hectares cobertos por florestas naturais e plantadas (54,4% do seu território). Destes 463,2 milhões de hectares, a grande maioria (456 milhões) são de florestas nativas e 7,1 milhões de florestas plantadas (SFB, 2013). No Brasil, o setor florestal movimenta cerca de 46,3 bilhões de reais ao ano, contribuindo com cerca de 5% na formação do PIB Nacional e com 8% das exportações; gerando 1,6 milhões de empregos diretos, 5,6 milhões de empregos indiretos e uma receita anual de R\$ 20 bilhões (ABRAF, 2013). O país destaca-se entre os principais detentores de recursos florestais abundantes por possuir extensa área de florestas tropicais sendo ainda o segundo maior exportador de celulose para papel, perdendo apenas para o Canadá (FAO, 2012). Dados de 2012, indicavam que a área plantada encontrava-se distribuída da seguinte forma: 4,9 milhões de hectares com eucaliptos (*Eucalyptus* spp.); 1,6 milhão com pinus (*Pinus* spp.) e 422 mil hectares ocupados com plantios de acácia (*Acacia* spp.), teca (*Tectona grandis*), araucária (*Araucaria angustifolia*), pópulos (*Populus* spp.), seringueira (*Hevea brasiliensis*) e paricá (*Schizolobium amazonicum*) (ABRAF, 2013). As florestas plantadas estão distribuídas em todas as regiões do país e os estados com maiores números de ha plantados nesta ordem, são: Minas Gerais (MG), São Paulo (SP), Paraná (PR), Bahia (BA), Santa Catarina (SC), Mato Grosso do Sul (MS) e Rio Grande do Sul (RS), em sua maioria produzindo eucaliptos (ABRAF, 2013).

A Floresta Amazônica é considerada a maior floresta remanescente do mundo, possuindo 4,2 milhões km², o que corresponde a cerca de 49% do território nacional (IBAMA, 2013). Na Amazônia vivem e se reproduzem mais de um terço das espécies existentes no planeta (em torno de 2.500 espécies de árvores e 30 mil das 100 mil espécies de plantas que existem em toda a América Latina) (WWF, 2014). Um problema comum da Floresta Amazônica e de outros biomas do país (Cerrado, Caatinga, Costeiro, Pantanal, Pampa, e Mata Atlântica) refere-se a ameaça de extinção das espécies. O bioma mais afetado é a Mata Atlântica (276 espécies ameaçadas). Para os biomas Cerrado, Caatinga, Amazônia, Pampa e Pantanal os números de espécies ameaçadas são de 131, 46, 24, 17 e duas respectivamente (MMA, 2008). A lista de espécies ameaçadas inclui: aroeira (*Astronium urundeuva*), braúna (*Schinopsis brasiliensis*), araucária (*Araucaria angustifolia*), cerejeira (*Amburana cearensis* var. *acreana*), pau-brasil (*Caesalpinia echinata*), jacarandá-da-Bahia (*Dalbergia nigra*), pau-roxo (*Peltogyne maranhensis*), canela-preta (*Ocotea catharinensis*), canela-sassafrás (*Ocotea odorifera*), imbuia (*Ocotea porosa*), castanheira (*Bertholletia excelsa*), mogno (*Swietenia macrophylla*) e pau-amarelo (*Euxylophora paraensis*) (MMA, 2008).

1.4. Produtos Florestais Madeireiros (PFMs) e Produtos Florestais Não Madeireiros (PFNMs) e arbóreos

No setor florestal os produtos podem ser divididos em Produtos Florestais Madeireiros (PFMs), provenientes da madeira e Produtos Florestais Não Madeireiros (PFNMs). Os PFMs consistem em todo material lenhoso passível de aproveitamento para serraria, estacas, lenha, poste e moirão (FAO, 1998 e MMA, 2014). Os PFMs movimentam no mercado mundial, em média 254 bilhões de dólares ao ano (FAO, 2010). No Brasil a produção é de 227 milhões de toneladas de madeira, sendo a maior parte para abastecimento do mercado do interno (IBGE,

2013). Para este setor madeireiro as espécies mais importantes são: eucaliptos, pinus, teca e acácia (SFB, 2014).

Devido a grande diversidade e histórico de exploração madeireira no Brasil, desde a época colonial, criou-se o termo ‘madeiras de lei’, para definir as madeiras nobres de boa qualidade e alta resistência, principalmente ao ataque de insetos, microrganismos e as condições de umidade. Estas madeiras são aptas para emprego em construção civil, naval, confecção de móveis de luxo, instrumentos musicais e artigos de decoração. As principais espécies consideradas ‘madeiras de lei’ são: andiroba (*Carapa guianensis*), aroeira, angelim (*Andira vermifuga*), angico (*Anadenanthera falcata*), balsa (*Ochroma pyramidale*), cedro (*Cedrela* spp.), cerejeira, cumaru (*Dipteryx odorata*), sobro (*Roupala montana*), freijó (*Cordia goeldiana*), imbuia, ipê (*Handroanthus* spp.), jacarandá (*Jacaranda mimosaeifolia*), jatobá (*Hymenaea courbaril*), maçaranduba (*Manilkara* spp.), macacaúba (*Platymiscium* spp.), mogno, pau brasil, peroba rosa (*Aspidosperma polyneuron*), araucária e sucupira (*Pterodon* spp.). Algumas espécies, devido a sua exploração, são protegidas por legislação Federal sendo proibido o seu corte. Como exemplos podem ser citadas a castanheira e a seringueira sob Decreto 5.975/2006, e o mogno sob Decreto 6.472/2008 (MMA, 2008).

1.4.1. Produtos Florestais Não Madeireiros - PFNMs e arbóreos

Os PFNMs são representados por produtos florestais não-lenhosos de origem vegetal, tais como cortiça, resina, cipó, óleos essenciais, sementes, plantas ornamentais, plantas medicinais, farelos e forragem (campos para pastagem) e produtos para o consumo humano (alimentos, bebidas e extratos, como por exemplo, frutas, bagas, nozes, mel, casca para chá, entre outros) (FAO, 1998; MMA, 2014). Um terço das florestas do mundo tem sido utilizado para PFNMs. A produção mundial de PFNMs em 2009, declarada pelos países à FAO, situa-se em torno de 220 bilhões de dólares ao ano, embora o valor real seja desconhecido, pois

muitos países onde a extração destes produtos é importante, não os consideram em suas estatísticas (FAO, 2010). No Brasil, o valor produzido pelo extrativismo em 2011, alcançou 4,97 bilhões de reais ao ano, dos quais 935,8 milhões de reais referentes aos PFMNs (IBGE, 2013).

Nos dias atuais, os recursos florestais não-madeireiros consistem a principal fonte de renda e alimento de milhares de famílias que vivem da extração florestal em várias partes do mundo. No Brasil podemos citar principalmente o açaí (*Euterpe oleracea*), a castanha de caju (*Anacardium occidentale*), erva-mate (*Ilex paraguariensis*), araucária, umbu (*Spondias tuberosa*), buriti (*Mauritia flexuosa*) piaçava (*Attalea funifera*), babaçu (*Orbignya phalerata*), copaíba (*Copaifera langsdorfii*), cumaru (*Dipteryx odorata*), pequi (*Caryocar brasiliense*), mangaba (*Hancornia speciosa*), castanha do pará, cacuanha (*Psychotria ipecacuanha*), jaborandi (*Pilocarpus pennatifolius*), urucum (*Bixa orellana*), carnaúba (*Copernicia prunifera*), maçaranduba, sorva (*Sorbus domestica*), licuri (*Syagrus coronata*), oiticica (*Licania rigida*), angico e barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) (SFB, 2014; IBGE, 2013). Os principais Estados produtores de PFMNs no país são PA, AM, SP, MG, MT e BA (IBGE, 2013).

1.4.1.1. Algumas aplicações de Produtos Florestais Não Madeireiros

Os produtos florestais não madeireiros abastecem o mercado farmacêutico, agroquímico, cosmético, indústria de perfumes, alimentício e de higiene e limpeza. Muitas espécies vegetais fornecem produtos economicamente importantes para as indústrias como os óleos, resinas, taninos, látex, gomas, ceras, óleos essenciais, inseticidas e fármacos entre outros (Balandrin *et al.*, 1985). Algumas espécies florestais podem ser usadas como medicinais e constituem expressiva fonte de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais são utilizados na elaboração de novos fármacos, aromatizantes, condimentos,

corantes, edulcorantes, conservantes, antioxidantes e vitaminas. Além disto, algumas destas espécies possuem grande potencial de uso como biorepelentes, biocidas e antimicrobianos no combate a pragas e doenças contribuindo para a redução ou eliminação de pesticidas (Caminha Filho, 1940). Estudos de Moreira (1962) Marquesini (1995), Marques (2001) e Lorenzi & Matos (2008) relatam uma extensa lista de espécies de plantas com propriedades medicinais, classificadas nas famílias Euphorbiaceae, Rosaceae, Myrtaceae, Sapindaceae, Lauraceae e Anacardiaceae. Na indústria farmacéutica, espécies da família Myrtaceae naturalmente ricas em compostos fenólicos com ação antioxidante e compostos com ação hipoglicemiante e anti-reumática têm sido utilizadas no controle de distúrbios estomacais e como anti-hipertensivas (Almeida *et al.*, 1995). De acordo com Correa *et al.* (2001) muitos centros em nosso país e no exterior vêm desenvolvendo estudos sobre as propriedades farmacológicas de plantas medicinais. Naquele ano, cerca de 509 plantas encontravam-se registradas no Ministério da Saúde para comercialização incluindo espécies florestais e arbóreas como *Eucalyptus globulus*, caju, *Syzygium* spp. e *Mikania* spp. dentre outras. Outros exemplos importantes de plantas para uso medicinal são: guaraná (*Paullinia cupana*), goiaba (*Psidium guajava*), jambu (*Spilanthus acmella*), unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*) e copaíba (Gurib-Fakim, 2006). Recentemente, Siqueira *et al.* (2013) demonstraram que o consumo diário dos frutos de araticum (*Annona crassiflora*), cagaita (*Eugenia dysenterica*), lobeira (*Solanum grandiflorum*) e tucum (*Bactris setosa*), podem conferir proteção contra o estresse oxidativo e, assim, eles podem prevenir doenças crônicas e o envelhecimento prematuro.

Na indústria cosmética empresas como a Natura, promovem a utilização de boas práticas de produção e o uso de tecnologias sustentáveis na obtenção de matérias-primas como açaí, cacau (*Theobroma cacao*), castanha, cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), guaraná e pariparoba (*Piper peltatum*), dentre outras para fabricação de produtos como óleos corporais, sabonetes, cremes e shampoos.

Para limpeza, a polpa e o óleo da macaúba (*Acrocomia aculeata*) são utilizados na fabricação de sabão de coco. Óleos de espécies de *Eucalyptus* são amplamente utilizados na indústria química de limpeza e têm sido testados também para controle de microrganismos. Além de *Eucalyptus* spp., outras espécies dentro de gêneros da família Myrtaceae também são conhecidas pela ação de óleos essenciais na inibição de microrganismos. Limberger *et al.* (1998) testaram óleos essenciais de dezessete espécies de mirtáceas contra seis microrganismos (bactérias e fungos). Os melhores resultados revelaram inibições satisfatórias do crescimento de *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis*, sendo que a espécie *Marlierea eugeniopsoides* foi a mais efetiva, estendendo o poder inibitório a vários outros microrganismos. Também, óleos essenciais de três espécies de *Psidium* foram ativos contra *Streptococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (Santos *et al.*, 1997). O óleo de *Melaleuca alternifolia* demonstrou um poder germicida superior ao fenol, quando testado em *Bacillus typhosus* (Guenther, 1976).

Na indústria alimentícia tem crescido o número de subprodutos advindos de árvores frutíferas tais como bolos, sorvetes, geléias, sucos e doces a partir de espécies como araçá (*Psidium araca*), umbú, carambola (*Averrhoa carambola*) pequi, araticum, cagaita entre outras. As frutíferas do bioma Cerrado estão alcançando espaço no mercado devido ao seu elevado valor nutricional, além de atrativos sensoriais como cor, sabor e aroma peculiares e intensos. Algumas frutas nativas do Cerrado, como o araticum, o buriti, a cagaita e o pequi, apresentam teores de vitaminas do complexo B, tais como as vitaminas B1 e B2, equivalentes ou superiores aos encontrados em frutas como o abacate (*Persea americana*), a banana (*Musa* spp) e a goiaba, tradicionalmente consideradas como boas fontes destas vitaminas. O palmito da guariroba (*Syagrus oleracea*), de sabor amargo, começou a ser comercializado em conserva recentemente, à semelhança do palmito doce (Oliveira, 2011). Os sorvetes de cagaita, araticum, pequi e mangaba fazem sucesso pelo Brasil (Avidos & Ferreira, 2003).

1.5. Espécies destinadas à arborização - importância e indicações

Grande parte da população mundial vive hoje em cidades, com acesso contínuo a serviços públicos essenciais, fundamentais para o conforto e a qualidade de vida das pessoas. Em um mundo globalizado e altamente competitivo, a disponibilidade de serviços com a qualidade necessária passa a representar um diferencial estratégico e de desenvolvimento. Neste sentido, a implantação e o manejo da arborização das cidades constituem-se em mais um serviço público ofertado, como estratégia de amenização de impactos ambientais adversos devido às condições de artificialidade do meio urbano, além dos aspectos ecológico, histórico, cultural, social, estético e paisagístico, que influenciam a sensação de conforto ou desconforto das pessoas (CEMIG, 2011).

A arborização urbana consiste na cobertura vegetal de porte arbóreo existente nas cidades, a qual ocupa três espaços distintos: as áreas livres de uso destinado ao público; as áreas livres de uso particular e aquelas que acompanham o sistema viário. De acordo com o IBGE (2013), no Brasil, os domicílios mais arborizados (árvores em volta de quarteirões, calçadas ou canteiros), com exceção de Goiânia, concentram-se nas regiões Sul e Sudeste do país. Nas regiões Norte e Nordeste, as capitais Belém, com 22,4%, e Manaus, no meio da Floresta Amazônica, com 25,1%, têm os menores percentuais de arborização. Já Brasília ficou na 12ª posição no *ranking*. A cidade foi concebida com parques e jardins entre as quadras do Plano Piloto, entretanto as condições de infraestrutura das cidades satélites reduzem consideravelmente o índice de arborização do Distrito Federal (DF) como um todo.

A escolha de árvores mais adaptadas ao meio urbano deve ser muito criteriosa. Cuidados imprescindíveis em projetos de arborização incluem a correta escolha da espécie de acordo com suas particularidades e condições do local, bem como valores culturais e ambientais da cidade (Schuch, 2006; Gonçalves *et al.*, 2004; Copel, 2007). Pivetta & Silva

Filho (2002) apontam ainda vários fatores a serem considerados no processo de arborização, dentre eles a rede aérea de energia é o fator importante que interfere de forma decisiva no plano de arborização das cidades. Para Milano & Dalcin (2000) a explosão imobiliária na década de 1960 propiciou a perda dos jardins privados, contribuindo para a impermeabilização do solo e o patrimônio das áreas verdes das cidades ficou cada vez mais restrito à arborização de ruas, praças, parques e maciços florestais.

Na escolha de espécies para arborização, recomenda-se a diversificação das espécies por dois motivos básicos. O primeiro deles é evitar a monotonia na paisagem e o segundo é evitar problemas de pragas e doenças (IPEF, 2006). O recomendado é que populações individuais não ultrapassem 10 ou 15% da população total, no entanto é conhecido que em muitas situações ocorre a prevalência de uma única espécie. Um levantamento de espécies arbóreas realizado por Graziano *et al.* (1987) em Jaboticabal (SP) mostrou que *Nectandra saligna* (canela-preta, família Lauraceae) correspondia a 43% do número total de plantas usadas na época para arborização. Anos mais tarde, Freitas *et al.* (1992) relataram a ocorrência de uma coleobroca (*Cratosomus curassaviensis*) o que acarretou o decréscimo na porcentagem de indivíduos de plantas para 7,8% . Pivetta & Silva Filho (2002) reúnem alguns dados de Freitas *et al.* (1992); Machado *et al.* (1992) e Sousa *et al.* (1997) ao relatar várias pragas e doenças ocorrendo em espécies arbóreas usadas no Distrito Federal. O tema é preocupante, tendo em vista que o controle químico de pragas e doenças no ambiente urbano não é recomendado por razões de segurança da população.

1.5.1. Espécies indicadas para arborização: Brasil e Distrito Federal

Várias espécies de árvores são indicadas por Santos & Teixeira (1991), Guia (1988) e Pivetta & Silva Filho (2002) para arborização. Dentre elas podem ser citadas: acácia mimosa (*Acacia podaliriaefolia*), bauínia blaqueana (*Bauhinia blakeana*), unha-de-vaca (*Bauhinia*

variegata), manacá de jardim (*Brunfelsia uniflora*), pau-brasil, outras espécies do gênero *Caesalpinia*, pau-mulato (*Calycophyllum spruceanum*), várias espécies de *Cassia*, cedro-rosa (*Cedrela fissilis*), paineira (*Chorisia speciosa*), flamboyant (*Delonix regia*), mulungu (*Erythrina verna*), espécies de *Hybiscus*, jacarandá de jardim (*Jacaranda brasiliana*), *Jacaranda* spp, mirindiba rosa (*Lafoensia glyptocarpa*), resedá (*Lagerstroemia indica*), sapucaia (*Lecythis pisonis*), ipês (*Handroanthus* spp.) e quaresmeira-rosa (*Tibouchina granulosa*), dentre outras.

Espécies provenientes do bioma Cerrado vêm sendo amplamente utilizadas na arborização de praças, parques e jardins do Distrito Federal (DF) e entorno, devido a sua adaptabilidade e qualidade estético-visuais. Entre as comumente utilizadas estão: a sibipiruna (*Caesalpinia pluviosa*), amburana (*Amburana cearenses*), ipês, pequi, feijão-cru (*Lonchocarpus muehlbergianus*), ingá (*Inga* spp.), angico, jamelão (*Syzygium cumini*) e quaresmeira. A Companhia Urbanizadora da Nova Capital do Brasil (NOVACAP), criada em 1956, tinha como finalidade única gerenciar e coordenar a construção de Brasília. Atualmente a NOVACAP atua na manutenção das vias e áreas verdes do DF e entorno. A NOVACAP possui dois viveiros. O Viveiro I foi criado em 1960 e produz arbustos, palmáceas, herbáceas e flores, folhagens e plantas ornamentais, utilizadas no plantio dos canteiros da cidade. O outro, o Viveiro II, foi fundado em 1971, para produção de mudas de árvores, com capacidade total de 300 mil unidades/ano. O Centro de Referência em Conservação da Natureza e Recuperação de Áreas Degradadas - CRAD é um centro de caráter multidisciplinar da Universidade de Brasília. O objetivo do CRAD é promover e divulgar cientificamente, os estudos e pesquisas, atividades de extensão em conservação da natureza e recuperação de áreas degradadas, visando aprofundar os conhecimentos relativos a este setor.

1.5.2. Problemas enfrentados com pragas e patógenos na arborização

Dentre os principais problemas no cultivo de espécies arbóreas em ambientes tropicais estão as formigas cortadeiras e os lepidópteros desfolhadores (Zanúncio *et al.*, 1992; 1993; Della Lucia, 1996), bem como os coleópteros (Gray, 1972). Na arborização urbana do Distrito Federal, de acordo com Machado *et al.* (1992); Wielewski & Auer (1997) e Pivetta & Silva Filho (2002) as principais pragas são as formigas (principalmente as saúvas: *Atta sexdens rubropilosa*), brocas, cochonilhas e lagartas.

Quanto aos patógenos, fungos, nematoides, bactérias e vírus podem acometer estas espécies arbóreas. De acordo com Machado *et al.* (1992); Wielewski & Auer (1997) e Pivetta & Silva Filho (2002), os principais patógenos ocorrendo em arbóreas do DF foram espécies de oídios (forma sexuada e assexuada); ferrugens e *Alternaria*. Nada foi mencionado sobre bactérias e vírus. Machado *et al.* (1992) relataram ainda a ocorrência de *Meloidogyne* spp. em ipê. Algumas espécies virais podem infectar espécies florestais e arbóreas. Segundo Lass (1985) o *Cacao swollen-shoot virus* - CSSV (gênero *Badnavirus*, família *Caulimoviridae*) pode causar doença em plantas de cacau e em plantas da família Malvaceae. Exemplo importante a ser citado também refere-se a morte de várias plantas da espécie *Cassia macranthera* acometida pelo *Cassia mild mosaic virus* (CMMV) no DF e entorno (Lin *et al.*, 1980).

1.6.Patologia Florestal

A Patologia Florestal iniciou-se como ciência pelos estudos de patógenos que deterioram a madeira. De acordo com Alfenas *et al.* (2004) vários patógenos atacam espécies florestais e diferem em grau de importância para cada região. Entretanto a ocorrência de bactérias, nematóides, vírus e fitoplasmas é bastante esporádica, prevalecendo patógenos fúngicos. Grande destaque é dado aos fungos causadores de podridões da madeira, grande parte deles, classificados no Filo Basidiomycota (Oliveira *et al.*, 2005). A literatura é vasta

para este grupo de patógenos, principalmente quando se trata das espécies de valor expressivo de cultivo como o eucalipto, o pinus e a teca. Espécies fúngicas podem ser encontradas causando inibição na germinação de sementes, *damping-off* em viveiros, podridão da madeira e desfolha de árvores. Dentre os fungos que se destacam causando perdas em espécies florestais importantes na arborização e em florestas nativas estão espécies do gênero *Phytophthora*, *Fusarium*, *Cryphonectria* e *Armillaria* (Loustau *et al.*, 2006; Wingfield *et al.*, 2010).

Os relatos de nematóides em espécies florestais são escassos, aparentemente devido à ausência de sintomas visíveis e a dificuldade de acesso aos locais de amostragem. Os estudos, embora limitados, são reveladores mostrando nematóides em árvores florestais importantes, como a acácia, eucalipto, teca, pinho e madeira de sândalo (*Santalum album*). Os principais nematóides encontrados pertencem aos gêneros *Helicotylenchus*, *Tylenchorhynchus*, *Hemicriconemoides*, *Pratylenchus*, *Meloidogyne*, *Xiphinema*, *Trichodorus* e *Paratrichodorus* (Goulart, 2007). Os danos causados por nematóides em árvores florestais geralmente aparecem como um lento declínio do crescimento que gradualmente se agrava, levando à morte da árvore dentro de 5 a 10 anos. Em outras situações, os nematoides *Bursaphelenchus xylophilus* (nematóide do anel vermelho do coqueiro) e *Subanguina chilensis* (nematóide foliar) causam murcha, seca e desfolha de uma parte ou de toda a árvore dentro de um ano (Khan *et al.*, 2012).

Entre as bactérias fitopatogênicas que acometem as espécies florestais cita-se *Ralstonia* (= *Pseudomonas*) *solanacearum* (Dianese *et al.*, 1990) e *Xanthomonas axonopodis* (Alfenas *et al.*, 2004; Auer & Santos, 2009).

1.6.1. Vírus em espécies florestais e arbóreas: exemplos de estudos clássicos

Nienhaus & Castello (1989) fizeram uma extensa revisão compilando espécies de vírus que ocorrem no norte da Europa e Hemisfério Norte da América. Após este período outros vírus foram relatados e encontram-se descritos na **Tabela 1**.

Em florestas nativas da Alemanha Mielke & Muehlbach (2007) detectaram *European mountain ash ringspot-associated virus* - EMARaV (gênero *Emaravirus*) infectando *Sorbus aucuparia*. Estudos anteriores haviam demonstrado que este vírus está também disseminado pelas florestas do norte europeu (Jamalainen, 1957; Kegler *et al.*, 1996). Espécies de *Emaravirus* apresentam genoma segmentado em quatro tipos de RNA fita simples sentido negativo totalizando aproximadamente 12. 2 Kb. As espécies são transmitidas por enxertia e possivelmente pelo ácaro eriofídeo *Phytoptus pyri* (Mielke-Ehret *et al.*, (2010). Plantas de sabugueiro vermelho (*Sambucus racemosa*) e diferentes espécies de betula (*Betula* spp.) coletadas em florestas boreais da Finlândia foram confirmadas positivas para infecção por EMARaV e *Cherry leaf roll virus* - CLRV (gênero *Nepovirus*, subfamília: *Comovirinae* e família *Secoviridae*) (Arndt *et al.*, 2007). A espécie CLRV apresenta dois RNAs (RNA1 e RNA 2) de fita simples sentido positivo, e o genoma encontra-se completamente sequenciado (Eastwell *et al.*,2012). Outro gênero viral detectado em espécies de sistemas naturais foi o *Cryptovirus* em *Pinus sylvestris* (assintomático) em florestas da Alemanha e Hungria (Veliceasa *et al.*, 2006).

Tabela 1: Vírus relatados em espécies arbóreas listadas pelo nome científico. Adaptada de Nienhaus & Castello, 1989.

Nome científico	Vírus (espécie ou gênero ou tipo de partícula)	Referências
<i>Abies Alba</i>	Partículas icosaédricas/hastes rígidas	Frenzel (1987)
<i>Acer spp</i>	<i>Arabis mosaic virus</i>	Thomas (1970)
<i>Acer negundo</i>	<i>Maple leaf perforation virus</i>	Subikova (1973); Blattny (1965)
<i>Acer rubrum</i>	<i>Maple mosaic virus</i>	Szirmai (1972)
<i>Acer saccharum</i>	<i>Maple mosaic virus</i>	Szirmai (1972)
	<i>Peach rosette virus</i>	Kenknight (1960)
	<i>Tobamovirus</i>	Lana <i>et al.</i> (1980)
<i>Adansonia digitata</i>	<i>Cacao swollen shoot virus</i>	Brunt <i>et al.</i> (1996).
<i>Aesculus spp</i>	<i>Strawberry latent ringspot virus</i>	Schmelzer & Schmidt (1967);Sweet & Barbara (1979);
<i>Betula spp</i>		Cooper (1979)
<i>Betula verrucosa</i>	<i>Tobacco necrosis virus</i>	Cooper & Massalski (1984)
	<i>Tobacco rattle virus</i>	
<i>Betula pubescens</i>	<i>Cherry leafroll virus</i>	Cooper & Atkinson (1975);
	<i>Prune dwarf virus</i>	Hamacher (1986);
	Partículas	Hamacher <i>et al.</i> (1987)
<i>Betula pendula</i>	<i>Cherry leafroll virus</i>	Schimanski <i>et al.</i> (1980); Schmelzer (1972)
<i>Betula nigra</i>	<i>Prunus necrotic ringspot</i>	Cooper & Massalski (1984)
	<i>Prune dwarf virus</i>	Cooper (1979)
<i>Betula alleghaniensis</i>	<i>Apple mosaic virus</i>	Gotlieb (1975); Gotlieb & Berbee (1973); Hardcastle & Gotlieb (1980)
	Vírus latente	Gotlieb (1974)
<i>Betula papyrifera</i>	<i>Apple mosaic virus</i>	Gotlieb (1974); Gotlieb & Berbee (1973);
	<i>Prune dwarf virus</i>	Cooper & Massalski (1984)
<i>Castanea sativa</i>	<i>Tobacco mosaic virus</i>	Horváth <i>et al</i> (1975)
<i>Ceiba pentandra</i>	<i>Cacao swollen shoot virus</i>	Brunt <i>et al.</i> (1996).
<i>Cercis sp</i>	Partículas	Kim & Martin (1978)
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i>	<i>Aarabis mosaic virus</i>	Harrison (1960)
<i>Cola chlamydantha</i>	<i>Cacao swollen shoot virus</i>	Brunt <i>et al.</i> (1996).
<i>Cola gigantea var. glabrescens</i>	<i>Cacao swollen shoot virus</i>	Brunt <i>et al.</i> (1996).
<i>Corynocarpus laevigatus</i>	<i>Cucumber mosaic virus</i>	Ashby (1977)
<i>Cupressus arizonica</i>	<i>Tobacco ringspot virus</i>	Fulton (1969)
<i>Eucalyptus citridodora</i>	Partículas/hastes rígidas	Sastry <i>et al.</i> (1971)
<i>Eucalyptus macrorhyncha</i>	Partículas icosaédricas	Brzostowski & Grace (1974)

<i>Fagus sylvatica</i>	<i>Tomato blackring virus</i> <i>Potex/Potyvirus</i> <i>Potato virus X</i> <i>Potexvirus</i> <i>Bean yellow mosaic virus</i>	Schmelzer <i>et al.</i> (1966) Nienhaus <i>et al.</i> (1985) Winter & Nienhaus (1989) Winter & Nienhaus (1989) Winter & Nienhaus (1989)
<i>Fraxinus excelsior</i>	<i>Cherry leafroll virus</i> <i>Brome mosaic virus</i> <i>Tobacco necrosis virus</i> <i>Arabis mosaic virus</i> <i>Cherry leafroll virus</i> Partículas	Barnett (1971); Winter & Nienhaus (1989) Barnett (1971); Winter & Nienhaus (1989) Buttner &Nienhaus (1989) Casalicchio (1965) Cooper (1975); Cooper & Sweet (1976) Nienhaus & Hamacher (1989) Ciferri <i>et al.</i> (1961)
<i>Fraxinus americana</i>	<i>Tobacco mosaic virus</i> <i>Arabis mosaic virus</i> <i>Tobacco ringspot virus</i> <i>Tomato ringspot virus</i>	Castello <i>et al.</i> (1984); Ferris <i>et al.</i> (1989); Lana & Agrios (1974) Cooper & Sweet (1976) Castello <i>et al.</i> (1984); Ferris <i>et al.</i> (1989); en Hibben & Hagar (1975) Ferris <i>et al.</i> (1987); Ferris <i>et al.</i> (1989); Hibben & Reese (1983); Hibben <i>et al.</i> (1988)
<i>Fraxinus holotricha</i>	<i>Tobacco mosaic virus</i> <i>Tobacco ringspot virus</i>	Amico <i>et al.</i> (1985); Castello <i>et al.</i> (1983) Amico <i>et al.</i> (1985);
<i>Fraxinus pennsylvanica</i>	<i>Tobacco mosaic virus</i> <i>Tobacco ringspot virus</i> <i>Tomato ringspot virus</i>	Ferris <i>et al.</i> (1987); Ferris <i>et al.</i> (1989);
<i>Juglans sp</i>	<i>Cherry leafroll virus</i> <i>Walnut ringspot virus</i> <i>Walnut yellow mosaic virus</i>	Cooper (1980); Massalski & Cooper (1984); Mircetich & Rowhani (1984); Mircetich <i>et al.</i> (1980); Rowhani <i>et al.</i> (1985) Savino <i>et al.</i> (1976) Savino <i>et al.</i> (1976)
<i>Larix decidua</i>	<i>Tobacco necrosis virus</i>	Buttner &Nienhaus (1989)
<i>Malus spp.</i>	<i>Apple chlorotic leaf spot virus</i>	Cadman (1963); Cropley (1963, 1964); Lister <i>et al.</i> (1965)

<i>Picea abies</i>	<i>Tobacco necrosis virus</i> <i>Potyvirus</i> Partículas icosaédricas/hastes rígidas Partículas/hastes rígidas e flexíveis	Buttner & Nienhaus (1989) Nienhaus (1985) Cech <i>et al.</i> (1961); Frenzel (1987); Biddle & Tinsley (1968) Gugerli <i>et al.</i> (1986)
<i>Picea sitchensis</i>	Partículas icosaédricas/hastes rígidas Partículas/hastes rígidas e flexíveis <i>Tomato blackring virus</i> Partículas/hastes rígidas	Cech <i>et al.</i> (1961); Frenzel (1987); Biddle & Tinsley (1968) Gugerli <i>et al.</i> (1986) Harrison (1960) Biddle & Tinsley (1968)
<i>Pinus monticola</i>	Partículas/hastes rígidas	Biddle & Tinsley (1968)
<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Scots pine mosaic virus</i> Partículas/hastes rígidas <i>Tobacco necrosis virus</i> <i>Apple mosaic virus</i> <i>Cryptovirus</i>	Schmelzer <i>et al.</i> (1966) Biddle & Tinsley (1968) Buttner & Nienhaus (1989) Sweet (1980); Sweet & Barbara (1979) Veliceasa <i>et al.</i> (2006)
<i>Paulownia sp</i>	<i>Apple mosaic virus</i> Partículas/hastes rígidas	Sweet (1980); Sweet & Barbara (1979) Hung <i>et al.</i> (1981)
<i>Populus spp</i>	<i>Poplar mosaic virus</i> <i>Rhabdovirus</i> <i>Potyvirus</i> <i>Tomato blackring virus</i> <i>Tobacco rattle virus</i> <i>Arabis mosaic virus</i>	Biddle & Tinsley (1971); Boccardo <i>et al.</i> (1973); Brcaj & Blatny (1962); Luisoni <i>et al.</i> (1976); Schmelzer (1966) Navratil (1981) Martin <i>et al.</i> (1982) Cooper & Sweet (1976) Cooper & Sweet (1976) Cooper & Sweet (1976)
<i>Prunus spp.</i>	<i>Plum pox virus</i>	Adams (1978)
<i>Prunus avium</i>	<i>Tobacco necrosis virus</i> <i>Prunus necrotic ringspot</i> <i>Cherry leafroll virus</i> <i>Petunia asteroid mosaic virus</i>	Castello & Berbee (1978); Hibben <i>et al.</i> (1979) Fulton (1970) Schimanski & Funk (1968) Gruntzig <i>et al.</i> (1989)
<i>Prunus domestica</i>	<i>Strawberry latent ringspot virus</i>	Cohen <i>et al.</i> (1995)
<i>Prunus padus</i>	<i>Prunus necrotic ringspot virus</i> <i>Cherry leafroll virus</i>	Schimanski <i>et al.</i> (1975)

<i>Prunus serotina</i>	<i>Prune dwarf virus</i> <i>Cherry leafroll virus</i>	Schimanski <i>et al.</i> (1976) Schimanski & Funk (1968)
<i>Prunus pensylvanica</i>	<i>Prunus necrotic ringspot virus</i> <i>Prune dwarf virus</i>	Cation (1952); Fulton (1970) Megahed & Moore (1967); Megahed & Moore (1969)
<i>Prunus pérsica</i>	<i>Strawberry latent ringspot virus</i>	Cohen <i>et al.</i> (1995)
<i>Quercus spp</i>	<i>Tobacco mosaic virus</i> Partículas/hastes rígidas <i>Abutilon mosaic virus</i>	Nienhaus & Yarwood (1972); Yarwood (1971); Yarwood & Hecht-Poinar (1973) Schmelzer <i>et al.</i> (1966) Frischmuth <i>et al.</i> (1990)
<i>Quercus robur</i>	<i>Tobacco mosaic virus</i> <i>Potex/Potyvirus</i> <i>Tobacco necrosis virus</i> <i>Partículas icosaédricas</i>	Nienhaus (1975) Nienhaus (1985) Buttner & Nienhaus (1989) Nienhaus (1985)
<i>Quercus petraea</i>	<i>Tobacco mosaic virus</i> <i>Potex/Potyvirus</i> <i>Partículas icosaédricas</i>	Nienhaus (1975) Nienhaus (1985) Nienhaus (1985)
<i>Quercus cerris</i>	<i>Tobacco mosaic virus</i>	Horváth <i>et al.</i> (1975)
<i>Quercus marilandica</i>	Partículas/hastes flexíveis	Kim & Fulton (1973); Barnett (1971)
<i>Quercus velutina</i>	Partículas/hastes flexíveis	Kim & Fulton (1973)
<i>Robinia pseudoacacia</i>	<i>Bean yellow mosaic virus</i>	Kovachevsky (1968)
<i>Sambucus rancemosa</i>	<i>European mountain ash ringspot-associated virus</i>	Arndt <i>et al.</i> (2007)
<i>Senna macranthera</i> (syn. <i>Cassia macranthera</i>)	<i>Cassia mild mosaic virus</i> <i>Potyvirus</i> <i>Tymovirales</i>	Costa <i>et al.</i> (1989) Beserra Jr <i>et al.</i> (2012) Beserra Jr <i>et al.</i> (2012)
<i>Senna occidentalis</i>	<i>African cassava mosaic virus</i>	Alabi <i>et al.</i> (1985)
<i>Sorbus aucuparia</i>	<i>Robinia true mosaic virus</i> <i>Tomato blackring virus</i> <i>Strawberry latent ringspot virus</i> <i>Partículas icosaédricas</i> <i>Apple mosaic virus</i> <i>Apple chlorotic leafspot virus</i> <i>Stem pitting virus</i> <i>European mountain ash ringspot-associated virus</i>	Schmelzer (1966); Schmelzer (1971) Milinko & Schmelzer (1961); Schmelzer (1963) Schmelzer (1968) Kim & Fulton (1973) Schmelzer (1977) Sweet (1980) Sweet (1980) Kalline <i>et al.</i> (2008)
<i>Sterculia tragacantha</i>	<i>Cacao swollen shoot virus</i>	Brunt <i>et al.</i> (1996)
<i>Theobroma cacao</i>	<i>Cacao swollen shoot virus</i>	Posnette (1947)

	<i>Cacao yellow mosaic virus</i>	Brunt <i>et al.</i> (1965)
<i>Ulmus spp.</i>	<i>Elm mottle virus</i>	Jones (1974); Jones & Mayo (1973); Schmelzer (1969); Schmelzer <i>et al.</i> (1966)
	<i>Arabis mosaic virus</i>	McNamara (1980)
	<i>Potyvirus</i>	Schmelzer et al (1966)
	<i>Cherry leafroll virus</i>	Ford <i>et al.</i> (1972); Fulton (1970); Jones (1973)
	<i>Tobacco ringspot virus</i>	Shiel & Castello (1985)
	<i>Tomato ringspot virus</i>	Varney & Moore (1952; 1965)

O Bioma Cerrado ocupa aproximadamente dois milhões de km² (em torno de 22% da superfície do território nacional) e abrange os Estados de GO, DF, MT, MS, TO, SP, BA, CE, MA e PI. Para Oliveira & Marquis (2002) o Cerrado é um dos biomas mais ameaçados da América do Sul e estima-se que em torno de 50% da região esteja sendo usada diretamente pela população humana. A expansão de atividades agropecuárias ocupou áreas outrora destinadas aos sistemas nativos. Dados apontam que cerca de 35% do total da vegetação nativa foi convertido em culturas agrícolas ou pastagens (Oliveira & Marquis, 2002). Entre os sistemas nativos e as áreas cultivadas surge as áreas de interface, as quais sabidamente exercem uma pressão de seleção sobre os microorganismos, incluindo espécies virais, contribuindo para evolução e surgimento de novas variantes patogênicas e/ou espécies. Acredita-se que o fluxo de espécies virais entre os sistemas nativos (dos quais algumas espécies de plantas já são exploradas comercialmente) e as plantas cultivadas seja contínuo, devido a proximidade física destes diferentes sistemas em alguns casos e principalmente pela transmissão das espécies virais via artrópodes vetores.

O Bioma Cerrado apresenta sua maior faixa dentro da região Centro-Oeste, onde concentram-se extensas áreas de plantio de soja (*Glycine max*) e tomate para processamento, duas importantes culturas para o agronegócio brasileiro. Estas culturas são afetadas por diferentes patógenos e em ambas, as viroses podem, ocasionalmente, levar a grandes perdas na produção. Alguns estudos têm confirmado ainda um aumento na diversidade de espécies virais ocorrendo nestas duas culturas nos últimos anos. Para a soja citam-se os trabalhos de Almeida (2000), Fernandes *et al.* (2009) e Coco *et al.* (2013). Para o tomate, vários trabalhos foram realizados, dentre eles: Ambrozevicius *et al.* (2002); Galvão *et al.* (2003), Ribeiro *et al.* (2003, 2006), Zerbini *et al.* (2005), Andrade *et al.* (2006), Calegario *et al.*, (2007); Fernandes *et al.* (2006, 2008) e

Albuquerque *et al.* (2010). Espécies classificadas nos gêneros *Begomovirus*, *Tospovirus* e *Potyvirus* ocupam papel importante neste cenário e estão relativamente bem documentadas para espécies hospedeiras cultivadas.

O conhecimento sobre a diversidade viral nos ecossistemas naturais e nas áreas de interface (também denominadas de zonas de transição) ainda é escasso no Brasil. O mesmo também é válido para espécies florestais/arbóreas que já estão sendo exploradas comercialmente. Os estudos quanto à resposta destas espécies a vírus e a caracterização de vírus que nelas ocorrem são incipientes e/ou inexistentes. A carência de estudos pode ser explicada, em parte, por características intrínsecas desse grupo de patógenos. A natureza do parasitismo viral, suas propriedades biológicas, aliadas com a necessidade de um conhecimento prévio do genoma viral (exigido para o estabelecimento de algumas sistemas de detecção), tornam as técnicas tradicionais disponíveis ineficientes para detecção e caracterização de novos vírus. Recentemente novas tecnologias de sequenciamento em larga escala associadas à diferentes protocolos de enriquecimento viral (Melcher *et al.*, 2008; Ng *et al.*, 2011), dentre outros, vêm contribuindo para caracterizar de maneira mais ampla a diversidade deste grupo de patógenos em diferentes condições tais como ambientes aquáticos (Labonte & Suttle, 2013) e em amostras humanas (Delwart, 2013; Firth & Lipkin, 2013).

Neste contexto, o estudo e caracterização da diversidade viral e comportamento de espécies florestais/arbóreas do Bioma Cerrado a diferentes espécies deste grupo de patógenos é crucial para programas de proteção fitossanitária no sentido de minimizar a emergência de novas doenças em plantas nativas ou cultivadas. Muitas vezes as espécies virais não induzem sintomas nas plantas hospedeiras nativas e os vírus nativos podem causar doenças em plantas hospedeiras experimentais ou em plantas cultivadas em áreas próximas à estas plantas nativas infectadas (Min *et al.*, 2012; Webster *et al.*,

2007). Existe ainda a possibilidade de espécie florestais/arbóreas funcionarem como reservatórios de importantes vírus que acometem as espécies cultivadas. Todos estes fatores podem propiciar as condições para o surgimento de novas espécies virais em espécies cultivadas. Evidências experimentais indicam que algumas plantas nativas do Cerrado são hospedeiras de vírus como GRSV e TSWV (gênero *Tospovirus*) e PVY (gênero *Potyvirus*) (Farias, 2012). Pesquisas com espécies florestais/arbóreas, provenientes de Áreas de Reserva ou Proteção Ambiental e até mesmo de mudas produzidas em viveiros podem trazer informações importantes quanto a distribuição/fluxo de espécies virais nestes ambientes.

1.6.2. Vírus em espécies arbóreas no Brasil

Conforme mencionado, o Brasil é um país detentor de uma grande diversidade biológica, encontrada nos diversos ecossistemas existentes com suas numerosas formas de vida. No país, os trabalhos pioneiros de vírus em espécies florestais/arbóreas são os de Costa *et al.* (1979) ao relatarem uma possível espécie do gênero *Carlavirus* isolado de *Cassia sylvestris*. Lin *et al.* (1980) associaram a morte súbita de *Cassia macranthera* ocorrendo em árvores urbanas do DF ao *Cassia mild mosaic virus* - CMMV (gênero *Carlavirus*, família *Flexiviridae*). Recentemente, Beserra *et al.* (2012) encontraram dois novos vírus em *Senna macranthera* (= *Cassia macranthera*), espécie comum usada na arborização urbana de Viçosa-MG. As espécies foram classificadas taxonomicamente em uma nova espécie do gênero *Potyvirus*, e a outra na ordem *Tymovirales*, gênero não definido. Farias (2012) realizou testes de inoculação mecânica, em espécies do Bioma Cerrado, com intuito de detectar potenciais hospedeiras das espécies virais GRSV, TSWV e PVY. Através de sorologia (Dot Blot) foi possível confirmar como hospedeira de TSWV, paineira rosa, jatobá do cerrado, paineira do cerrado (*Eriotheca pubescens*),

pau santo (*Kielmeyera coreacea*) e pacari (*Lafoensia pacari*). Como hospedeiras de GRSV foram encontradas paineira rosa, paineira do cerrado, ingá branco (*Inga laurina*), pacari e aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius*) e de PVY em paineira do cerrado e ingá demonstrando assim que as espécies acima listadas constituem fontes de inóculo destas espécies virais. Farias (2012) detectou ainda uma espécie de *Begomovirus* em *Mimosa caesalpinifolia* coletada em Cuiabá-MT.

1.6.3. Vírus em espécies florestais e arbóreas: metagenômica

Os avanços no campo da Biologia e da Bioinformática abriram uma nova era denominada “ômica”. O sufixo oma tem origem no latim e significa “conjunto de”. Neste cenário temos a genômica, proteômica, transcriptômica e metabolômica. Todas estas ciências apresentam um ponto em comum: análise de um grande volume de informações com uso de bioinformática para interpretação dos dados. De uma forma bastante simplificada podemos dizer que a metagenômica consiste na análise genômica de uma comunidade de microorganismos independente do seu cultivo em meios artificiais (Amann *et al.*, 1995; Rondon *et al.*, 2000). Desta forma, a metagenômica se converte em uma ferramenta útil para se conseguir analisar a biodiversidade de microorganismos provenientes de amostras ambientais. O uso da técnica tem se tornado comum em outras áreas da ciência e vem auxiliando pesquisadores a elucidar diversos aspectos inerentes a biodiversidade de microorganismos em diferentes ambientes. Assim estudos em *Mimivirus* (Ghedini & Claverie, 2005; Monier *et al.*, 2008) e metagenômica de comunidades virais (Roux *et al.*, 2013) têm sido possíveis graças a metagenômica. Provenientes destes resultados gerados com auxílio da metagenômica, novos trabalhos de detecção de genomas virais, como de *Mimivirus* (Saadi *et al.*, 2013) em pacientes com pneumonia e evidências de membros da ordem Megavirales em

humanos, tem sido publicados (Colson *et al.*, 2013). A associação destes vírus e sua participação junto a outros patógenos que causam doenças em humanos é um campo ainda a ser investigado.

Recentemente a área de vírus de plantas também tem se beneficiado das vantagens advindas do uso da metagenômica e estes estudos têm causado uma revolução em nossa capacidade de caracterizar, em larga escala, a diversidade viral. Alguns autores como Roossinck *et al.* (2010) e Roossinck (2012; 2013) acreditam que milhares de novas espécies virais serão descobertas em plantas.

Estudos realizados por MacDiarmid *et al.* (2013) e Wren *et al.* (2006) em uma pradaria nos EUA (Tallgrass Prairie Preserve), auxiliaram na identificação de cerca de 300 espécies virais, das quais apenas 18 correspondiam a espécies virais conhecidas. Se por um lado, alguns trabalhos mais antigos como os de Nienhaus & Castello (1989), Nienhaus (1985) e Cooper (1993) mostram que espécies virais relatadas em ecossistemas nativos são as mesmas que ocorrem nas espécies cultivadas, a medida que novos estudos em metagenômica vêm sendo realizados, o nosso conhecimento da diversidade viral em plantas aumenta e percebe-se nitidamente que as espécies virais em plantas nativas diferem para plantas cultivadas (Roossinck, 2013; Wren *et al.*, 2006). Grande parte destes estudos apontam uma grande diversidade de vírus em plantas assintomáticas (Roossinck, 2013) e sugerem que estas plantas funcionam como fonte de inóculo para outras plantas. De acordo com Xu *et al.* (2008) espécies virais podem ainda estar implicadas na tolerância ao frio em plantas infectadas. Para Malmstrom *et al.* (2011), pode ocorrer ainda a resistência a infecção por outros vírus.

A grande preocupação entretanto ocorre, quando espécies virais emergentes de ecossistemas nativos são capazes de causar danos significativos em plantas cultivadas (Rodoni, 2009) e vice-versa. Webster *et al.* (2007) estudaram a região florística do

sudoeste Australiano representada por um ecossistema nativo e um agroecossistema recente e detectaram a espécie exótica capaz de causar danos em hospedeiras nativas: *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) a qual provavelmente foi introduzida via bulbos de gladiólos.

2. Berinjela (*Solanum melongena*) taxonomia, centro de origem e importância econômica.

A berinjela (*Solanum melongena*) é uma espécie classificada na família Solanaceae. Essa família abrange diversas espécies de alto valor comercial como pimentas (*Capsicum* spp.), pimentões (*Capsicum annuum*), batata (*Solanum tuberosum*), jiló (*Solanum aethiopicum* var. *gilo*) e tomate (*Solanum lycopersicum*); destacando-se este último por ser a segunda hortaliça mais consumida no país e ser suscetível a vários patógenos, inclusive espécies virais (Filgueira, 2008; Vorontsova & Knapp, 2012).

Estudos indicam que a berinjela é originária das regiões tropicais da Índia. A espécie tem sido cultivada há muitos séculos pelos chineses e árabes e foi introduzida no Brasil pelos árabes (Filgueira, 2008; Joly, 1998). O cultivo de berinjela é economicamente importante e estima-se que dois milhões de ha estejam plantados em vários países do mundo. A China e a Índia são os maiores países produtores de berinjela (FAO, 2011). No Brasil a área plantada ocupa pouco mais de 1500 ha, principalmente nos estados de SP, RJ e PR (Reis *et al.*, 2007). O cultivo da berinjela é anual e exige temperatura e luminosidade elevadas; entretanto durante a floração e a frutificação, tolera temperaturas mais amenas (Filgueira, 2000). Além disto, a cultura é ainda bastante rústica, sendo mais ‘tolerante’ a doenças que outras olerícolas da família *Solanaceae*, como o tomate, a batata e o pimentão (Reis *et al.*, 2007), apesar de ser

suscetível a uma série de patógenos e insetos comuns a diversas plantas dessa família. O consumo de berinjela está em alta no mercado. Este fato é motivado pela escolha de produtos mais saudáveis para alimentação, bem como pelas suas propriedades fitoterápicas (Filgueira, 2000). O fruto da berinjela é rico em vitaminas B1, B2 e minerais como o cálcio, fósforo, ferro e potássio, sendo recomendado ainda para enfermidades do aparelho digestivo, rins e bexiga, bem como nas afecções cutâneas e redução do nível de colesterol (Hortibrasil, 2007).

2.1. Patógenos da berinjela

Fungos, bactérias, nematóides e vírus, acometem a berinjela. Dentre eles cita-se *Verticillium dahliae*, *Ralstonia solanacearum*, espécies de *Meloidogyne* e *Tospovirus* (Reis *et al.*, 2007). Alguns vírus já relatados incluem: *Eggplant mosaic virus* (EMV), uma espécie de *Tymovirus* (família *Tymoviridae*) (Ferguson, 1951; Dale, 1954), *Eggplant mottled dwarf virus* (EMDV) classificado no gênero *Nucleorhabdovirus* (família *Rhabdoviridae*) (Martelli, 1969) e o *Eggplant mottle crinle virus* (EMCV) membro do gênero *Tombusvirus* (família *Tombusviridae*) (Makkouk, 1981). Outras espécies incluídas na lista são classificadas nos gêneros *Begomovirus*, *Tobamovirus*, *Tospovirus* e *Cucumovirus*.

Espécies de *Potyvirus* também já foram relatadas em berinjela: *Eggplant green mosaic virus* (EGMV) (Lapido *et al.*, 1988), *Eggplant severe mottle virus* (ESMV) (Lapido *et al.*, 1988), *Pepper veinal mottle virus* (PVMV) (Igwegbe & Waterworth, 1982), *Brinjal mild mosaic virus* (BMMV) (Naqvi & Mahmood, 1976) e *Potato virus Y* (Sastry *et al.*, 1974; Brioso *et al.*, 1988). Segundo Scholthof *et al.* (2011), PVY encontra-se na quinta posição da lista das dez espécies de maior relevância para ciência e economia. Recentemente, Dombrovsky *et al.* (2011) relataram em Israel, a espécie

Eggplant mild leaf mottle virus (EMLMV) (gênero *Ipomovirus*, família *Potyviridae*) a qual é transmitida pelo aleirodídeo *Bemisia tabaci* (família *Aleyrodidae* e ordem *Hemiptera*). Al-Ani *et al.* (2011) caracterizaram no Iraque uma provável espécie de *Potyvirus*, cuja transmissão foi confirmada em ensaios usando *Myzus persicae* (família *Aphididae* e ordem *Hemiptera*).

Três espécies de *Begomovirus* já foram relatadas em berinjela. Na Tailândia, Green *et al.* (2003) relataram as espécies: *Tomato yellow leaf curl Thailand virus* (TYLCTHV) e *Ageratum yellow vein virus* (AYVV). Na Índia Pratap *et al.* (2011) relataram *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV). Espécies do gênero *Tospovirus* também infectam a berinjela. Lima *et al.* (2002) inocularam mecanicamente o TSWV, o GRSV, *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV) e *Chrysanthemum stem necrosis virus* (CSNV) em plantas de berinjela, as quais apresentaram resposta de suscetibilidade. Os resultados de Reis *et al.* (2011) corroboram estes resultados.

Um fato interessante e comumente observado refere-se à ausência de registros de epidemias virais em lavouras de berinjela mesmo quando cultivadas próximas a campos de tomate suscetíveis a várias espécies virais. Estudos, bem como a compreensão das características da berinjela para que este fato ocorra são importantes para o melhoramento genético de diferentes solanáceas.

3. Espécies virais importantes para a família *Solanaceae*

Uma das principais solanáceas cultivadas é o tomate e espécies de *Begomovirus* têm sido apontadas como um dos principais problemas fitossanitários para esta cultura no Brasil e no Mundo (Hanssen *et al.*, 2010; Varma & Malathi, 2003). Espécies de *Potyvirus* e *Tospovirus* também infectam o tomate (Zerbini & Zambolim, 1999; Ávila *et al.*, 2004).

3.1. Família *Geminiviridae*

A família *Geminiviridae* constitui uma grande família de vírus de plantas apresentando como características típicas: partículas geminadas e DNA de fita simples circular (single strand DNA - ssDNA). O genoma viral é formado por um componente de DNA (denominado DNA A) ou por dois componentes genômicos de DNA (denominados DNA A e B), sendo as espécies classificadas em monopartidas ou bipartidas, respectivamente. Espécies virais classificadas nesta família causam graves prejuízos em culturas importantes a nível mundial (Hanley- Bowdoin *et al.*, 1999; Brown *et al.*, 2011). 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 *et al.*, 2011). Estes vírus costumam existir em complexos de doenças e apresentam altas taxas de recombinação e mutação, permitindo-lhes adaptar-se rapidamente a novos hospedeiros e ambientes (Reyes *et al.*, 2013).

A família *Geminiviridae* encontra-se dividida em sete gêneros: *Becurtovirus*, *Begomovirus*, *Curtovirus*, *Eragrovirus*, *Mastrevirus*, *Topocuvirus* e *Turncurtovirus*. Estes gêneros são separados de acordo com sua organização genômica, inseto vetor e gama de hospedeiros (Brown *et al.*, 2011; Adams *et al.*, 2013).

Espécies pertencentes ao gênero *Mastrevirus* são monopartidas, infectam monocotiledôneas (com três exceções) e são transmitidos por cigarrinha (*Cicadulina mbila*) (Brown *et al.*, 2011).

Espécies de *Topocuvirus* e *Curtovirus* apresentam genoma monopartido, infectam dicotiledôneas e são transmitidos por membracídeos (*Micrutalis malleifera*) e cigarrinhas (*Circulifer tenellus*) respectivamente (Fauquet & Stanley, 2003; Brown *et al.*, 2011).

Espécies classificadas em *Begomovirus* são transmitidas pelo vetor *Bemisia tabaci* a espécies de dicotiledôneas. No Brasil todas as espécies relatadas em tomateiro são de begomovírus bipartidos. Maiores detalhes serão abordados a seguir.

Os gêneros *Becurtovirus* (Heydarnejad *et al.*, 2013), *Turncurtovirus* e *Eragrovirus*, foram recentemente incluídos à família *Geminiviridae* através de uma ratificação do International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) (Adams *et al.*, 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; Varsani *et al.*, 2009) Esta espécie foi encontrada infectando um tipo de capim (*Eragrostis curvula*) na África do Sul e possui duas regiões intergênicas e o nonanucleotídeo distinto da origem de replicação dos demais membros da família *Geminiviridae*. O outro gênero proposto: *Turncurtovirus* tem como espécie tipo *Turnip curly top virus* (TCTV) e foi isolado em folhas de nabo no Irã. Esta espécie possui organização genômica e inseto vetor (Razavinejad *et al.*, 2013) distintos das demais espécies já descritas até então.

3.1.1. Gênero *Begomovirus*

Espécies classificadas no gênero *Begomovirus* podem ser monopartidas (DNA A) ou bipartidas (DNA A e DNA B). Atualmente considera-se *Begomovirus* como o mais importante gênero de vírus de plantas em termos de número de espécies já descritas (Brown *et al.*, 2011). Para classificar uma nova espécie no gênero *Begomovirus* deve-se

considerar a identidade de sequência de nucleotídeos do DNA-A. Devido ao crescente número de espécies reconhecidas, derivações nas sequências completas de nucleotídeos são necessárias para distinguir uma espécie de outra. Identidade na sequência de nucleotídeos maior que 89% (DNA-A) entre dois isolados, indica tratar-se da mesma espécie, enquanto valores menores que 89% indicam uma provável espécie. Valores de identidade do DNA-A entre 89% e 94% são indicadas como estirpes e maior que 94% como variantes (Fauquet *et al.*, 2008; Brown *et al.*, 2011).

Espécies do gênero são responsáveis por perdas em culturas de tomate, pimentão, caupi (*Vigna unguiculata*), feijão (*Phaseolus vulgaris*), algodão (*Gossypium hirsutum*), mandioca (*Manihot esculenta*) e fava (*Phaseolus lunatus*) (Faria & Zerbini, 2000; Silva, 2006).

No Brasil, um complexo de aproximadamente dezesseis espécies dentro do gênero *Begomovirus* já foi relatado infectando tomateiro em todo o país (Ambrozevicius *et al.* (2002); Galvão *et al.* (2003), Ribeiro *et al.* (2003, 2006), Zerbini *et al.* (2005), Andrade *et al.* (2006), Calegario *et al.* (2007); Fernandes *et al.* (2006, 2008) e Albuquerque *et al.* (2010). Dentre estas, cita-se a espécie *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) distribuída em várias locais do país.

O genoma de begomovírus apresenta tamanho em torno de 2,5 - 2,6 kb. O componente DNA A pode replicar autonomamente e produzir partículas virais, mas requer o componente DNA B para movimento intra e intercelular na planta (Brown *et al.*, 2011). De acordo com Galvão *et al.* (2003), entretanto, o DNA A sozinho de ToCMoV consegue estabelecer uma infecção sistêmica em plantas de *Nicotiana benthamiana*.

Os dois componentes genômicos de *Begomovirus* apresentam identidade de sequência na região comum (RC) de aproximadamente 200 - 250 pares de bases. Esta

região é altamente conservada para os dois componentes de uma espécie viral e contém a sequência necessária para o início da replicação viral (Timmermans *et al.*, 1994; Farias & Zerbini, 2000; Orozco *et al.*, 1996). Em espécies de genoma monopartido, toda a informação genética para replicação e movimento está presente em apenas um componente (Lazarowitz, 1992).

A replicação do DNA viral 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 *et al.*, 2005; Gutierrez, 1999). O DNA A, pode codificar de quatro a seis proteínas. As ORFs (open read frame - única fase aberta de leitura), codificadas no sentido viral são: AV1 (*Coat Protein* ou Capa Protéica - CP), AV2 (*Precoat Protein* ou Proteína de movimento - PM) (Hofer *et al.*, 1997). No sentido complementar são encontradas: AC1 (*Replication-associated protein* ou Proteína associada à replicação-Rep), AC2 (*Transcriptional activator protein* ou Proteína transativadora-TrAp), AC3 (*Replication enhacer protein* ou Proteína potencializadora da replicação viral- Ren) (Settlage *et al.*, 2005) e AC4 importante na manifestação de sintomas e, pode ainda suprimir a resposta do hospedeiro à expressão da Rep (Vanitharani *et al.*, 2004). Nas espécies de *Begomovirus* bipartidos do Novo Mundo a ORF AV2 não está presente (Hofer *et al.*, 1997). A AV1 codifica para proteína capsidial (CP), com funções de proteção da informação genética viral, direcionamento nuclear, exportação nuclear de DNA transmissão e especificidade do vírus pelo vetor *Bemisia tabaci* (Harrison *et al.*, 2002; Azzam *et al.*, 1994; Briddon *et al.*, 1990; Hofer *et al.*, 1997). A ORF AC2 codifica a proteína transativadora da transcrição (TrAP) influenciando a transcrição e subseqüente expressão dos genes CP e NSP no sentido viral dos componentes A e B respectivamente (Brown *et al.*, 2011; Pratap *et al.*, 2011).

A ORF AC3 codifica a proteína Ren 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). O produto da ORF AC4 estimula a proliferação celular (Rojas *et al.*, 2005).

No componente DNA B as ORFs BV1 (sentido viral) e BC1 (sentido complementar) codificam proteínas relacionadas ao movimento viral na planta. A BV1 codifica a proteína NSP “nuclear shuttle protein” encarregada de transportar moléculas de ssDNA e dsDNA (DNA fita dupla) viral do núcleo até o citoplasma e A BC1 codifica a proteína de movimento MP encarregada do transportar de ssDNA ou dsDNA célula a célula via plasmodesma (Noueiry *et al.*, 1994, Sanderfoot *et al.*, 1996, Ward & Lazarowitz, 1999, Frischmuth *et al.*, 2007). O movimento de espécies bipartidas no interior de uma planta é mediado pelas proteínas codificadas pelos genes presentes no DNA-B. Por outro lado, nas espécies monopartidas a CP atua na dispersão viral também através de interações com os plasmodesmas (Gafni & Epel, 2002).

3.1.1.1. Gênero *Begomovirus* e o seu vetor *Bemisia tabaci*

Espécies de *Begomovirus* são transmitidas eficientemente pelo vetor *B. tabaci* popularmente conhecido como mosca-branca (**Figura 2**). No Brasil predomina o biótipo B, sendo que, a capacidade de dispersão e a variabilidade genética de espécies de *Begomovirus* nas principais regiões produtoras de tomate no Brasil e no mundo parecem estar diretamente associadas com a capacidade de transmissão das espécies virais pelo inseto vetor. Apesar de alguns pesquisadores separarem *B. tabaci* em biótipos De Barro *et al.*, (2011) concluíram que não há no momento evidências suficientes para afirmar que *B. tabaci* seja constituída por biótipos. Esses organismos não podem ser

distinguidos morfologicamente, somente molecularmente através de comparações de nucleotídeos do gene citocromo oxidase I (mtCO1), uma das enzimas catalisadora da cadeia respiratória. Acredita-se que os diferentes biótipos de *B. tabaci* formem um complexo de 24 espécies que se subdividem em onze grupos genéticos, entre eles: Middle East-Asia Minor (MEAM1) relacionado com os biótipos “B” e “B2”, Mediterranean species (MED) relacionado com os biótipos: “Q”, “J” e “L”, New World species relacionado com os biótipos “A”, “C”, “D”, “F”, Jatropha, “N”, “R” e Sida (Dinsdale *et al.*, 2010). Em estudo recente Marubayashi *et al.* (2012) fizeram um estudo com diferentes populações de *B. tabaci* presente nos estados de SP e MT entre os anos de 2008 e 2011, e encontraram espécies presentes nos grupos MEAM1, New World e New World 2.



Figura 2: Adulto de mosca-branca (*Bemisia tabaci* biótipo B) em *Guazuma ulmifolia* (mutamba).

Espécies de *B. tabaci* medem 1 mm de comprimento com quatro asas membranosas recobertas por uma pulverulência branca. O ciclo de vida é por volta de 15 dias e as fêmeas possuem longevidade de 18 dias (Jones, 2003). Estes aleirodídeos são cosmopolitas, disseminados em regiões tropicais e subtropicais, considerados

importantes pragas para agricultura (Harrison, 1985; Perring *et al.*, 2001; Brown, 1994 e Polston & Anderson, 1999) e responsáveis pela colonização de cerca de 600 espécies de plantas distribuídas em 74 famílias botânicas (Brown *et al.*, 1995). Além da transmissão viral, espécies de mosca-branca provocam ação toxicogênica na planta (Gallo *et al.*, 2002). Segundo Brown *et al.* (2011) espécies virais classificadas nas famílias: *Geminiviridae* (gênero *Begomovirus*), *Closteroviridae* (gênero *Crinivirus*), *Betaflexiviridae* (gênero *Carlavirus*), e *Potyviridae* (gêneros *Potyvirus* e *Ipomovirus*) são transmitidos por *B. tabaci*. Jones (2003) relatou 114 espécies de vírus sendo transmitidas por *B. tabaci* e 90% deste total correspondia a espécies de *Begomovirus*.

Na inter-relação vírus vetor, estudos indicam que o período de acesso de aquisição (PAA) varia de 10 a 60 minutos e o período de acesso de inoculação (PAI) de 10 a 30 minutos, para muitos vírus no Velho e Novo Mundo (Idris & Brown, 1998; Santos *et al.*, 2003). O período de latência é de 17 a 20 horas e a mosca-branca permanece virulífera de 7 a 20 dias (Mehta *et al.*, 1994).

As interações estabelecidas entre espécies de *Begomovirus* com ‘biótipos’ de *B. tabaci* são de natureza complexa, envolvendo a circulação do vírus no corpo do inseto, transmissão horizontal em alguns casos, efeitos na fecundidade e longevidade do inseto (Ghanim *et al.*, 1998; Morin *et al.*, 1999; Hogenhout *et al.*, 2008). Todos esses fatores parecem afetar a interação vírus/vetor, podendo influenciar nas taxas de disseminação das espécies de begomovírus em condições de campo e conseqüentemente na evolução da doença. Outros fatores que podem interferir na disseminação de espécies de *Begomovirus* são decorrentes da interação vírus/planta e da interação vetor/planta.

3.2. Família *Potyviridae*

A família *Potyviridae* é constituída por nove gêneros sendo eles *Brambyvirus*, *Ipomovirus*, *Macluravirus*, *Rymovirus*, *Tritimovirus*, *Bymovirus*, *Poacevirus*, *Potyvirus* e um novo gênero ainda não definido agrupando as duas espécies o *Spartina mottle virus* (SpMV) e o *Tomato mild mottle virus* (ToMIMV) (Adams *et al.*, 2011).

As espécies classificadas nessa família são encontradas em todo o mundo infectando mais de 2000 espécies de plantas causando doenças em diversas culturas, anuais e perenes, de clima tropical e temperado, fruteiras e hortaliças, (Berger *et al.*, 2005).

As partículas virais são alongadas e flexuosas, sem envelope e apresentam aproximadamente 750 nm de comprimento e 11 - 15 nm de diâmetro. Todos os gêneros são monopartidos com exceção de *Bymovirus* que é bipartido. O genoma viral é constituído de única molécula de RNA fita simples (ssRNA, single strand RNA), de sentido positivo (Adams *et al.*, 2011). Na fita de RNA na extremidade 5' encontra-se uma proteína denominada VPg e uma cauda poliadenilada no terminal 3' (Carrington *et al.*, 1993; Riechmann *et al.*, 1989). Membros desta família são transmitidos mecanicamente pela inoculação via extrato vegetal tamponado (Berger *et al.* 2005) e por vetores. Diferenças nos vetores auxiliam na separação de gêneros da família (Shukla *et al.*, 1994). Espécies dos gêneros *Potyvirus* e *Macluravirus* têm afídeos vetores e estabelecem com estes uma relação não circulativa não persistente, enquanto espécies de *Rymovirus* e *Tritimovirus* são transmitidas por ácaros e apresentam uma relação do tipo não circulativa semi-persistente com o vetor. Espécies de *Bymovirus* são transmitidas por *Polymyxa graminis* e espécies de *Ipomovirus* podem ser transmitidas por mosca-branca e estabelecem uma relação do tipo não circulativa, não-persistente. Membros do gênero *Brambyvirus* não possuem vetor conhecido até o momento (Adams *et al.*, 2011; Mukasa *et al.*, 2003).

3.2.1. Gênero *Potyvirus*

Espécies de *Potyvirus* causam doenças em monocotiledôneas e dicotiledôneas. O genoma viral possui apenas uma ORF que dá origem a uma poliproteína, e a partir desta, de oito a dez proteínas (P1, HC-Pro, P3, CI, 6K2, NIa, NIB e CP) são produzidas através da atividade de três proteinases (P1, HC-Pro e NIa). Nestas proteínas incluem a replicase viral, proteína de movimento a longa distância e célula-a-célula, transmissão por afídeos e capsidial (Pruss *et al.*, 1997; Shukla *et al.*, 1994; Verchot & Carrington, 1995).

As proteínas são multifuncionais, a P1 - promove a replicação facilitada pela ativação do gene que codifica o componente auxiliar-protease HC-Pro (Helper Component-Protease) (Verchot & Carrington, 1995); a HC-Pro possui as funções de transmissão pelo inseto vetor, de supressão do silenciamento gênico da planta e movimento a longa e curta distância (Thornbury *et al.*, 1985; Kasschau & Carrington, 1995, 1998). A P3 proteína da inclusão citoplasmática e NIa-Pro, atuam 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 *et al.*, 1992; Urcuqui-Inchima *et al.*, 2001; Hong & Hunt, 1996). A 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 *et al.*, 1974). A proteína 6K1 é uma proteína pequena assim como a 6K2 e estão envolvidas na ligação do complexo de replicação ao retículo endoplasmático (Schaad *et al.*, 1997). A CP desempenha funções de encapsidação, movimento e transmissão pelo inseto vetor (Allison *et al.*, 1986; Atreya *et al.*, 1991; Dolja *et al.*, 1994; Mahajan *et al.*, 1996). A VPg (*Viral Protein genome-linked*), localiza-se no terminal 5' do genoma e está envolvida na replicação, na

interação com fatores da célula entre outros (Schaad *et al.*, 1996; Riechmann *et al.*, 1992). Plantas infectadas por espécies de *Potyvirus* apresentam inclusões cilíndricas citoplasmáticas do tipo cata-ventos e que podem ser bastante úteis na diagnose quando o material é observado em microscopia eletrônica de transmissão (Dougherty & Hiebert, 1980; Berger *et al.*, 2005).

Para caracterização de uma nova espécie nesse gênero, os critérios adotados são a comparação da sequência de aminoácidos da poliproteína (82% de identidade) e da proteína capsidial (76-77% de identidade) (Berger *et al.*, 2005). A sequência de nucleotídeos da 3'NTR também pode ser utilizada na classificação. Espécies diferentes apresentam até 53% de identidade de sequência de aminoácidos da CP e as estirpes apresentam de 83 a 99% de identidade (Adams *et al.*, 2011).

A espécie tipo de *Potyvirus: Potato virus Y* (PVY) é importante nas culturas de batata (Van Regenmortel *et al.*, 2000), tomate pimentão e fumo (*Nicotiana tabacum*) (Glais *et al.*, 2002). Com o uso de tomates resistentes ao PVY, outra espécie de *Potyvirus* foi identificada em tomate, o *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) (Ávila *et al.*, 2004) que já havia sido identificada em pimentão anteriormente (Inoue-Nagata *et al.*, 2002). Alguns levantamentos mostram que o PepYMV está se distribuindo por importantes regiões produtoras de hortaliças (Palazzo *et al.*, 2004; Ferreira *et al.*, 2005; Dianese *et al.*, 2008).

Outras espécies de *Potyvirus* causam perdas em mamão (*Carica papaya*) e outras espécies da família Curcubitaceae como o *Papaya ringspot virus* (PRSV), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) e o *Watermelon mosaic virus* (WMV). O WMV possui ampla gama de hospedeiras, infectando cerca de 178 espécies de plantas dentro de 27 famílias, incluindo cucurbitáceas e algumas espécies de leguminosas, malváceas, quenopodiáceas e ornamentais (Shukla *et al.*, 1994). A variabilidade biológica de WMV

tem sido bem documentada. Apesar de ser mais comum em regiões temperadas , entretanto pode ocorrer em regiões tropicais. Oliveira *et al.* (2000) realizaram levantamento em que o WMV estava bem distribuído pela região do Nordeste.

3.3. Família *Bunyaviridae*

A família *Bunyaviridae* engloba gêneros com espécies que acometem animais e vegetais. Esta família encontra-se dividida em cinco gêneros *Orthobunyavirus*, *Hantavirus*, *Nairovirus*, *Phlebovirus* e *Tospovirus*, e somente este último possui espécies que infectam plantas (Fauquet *et al.*, 2005). Espécies classificadas na família apresentam partículas esféricas ou pleomórficas, com 80 - 120 nm de diâmetro, envolvidas por uma camada lipoproteica e, na superfície exibem projeções glicoprotéicas. O genoma viral é composto por três moléculas únicas de RNA fita simples (ssRNA), de sentido negativo ou ambisense. Os RNAs são chamados de L (large), M (medial), S (small) que totalizam 11-19 kb (Plyusnin *et al.*, 2011).

3.3.1. Gênero *Tospovirus*

Espécies de *Tospovirus* causam importantes doenças em hortaliças (principalmente em tomateiro), espécies ornamentais e plantas daninhas (German *et al.*, 1992; Pozzer *et al.*, 1996). Espécies do gênero infectam mais de mil espécies (monocotiledôneas e dicotiledôneas) e são transmitidas por tripes pertencentes aos gêneros *Frankliniella*, *Thrips* e *Scirtothrips* (Chen & Chiu, 1996; Mound, 1996; Webb *et al.*, 1998). O tipo de relação estabelecida entre vírus e vetor é do tipo circulativa propagativa (Wijkamp *et al.*, 1993; Pappu *et al.*, 2009). As partículas virais são adquiridas no primeiro e segundo ínstar larval do inseto durante a alimentação em plantas infectadas e são transmitidos pelas larvas e/ou tripes adultos virulíferos quando

se alimentam de plantas sadias (Van de Wetering *et al.*, 1996). As espécies mais importantes, do gênero *Tospovirus*, acometendo solanáceas no Brasil e na América do Sul são TSWV, GRSV, CSNV e TCSV (Nagata *et al.*, 1995; Ávila *et al.*, 1998; Colariccio *et al.*, 2000).

O genoma de tospovírus é tripartido consistindo de três RNAs denominados S, M e L, os quais possuem sequências terminais com uma complementaridade parcial que permite o surgimento de uma conformação pseudocircular (De Haan *et al.*, 1998). O RNA S codifica uma proteína estrutural a nucleoproteína (N) e a proteína não-estrutural (Ns) supressora de silenciamento gênico (De Haan *et al.*, 1990; Takeda *et al.*, 2002). O RNA M codifica a proteína não estrutural (Nm) e o precursor das glicoproteínas do envelope (Gn e Gc) no sentido complementar viral (Kormelink *et al.*, 1992; Storn *et al.*, 1998). Já o RNA L possui somente polaridade negativa e codifica a proteína L, com motivos conservados, e encontrados em RNA polimerase dependente de RNA com as funções de helicase, transcriptase, replicase endonuclease e de NTPase (De Haan *et al.*, 1991). A replicação dos tospovírus ocorre no citoplasma, onde após a liberação do material genético, o RNA viral é transcrito pela polimerase viral. A transcrição é iniciada pelo processo de cap-snatching, em que sequências clivadas na região 5' dos RNAs mensageiros (mRNAs) do hospedeiro atuam como iniciadores da síntese de RNA viral (Kormelink *et al.*, 1992; Duijsings *et al.*, 1992). Após o RNA viral mensageiro ser traduzido, ocorre a tradução e produção das proteínas L, N e do precursor da glicoproteína (Kormelink *et al.*, 1992). Com o aumento da concentração da proteína N a polimerase viral passa a mediar à replicação do vírus, produzindo várias cópias de RNA genômico. Uma maior produção das proteínas Ns e Nm ocorre em uma segunda tradução completando a síntese das proteínas virais (Kormelink *et al.*, 1992; Ribeiro, 2007). Após a síntese o RNA viral genômico se associa com a proteína N e com a

polimerase L, formando as RNPs, que se associam a proteína Nm, e são transportados para células vizinhas através dos plasmodesmas. Enquanto isso, as glicoproteínas Gn e Gc são glicosiladas e processadas no retículo endoplasmático rugoso enquanto que os RNPs acumulam-se nas membranas do complexo de Golgi (Kikkert *et al.*, 1999). Em seguida, as glicoproteínas são modificadas no complexo de Golgi. Os RNPs, que se localizam próximos ao local onde se encontram as glicoproteínas, são envolvidos por essas glicoproteínas, originando novas partículas virais duplamente envelopadas (DEVs) (Kikkert *et al.*, 1999, Ribeiro *et al.*, 2008). Em um estágio de maturação tardia, as DEVs se fusionam umas com as outras, levando à formação de vesículas largas que contêm partículas virais com um envelope (SEVs). As novas partículas virais se acumulam no compartimento celular até serem mais tarde adquiridas pelo inseto vetor.

Os critérios para definição de novas espécies deste gênero são o índice menor que 90% de identidade da sequência de aminoácidos da proteína do nucleocapsídeo (proteína N), o relacionamento sorológico, especificidade de transmissão por vetores, sintomatologia e gama de hospedeiros são características importantes (de Ávila *et al.*, 1993; Plyusnin *et al.*, 2011). Outros estudos mostram que a sequência de aminoácidos da proteína Nm, da proteína L, e das glicoproteínas Gn e Gc apresentam comportamento filogenético semelhante à proteína N, portanto elas poderiam refletir a evolução natural das espécies de tospovírus (Silva *et al.*, 2001; Lovato *et al.*, 2004; Bertran *et al.*, 2011).

O TSWV, TCSV, GRSV e ZLCV (importante vírus que infecta cucurbitáceas) figuram entre as espécies de *Tospovirus* mais importantes do país. O TSWV foi encontrado em algumas áreas, e por vezes, pode estar onipresente no ambiente, em muitas ervas daninhas e plantas nativas (Sherwood *et al.*, 2003). Esses vírus estão bem distribuídos pelo país causando perdas econômicas. Em um levantamento da ocorrência de isolados de tospovírus em vários estados brasileiros foi relatado que em SP, MG e

RS predominavam as espécies TCSV e GRSV, enquanto no DF e no PR predominava a espécie TSWV (Nagata *et al.*, 1995) acometendo o tomate. O ZLCV foi relatado como tospovírus predominante em campos experimentais de abóbora (*Curcubita* spp.) em SP (Pozzer *et al.*, 1996; Resende *et al.*, 1997; Bezerra *et al.*, 1999) e em pepino (*Cucumis sativus*) no DF (Nagata *et al.*, 1998). Nagata *et al.* (2004) avaliaram que a espécie GRSV prevalece, infectando o tomateiro, diante dos demais, devido à alta eficiência de sua transmissão por *Frankliniella schultzei*.

3.4. Gênero *Cucumovirus*

O gênero *Cucumovirus* (família *Bromoviridae*) engloba espécies de ssRNA. O genoma é tripartido e possui cinco genes distribuídos em três RNAs, um genômico e dois RNAs subgenômicos. As partículas possuem morfologia icosaédrica (Scholthof *et al.*, 2011; Adams *et al.*, 2011).

Os isolados de *Cucumber mosaic virus* - CMV são divididos em dois grupos: I (subdividido em IA e IB) e II, de acordo com as propriedades sorológicas, biológicas e moleculares, segundo a variabilidade na sequência do gene codificador da capa protéica (Palukaitis & García-Arenal, 2003). Sua transmissão ocorre mecanicamente, por sementes e por afídeos. As espécies *Myzus persicae* e *Aphis gossypii* são as mais importantes e o tipo de relação estabelecida é não circulativa, não persistente (Costa, 1998; Yang *et al.*, 1997; Jacquemond, 2012).

Segundo Scholthof *et al.* (2011) o CMV, espécie-tipo desse gênero, é a quarta espécie viral mais importante. De acordo com Pinto (2013) CMV é provavelmente o vírus com maior capacidade de infectar um maior número de espécies de plantas diferentes. Experimentalmente, mais de 1000 espécies em 85 famílias podem ser infectadas por CMV (Adams *et al.*, 2011).

3.5. Gênero *Tobamovirus*

Espécies do gênero *Tobamovirus* (família *Virgaviridae*) apresentam partículas alongadas e rígidas, e o ácido nucléico é de RNA fita simples, sentido positivo (Lewandowski, 2005; Adams *et al.*, 2011).

O gênero pode ser dividido em subgrupos: subgrupo 1 que compreende os vírus que infectam solanáceas, ao qual pertencem as espécies *Tobacco mosaic virus* (TMV), o *Tomato mosaic virus* (ToMV), *Pepper mild mottle virus* (PMMoV), *Tobacco mild green mosaic virus* (TMGMV) e o *Odontoglossum ring spot virus* (ORSV); o subgrupo 2 compreendido pelos vírus que infectam crucíferas e o subgrupo 3 englobando os vírus de cucurbitáceas (Lartey *et al.*, 1996).

Espécies de *Tobamovirus* são transmitidas mecanicamente (Tanzi *et al.*, 1986), via sementes (Erkan & Delen, 1985) e são altamente estáveis, podendo permanecer viáveis por longos períodos em restos de cultura (Pares & Gunn, 1989; Cuadrado Gómez, 1994; Duarte, 1995; Pares *et al.*, 1996).

O PMMoV é um dos patógenos mais importantes de culturas de pimenta em todo o mundo (Alonso *et al.*, 1989; Oka *et al.*, 2008), principalmente para os cultivos protegidos (Wetter e Conti, 1988). Esta espécie é facilmente transmitida por inoculação mecânica e por manipulação durante o cultivo, bem como através do enxerto e sementes contaminadas (Lewandowski, 1999; Genda *et al.*, 2005; Svoboda *et al.*, 2006). O PMMoV foi detectado no Brasil infectando plantas de pimenta (*Capsicum baccatum*) e pimentão (Kobori *et al.*, 2001; Cezar *et al.*, 2003; Eiras *et al.*, 2003).

CAPÍTULO 2

Prospecção de vírus em espécies arbóreas

Resumo

Espécies arbóreas e arbustivas podem ser reservatórios de vírus desconhecidos ou que ocorrem em outras culturas. No Brasil, entretanto estes estudos são incipientes, especialmente para espécies do bioma Cerrado ('savana brasileira'). Um dos objetivos do presente trabalho foi à prospecção de vírus em espécies arbóreas. Foram coletadas 148 amostras em um total de 78 espécies arbóreas e arbustivas (58 identificadas ao nível de espécie e 20 ainda aguardam identificação). Destas 78 espécies, 23 foram provenientes de ambiente de Área de Proteção Ambiental (APA) da Estação Experimental de Biologia (EEB-UnB), 27 do viveiro do Centro de Referência em Áreas Degradadas do Bioma Cerrado (CRAD-UnB) e 32 do viveiro da Companhia Urbanizadora da Nova Capital (NOVACAP). Quatro amostras foram comuns entre as coletas do CRAD e NOVACAP. Todas as espécies que aguardam identificação são provenientes da EEB-UnB. Todas as amostras foram testadas para 12 espécies virais classificadas em cinco gêneros de vírus importantes para a agricultura. Estes cinco gêneros e suas espécies são listados a seguir: *Cucumovirus* (*Cucumber mosaic virus* - CMV), *Tospovirus* (*Groundnut ringspot virus* - GRSV, *Tomato chlorosis spot virus* - TCSV, *Tomato spotted wilt virus* - TSWV e *Zucchini lethal chlorosis virus* - ZLCV), *Potyvirus* (*Potato virus Y* - PVY, *Watermelon mosaic virus* - WMV, *Papaya ringspot virus* - PRSV, *Zucchini yellow mosaic virus* - ZYMV e *Pepper yellow mosaic virus* - PepYMV), *Tobamovirus* (*Pepper mild mottle virus* - PMMoV) e *Begomovirus*. Para este último utilizou-se primers universais usados na identificação de espécies que infectam o tomate (*Solanum lycopersicum*). Os resultados mostraram que das 23 espécies coletadas na APA-EEB, em torno de 61% apresentaram resultado positivo para pelo menos uma espécie viral testada, entretanto apenas três espécies botânicas foram identificadas ao nível de espécie. Destas, o jamelão (*Syzygium cumini*) foi positivo para TSWV, TCSV e PVY, a sibipiruna (*Caesalpinia pluviosa*) para WMV, PepYMV, ZYMV, PRSV, CMV e TSWV, enquanto a falsa quaresmeira (*Miconia albicans*) foi positiva para WMV e TSWV. De todas as amostras provenientes da APA-EEB e também de todos os outros locais de coleta avaliados neste trabalho, somente uma espécie classificada na família Passifloraceae foi positiva para *Begomovirus*. Das 27 espécies coletadas no CRAD, a porcentagem de amostras positivas para pelo menos uma espécie viral ficou em torno de 63%, sendo que desta porcentagem, 48% foram positivas para espécies do gênero *Tospovirus* e nenhuma delas foi positiva para PepYMV, WMV e *Begomovirus*. Os resultados deste local de coleta relacionados por amostras e vírus encontram-se listados a seguir: amostras de ipê amarelo (*Handroanthus serratifolius*) foram positivas para GRSV e TSWV; ipê preto (*Zeyheria tuberculosa*) para GRSV, TSWV, TCSV, PRSV, PVY e CMV; capitão do mato (*Buchenavia tomentosa*) para GRSV; angelim (*Andira vemifuga*) para GRSV e CMV; tamboril da mata (*Enterolobium contorsiliquum*) para GRSV e TSWV; tamanqueira (*Aegiphila integrifolia*) para TSWV; mamica de porca (*Zanthoxylum rhoifolium*) para GRSV, TSWV, PVY e ZYMV; tingui (*Callaeum psilophyllum*) para TCSV; mama-cadela

(*Brosimum gaudichaudii*) para TSWV; amburana (*Amburana cearensis*) para TCSV; pau pombo (*Matayba elaeagnoides*) para PMMoV; jatobá da mata (*Hymenaea courbaril*) para ZLCV; maracujazeiro para GRSV e TSWV; pixirica do campo (*Miconia ferruginata*) para GRSV; paineira do Cerrado, café de urubu carvoeiro (*Sclerolobium melinonii*) para PMMoV. Os resultados da coleta proveniente do viveiro da NOVACAP revelaram que nenhuma das amostras estava infectada por PepYMV e *Begomovirus*, enquanto 62,5% encontrava-se infectada por pelo menos alguma espécie viral. Desta porcentagem 59,5% correspondia a espécies classificadas em *Tospovirus*. Estes resultados encontram-se listados a seguir: amburana, barbatimão (*Stryphnodendron adstrigens*), carambola (*Averrhoa carambola*), copaíba (*Copaifera langsdorfii*), graviola (*Annona muricata*), ingá mirim (*Inga laurina*), ipê caraíba (*Tabebuia aurea*), ipê roxo (*Tabebuia impetiginosa*), lofantera (*Lophantera lactescens*), mirindiba (*Lafoensia glyptocarpa*) e quaresmeira (*Tibouchina granulosa*) apresentaram infecção mista com as espécies GRSV e TSWV. O GRSV foi ainda detectado em feijão-cru (*Lonchocarpus muehlbergianus*), ligustro (*Ligustrum lucidum*), pau Brasil (*Caesalpinia echinata*), piuná (*Eugenia melanogyna*), quaresmeira e o TSWV em jenipapo (*Genipa americana*) e olho de cabra (*Abrus arboreus*). As espécies barbatimão, ingá mirim, ipê roxo, jenipapo, ligustro e pau Brasil, foram positivas para o TCSV, enquanto eucalipto (*Eucalyptus* spp.), feijão-cru, pau jacaré (*Piptadenia gonoachanta*), pau Brasil e quaresmeira foram positivas para o ZLCV. Dentre as espécies avaliadas para *Potyvirus*, feijão-cru e pau jacaré foram positivas para PRSV e feijão-cru, graviola, pau jacaré e olho de cabra para ZYMV. Amostras de graviola e o plumbago (*Plumbago auriculata*) foram positivas para WMV e PVY respectivamente, enquanto amostras de jenipapo e barbatimão foram positivas para PMMoV. Estes resultados demonstram o grande potencial das espécies avaliadas como reservatório de espécies virais.

Palavras-chave: espécies florestais, *Begomovirus*, *Potyvirus*, *Tospovirus*, *Cucumovirus*, *Tobamovirus*

Abstract

Tree and shrub species may be reservoirs of unknown viruses or of viruses occurring in a range of agronomic crops. However, these studies are incipient in Brazil, especially in relation to species of the Cerrado ('tropical savanna') area. One major objective of the present work was to search for the natural occurrence of viruses in woody species. One hundred forty-eight samples were collected from 78 tree and shrub species (58 of them identified at species level). Of these 78 species, 23 were collected from the Environmental Protection Area (APA) of Experimental Biology Station (EEB - UNB), 27 in the nursery of the Reference Center on Degraded Areas of the Cerrado Biome (CRAD - UNB) and 32 in nursery of the NOVACAP. Four samples were present in both CRAD and NOVACAP areas. These plants were tested for 12 viral species classified in five genera of agricultural importance: [*Cucumovirus* (*Cucumber mosaic virus* - CMV), *Tospovirus* (*Groundnut ringspot virus* - GRSV, *Tomato chlorosis virus spot* - TCSV, *Tomato spotted wilt virus* - TSWV and *Zucchini lethal chlorosis virus* - ZLCV) *Potyvirus* (*Potato virus Y* - PVY, *Watermelon mosaic virus* - WMV, *Papaya ringspot virus* - PRSV, *Zucchini yellow mosaic virus* - ZYMV and *Pepper yellow mosaic virus* - PepYMV), *Tobamovirus* (*Pepper mild mottle virus* - PMMoV) and *Begomovirus*]. For the latter was used universal primers used to identify species that infect tomato (*Solanum lycopersicum*). The results showed that of the 23 species

collected in APA- EEB, around 61 % of the samples were positive for at least one viral species. Of these, jamelão (*Syzygium cumini*) was positive for TSWV, PVY and TCSV; sibipiruna (*Caesalpinia pluviosa*) was positive for WMV, PepYMV, ZYMV, PRSV, CMV and TSWV, while the false quaresmeira (*Miconia albicans*) was positive for WMV and TSWV. Of all evaluated samples, only one species (classified in Passifloraceae family) was positive for *Begomovirus*. Of the 30 species collected in CRAD, the frequency of samples positive for at least one viral species was around 63%, 48 % were positive for species of *Tospovirus* and none of them were positive for PepYMV, WMV and begomovirus. The results of plant samples and viruses found in the survey are the following: ipê amarelo (*Handroanthus serratifolius*) positive for GRSV and TSWV; ipê preto (*Zeyheria tuberculosa*) for GRSV, TSWV, TCSV, PRSV, PVY and CMV; capitão do mato (*Buchenavia tomentosa*) for GRSV; angelim (*Andira vemifuga*) for GRSV and CMV; tamboril da mata (*Enterolobium contorsiliquum*) for GRSV and TSWV; tamanqueira (*Aegiphila integrifolia*) for TSWV; mamica de porca (*Zanthoxylum rhoifolium*) for GRSV, TSWV, PVY and ZYMV; tingui (*Callaeum psilophyllum*) for TCSV; mama-cadela (*Brosimum gaudichaudii*) for TSWV; carvoeiro (*Sclerolobium melinonii*) for PMMoV; amburana (*Amburana cearensis*) for TCSV; pixirica do campo (*Miconia ferruginata*) for GRSV; jatobá da mata (*Hymenaea courbaril*) for ZLCV; maracujazeiro for GRSV and TSWV; paineira do Cerrado, café de urubu, and pau pombo (*Matayba elaeagnoides*) for PMMoV. NOVACAP results revealed that none of the samples were infected by PepYMV and *Begomovirus*, while 62.5 % was found to be infected by at least some viral species. This percentage 59.5 % corresponded to species classified in *Tospovirus*. These results are listed below: amburana, barbatimão (*Stryphnodendron adstrigens*), carambola (*Averrhoa carambola*), copaíba (*Copaifera langsdorfii*), soursop (*Annona muricata*), ingá mirim (*Inga laurina*), ipê caraíba (*Tabebuia aurea*), ipê roxo (*Tabebuia impetiginosa*), lofantera (*Lophantera lactescens*), mirindiba (*Lafoensia glyptocarpa*) and quaresmeira (*Tibouchina granulosa*) had mixed infection with TSWV and GRSV species. The GRSV was also detected in feijão-cru (*Lonchocarpus muehlbergianus*), ligustro (*Ligustrum lucidum*), pau Brasil (*Caesalpinia echinata*), piuná (*Eugenia melanogyna*) and TSWV in quaresmeira, jenipapo (*Genipa americana*) and olho de cabra (*Abrus arboreus*). The plant species barbatimão, ingá mirim, ipê roxo, jenipapo, ligustro and pau Brasil, were positive for TCSV while eucalipto (*Eucalyptus* spp.), feijão-cru, pau de jacaré (*Piptadenia gonoachanta*), pau Brasil and quaresmeira were positive for ZLCV. Among the species evaluated for potyvirus feijão-cru and pau de jacaré were positive for PRSV and feijão-cru, graviola, pau de jacaré and olho de cabra ZYMV. Samples of graviola and plumbago (*Plumbago auriculata*) were positive for WMV and PVY, respectively, while samples jenipapo and barbatimão were positive for PMMoV. These results demonstrate the great potential of the species evaluated as a reservoir of viral species.

Keywords: tree species, *Begomovirus*, *Potyvirus*, *Tospovirus*, *Cucumovirus*, *Tobamovirus*

1. Introdução

A busca por uma economia mais verde, baseada na sustentabilidade, reserva um papel de destaque para as florestas, a silvicultura e os produtos florestais e arbóreos (FAO, 2011). Segundo o PNUMA (2011) uma economia verde resulta em melhoria do bem-estar da humanidade e em menores níveis de desigualdade social, ao mesmo tempo em que reduz significativamente riscos ambientais e escassez de recursos de origem ecológica. A diminuição dos riscos ambientais contribui conseqüentemente, para a conservação da biodiversidade e preservação das florestas.

A biodiversidade é um dos recursos mais valiosos e para a sua manutenção e melhor aproveitamento, é preciso que a mesma seja mais bem conhecida, com base em levantamentos e estudos taxonômicos (Goulart, 2007).

O Brasil possui a maior biodiversidade do planeta distribuída em seus sete biomas Amazônia, Caatinga, Cerrado, Costeiro, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal,

Dentre estes biomas merece destaque a Amazônia. A floresta Amazônica é considerada a maior floresta tropical úmida do mundo e possui em torno de 5,5 milhões de quilômetros quadrados e um terço de todas as espécies vivas do planeta. A estimativa existente é de que a Floresta Amazônica abrigue mais de cinco milhões de espécies vegetais, das quais apenas 30.000 foram identificadas.

Outro Bioma que merece destaque é o Cerrado. Este Bioma também recebe o nome de ‘savana brasileira’ e engloba os estados de Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Pará, Maranhão, Minas Gerais, Piauí, Bahia e São Paulo.

O Bioma Cerrado é considerado um ‘*hotspot*’ mundial da biodiversidade com cerca de 11.627 espécies de plantas vasculares catalogadas e em torno 90.000 espécies de insetos. O Cerrado vem sofrendo forte pressão pela expansão de fronteiras agropecuárias, refletindo em uma redução de aproximadamente 50% de sua cobertura

vegetal nativa (MMA, 2013). Essa pressão agrícola torna o ambiente no Bioma Cerrado propício ao surgimento de novos patógenos, incluindo patógenos virais.

Além da importância do ponto de vista de biodiversidade, áreas florestais compreendidas nos sete biomas, apresentam também grande importância econômica.

Em nível mundial a área florestal compreende pouco mais de quatro bilhões de hectares, o que corresponde a aproximadamente um terço da área terrestre (FAO, 2010). O setor florestal é responsável por uma média de 2% do PIB mundial (FAO, 2012) e os produtos advindos deste setor são classificados em produtos florestais madeireiros (PFMs) e produtos florestais não madeireiros (PFNMs) (FAO, 1998 e MMA, 2014).

No Brasil, os PFMs, em grande parte, vêm de florestas plantadas em monocultivos principalmente com as espécies de *Eucalyptus* e *Pinus*. Os PFNMs, em sua maioria, são retirados das florestas nativas e usados na indústria alimentícia: açaí (*Euterpe oleracea*), araçá (*Psidium araca*), úmbu (*Spondias tuberosa*) e palmito (*Syagrus oleracea*); na indústria cosmética: cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), castanha-do-pará (*Bertholletia excelsa*), açaí, andiroba (*Carapa guianensis*), buriti (*Mauritia flexuosa*), pariparoba (*Piper peltatum*); indústria farmacêutica: copaíba (*Copaifera langsdorfii*), jenipapo (*Genipa americana*), sucupira (*Pterodon* spp.), barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) e na indústria de limpeza: eucalipto e côco (*Cocos nucifera*).

No presente trabalho optou-se pelo uso de espécies arbóreas em substituição ao termo espécies florestais principalmente pelo fato de que de acordo com termos conceituais da área todas as espécies florestais são arbóreas, entretanto nem todas as espécies tidas como arbóreas são florestais.

Algumas espécies arbóreas principalmente do Cerrado, já são amplamente utilizadas na arborização de parques e jardins no Distrito Federal e entorno. Dentre elas

podem ser citadas: mulungu (*Erythrina velutina*), paineira branca ou barriguda (*Ceiba glaziovii*), paineira rosa (*Ceiba speciosa*), ipê (*Handroanthus* spp., *Zeyhera* spp., *Tabebuia* spp.), pata de vaca (*Bahuinia* spp), cumbuca de macaco (*Lecithys pisonis*), mutamba (*Guazuma ulmifolia*), jenipapo (*Genipa americana*), ingá (*Inga* spp.), dentre outras. Outras espécies vêm sendo introduzidas na alimentação através de sucos, sorvetes, bolos, geléias e doces pequi - *Caryocar brasiliensis*, cagaita, baru, araticum, araçá, pitanga (*Eugenia uniflora*) e murici (*Byrsonima crassifolia*), dentre outras.

Na arborização do Distrito Federal também podem ser encontradas espécies introduzidas como jambo rosa (*Syzygium malacense*) e resedá (*Lagestroemia indica*) introduzidas da Polinésia e Ásia (Silva Jr, 2010).

Os problemas fitossanitários no cultivo destas espécies podem ocorrer em pré- ou pós-emergência, destacando-se principalmente problemas com pragas e patógenos fúngicos (Alfenas *et al.*, 2004). Fungos causadores de ‘*damping-off*’ correspondem a um dos principais problemas nesta fase de desenvolvimento da planta. Quanto às pragas, principalmente em ambientes tropicais, os principais problemas ocorrem devido as formigas cortadeiras e os lepidópteros desfolhadores (Zanúncio *et al.*, 1992; 1993; Della Lucia, 1996), bem como os coleópteros (Gray, 1972).

Estudos de vírus em espécies arbóreas são raros no país. Este fato pode ser explicado pelas características intrínsecas dos vírus.

Em outros países existem vários estudos mostrando que as viroses estão relacionadas a declínios de florestas européias e norte americanas (Nienhaus & Castello, 1989; Jamalainen, 1957; Kegler *et al.*, 1996; Arndt *et al.*, 2007). Algumas espécies virais são específicas de plantas arbóreas e florestais e outras correspondem a vírus importantes de espécies cultivadas.

Entre os vírus encontrados infectando espécies arbóreas estão o *Elm mottle virus* - EMV (Jones & Mayo, 1973; Schmelzer *et al.*, 1966), *Cherry leaf roll virus* - CLRV (Ford *et al.*, 1972), *Tomato bushy stunt virus* - TBSV (Novak & Lanzova, 1980) *Arabidopsis mosaic virus* - ArMV (Thomas, 1970), *Tobacco ringspot virus* - TRSV (Fulton, 1969) e *European mountain ash ringspot-associated virus* - EMARaV (Jamalainen, 1957; Kegler *et al.*, 1996; Mielke & Muehlbach, 2007).

Algumas espécies virais importantes para a agricultura apresentam ampla gama de hospedeiras entre angiospermas e gminospermas. De acordo com Scholthof *et al.* (2011) merecem destaque algumas espécies virais classificadas nos gêneros *Begomovirus*, *Cucumovirus*, *Potyvirus*, *Tobamovirus* e *Tospovirus*.

Algumas espécies virais importantes no país classificadas nestes cinco gêneros são listadas a seguir: gênero *Cucumovirus* (*Cucumber mosaic virus* - CMV), *Tospovirus* (*Groundnut ringspot virus* - GRSV, *Tomato chlorosis spot virus* - TCSV, *Tomato spotted wilt virus* - TSWV e *Zucchini lethal chlorosis virus* - ZLCV), *Potyvirus* (*Potato virus Y* - PVY, *Watermelon mosaic virus* - WMV, *Papaya ringspot virus* - PRSV, *Zucchini yellow mosaic virus* - ZYMV e *Pepper yellow mosaic virus* - PepYMV), *Tobamovirus* (*Pepper mild mottle virus* - PMMoV) e *Begomovirus*.

De acordo com Farias (2012) plantas nativas do Cerrado são hospedeiras de importantes espécies virais classificadas nos gêneros *Tospovirus* (GRSV e TSWV), *Potyvirus* (PVY) e uma espécie de *Begomovirus*

Estes resultados refletem a necessidade e importância do estudo de espécies virais na interface vegetação nativa e áreas cultivadas. Grande parte dos vírus de plantas é disseminada através de vetores, principalmente insetos e ácaros, facilitando o trânsito de vírus entre ecossistemas naturais e agrícolas.

Neste contexto este trabalho foi realizado visando analisar amostras coletadas em Área de Proteção Ambiental (APA) localizada na Estação Experimental de Biologia (EEB) - Universidade de Brasília, viveiro do CRAD (Centro de Referência em Conservação da Natureza e Recuperação de Áreas Degradadas) e NOVACAP (Companhia Urbanizadora da Nova Capital do Brasil) quanto à presença de 12 importantes espécies virais distribuídas nos gêneros *Begomovirus*, *Cucumovirus*, *Potyvirus*, *Tobamovirus* e *Tospovirus*.

Um total de 148 amostras (distribuídas em 78 espécies botânicas) foi analisado. Várias destas espécies, nativas do Bioma Cerrado, são importantes e amplamente utilizadas como alimento, fonte de madeira, subprodutos para fármacos e arborização do Distrito Federal e Entorno.

2. Material e Métodos

2.1. Locais de realização dos experimentos

- Laboratório de Virologia Vegetal (LVV) do Departamento de Fitopatologia da Universidade de Brasília
- Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília - EEB
- Laboratório de Virologia e Biologia Molecular da Embrapa Hortaliças

2.2. Locais de coletas das amostras

- Área de Proteção Ambiental (APA) localizada na Estação Experimental de Biologia (EEB) - Universidade de Brasília (APA - EEB - UnB).
- Viveiro do Centro de Referência em Conservação da Natureza e Recuperação de Áreas Degradadas (CRAD - UnB).

➤ Viveiro da Companhia Urbanizadora da Nova Capital do Brasil (NOVACAP).

Todas as coletas foram realizadas em 2013 e as espécies avaliadas encontram-se listadas na **Tabela 2**.

Ao todo, 148 amostras (78 espécies botânicas) foram analisadas, sendo 23 provenientes da APA-EEB-UnB (23 espécies botânicas), 51 do CRAD (27 espécies botânicas) e 74 da NOVACAP (32 espécies botânicas). Dentre as 78 espécies botânicas analisadas no trabalho, 58 foram identificadas e 20 (provenientes da APA-EEB-UnB) aguardam identificação e, portanto, não foram discutidas neste trabalho. As espécies olho de cabra (*Abrus arboreus*), ingá branco (*Inga laurina*), amburana (*Amburana cearensis*) e aroeira (*Myracrodium urundeuva*) constituem coletas em comum do CRAD e NOVACAP.

Tabela 2. Lista de espécies arbóreas/arbustivas pelo local de coleta, Bioma brasileiro ou centro de origem, hábito, nome popular, científico e família botânica.

Local de coleta	Bioma/hábito*	Nome popular*	Nome científico*	Família*
CRAD	Amazonia / arbusto	Guazutibaim	<i>Rosenbergiodendron longiflorum</i>	Rubiaceae
	Caatinga / arbórea	Bacupari da mata	<i>Cheiloclinium congatum</i>	Celastraceae
	Cerrado / arbórea	Angelim	<i>Andira vermifuga</i>	Papilionoideae
		Babosa branca	<i>Cordia superba</i>	Boraginaceae
		Tarumarana	<i>Buchenavia tomentosa</i>	Combretaceae
		Café de urubu	<i>Psychotria mapourioides</i>	Rubiaceae
		Tingui	<i>Callaeum psilophyllum</i>	Malpighiaceae
		Capitão do mato	<i>Terminalia argêntea</i>	Combretaceae
		Carvoeiro	<i>Sclerolobium melinonii</i>	Fabaceae
		Ingá mirim	<i>Inga cylindrica</i>	Fabaceae
		Ipê amarelo	<i>Handroanthus serratifolius</i>	Bignoniaceae
		Ipê preto e Bolsa de pastor	<i>Zeyheria tuberculosa</i>	Bignoniaceae
		Jatobá da mata	<i>Hymenaea courbaril</i>	Fabaceae
		Mama-cadela	<i>Brosimum gaudichaudii</i>	Moraceae
		Mamica de porca	<i>Zanthoxylum rhoifolium</i>	Rutaceae
		Pixirica do campo	<i>Miconia ferruginata</i>	Melastomataceae
		Paineira do Cerrado	<i>Eriotheca pubescens</i>	Malvaceae
		Pau pombo e Camboatá	<i>Matayba elaeagnoides</i>	Sapindaceae
		Tamanqueira e Pau de tamanco	<i>Aegiphila integrifolia</i>	Lamiaceae
		Tamboril da mata	<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	Fabaceae
Cerrado / arbusto	Fedegoso gigante	<i>Senna alata</i>	Fabaceae	

		Unha de gato	<i>Senegalia bonariensis</i>	Fabaceae
	Cerrado / herbáceo	Maracujazeiro	<i>Passiflora pohlie</i>	Passifloraceae
EEB ¹	Índia / arbórea	Jamelão	<i>Syzygium cumini</i>	Myrtaceae
	Cerrado / arbórea	Falsa quaresmeira	<i>Miconia albicans</i>	Melastomataceae
	Mata Atlântica / arbórea	Sibipiruna	<i>Caesalpinia pluviosa</i>	Fabaceae
	África do Sul / arbusto	Plumbago e Jasmim azul	<i>Plumbago auriculata</i>	Plumbaginaceae
Amazonia/ arbórea		Curupita	<i>Couroupita guianensis</i>	Lecythidaceae
		Lofantera e Chuva de oura	<i>Lophantera lactescens</i>	Malpighiaceae
		Pau santo e Macaúba preta	<i>Platymiscium ulei</i>	Fabaceae
América Central / arbórea		Jenipapo	<i>Genipa americana</i>	Rubiaceae
Antilhas/ arbusto		Graviola	<i>Annona muricata</i>	Annonaceae
Ásia / arbórea		Carambola	<i>Averrhoa carambola</i>	Oxalidaceae
		Limão	<i>Citrus limonium.</i>	Rutaceae
Caatinga / arbórea		Sansão do campo	<i>Mimosa caesalpiniaefolia</i>	Fabaceae
NOVACAP	Cerrado / arbórea	Copaíba (Pau d'óleo)	<i>Copaifera langsdorfii</i>	Fabaceae
		Barbatimão	<i>Stryphnodendron adstringens</i>	Fabaceae
		Cajueiro do Cerrado	<i>Anacardium humile</i>	Anacardiaceae
		Feijão cru e Rabo de bugio	<i>Lonchocarpus muehlbergianus</i>	Fabaceae
		Guarantã	<i>Esenbeckia leiocarpa</i>	Rutaceae
		Ipê caraíba	<i>Tabebuia áurea</i>	Bignoniaceae
		Ipê roxo	<i>Handroanthus impetiginosus</i>	Bignoniaceae
		Jacarandá mimoso	<i>Jacaranda mimosifolia</i>	Bignoniaceae
		Pau de jacaré	<i>Piptadenia gonoachanta</i>	Fabaceae
		Jatobá pitomba	<i>Hymenaea sp.</i>	Fabaceae

	Mirindiba e Dedaleiro	<i>Lafoensia glyptocarpa</i>	Lythraceae	
	Pequi	<i>Caryocar brasiliense</i>	Caryocaraceae	
China / arbórea	Ligustro e Alfeneiro	<i>Ligustrum lucidum</i>	Oleaceae	
Europa / arbórea	Sobro	<i>Roupala Montana</i>	Proteaceae	
Mata Atlântica / arbórea	Jabuticaba	<i>Plinia trunciflora</i>	Myrtaceae	
	Pau Brasil	<i>Caesalpinia echinata</i>	Fabaceae	
	Piuná e Camboim	<i>Eugenia melanogyna</i>	Myrtaceae	
	Quaresmeira	<i>Tibouchina granulosa</i>	Melastomataceae	
Oceania / arbórea	Eucalipto	<i>Eucalyptus spp.</i>	Myrtaceae	
NOVACAP/CRA D	Caatinga / arbórea	Amburana e Cerejeira	<i>Amburana cearensis</i>	Fabaceae
		Aroeira	<i>Myracrodun urundeuva</i>	Anacardiaceae
	Cerrado / arbórea	Olho de cabra	<i>Abrus arboreus</i>	Fabaceae
		Ingá branco	<i>Inga laurina</i>	Fabaceae

¹De um total de 23 espécies coletadas na Área de Preservação da Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília (APA - EEB - UnB) três foram identificadas no nível de espécie e encontram-se listadas nesta Tabela. Outra amostra foi identificada no nível de família (Passifloraceae) e não encontram-se listada nesta Tabela. * Informações de Bioma, hábito, nome comum, nome científico e família foram consultados em Silva Jr (2009, 2010); Souza & Lorenzi (2005).

2.3. Espécies virais avaliadas

Foram avaliadas 12 espécies virais classificadas nos gêneros listados abaixo:

1. *Begomovirus*;
2. *Cucumovirus* (*Cucumber mosaic virus* - CMV);
3. *Potyvirus* (*Potato virus Y* - PVY, *Watermelon mosaic virus* - WMV, *Papaya ringspot virus* - PRSV e *Zucchini yellow mosaic virus* - ZYMV); *Pepper yellow mosaic virus* - PepYMV);
4. *Tospovirus* (*Groundnut ringspot virus*- GRSV, *Tomato chlorosis spot virus*- TCSV, *Tomato spotted wilt virus* - TSWV, *Zucchini lethal chlorosis virus* - ZLCV);
5. *Tobamovirus* (*Pepper mild mottle virus* - PMMoV).

2.4. Métodos de detecção

Para detecção das espécies foram realizados testes sorológicos (Dot Blot) e moleculares (PCR).

2.4.1. Método Sorológico - Dot Blot

Um dos testes adotados neste trabalho para detecção viral foi o Dot Blot (Almeida, 1995). A membrana de nitrocelulose foi preparada conforme a quantidade de amostras para avaliação. A membrana foi imersa em solução ½ PBS (0,02M KH₂PO₄; 0,02M KCL; 1,4M NaCl; 0,08M Na₂HPO₄, pH 7,4) até ficar completamente umedecida e após este procedimento foi colocada sob papel filtro até secar. Cerca de três discos foliares das amostras foram colocados em sacos plásticos e macerados na presença de tampão ½ PBS acrescentado de Polivinilpirrolidona - PVP40 (2%). Em seguida 5 µL do extrato das amostras bem como dos controles positivo e

negativo foram aplicados na membrana. Decorrido o tempo para secagem procedeu-se o Dot - Blot cujo protocolo encontra-se descrito a seguir.

Todo o processo foi realizado em placa de Petri e a temperatura ambiente. Inicialmente as membranas foram mergulhadas em solução bloqueadora (PBS, pH 7,4, acrescido de 2% de leite em pó (Molico) desnatado - LPD) e colocadas em agitador durante duas horas a temperatura ambiente. A seguir adicionou-se o extrato de planta sadia, 20 mL por placa e o antissoro (IgG específico) na diluição de 1:1000 permanecendo em agitação durante toda a noite. Foram feitas três lavagens com ½ PBS e adicionado o mesmo até encher a placa e o conjugado geral (IgG conjugado- goat-anti-rabbit-SIGMA/A3887-1 mL), diluído 1:30000 em ½ PBS que ficou agitando por 3 horas. Novamente foram feitas lavagens com ½ PBS. O complexo antígeno-anticorpo foi detectado pela adição do tampão de revelação (1M tris-base; 0,1M NaCl; 5 mM MgCl₂, pH 9,5) juntamente com 5-bromo-4-clor-3-indolil fosfato (BCIP) e “nitroblue tetrazolium” (NBT), proporção 1:2 de BCIP-NBT, e colocada no agitador até revelar o resultado. A reação foi interrompida mergulhando-se a membrana em água. Os controles positivos, das onze espécies virais avaliadas eram provenientes de inóculo mantido em plantas indicadoras em casa de vegetação da Embrapa Hortaliças.

2.4.2. Método Molecular: PCR

2.4.2.1. Extração de DNA

Inicialmente o DNA total foi extraído de cada amostra usando o protocolo de CTAB (Boiteux *et al*, 1999) modificado. Três discos foliares de cada amostra foram colocados nos tubos de eppendorf (1,5 mL) e macerados em nitrogênio líquido. Posteriormente adicionou-se 700 uL de tampão CTAB (Brometo de Cetil Trimetilamônio), β-mercaptoetanol (0,2%) e PVP40 (2%). A seguir os tubos foram levados ao banho-maria por 5 minutos e após este tempo foi adicionado 700 uL clorofil (clorofórmio: álcool isoamílico, 24:1). Procedeu-se uma agitação

vigorosa utilizando vórtex e as amostras foram submetidas à centrifugação por 5 minutos a 13.200 rpm. O sobrenadante foi transferido a um novo tubo e adicionou-se isopropanol (2/3 do volume do sobrenadante). Os tubos foram agitados manualmente por inversão e em seguida foram centrifugados a 13.200 rpm durante 13 minutos. O sobrenadante foi descartado e o precipitado obtido foi lavado com 50 uL de etanol 70% e seco a temperatura ambiente. Para ressuspensão do pellet, 100 uL da solução de água MiliQ foram adicionados. O DNA total foi visualizado em gel de agarose a 1% e corado em brometo de etídio. As amostras foram armazenadas em freezer -20 °C.

2.4.2.2. Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Para a detecção de *Begomovirus* nas diferentes amostras coletadas após a extração de DNA, procedeu-se a amplificação utilizando um par de primers para o componente DNA-A: ‘PAL1v1978’ (5’-GCATCTGCAGGCCCAACTYGTCTTTYCCNGT-3’) e ‘PAR1c1496’(5’-AATACTGCAGGGCTTYCTRTRACATRGG-3’) (Rojas *et al.*, 1993).

As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 12,5 µL contendo 1,25 µL de Tampão 10X da enzima *Taq* Polymerase (100 mM Tris-HCl, pH 8,3 e 500 mM KCl, Invitrogen), 0,5 µL de MgCl₂ (50 mM, Invitrogen), 0,25 µL dNTPs (2,5 mM, Invitrogen), 0,25 µL de cada primer PAL1v1978/PAR1c1496 (10uM), 0,1 µL da enzima *Taq* Polimerase (5U/µL, Invitrogen), 7,9 µL de água MiliQ e 2 µL de DNA. As reações foram amplificadas em termociclador programado com as seguintes condições: temperatura inicial de 94°C durante 2 minutos e posteriormente 35 ciclos sendo cada um deles de 94°C por 30 segundos (desnaturação); 55°C por 1 minuto (anelamento) e 72°C por 3 minutos (extensão). O produto da PCR foi visualizado em gel de agarose a 1% e corado em brometo de etídeo.

3. Resultados

Ao todo, 148 amostras (78 espécies botânicas) foram coletadas apresentando um ou mais sintomas similares aos induzidos por vírus, tais como, desvios de cor do tipo: amarelecimento, clorose, bronzeamento, pontos cloróticos e necróticos, mosaico, mosqueado e deformações foliares: bolhosidade, epinastia, rugosidade e encarquilhamento.

3.1.Resultados dos testes sorológicos e moleculares

3.1.1. Área de Preservação Ambiental da Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília (APA - EEB - UnB)

Foram coletadas e analisadas 23 amostras de 23 espécies botânicas na APA-EEB-UnB com sintomas típicos de vírus de plantas. Até o presente momento somente três amostras foram identificadas no nível de espécie sendo estas: jamelão (*Syzigium cumini*), sibipiruna (*Caesalpinia pluviosa*) e falsa quaresmeira (*Miconia albicans*). Uma amostra foi identificada no nível de família (Passifloraceae). Estas espécies encontram-se ilustradas na **Figura 3**.

As demais espécies foram analisadas, entretanto, aguardam identificação e por isto não foram incluídas neste trabalho.



Figura 3. A-D: Espécies arbóreas e arbustivas exibindo sintomas similares aos induzidos por vírus de plantas coletadas em Área de Preservação Ambiental da Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília (APA - EEB - UnB). **A.** Jamelão (*Syzygium cumini*). **B.** Sibipiruna (*Caesalpinia pluviosa*). **C.** Falsa quaresmeira (*Miconia albicans*) e **D.** Espécie da família Passifloraceae.

De um modo geral os resultados mostraram que 60,9 % das plantas analisadas foram positivas para pelo menos uma espécie viral. Dentre as espécies identificadas, o jamelão (*Syzygium cumini*) foi positivo para TSWV, TCSV e PVY, a sibipiruna (*Caesalpinia pluviosa*) para WMV, PepYMV, ZYMV, PRSV, CMV e TSWV, enquanto a falsa quaresmeira (*Miconia albicans*) foi positiva para WMV e TSWV. Foram selecionadas duas membranas para ilustrar os resultados obtidos. Nestas membranas podem ser observados que os controles (positivo e negativo), de acordo com a espécie viral testada, reagiram conforme esperado e permitiram a leitura das amostras testadas (**Figura 4**). Na letra **A** da **Figura 4**, amostras de sibipiruna e falsa quaresmeira foram positivas para WMV e encontram-se nas posições **C1** e **H1**. Na letra **B** da mesma figura somente sibipiruna (posição **C1**) foi positiva para ZYMV. As amostras de

jamelão (posição **A1**) e da espécie não identificada da família Passifloraceae (posições **G3/H3** da **Figura 4**) foram negativas para estes dois vírus.

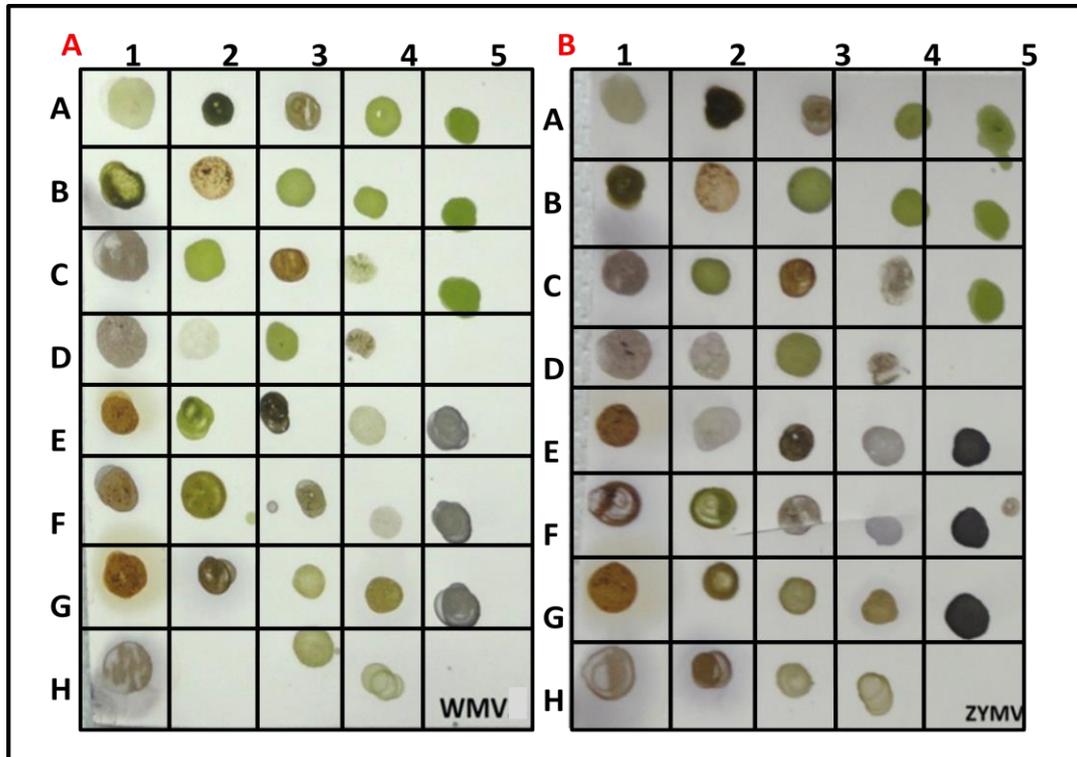


Figura 4. A-B: Membranas de teste Dot Blot com amostras de espécies arbóreas provenientes da Área de Preservação Ambiental da Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília (APA - EEB - UnB) para as espécies virais: *Watermelon mosaic virus* (WMV) (**A**) e *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) (**B**). A maioria das espécies arbóreas encontra-se em fase de identificação e as posições abaixo listadas correspondem às espécies já identificadas. **A1**. Jamelão (*Syzygium cumini*). **C1**. Sibipiruna (*Caesalpinia pluviosa*). **H1**. Falsa quaresmeira (*Miconia albicans*) e **G3/H3**. Espécie da família Passifloraceae. Amostras do controle negativo tomate (*Solanum lycopersicum*) correspondem às posições **A5**, **B5** e **C5**, enquanto as amostras positivas de inóculos mantidos em plantas indicadoras da Embrapa Hortaliças correspondem às posições **E5**, **F5** e **G5**.

As reações de PCR foram conduzidas conforme especificado e um amplicón foi obtido para a espécie da família Passifloraceae e nos controles usados como positivos. Futuramente este amplicón será clonado e enviado para sequenciamento.

3.2. Centro de Conservação da Natureza e Recuperação em Áreas Degradadas do Bioma Cerrado (CRAD - UnB)

No viveiro do CRAD foram coletadas 51 amostras distribuídas em 27 espécies arbóreas pertencentes a 16 famílias botânicas. A maioria destas espécies, nativas do Bioma Cerrado, apresentavam sintomas típicos de vírus de plantas. As mudas destas espécies estavam expostas em canteiros ao ar livre. Dezoito destas espécies encontram-se ilustradas nas **Figuras 5 e 6**.

Ao realizar Dot-Blot aproximadamente 62,3% do total de espécies do CRAD foram positivas para pelo menos uma espécie viral avaliada. O GRSV foi detectado em 30% das mudas, seguido de TSWV com 26%, PMMoV com 15%, TCSV com 11% e os vírus, PVY e CMV responderam por 8%. As espécies ZYMV, ZLCV e PRSV foram detectadas em 4% das espécies avaliadas. Não houve nenhuma amostra positiva para *Begomovirus*, WMV e PepYMV.

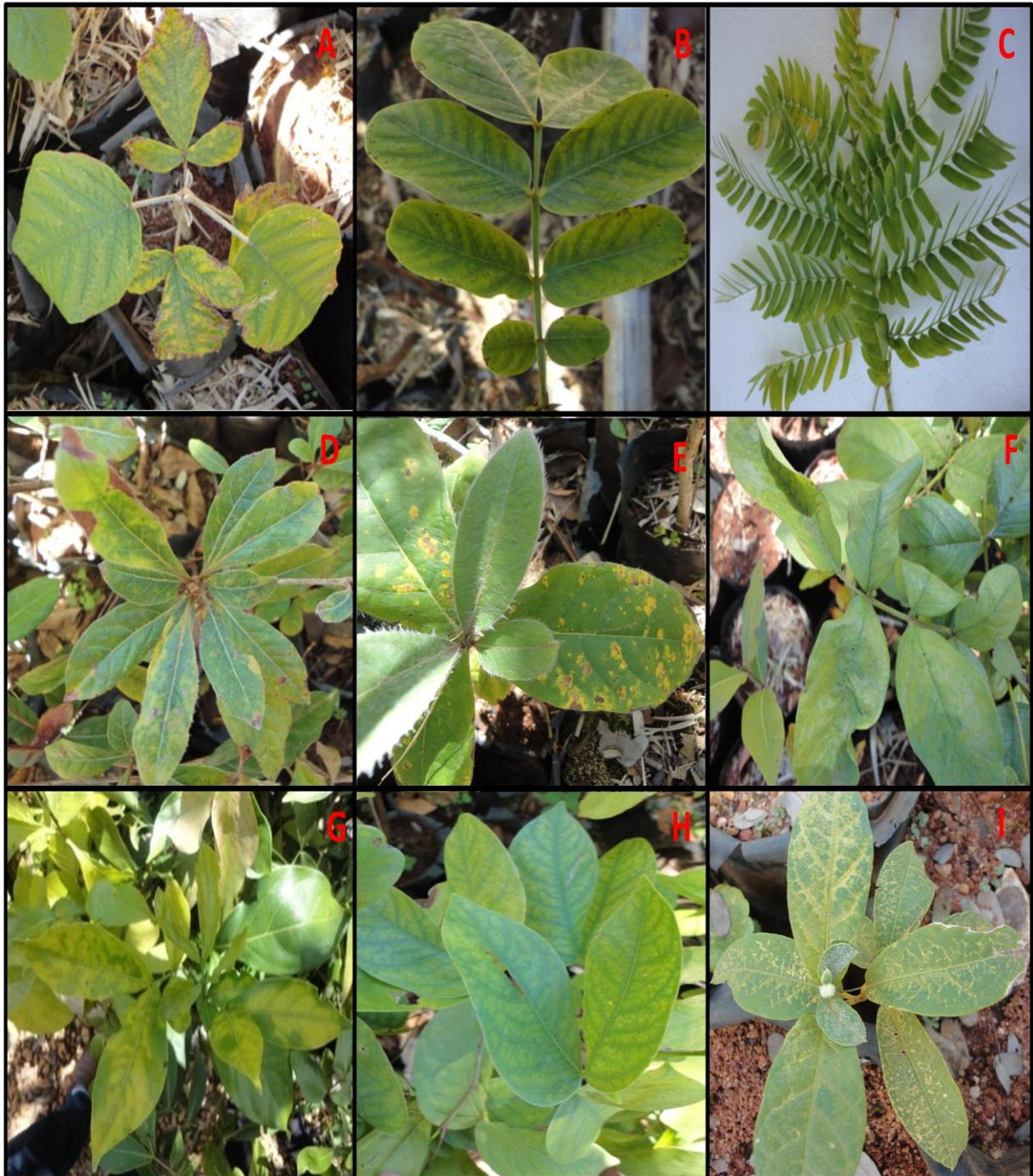


Figura 5. A-I: Espécies arbóreas e arbustivas exibindo sintomas similares aos induzidos por vírus de plantas, coletadas em viveiro do CRAD (Centro de Referência em Áreas Degradadas do Bioma Cerrado da Universidade de Brasília). **A.** Ipê preto (*Zeyheria tuberculosa*). **B.** Fedegoso gigante (*Senna alata*). **C.** Tamboril da mata (*Enterolobium contortisiliquum*). **D.** Tarumarana (*Buchenavia tomentosa*). **E.** Capitão do mato (*Terminalia argentea*). **F.** Angelim (*Andira vermifuga*). **G.** Ingá mirim (*Inga cylindrica*). **H.** Jatobá da mata (*Hymenaea courbaril*) e **I.** Tingui (*Callaeum psilophyllum*).

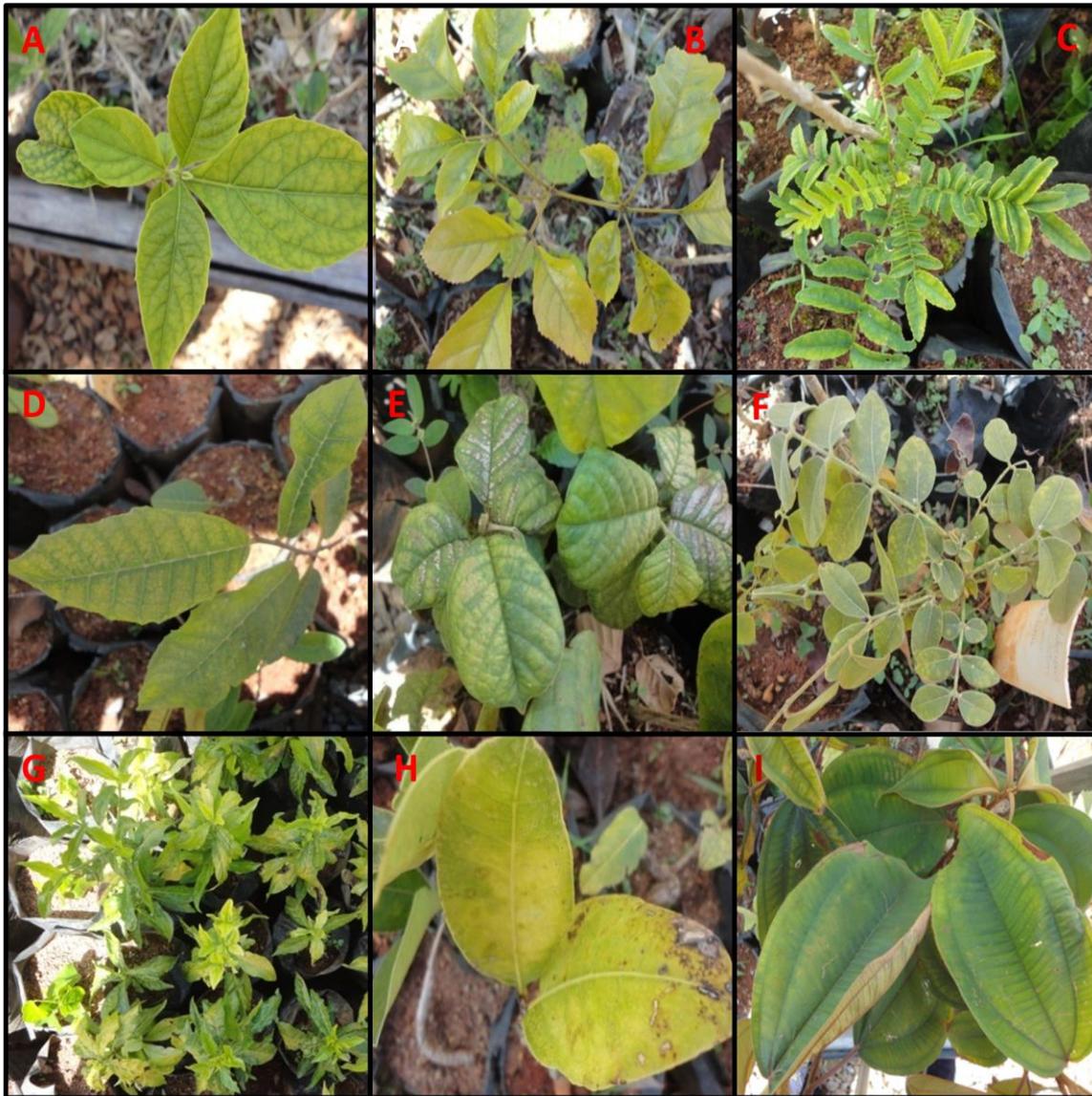


Figura 6. A-I: Espécies arbóreas e arbustivas exibindo sintomas similares aos induzidos por vírus de plantas coletadas em viveiro do CRAD (Centro de Referência em Áreas Degradadas do Bioma Cerrado da Universidade de Brasília). **A.** Tamanqueira (*Aegiphila integrifolia*) **B.** Ipê amarelo (*Handroanthus serratifolius*). **C.** Mamica de porca (*Zanthoxylum rhoifolium*). **D.** Mama-cadela (*Brosimum gaudichaudii*). **E.** Olho de cabra (*Abrus arboreus*). **F.** Carvoeiro (*Sclerolobium melinonii*). **G.** Guazutibaim (*Rosenbergiodendron longiflorum*). **H.** Paineira do Cerrado (*Eriotheca pubescens*) e **I.** Falsa quaresmeira (*Miconia albicans*).

Foram selecionadas duas membranas para ilustrar os resultados obtidos com as espécies virais PRSV (**Figura 7A**) e o TSWV (**Figura 7B**). Nestas membranas podem ser observados que os controles (positivo e negativo) de acordo com a espécie viral testada estavam apropriados para comparação com as amostras coletadas.

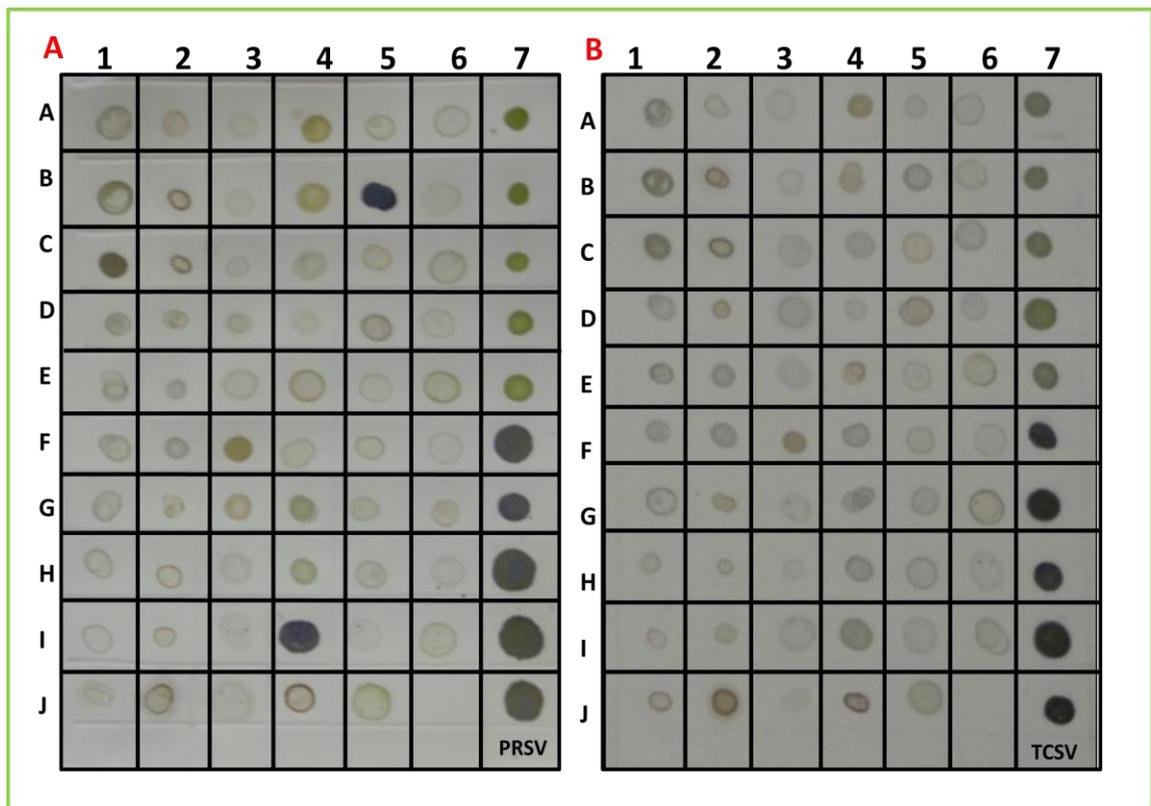


Figura 7. A-B: Membranas de Dot Blot com amostras de espécies arbóreas provenientes do CRAD -UnB (Centro de Referência em Áreas Degradadas do Bioma Cerrado da Universidade de Brasília) exemplificadas para dois vírus: *Papaya ringspot virus* (PRSV) (A) e *Tomato chlorosis spot virus* (TCSV) (B). Para a membrana A, amostras positivas são visualizadas nas posições: E2 e F2 e para a membrana B nas posições: E2, F2, F4 e C6, conferir espécies abaixo. O nome (comum e científico) das espécies arbóreas e suas posições na membrana encontram-se a seguir: A1 a G1. Ipê amarelo (*Handroanthus serratifolius*). H1. Ingá branco (*Inga laurina*). I1, J1, A2 a B2. Ingá mirim (*Inga cylindrica*). C2 e D2. Aroeira (*Myracrodun urundeuva*). E2 e F2. Ipê preto (*Zeyheria tuberculosa*). G2 a I2. Tarumarana (*Buchenavia tomentosa*). J2 e A3. Capitão do mato (*Terminalia argentea*). B3 e C3. Angelim (*Andira vermifuga*). D3 e E3. Paineira do cerrado (*Eriotheca pubescens*). F3 e G3. Guazutibaim (*Rosenbergiodendron longiflorum*). H3 a J3. Babosa branca (*Cordia superba*). A4 e B4. Tamanqueira (*Aegiphila integrifolia*). C4 e D4. Mamica de porca (*Zanthoxylum rhoifolium*). E4 e F4. Tingui (*Callaeum psilophyllum*). G4 e H4. Fedegoso gigante (*Senna alata*). J4. Bacupari da mata (*Cheiloclinium congatum*). A5 e B6. Miconia (*Tibouchina granulosa*). C5. Mamacadela (*Brosimum gaudichaudii*). D5. Unha de gato (*Senegalia bonariensis*). E5. Jatobá da mata (*Hymenaea courbaril*). H5. Carveiro (*Sclerolobium melinonii*). I5. Tamboril da mata (*Enterolobium contortisiliquum*). A6. Olho de cabra (*Abrus arboreus*). C6. Amburana (*Amburana cearensis*). D6. Maracujazeiro (*Passiflora pohlii*). E6. Pau pombo (*Matayba elaeagnoides*) e H6. Café urubu (*Psychotria mapourioides*). As posições não mencionadas aqui não apresentam interesse para esse trabalho. Amostras do controle negativo tomate (*Solanum lycopersicum*) correspondem às posições A7, B7, C7, D7 e E7 enquanto as amostras positivas são inóculos mantidos em plantas indicadoras correspondendo as posições F7, G7, H7, I7 e J7.

Os resultados desta coleta encontram-se na **Tabela 3**. As espécies virais TSWV e GRSV foram detectadas na maioria das amostras positivas causando infecção mista em ipê amarelo (*Handroanthus serratifolius*), ipê preto (*Zeyheria tuberculosa*), tamboril da mata (*Enterolobium contortisiliquum*) e mamica de porca (*Zanthoxylum rhoifolium*). O maracujazeiro (*Passiflora pohlii*), tamanqueira (*Aegiphila integrifolia*) e mama-cadela (*Brosimum gaudichaudii*) foram positivas para TSWV, enquanto as espécies capitão do mato (*Terminalia argentea*), angelim (*Andira vermifuga*) e miconia (*Tibouchina granulosa*) apresentaram resultado positivo para GRSV. Além disto, foi possível observar também que amostras de ipê preto, tingui (*Callaeum psilophyllum*) e amburana (*Amburana cearensis*) se mostraram positivas para TCSV. A espécie viral ZLCV foi detectada apenas em jatobá da mata (*Hymenaea courbaril*).

Dentre as espécies de *Potyvirus* analisadas, resultados positivos foram observados em ipê preto (PRSV e PVY), mamica de porca (PVY e ZYMV).

O CMV, espécie viral encontrada frequentemente em espécies cultivadas foi detectado em angelim e ipê preto.

Para a espécie de *Tobamovirus*, o PMMoV, foi detectado em carvoeiro (*Sclerolobium melinonii*), paineira do Cerrado (*Eriotheca pubescens*), pau pombo (*Matayba elaeagnoides*) e café de urubu (*Psychotria mapourioides*).

Nenhuma das amostras analisadas apresentou reação positiva para as espécies de *Potyvirus*: PepYMV e WMV.

Nenhum amplicón foi obtido utilizando primers para espécies de *Begomovirus* que infectam tomateiro e outras solanáceas.

Tabela 3: Lista de espécies arbóreas coletadas por nome científico, nome comum (quantidade de amostras de plantas distintas), sintomas e resultados de detecção sorológica diretamente das espécies coletadas.

Nome científico	Nome comum (número de amostras)	Sintomas (separados por linhas por amostras)	Dot-Blot (amostras positivas/amostras totais)
<i>Terminalia argentea</i>	capitão do mato (2)	lesões necróticas	Nenhum resultado positivo para as espécies virais avaliadas*
		Amarelecimento	GRSV(1/1)
<i>Andira vermifuga</i>	angelim (2)	pontos necróticos, clorose e rugosidade	GRSV(1/2) e CMV(1/2)
<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	tamboril da mata(2)	amarelecimento e bolhosidade	GRSV(1/2) e TSWV(1/2)
<i>Zanthoxylum rhoifolium</i>	mamica de porca (2)	amarelecimento	GRSV e TSWV(1/1)
		clorose	GRSV, PVY e ZYMV(1/1)
<i>Zeyheria tuberculosa</i>	ipê preto (2)	necrose nos bordos, pontos cloróticos	GRSV, TCSV, TSWV, PRSV, PVYe CMV(1/1)
		clorose	GRSV, TCSV, TSWV, PRSV e PVY(1/1)
<i>Handroanthus serratifolius</i>	ipê amarelo (7)	amarelecimento, epinastia	GRSV(2/7) e TSWV(6/7)
		bolhosidade	Nenhum resultado positivo para as espécies virais avaliadas*
<i>Passiflora pohlie</i>	maracujazeiro (1)	amarelecimento e rugosidade	GRSV e TSWV
<i>Sclerolobium melinonii</i>	carvoeiro (1)	amarelecimento e pontos bronzeados	PMMoV
<i>Eriotheca pubescens</i>	paineira (1)	amarelecimento e pontos necróticos	PMMoV
<i>Matayba elaeagnoides</i>	pau pombo (1)	amarelecimento	PMMoV
<i>Psychotria mapourioides</i>	café urubu (1)	rugosidade e amarelecimento	PMMoV

<i>Amburana cearensis</i>	amburana (1)	Amarelecimento	TCSV
<i>Callaeum psilophyllum</i>	tingui (2)	Amarelecimento	TCSV(1/2)
<i>Aegiphila integrifolia</i>	tamanqueira (2)	deformação nos bordos foliares e amarelecimento	TSWV(1/2)
<i>Brosimum gaudichaudii</i>	mama-cadela (1)	amarelecimento e pontos bronzeados	TSWV(1/1)
<i>Hymenaea courbaril</i>	jatobá da mata (1)	Amarelecimento	ZLCV(1/1)
<i>Miconia ferruginata</i>	pixirica do campo (2)	pontos cloróticos	GRSV(1/2)
<i>Inga laurina</i>	ingá branco (1)	pontos cloróticos	Nenhum resultado positivo para as espécies virais avaliadas*
<i>Inga cylindrica</i>	ingá mirim (4)	amarelecimento e nanismo	
<i>Myracrodun urundeuva</i>	aroeira (2)	pontos cloróticos e clorose	
<i>Buchenavia tomentosa</i>	tarumarana (3)	lesão necrótica nos bordos e amarelecimento	
<i>Rosenbergiodendron longiflorum</i>	guazutibaim (2)	amarelecimento, necrose e rugosidade	
<i>Cordia superba</i>	babosa branca (3)	amarelecimento	
<i>Senna alata</i>	fedegoso gigante (2)	amarelecimento e necrose nos bordos	
<i>Cheiloclinium congatum</i>	bacupari da mata (1)	clorose	
<i>Senegalia bonariensis</i>	unha de gato (1)	amarelecimento	
<i>Abrus arboreus</i>	olho de cabra (1)	amarelecimento e rugosidade	

* Todas as amostras foram testadas para 12 espécies virais: *Cucumber mosaic virus* - CMV, *Groundnut ringspot virus* - GRSV, *Tomato chlorosis spot virus* - TCSV, *Tomato spotted wilt virus* - TSWV, *Zucchini lethal chlorosis virus* - ZLCV, *Potato virus Y* - PVY, *Watermelon mosaic virus* - WMV, *Papaya ringspot virus* - PRSV, *Zucchini yellow mosaic virus* - ZYMV, *Pepper yellow mosaic virus* - PepYMV, *Pepper mild mottle virus* - PMMoV e *Begomovirus*. Para este último utilizou-se primers universais usados na identificação de espécies que infectam o tomate (*Solanum lycopersicum*).

3.3. Coleta: Companhia Urbanizadora da Nova Capital do Brasil (NOVACAP)

Na NOVACAP 74, amostras foliares de 32 espécies arbóreas e arbustivas classificadas em 16 famílias botânicas foram coletadas e algumas apresentavam sintomas típicos de vírus de plantas. Algumas destas amostras encontram-se ilustradas nas **Figuras 8 e 9**.

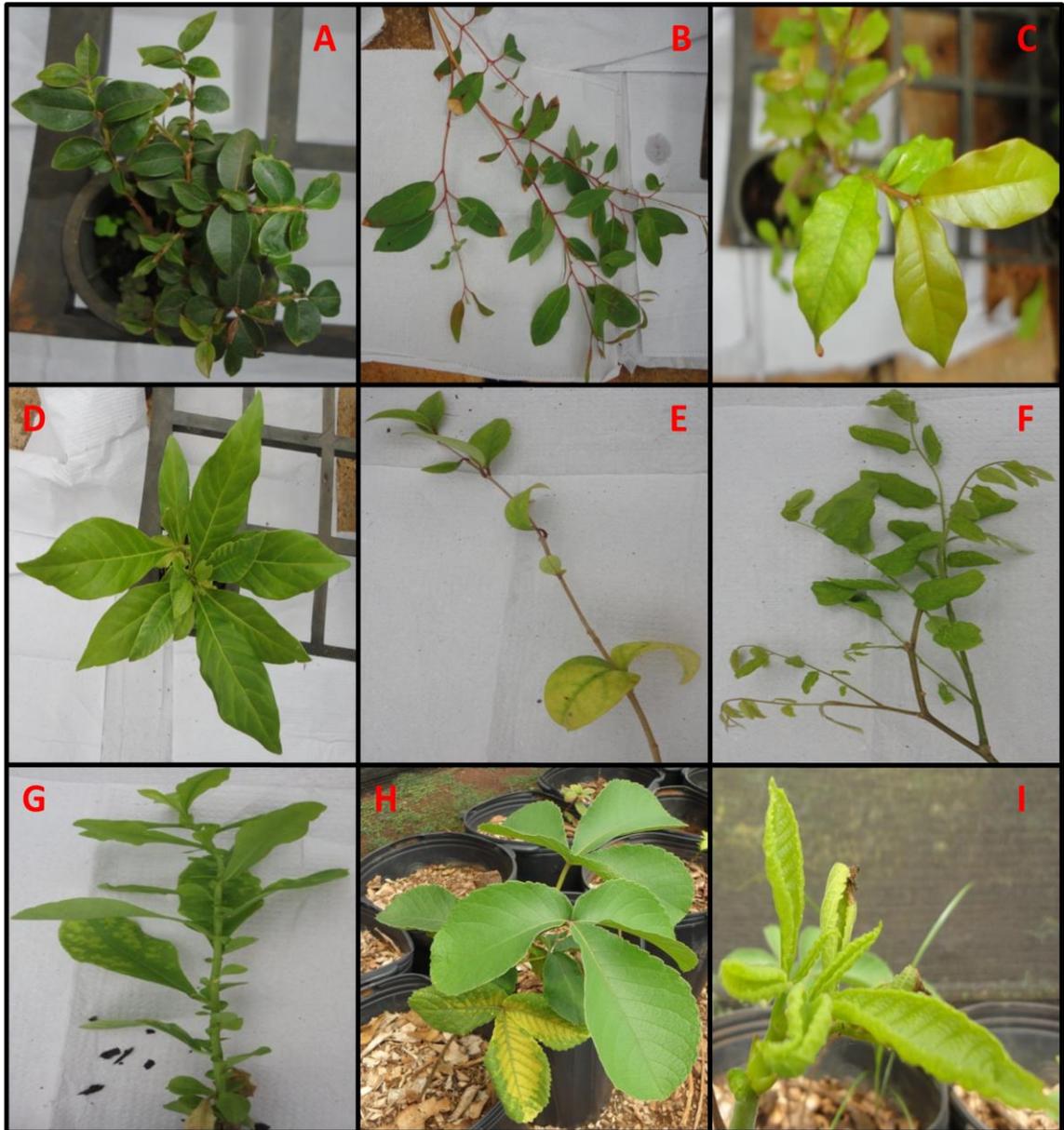


Figura 8. A-I: Espécies arbóreas e arbustivas exibindo sintomas similares aos induzidos por vírus de plantas coletadas em viveiro da NOVACAP (Companhia Urbanizadora da Nova Capital do Brasil). **A.** Jabuticaba (*Plinia trunciflora*). **B** Eucalipto (*Eucalyptus* spp.). **C.** Lofantera (*Lophanthera lactescens*). **D.** Jenipapo (*Genipa americana*). **E.** Ligustro (*Ligustrum lucidum*). **F.** Amburana (*Amburana cearensis*). **G.** Plumbago (*Plumbago auriculata*) e **H/I.** Pequi (*Caryocar brasiliense*).

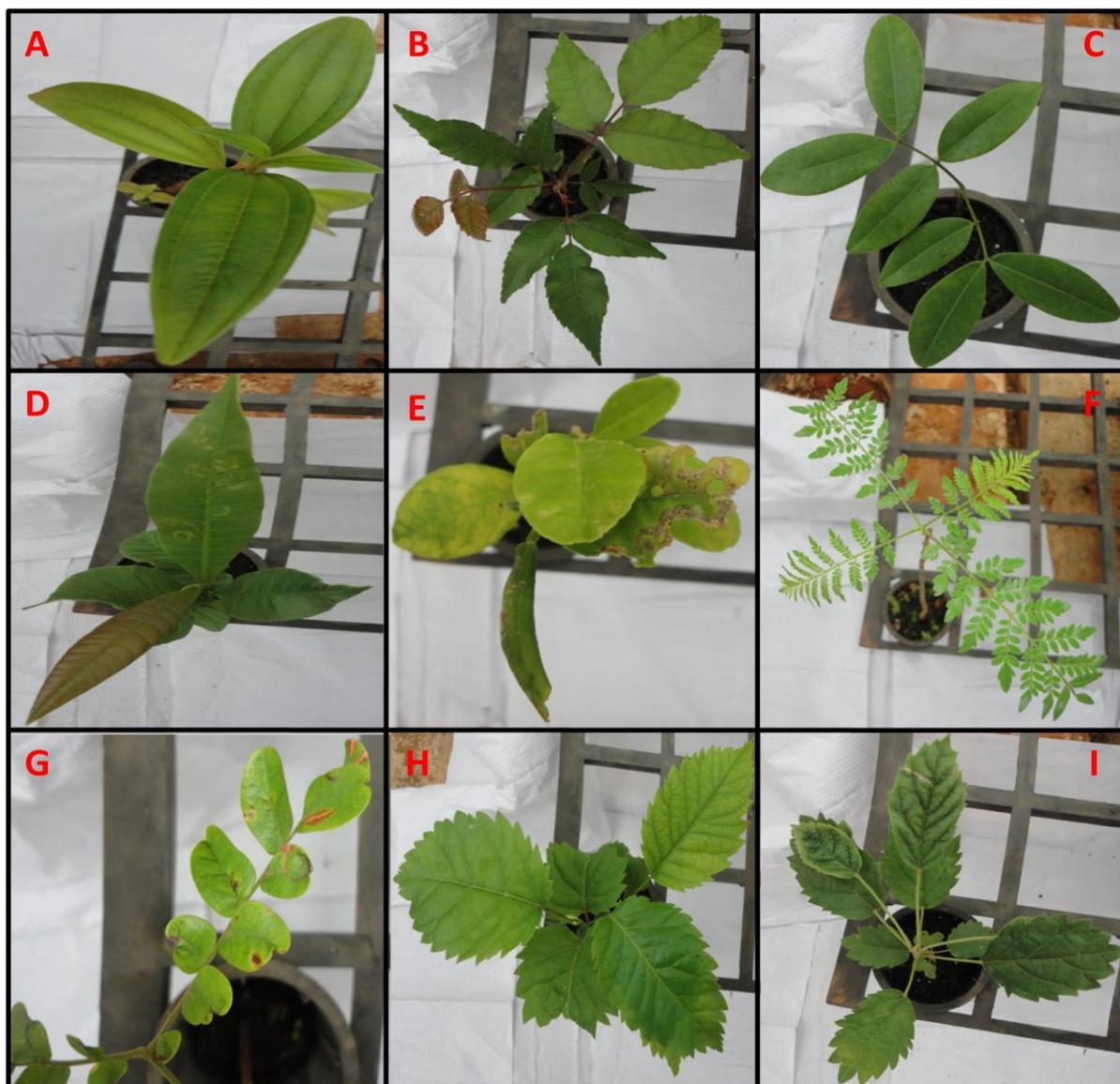


Figura 9. A-I: Espécies arbóreas exibindo sintomas similares aos induzidos por vírus de plantas coletadas em viveiro da NOVACAP (Companhia Urbanizadora da Nova Capital do Brasil). **A.** Quaresmeira (*Tibouchina granulosa*). **B.** Aroeira (*Myracrodun urundeuva*). **C.** Copaíba (*Copaifera langsdorffii*). **D.** Ipê caraíba (*Tabebuia aurea*). **E.** Pau santo (*Platymiscium ulei*). **F.** Jacarandá mimoso (*Jacaranda mimosifolia*). **G.** Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) e **H/I.** Ipê roxo (*Handroanthus impetiginosus*).

No Dot Blot grande parte das amostras foi positiva para espécies do gênero *Tospovirus*. Os principais vírus detectados foram GRSV e TSWV (**Figura 10**), concomitante em amburana, barbatimão, carambola, copaíba, graviola, ingá branco ipê caraíba, ipê roxo, lofantera, mirindiba e quaresmeira. A espécie viral GRSV foi detectada também em feijão-cru, ligustro, pau-brasil, piuná e quaresmeira, enquanto o TSWV foi detectado em jenipapo e olho de cabra.

Outra espécie do gênero *Tospovirus*, o TCSV, foi detectado neste estudo em amostras de barbatimão, ingá, ipê roxo, jenipapo, ligustro e pau Brasil. Já, o ZLCV foi detectado em eucalipto, feijão-cru, jacaré do Cerrado, pau Brasil e quaresmeira.

Espécies do gênero *Potyvirus* foram detectadas em feijão-cru e jacaré do Cerrado (PRSV), feijão-cru, graviola, jacaré do Cerrado e olho de cabra (ZYMV). Somente a graviola foi positiva para o WMV e o plumbago para PVY.

Não houve amostra positiva para PepYMV e *Begomovirus*.

As espécies positivas para mais de três vírus foram barbatimão, feijão - cru, graviola, ingá, ipê roxo, jacaré do Cerrado, jenipapo, pau Brasil e sansão do campo. Na **Tabela 4** estão listadas as plantas (nome comum), os sintomas apresentados e o resultado da detecção sorológica.

A quantidade de espécies positivas foi de 47% para GRSV, 41% para TSWV, 19% para TCSV, 16% para ZLCV, 13% para ZYMV, 6% para PRSV e PMMoV e 3% para PVY e WMV.

As plantas amburana, aroeira, olho de cabra e ingá branco foram coletadas nos dois viveiros. Em aroeira não foi detectado vírus em nenhuma amostra coletada de ambos os viveiros. Amburana proveniente do CRAD foi positiva para TCSV e na NOVACAP a amostra de amburana foi positiva para GRSV e TCSV. Para olho de cabra e ingá branco não houve detecção viral em nenhuma amostra de planta do CRAD, porém, da NOVACAP a primeira foi positiva para TSWV e ZYMV enquanto a segunda foi positiva para GRSV, TCSV e TSWV.

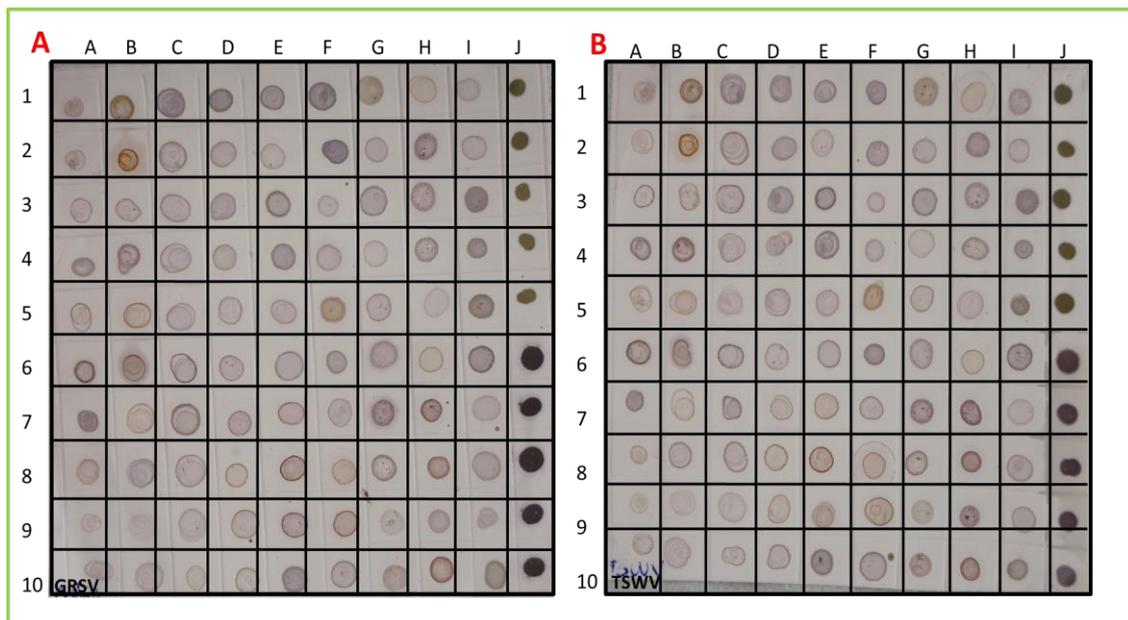


Figura 10. A-B: Membranas de Dot Blot com amostras de espécies arbóreas provenientes do NOVACAP (Companhia Urbanizadora da Nova Capital do Brasil) exemplificadas para dois vírus: *Groundnut ringspot virus* (GRSV) (A) e *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) (B). Para a membrana A, amostras positivas são visualizadas nas posições: **4E, 6E, 10E, 1F, 3E, 4C, 1E, 6D, 5F, 1C, 7E, 9E, 5E, 8C, 2D a 5D, 6F, 9F, 10F, 2G, 4A, 7A, 6G, 5I, 2C, 7D, 6A, 5C e 9C** para a membrana B nas posições: **4E, 6E, 10E, 1F, 3E, 4C, 1E, 6D, 5F, 1C, 7E, 9E, 5E, 8C, 2D a 5D, 6F, 9F, 10F, 2G, 4A, 7A e 6G** conferir espécies abaixo. O nome (comum e científico) das espécies arbóreas e suas posições na membrana encontram-se a seguir: **1A e 2A.** jabuticaba. **3A e 10B.** eucalipto. **4A.** lofantera. **5A.** curupita. **6A e 3F.** jenipapo. **7A, 8A e 10A.** mirindiba. **9A e 6B.** aroeira. **1B.** jacarandá mimoso. **2B.** sobreiro. **3B.** pau santo. **4B.** sansão do campo. **5B.** jacaré do cerrado. **5I.** feijão-cru. **8B.** *citrus*. **9B, 4G, 5G e 6G.** quaresmeira. **2C.** pau Brasil. **3C, 6C a 8C, 2D a 5D, 6F a 2G.** ipê roxo. **4C e 1E.** carambola. **5C e 9C.** olho de cabra. **5E** ipê caraíba. **1D.** guarantã. **6D e 10D.** copaíba. **7D.** piuná. **8D.** jatobá pitomba. **9D.** cajueiro do Cerrado. **2E e 3E.** barbatimão. **4E, 6E, 10E e 1F.** amburana. **7E a 9E.** ingá branco. **4F.** ligustro. **1C.** graviola. **7G a 3H.** plumbago e **6H a 8H, 1I a 4I.** pequi. **1J a 5J** controle negativo de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) sadio e **6J a 10J** controle positivo de plantas indicadoras mantidas como inóculo viral em casa de vegetação da Embrapa Hortaliças.

Tabela 4: Lista de espécies por nome científico, nome comum (quantidade de amostras de plantas distintas), sintomas e resultado de detecção sorológica.

Nome científico	Nome comum (amostras)	Sintomas	Deteção sorológica
<i>Eugenia melanogyna</i>	piuná (1)	amarelecimento	GRSV
<i>Ligustrum lucidum</i>	ligustro (1)	clorose	GRSV e TCSV
<i>Inga laurina</i>	ingá branco(2)	encarquilhamento	GRSV, TCSV e TSWV (2/2)
<i>Handroanthus impetiginosus</i>	ipê roxo (15)	rugosidade	GRSV, TCSV e TSWV (9/15)
<i>Stryphnodendron adstringens</i>	barbatimão (2)	amarelecimento	GRSV, TCSV, TSWV e PMMoV (1/2)
<i>Caesalpinia echinata</i>	pau Brasil (1)	pontos cloróticos	GRSV, TCSV e ZLCV
<i>Tabebuia aurea</i>	ipê caraíba (1)	pontos cloróticos	GRSV e TSWV
<i>Lophantera lactescens</i>	lofantera (1)	clorose	GRSV e TSWV
<i>Averrhoa carambola</i>	carambola (2)	clorose	GRSV (1/2)
			TSWV (1/2)
<i>Copaifera langsdorfii</i>	copaíba (2)	bolhosidade	GRSV (1/2)
			TSWV (1/2)
<i>Lafoensia glyptocarpa</i>	mirindiba (3)	pontos cloróticos	GRSV e TSWV (1/3)
<i>Amburana cearensis</i>	amburana (4)	pontos cloróticos	GRSV e TSWV(2/4)
<i>Tibouchina granulosa</i>	quaresmeira (4)	pontos cloróticos	GRSV, TSWV e ZLCV(1/4)
<i>Annona muricata</i>	graviola (1)	clorose	GRSV, TSWV, ZYMV e WMV
<i>Lonchocarpus muehlbergianus</i>	feijão cru (1)	amarelecimento	GRSV, ZYMV, PRSV e ZLCV

<i>Plumbago auriculata</i>	plumbago (7)	clorose	PVY (2/7)
<i>Genipa americana</i>	jenipapo (2)	amarelecimento	TCSV, GRSV e PMMoV (1/2)
<i>Abrus arboreus</i>	olho de cabra (2)	bolhosidade	GRSV, TSWV, ZYMV e PRSV (2/2)
			GRSV(1/2)
<i>Eucalyptus spp.</i>	eucalipto (1)	amarelecimento	ZLCV
<i>Piptadenia gonoachanta</i>	pau de jacaré (1)	encarquilhamento	ZYMV, PRSV e ZLCV
<i>Myracrodun urundeuva</i>	aroeira (2)	clorose	Nenhum resultado positivo para as espécies virais avaliadas*
<i>Anacardium humile</i>	cajueiro do Cerrado (1)	bolhosidade	
<i>Citrus limonium</i>	limão (1)	amarelecimento	
<i>Couroupita guianensis</i>	curupita (1)	bolhosidade	
<i>Esenbeckia leiocarpa</i>	guarantã (1)	bolhosidade	
<i>Plinia trunciflora</i>	jabuticaba (2)	amarelecimento	
<i>Jacaranda mimosifolia</i>	jacarandá mimoso (1)	pontos cloróticos	
<i>Hymenaea spp.</i>	jatobá pitomba (1)	amarelecimento	
<i>Platymiscium ulei</i>	pau santo (1)	clorose	
<i>Caryocar brasilense</i>	pequi (7)	amarelecimento	
<i>Mimosa caesalpiniaefolia</i>	sansão do campo (1)	bolhosidade	
<i>Roupala montana</i>	sobro (1)	amarelecimento	

* Todas as amostras foram testadas para 12 espécies virais: *Cucumber mosaic virus* - CMV, *Groundnut ringspot virus* - GRSV, *Tomato chlorosis spot virus* - TCSV, *Tomato spotted wilt virus* - TSWV, *Zucchini lethal chlorosis virus* - ZLCV, *Potato virus Y* - PVY, *Watermelon mosaic virus* - WMV, *Papaya ringspot virus* - PRSV, *Zucchini yellow mosaic virus* - ZYMV, *Pepper yellow mosaic virus* - PepYMV, *Pepper mild mottle virus* - PMMoV e *Begomovirus*. Para este último utilizou-se primers universais usados na identificação de espécies que infectam o tomate (*Solanum lycopersicum*).

4. Discussão

O presente estudo fornece um primeiro panorama a respeito da potencial variabilidade de espécies virais ocorrendo em plantas arbóreas e arbustivas do Bioma Cerrado. De fato, poucos são os estudos disponíveis sobre a ocorrência/diversidade de vírus em espécies arbóreas, especialmente no Brasil. Assim, este trabalho destaca o potencial de espécies arbóreas como reservatório de espécies virais importantes para agricultura. É importante ressaltar que métodos de detecção e caracterização mais precisos se fazem necessários para confirmar os dados reportados no presente trabalho. Algumas características inerentes ao patógeno como tamanho, pouca diversidade morfológica e necessidade de técnicas mais sofisticadas quando comparado à outros patógenos dificultam também a diagnose e estudo de vírus nestas espécies. Apesar da falta de conhecimento, diversas espécies arbóreas podem ser acometidas por infecções virais que podem causar degeneração e perda da vitalidade. A detecção de vírus em espécies arbóreas é difícil devido à elevada quantidade de compostos fenólicos, a disseminação irregular de patógenos em populações de árvores sob condições naturais, além da baixa concentração viral (IUFRO, 2013).

Neste trabalho utilizando métodos tradicionais de detecção de vírus de plantas classificados como sorológico (Dot Blot) e molecular (PCR) foi possível constatar a presença de algumas espécies virais em espécies arbóreas. Testes sorológicos tem sido utilizados na identificação e caracterização de fitovírus (Van Regermortel, 2000). Algumas espécies virais classificadas no mesmo gênero apresentam estreitas e complexas relações sorológicas, podendo ocorrer assim reações entre diferentes espécies do mesmo gênero (Francky *et al.*, 1985; Murphy *et al.*, 1995). Esta característica poderia explicar o fato de várias espécies de *Potyvirus* e *Tospovirus* serem detectadas em uma mesma planta, corroborando com estudo de Vicent *et al.* (2014) onde várias espécies geneticamente relacionadas a potyvírus e tospovírus foram detectadas em plantas arbóreas nativas da Austrália.

Apesar do presente trabalho restringir a detecção para um grupo de 12 espécies virais distribuídas em cinco gêneros importantes para agricultura mundial, este fato, não exclui a possibilidade da ocorrências de distintos vírus estarem acometendo as plantas coletadas. Um grande grupo de amostras exibindo sintomas similares aos induzidos por infecção viral e transmitidos mecanicamente para espécies indicadoras (resultados não mostrados) foram negativas para as doze espécies virais testadas. Acredita-se que estas amostras de plantas possam estar infectadas com outras espécies virais, incluindo prováveis espécies novas.

Ao realizar uma vasta busca na literatura sobre a diversidade viral presente em espécies arbóreas taxonomicamente próximas às espécies aqui estudadas foram encontrados os seguintes relatos: Brunt *et al.* (1996) registraram, na Alemanha, *Scrophularia mottle virus* - ScrMV (gênero *Tymovirus*; família *Tymoviridae*) em *Catalpa bignonioides*, espécie da família Bignoniaceae. No presente trabalho, as seguintes espécies virais foram detectadas em espécies da família Bignoniaceae: ipê amarelo (GRSV e TSWV), ipê preto (GRSV, TCSV, TSWV, PRSV, PVY e CMV) e ipê roxo (GRSV, TCSV e TSWV).

Em *Cassia alata* (= *Senna alata*), não foram detectados vírus classificados nas 12 espécies avaliadas, apesar do gênero ser conhecido como hospedeiro de algumas espécies virais. Cinco vírus foram detectados ocorrendo em espécies de *Cassia* no Brasil. Almeida *et al.* (2002) relataram uma estirpe do vírus *Soybean mosaic virus* - SMV (gênero: *Potyvirus*; família: *Potyviridae*); ao passo que Lin *et al.* (1979) relataram o *Cassia mild mosaic virus* - CMMV (*Potyvirus*) em *Cassia macranthera*. Paguio & Kitajima (1981) descreveram uma espécie com características semelhantes a aquelas descritas para o gênero *Carlavirus*. Brunt *et al.* (1996) relataram TSWV em *Cassia occidentalis* e WMV em *Cassia tora*. Por sua vez, Beserra Jr *et al.* (2012) encontraram duas espécies virais, classificadas no gênero *Potyvirus* e outra na família *Tymovirales*.

Em babosa branca (família Boraginaceae) não houve detecção viral porém, em *Myosotis sylvatica* da mesma família foram detectadas espécies do gênero *Nepovirus*, na Austrália (Harris, 2002). Espécies de *Nepovirus* são transmitidas por nematoides longidorídeos (gêneros *Longidorus*, *Paralongidorus* e *Xiphinema*).

Na família Lythraceae, a planta ornamental *Lythrum salicaria* é hospedeira do vírus *Carnation ringspot virus* - CRSV (gênero *Dianthovirus*, família *Tombusviridae*) (Brunt *et al.*, 1996). Não há relatos deste vírus no Brasil. Em mirindiba, planta desta mesma família, neste trabalho duas espécies de *Tospovirus* foram detectadas: GRSV e TSWV.

A família Fabaceae engloba muitas plantas importantes, dentre elas o feijão e a soja são plantas suscetíveis a vários vírus, destacando-se o begomovírus *Bean golden mosaic virus* (BGMV) no feijoeiro. Neste estudo 18 espécies arbóreas da família Fabaceae foram avaliadas e doze destas foram positivas para pelo menos um dos vírus testados, sendo elas: carvoeiro, jatobá da mata, tamboril da mata, sibipiruna, copaíba, barbatimão, feijão-cru, pau de jacaré, pau Brasil, amburana, olho de cabra e ingá branco. As plantas negativas foram: ingá mirim, fedegoso gigante, unha de gato, pau santo, sansão do campo e jatobá pitomba.

Plantas da família Malvaceae também são acometidas por muitas espécies virais, e em paineira do Cerrado já houve detecção de TSWV e GRSV após inoculações experimentais, demonstrando o potencial da paineira do Cerrado como hospedeira destes vírus (Farias, 2012). Neste trabalho PMMoV foi detectado em paineira.

Kitajima & Santos (1993) associaram uma espécie do gênero *Rhabdovirus* (família *Rhabdoviridae*) à mancha amarela da graviola, corroborando que a graviola pode hospedar vírus. Em graviola foi detectado GRSV, TSWV, ZYMV e WMV.

Em eucalipto trabalhos de Sastry *et al.* (1971) e Brzostowski & Grace (1994) ilustram vírus com partículas rígidas e icosaédricas na Índia. No presente trabalho houve detecção de GRSV, TSWV e ZLCV.

Em mama-cadela (família Moraceae) foram detectados TSWV, PMMoV e TMV. Sabe-se que as plantas de *Ficus carica*, desta mesma família, são hospedeiras de vírus dos gêneros *Potyvirus* e *Carlavirus* detectado nos Estados Unidos (Walia, 2009).

Na família Oleaceae a principal espécie hospedeira de vírus é *Fraxinus* spp. (uma ampla quantidade de relatos encontra-se na **Tabela 1** deste capítulo). O ligustro membro desta família foi positivo para GRSV e TCSV. Ainda não houve relatos para espécies de *Tospovirus* em plantas desta família. Uma doença conhecida como a ‘lepra explosiva’ (agente causal transmitido pelo ácaro eriofídeo *Brevipalpus phoenicis*) foi relatada ocorrendo no Paraná e São Paulo em espécies do gênero *Ligustrum* (Kitajima *et al.*, 2003). Na Europa, as espécies *Tobacco rattle virus* (TRV), *Tomato bushy stunt virus* (TBSV), *Tobacco necrosis virus* (TNV), TMV e o CMV já foram descritos infectando espécies de *Ligustrum* (Albouy & Devergne, 1999).

Em plumbago houve detecção de PVY e não houve detecção de *Begomovirus*, embora *Tomato leaf curl virus* (gênero *Begomovirus*, família *Geminiviridae*) já tenha sido relatado anteriormente por Brunt *et al.*, (1996)

A preocupação com o tema, reside no fato de que estudos têm demonstrado o impacto de vírus que emergiram em ecossistemas nativos e apresentam grande potencial em causar danos significativos em espécies cultivadas (Nienhaus & Castello; Vicent *et al.*, 2014). Por outro lado, estudos da região florística do sudoeste Australiano, a qual representa uma interface entre um ecossistema nativo e um agrossistema recente, mostra que a espécie exótica, o *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) foi capaz de infectar e causar danos em hospedeiras nativas. Deste modo, fica claro a importância de conhecer a diversidade de espécies virais que infectam espécies arbóreas ou florestais.

O Bioma Cerrado, considerado um *hotspot* devido a sua grande biodiversidade, pode abrigar diversos vírus que estão ocorrendo de forma sub-epidêmica com as espécies arbóreas e

arbustivas e que ainda são desconhecidos bem como espécies virais que ocorrem em zonas agrícolas próximas as áreas de proteção ambiental. Como mostrado neste trabalho, as espécies arbóreas e arbustivas são hospedeiras de espécies virais classificadas em cinco gêneros importantes: *Begomovirus*, *Cucumovirus*, *Potyvirus*, *Tobamovirus* e *Tospovirus*.

5. Conclusão

Conclui-se que espécies arbóreas em diferentes ambientes (APA e viveiro) podem estar sendo infectadas por espécies virais geneticamente relacionadas com importantes vírus para a agricultura. Desta forma, algumas espécies da flora do Cerrado podem se constituir reservatório de outras espécies virais. No total de 78 espécies coletadas na APA e viveiros pelo menos uma amostra foi positiva para uma espécie viral avaliada. Dentre as espécies virais avaliadas, um índice maior de detecção foi observado para espécies do gênero *Tospovirus* enquanto em ambiente de viveiro não houve detecção para PepYMV e *Begomovirus*. Na área de Proteção Ambiental nenhuma detecção foi realizada para PMMoV e ZLCV. Os resultados do presente estudo indicam que existe uma grande possibilidade de infecções mistas, como indicado pela porcentagem de espécies arbóreas com infecção com mais de um vírus.

Houve detecção para espécies de *Begomovirus* somente em uma planta da família Passifloraceae.

CAPÍTULO 3

Avaliação do potencial de espécies arbóreas como hospedeiras de *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV), *Potato virus Y* (PVY) e *Groundnut ringspot virus* (GRSV)

Resumo

A expansão das fronteiras agrícolas fez com que áreas outrora ocupadas pela vegetação nativa do Cerrado no centro-oeste do Brasil fossem substituídas por grandes cultivos de milho, algodão, soja e tomate. Desta forma, existe a possibilidade de espécies arbóreas nativas da flora do Cerrado, servirem com reservatórios de vírus desconhecidos ou mesmo espécies que ocorrem em culturas de interesse agrônômico e que são cultivadas próximas a áreas de Cerrado. Algumas espécies virais importantes infectando tomateiro são: *Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV (gênero *Begomovirus*), *Potato virus Y* - PVY (gênero *Potyvirus*) e *Groundnut ringspot virus* - GRSV (gênero *Tospovirus*). Estas espécies virais foram artificialmente inoculadas em diferentes acessos de espécies arbóreas para determinar o papel destas plantas como reservatório de vírus em condições naturais. As seguintes espécies arbóreas foram inoculadas individualmente com as três espécies virais acima listadas: amburana (*Amburana cearensis*), angico (*Anadenanthera falcata*), araçá (*Psidium araca*), baru (*Coumarouna alata*), cabeludinha (*Eugenia tomentosa*), carambola (*Averrhoa carambola*), ipê amarelo (*Handroanthus serratifolius*), ipê branco (*Handroanthus roseo-albus*), ipê caraíba (*Tecoma aurea*), jenipapo (*Genipa americana*), mutamba (*Guazuma ulmifolia*), copaíba (*Copaifera langsdorfii*), quaresmeira (*Tibouchina granulosa*) e sucupira branca (*Pterodon emarginatus*). Onze destas espécies são nativas do bioma Cerrado. Para *Begomovirus* as plantas foram submetidas à inoculação via vetor virulífero (ToCMoV) durante 20 dias e após este período coletou-se a terceira folha do ápice das plantas para contagem de ovos, ninfas e adultos do vetor. As plantas permaneceram em uma casa de vegetação livre do vetor. Observou-se que todas as espécies foram colonizadas pelo vetor e as plantas apresentavam sintomas de pontos cloróticos coincidindo com colonização de ninfas na região abaxial da folha. Plantas de mutamba e quaresmeira se mostraram extremamente suscetíveis à *B. tabaci*, apresentando elevadas taxas de oviposição bem como a presença de ninfas e adultos. A avaliação para o vírus foi feita mediante sintomas observados dos sete até os 120 dias após o término da inoculação (dati). As plantas permaneceram assintomáticas até os 120 dati. Amostras foliares foram coletadas aos 60 dati para análise por PCR e nenhuma delas apresentou resultado positivo para o ToCMoV. Desta forma, as espécies arbóreas avaliadas apresentaram uma resposta do tipo não hospedeira ao ToCMoV. Para o PVY a inoculação viral foi feita em seis plantas de cada espécie arbórea mediante extrato vegetal tamponado e as avaliações de sintomas foram realizadas dos sete aos 120 dias após a inoculação (dai). Necrose foliar foi observada em ipê caraíba, bronzeamento e redução foliar em copaíba, amarelecimento e necrose em ipê amarelo. As demais plantas permaneceram assintomáticas. Aos 35 dai realizou-se um Dot Blot e não houve resultado positivo para PVY. Ao recuperar o vírus das espécies arbóreas através de inoculações em plantas de *Nicotiana tabacum* cv. TNN, as plantas que foram inoculadas com amostras provenientes de amburana, ipê amarelo, ipê branco, ipê caraíba, cabeludinha, copaíba, quaresmeira e jenipapo apresentaram sintomas e resultado positivo na sorologia. O GRSV também foi inoculado mecanicamente em seis plantas de cada espécie arbórea e as avaliações

visuais realizadas conforme mencionado anteriormente para PVY. Foram observados sintomas de bronzeamento em copaíba, encarquilhamento em ipê caraíba, necrose foliar em quaresmeira e as demais permaneceram assintomáticas. Ao realizar o Dot Blot dez espécies arbóreas apresentaram pelo menos uma planta positiva para GRSV. Os resultados são apresentados a seguir entre parênteses indicando o número de plantas positivas em um número total avaliado. Assim temos: plantas de baru (1/5), carambola (3/6), ipê amarelo (1/6), ipê branco (1/6), ipê caraíba (1/6), jenipapo (1/6), mutamba (1/6), copaíba (1/6), quaresmeira (3/6) e sucupira branca (2/6) apresentaram resultado positivo. Testes de recuperação viral inoculando em plantas de *D. stramonium* foram observados nesta indicadora somente para amostras provenientes de baru e copaíba, entretanto, sem detecção na sorologia. Para as espécies angico e araçá não houve detecção de nenhum dos vírus testados. Estes resultados indicam o potencial de diferentes espécies arbóreas como hospedeiras alternativas destas três importantes espécies virais que infectam o tomateiro, o que pode influenciar na distribuição e fonte de inóculo viral no ambiente.

Palavras - chave: espécies arbóreas, *Begomovirus*, *Potyvirus*, *Tospovirus*

Abstract

The expansion of agricultural frontiers in central Brazil caused the replacement of areas covered by the native *Cerrado* flora by large acreages of agronomic crops such as soybean, corn, cotton, and tomato. In this new context, native tree species might function as reservoirs of unknown pathogenic virus species or even as alternative host of viruses already reported in agronomic crops. Important species of viruses infecting tomato have been described, including *Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV (genus *Begomovirus*), *Potato virus Y* - PVY (genus *Potyvirus*) e *Groundnut ringspot virus* - GRSV (genus *Tospovirus*). These viral species in tree species were inoculated to determine the role of certain tree species as a source of potential reservoir of virus in nature. Isolates of these viral species were employed to inoculate the following list of tree species: amburana (*Amburana cearensis*), angico (*Anadenthera falcata*), araçá (*Psidium araca*), baru (*Coumarouna alata*), cabeludinha (*Eugenia tomentosa*), carambola (*Averrhoa carambola*), ipê amarelo (*Handroanthus serratifolius*), ipê branco (*Handroanthus roseo-albus*), ipê caraíba (*Tecoma aurea*), jenipapo (*Genipa americana*), mutamba (*Guazuma ulmifolia*), copaíba (*Copaifera langsdorffii*), quaresmeira (*Tibouchina granulosa*) and sucupira branca (*Pterodon emarginatus*). Eleven of these tree species are native to the Cerrado biome. To *Begomovirus* plants were inoculated via viruliferous vector adults (ToCMoV) for 20 days and after this period was collected the third leaf from the apex of plants to count eggs, nymphs and adults of the vector. The plants remained in a greenhouse free vector. Plants mutamba and quaresmeira were highly susceptible to *B. tabaci*, with high rates of oviposition and the presence of nymphs and adults. The rating for the virus was taken by symptoms from seven to 120 days after the end of the inoculation period (dati). The plants remained asymptomatic until 120 dati. Leaf samples were collected at 60 days after inoculation (dati) for analysis by PCR and none of them showed positive results for ToCMoV. Thus, the tree species will be assessed from the response of type non- host resistance ToCMoV. For PVY viral inoculation was made by buffered plant extract and ratings of symptoms were performed from seven to 120 days after inoculation (dai). Foliar necrosis was observed in ipê caraíba, chlorotic spots and reduction foliar in copaíba and yellowing and necrosis in ipê amarelo. The other plants remained asymptomatic. At 35 dai performed a Dot Blot and there was positive for PVY. When recovering the virus by inoculating tree species in plants of *Nicotiana tabacum* cv. TNN, the plants were inoculated with samples from amburana, ipê amarelo, ipê branco, ipê caraíba,

cabeludinha, copaíba, quaresmeira and jenipapo had symptoms and positive serology. The GRSV was also inoculated mechanically in 6 plants species both and visual assessments performed from seven to 120 dai. Symptoms of leaf necrosis were observed in quaresmeira, bronzed in copaíba, shriveling in ipê caraíba and the other remained asymptomatic. The results are presented below in parentheses indicate the number of plants in a positive total number evaluated. Upon Dot Blot plants baru (1/5), carambola (3/6), ipê amarelo (1/6), ipê branco (1/6), ipê caraíba (1/6), jenipapo (1/6), mutamba (1/6), copaíba (1/6), quaresmeira (3/6) and sucupira branca (2/6) were positive. Viral recovery tests inoculating plants of *Datura stramonium* were observed in this indicator only for samples from baru and copaiba, however, without detection in serology. For the species angico and araçá there was no detection of virus was tested. These results allow us to conclude that these species tested here have potential as alternative hosts of three tomato virus, which can impact the distribution and source of viral inoculum under field conditions.

Keywords: trees species, *Begomovirus*, *Potyvirus* and *Tospovirus*

1. Introdução

As espécies arbóreas são extremamente importantes para a economia contribuindo para aumento e geração de emprego, bem como melhorando a qualidade de vida da população, por exemplo, na arborização urbana (Ferreira e Galvão, 2000).

Considerando a grande biodiversidade do Brasil distribuída em seus sete biomas: Amazônia, Cerrado, Caatinga, Costeiro, Mata Atlântica, Pampas e Pantanal, destaca-se o bioma Cerrado, considerado um hotspots global devido à riqueza apresentada. Neste bioma 44% de espécies lenhosas são endêmicas (Klink & Machado, 2005; IBAMA, 2011).

O planejamento e posterior construção da capital do país em áreas ocupadas pelo bioma Cerrado fizeram com que aumentasse o desmatamento devido às construções civis. Assim espécies nativas e exóticas foram empregadas na arborização urbana. Esta arborização é realizada pela NOVACAP, que possui dois viveiros para abastecimento de Brasília e o entorno.

Outro ponto a destacar é a expansão das fronteiras agrícolas substituindo a vegetação nativa do Cerrado por grandes cultivos de soja e tomate. Desta forma, espécies arbóreas podem ser reservatórios de vírus desconhecidos ou mesmo espécies que ocorrem em culturas agrônomicas cultivadas próximas a áreas de Cerrado. Algumas destas espécies virais,

importantes para o tomateiro, são: *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV), o *Potato virus Y* (PVY) e o *Groundnut ringspot virus* (GRSV).

Estudos de vírus em espécies arbóreas no exterior mostram que os vírus ocorrem frequentemente em ambientes de floresta próximo a culturas agrícolas (Nienhaus & Castello, 1989; Jamalainen, 1957; Kegler *et al.*, 1996). Acredita-se que o fluxo de espécies virais entre os sistemas nativos (dos quais algumas espécies de plantas já são exploradas comercialmente) e as plantas cultivadas seja contínuo, devido a proximidade destes diferentes sistemas em alguns casos e principalmente pela transmissão das espécies virais via vetores (Vicent *et al.*, 2014).

Uma parte das espécies virais relatadas em espécies arbóreas é conhecida por causarem doenças em importantes culturas de importância agrônômica, no entanto, no Brasil e para o bioma Cerrado estes estudos ainda são escassos. Este quadro se repete na Ásia, África e no Hemisfério Sul, onde, até o momento pouco se conhece sobre a distribuição de vírus em florestas.

Para maiores conhecimentos são necessários estudos experimentais de inoculação viral para saber o comportamento de determinadas espécies botânicas frente a diferentes espécies virais. Ao realizar tais experimentos deve-se levar em consideração que o tipo de sintoma sofre variações dependendo das condições ambientais, idade da planta, genética viral e da hospedeira e, diferentes respostas por parte da hospedeira podem ser observadas. Assim, em resposta à infecção viral, considera-se aqui que a planta pode apresentar-se como **resistente** (diferentes níveis são observados) quando algum (s) passo (s) do ciclo de infecção viral é (são) barrado (s) (replicação/expressão e/ou movimento a curta e longa distância), **tolerante**: ocorre replicação/expressão e movimento viral, entretanto não há interferência nos níveis de produtividade e **suscetível** (também em diferentes níveis) ocorre a replicação e movimento viral a curta e longa distância, com manifestação de sintomas e infecção sistêmica. É importante salientar que para o máximo de resistência adota-se o termo imune, onde em uma

espécie vegetal sabidamente hospederia de determinada espécie viral, o vírus não é capaz de replicar-se em protoplastos (Hull, 2002).

Espécies de vírus classificados nos gêneros *Begomovirus*, *Potyvirus* e *Tospovirus* são importantes a nível mundial e nacional, causando perdas na agricultura em diferentes culturas.

No gênero *Begomovirus* (família *Geminiviridae*) são incluídas espécies com ácido nucléico de DNA fita simples que podem ser monopartidas (um componente genômico - DNA A) ou bipartidas (dois componentes genômicos: DNA A e DNA B). Estas espécies são transmitidas eficientemente pelo aleirodídeo *Bemisia tabaci* (popularmente conhecida como mosca branca) (Brown *et al.*, 2011).

Atualmente considera-se *Begomovirus* como o mais importante gênero de vírus de plantas em termos de número de espécies já descritas. No Brasil, um complexo de vírus composto de pelo menos dezesseis espécies desse gênero é responsável por grandes perdas nas lavouras de tomate, merecendo destaque o ToCMoV. Esta espécie encontra-se distribuída em vários locais do país, ressaltando que, no Brasil, até o presente momento, todas as espécies deste gênero relatadas em tomateiro são bipartidas.

O gênero *Potyvirus* é o mais estudado dentro da família *Potyviridae*. Espécies deste gênero possuem ácido nucléico de RNA de fita simples, sentido positivo (Adams *et al.*, 2011). O *Potato virus Y* (PVY) é a espécie-tipo e uma das espécies mais importantes do gênero e se caracteriza como um vírus cosmopolita e de distribuição mundial (Shukla *et al.*, 1994; Janzac *et al.*, 2008; Scholthof *et al.*, 2011).

Já no gênero *Tospovirus* encontram-se espécies de genoma de RNA fita simples tripartido. Algumas espécies de *Tospovirus* são importantes por causarem perdas significativas no rendimento e qualidade dos produtos vegetais de leguminosas e culturas ornamentais em várias partes do mundo (Mumford, Barker, & Wood, 1996; Pappu, 1997; Pearce, 2005; Persley, Thomas, & Sharman, 2006). Dentre as espécies que fazem parte deste gênero cita-se o GRSV,

um vírus do complexo do ‘vira- cabeça’ que acomete solanáceas na América do Sul (Nagata *et al.*, 1995; Ávila *et al.*, 1998; Colariccio *et al.*, 2000).

O conhecimento de espécies arbóreas que podem ser potenciais hospedeiras dos vírus relatados geram resultados importantes para a virologia vegetal, pois podem influenciar na distribuição e manutenção de isolados virais de importância para espécies agrônomicas e que podem, futuramente, também se tornar importantes no meio de produção florestal.

Neste contexto o presente trabalho foi realizado com intuito de determinar a resposta de diferentes espécies arbóreas (grande parte nativas do Bioma Cerrado) frente à inoculação de três espécies virais importantes para o tomateiro classificadas em três gêneros distintos.

2. Material & Métodos

2.1. Locais dos ensaios

- Laboratório de Virologia Vegetal do Departamento de Fitopatologia Universidade de Brasília, localizado em Brasília, Distrito Federal.

- Estação Experimental de Biologia (EEB) da Universidade de Brasília, localizado em Brasília, Distrito Federal.

- Laboratório de Virologia Vegetal da Embrapa Hortaliças

- Casas de Vegetação da Embrapa Hortaliças

2.2. Origem das espécies florestais

As espécies florestais foram coletadas no Viveiro da Companhia Urbanizadora da Nova Capital do Brasil (NOVACAP) com idade em torno de seis meses. As plantas foram avaliadas previamente aos ensaios para constatar a inexistência dos vírus testados. Os testes de detecção serão descritos a seguir. Foram separadas duas plantas de cada espécie arbórea avaliada para constituírem o controle negativo nos ensaios de inoculação viral.

Na **Tabela 5** encontram-se relacionadas quatorze espécies arbóreas avaliadas por nome comum, científico e família botânica. Destas espécies, onze são do Bioma Cerrado sendo elas: amburana, angico, araçá, baru, cabeludinha, copaíba, ipê amarelo, ipê branco, ipê caraíba, mutamba e sucupira branca. A carambola é originária da Índia, o jenipapo da América Central e a quaresmeira da Mata Atlântica.

Destas quatorze espécies algumas são importantes para economia e fornecem produtos para indústria madeireira (amburana e sucupira branca) enquanto outras fornecem subprodutos para indústria alimentícia (araçá, baru, carambola e jenipapo) e uso medicinal (amburana, copaíba, jenipapo e sucupira branca).

Das onze espécies nativas do Cerrado, oito são amplamente utilizadas na arborização de Brasília (angico, baru, cabeludinha, ipê amarelo, ipê branco, ipê caraíba, mutamba e sucupira branca).

Tabela 5: Quatorze espécies arbóreas avaliadas neste trabalho frente às espécies virais *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV), *Potato virus Y* (PVY) e *Groundnut ringspot virus* (GRSV) listadas de acordo com o nome comum, científico e família botânica.

Família*	Nome comum*	Nome científico*
Bignoniaceae	Ipê amarelo	<i>Handroanthus serratifolius</i>
	Ipê branco	<i>Handroanthus roseo-albus</i>
	Ipê caraíba	<i>Tecoma aurea</i>
Fabaceae	Amburana	<i>Amburana cearensis</i>
	Angico	<i>Anadenanthera falcata</i>
	Baru	<i>Coumarouna alata</i>
	Copaíba	<i>Copaifera langsdorfii</i>
	Sucupira branca	<i>Pterodon emarginatus</i>
Malvaceae	Mutamba	<i>Guazuma ulmifolia</i>
Melastomataceae	Quaresmeira	<i>Tibouchina granulosa</i>
Myrtaceae	Araça	<i>Psidium araçá</i>
Myrtaceae	Cabeludinha	<i>Eugenia tomentosa</i>
Oxidaliaceae	Carambola	<i>Averrhoa carambola</i>
Rubiaceae	Jenipapo	<i>Genipa americana</i>

*Classificação de espécie por nome científico (nome comum) e família botânica segundo Silva Jr (2009, 2010) e Souza & Lorenzi (2005).

2.3. Origem dos isolados virais

1. *Begomovirus*

O *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) foi mantido via bombardeamento de clone infeccioso em plantas de tomate cultivar Santa Clara na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e mantidos na EEB em casa de vegetação na presença do vetor virulífero (*B. tabaci*).

2. *Potyvirus*

O isolado viral de *Potato virus Y* (PVY) utilizado é proveniente da Embrapa Hortaliças e mantido na EEB em plantas de *Nicotiana tabacum* cv TNN.

3. *Tospovirus*

O isolado viral de *Groundnut ringspot virus* (GRSV) é proveniente da Embrapa Hortaliças e vem sendo mantido em plantas de *D. stramonium*.

2.4. Origem de população de *Bemisia tabaci*

A população do vetor *B. tabaci* é proveniente da Embrapa Hortaliças e vem sendo mantida em insetários na EEB-UnB.

2.5. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com seis repetições. Foi realizada a comparação das médias pelo Teste Tukey, para as contagens de ovos, ninfas de 1º ínstar, ninfas de 2º e 3º ínstars, ninfas de 4º ínstar e adulto de *B. tabaci*. Os resultados de contagem foram previamente transformados por $\log_{10}(x+1)$. O programa utilizado foi o SAS (2008).

2.6. Métodos de inoculação

2.6.1. Inoculação de ToCMoV via moscas-brancas virulíferas em condições de casa de vegetação

Este ensaio foi conduzido em casa de vegetação. As seis plantas de cada espécie arbórea juntamente com doze plantas do controle positivo tomate (*Solanum lycopersicum*) - cv. Santa Clara foram expostas à inoculação via vetor virulífero *Bemisia tabaci* biótipo B.

As plantas mantidas em vasos (uma planta por vaso) foram submetidas à alta pressão de inóculo durante vinte dias formando o grupo inoculado (GI). O grupo de plantas não-inoculadas (GNI) foi formado por duas plantas de cada espécie arbórea a ser avaliada e foi mantido em casa de vegetação livre de moscas-brancas. Após vinte dias de inoculação coletou-se terceira folha do ápice para baixo de cada planta para contagem de ovos, ninfas (primeiro, segundo e terceiro, e quarto ínstars) e adultos do vetor. As plantas do GI e GNI foram tratadas com Imidacloprid e colocadas em ambiente livre de moscas-brancas.

2.6.2. Inoculação mecânica de GRSV e PVY

Esta etapa foi conduzida em casa de vegetação e as plantas usadas para fornecer inóculo foram inoculadas duas semanas antes dos ensaios a partir de plantas previamente infectadas (*D. stramonium* com GRSV e *N. tabaccum* com PVY).

A inoculação foi realizada, utilizando-se 10 mL de tampão fosfato de potássio e macerando cerca de 10 a 15 discos foliares das plantas fontes de inóculo. Hastes flexíveis umedecidas em tampão de inoculação com folhas infectadas maceradas foram friccionadas na região adaxial das folhas das espécies listadas na **Tabela 5**, previamente polvilhadas com o abrasivo “Carborundum” (carboneto de silício). Após uma semana foi realizada uma re-inoculação. Após 40 dias foram retiradas amostras duplicadas das espécies arbóreas para recuperação viral inoculando seu extrato tamponado em plantas indicadoras, fumo cv. TNN e *D. stramonium*, para PVY e GRSV, respectivamente.

2.7. Avaliações sintomáticas e detecção viral para ToCMoV, GRSV e PVY

As avaliações foram realizadas aos 7, 14, 21, 28, 35, 60 e 120 dias após a inoculação (dai) para todos os vírus.

As detecções para ToCMoV foram feitas aos 35 e 60 dati através de extração de DNA (Metodologia descrita no item 2.4.2.1 do Capítulo 2) e PCR (Metodologia descrita no item 2.4.2.2 do Capítulo 2).

Para GRSV e PVY, a detecção viral foi via Dot Blot realizado aos 35 dai (Metodologia no item 2.4.1 do capítulo 2). Para as indicadoras fumo cv. TNN e *D. stramonium* a detecção foi realizada aos 26 dai.

3. Resultados e Discussão

3.1. Resposta de espécies arbóreas à inoculação de ToCMoV via vetor *Bemisia tabaci*

Foi constatada durante a condução dos ensaios a visita de moscas brancas em todas as plantas em avaliação. Grande quantidade de adultos era sempre observada na face abaxial com especial destaque para a mutamba (**Figura 11A**) e também nas demais espécies arbóreas.

Quanto às avaliações dos sintomas, todas as plantas apresentaram pontuações cloróticas na face adaxial (coincidindo com a presença de ninfas na parte abaxial da folha), conforme ilustrado para amburana (**Figura 11B**) e copaíba (**Figura 11C**). Nenhuma espécie arbórea apresentou sintomas de infecção viral aos 45 dati conforme pode ser observado nas espécies abaixo ilustradas: arará (**Figura 11D**), cabeludinha (**Figura 11E**) e mutamba (**Figura 11F**). Aos 120 dati todas as plantas das espécies arbóreas permaneceram assintomáticas e apenas as plantas do controle suscetível, que já apresentavam sintomas desde três dati, permaneceram com sintomas (**Figura 11G**). Das 12 plantas de tomate utilizadas como controle para

inoculação de ToCMoV, oito sobreviveram e exibiram fortes sintomas. Por outro lado nas plantas não inoculadas não foram observados sintomas em nenhuma das avaliações.

Os sintomas fortes exibidos pelo controle tomate frente ao ToCMoV confirmam resultados anteriores com esta espécie de *Begomovirus* (Fernandes-Acioli *et al.*, 2011).

Após a PCR aos 35 e 60 dati, amplicóns foram obtidos somente para plantas do controle suscetível, evidenciando que as espécies arbóreas apresentaram uma resposta de resistência de não hospedeira.

Não existe até o presente momento relato de ToCMoV em espécies arbóreas, apesar de Farias (2012), após usar o mesmo par de primers usado neste trabalho, ter obtido amplicóns em amostras de *Mimosa caesalpinifolia* proveniente de Cuiabá.

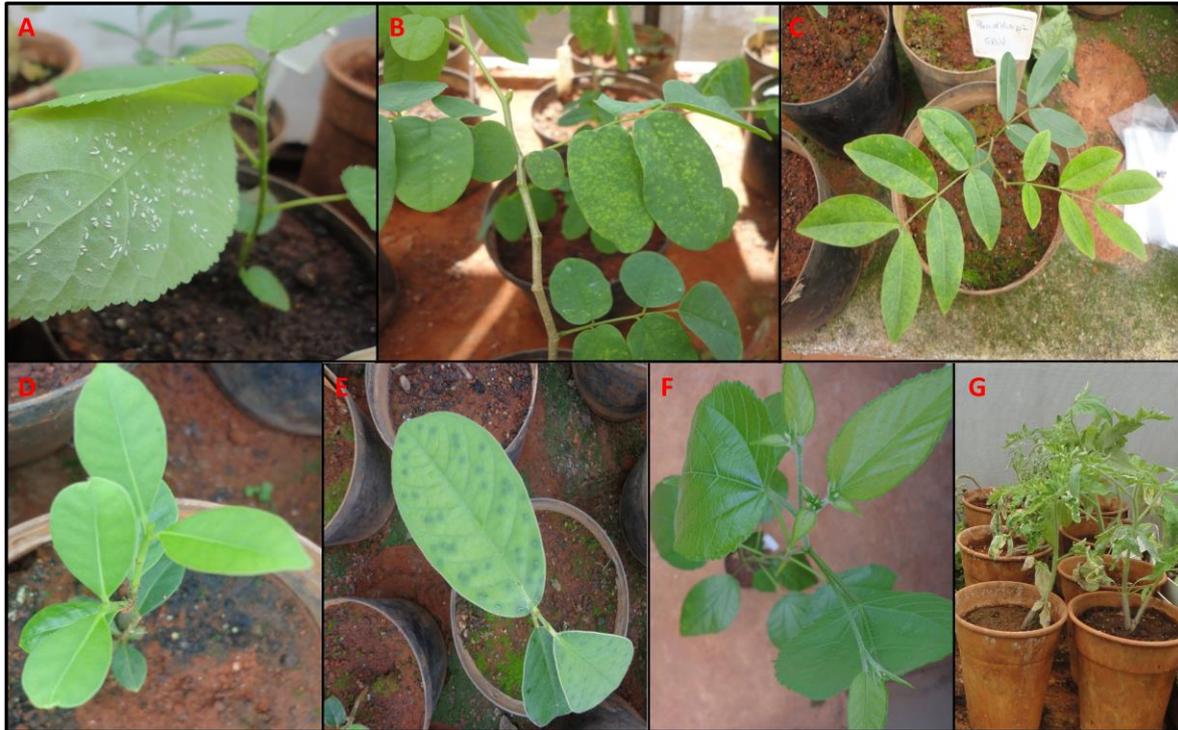


Figura 11. A-G: Plantas inoculadas com *Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV (gênero *Begomovirus*) via vetor *Bemisia tabaci*. **A.** Planta de Mutamba (*Guazuma ulmifolia*) com alta presença de adultos de *B. tabaci* na face abaxial da folha aos 20 dias de inoculação **B.** e **C.** Planta de Amburana (*Amburana cearensis*) (**B**) e copaíba (*Copaifera langsdorfii*) (**C**) apresentando pontos cloróticos coincidindo com ninfas na face abaxial foliar aos 14 dias após término da inoculação (dati). **D, E e F** Plantas de Araçá (*Psidium araca*) (**D**), Cabeludinha (*Eugenia tomentosa*) (**E**) e Mutamba (**F**) sem sintomas de vírus aos 45 dias após término das inoculações.**G.** Plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) cv. Santa Clara com sintomas.

Durante o período das inoculações via vetor observou-se a visita constante de *B. tabaci* em todas as plantas. Decorridos 20 dias procedeu-se a contagem dos diferentes estágios de vida do vetor, confirmando-se a eficiência da inoculação através dos valores obtidos na testemunha suscetível. O mesmo não foi observado para todas as espécies arbóreas (**Tabela 6**), uma vez que os índices de oviposição e diferentes estágios ninfais, bem como adultos foram baixos na maioria das espécies aqui avaliadas e discutidas a seguir.

Tabela 6: Relação de espécies arbóreas quanto à colonização de moscas-brancas (*Bemisia tabaci* biótipo B) virulíferas (*Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV).

Espécies arbóreas (Nome científico)	Estágios do ciclo de vida do vetor				
	Ovos	1° ínstar	2° e 3° ínstar	4° ínstar	Adulto
<i>Amburana cearensis</i>	1,24 b	0,73 de	0 d	0 a	0 cd
<i>Anadenanthera falcata</i>	0 c	0 f	0 d	0 a	0,10 cd
<i>Psidium araçá</i>	1,11 b	0,13 ef	0 d	0 a	0,10 cd
<i>Coumarouna alata</i>	0,42 bc	0,12 ef	0 d	0 a	0,26 cd
<i>Eugenia tomentosa</i>	0,05 c	0 f	0 d	0 a	0,59 c
<i>Averrhoa carambola</i>	0 c	0 f	0 d	0 a	0,19 cd
<i>Handroanthus serratifolius</i>	0,31 bc	0,10 ef	0 d	0 a	0,28 cd
<i>Handroanthus roseo-albus</i>	2,32 a	1,54 bc	0,69 bc	0 a	0,30 cd
<i>Tecoma aurea</i>	1,14 b	1,24 cd	0,93 b	0 a	0,36 cd
<i>Genipa americana</i>	1,04 bc	0,32 ef	0 d	0 a	0,10 cd
<i>Guazuma ulmifolia</i>	3,04 a	2,45 a	1,94 a	0 a	1,98 a
<i>Copaifera langsdorfii</i>	0 c	0 f	0 d	0 a	0,05 cd
<i>Tibouchina granulosa</i>	2,73 a	2,43 a	1,97 a	0 a	1,43 b
<i>Pterodon emarginatus</i>	0,86 bc	0,31 ef	0,05 cd	0,05 a	0 cd
<i>Solanum lycopersicum</i>	2,76 a	2,11 ab	0,84 b	0 a	1,28 b

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

O ciclo de vida de *B. tabaci* inicia com oviposição (em torno de 300 ovos/fêmea) (Brown & Bird, 1992), passando por ovo, quatro ínstares ninfais e adulto. Neste trabalho procedeu-se a contagem destes estágios, sendo que 2° e 3° ínstares foram analisados juntos conforme consta na **Tabela 6**.

Dentre as espécies arbóreas avaliadas, carambola, angico e copaíba apresentaram uma provável resistência ao vetor evidenciada pelos baixos valores de todos os estágios (ovos, ninfas e adultos) diferindo estatisticamente da testemunha. Outras espécies, como amburana, araçá, baru e cabeludinha também apresentaram este tipo de comportamento. Nestas espécies apesar de haver oviposição, o desenvolvimento de ninfas dos diferentes ínstares não foi observado (ou observado em pequenas quantidades) durante as contagens. Por outro lado as espécies ipê branco, mutamba e quaresmeira não diferiram estatisticamente da testemunha

quanto à ovos, ninfas de 1, 2 e 3º instares. Praticamente não foram observadas ninfas de 4º instar para nenhuma destas plantas, incluindo a testemunha. Ao avaliar a presença de adultos no momento da contagem, mutamba diferiu-se estatisticamente da testemunha, apresentando valores mais elevados.

Nas espécies arbóreas houve relação direta entre a densidade de adultos e ovos, entretanto, o mesmo não ocorreu para a quantidade de ninfas com exceção de mutamba e quaresmeira. Este resultado corrobora, em parte, com os trabalhos de Butler Junior *et al.* (1989) e Yee & Toscano (1996) que registraram relação direta entre a densidade de adultos de mosca-branca biótipo B e a densidade de ovos e ninfas nos hospedeiras de algodão e alfafa, respectivamente. Villas Bôas *et al.* (2001) sugerem que o mecanismo que envolve a escolha da hospedeira para alimentação e abrigo do adulto, envolve a consequente seleção do hospedeiro para oviposição.

Ferreira *et al.* (2008) fez o primeiro relato de mosca-branca ocorrendo em *Eucalyptus camaldulensis* planta da família Myrtaceae. Nesta família ainda foi encontrado mosca-branca nos gênero *Eugenia* e *Psidium* (Cock, 1986; Mound & Halsey, 1978), entretanto não se conhece o potencial destas espécies no *ranking* de preferência do vetor.

As plantas mutamba e quaresmeira mostraram-se claramente suscetíveis a mosca-branca.

Sabe-se que a mosca branca encontra-se disseminada por todo o país atacando diversas culturas como tomate, repolho, melão, abobrinha, algodão, feijão, soja, além de plantas daninhas e ornamentais (Villas Bôas *et al.*, 2001; Lourenção & Nagai, 1994), entretanto este é o primeiro relato em mutamba e quaresmeira.

Outros ensaios poderão ser conduzidos futuramente visando avaliar também outras características de comportamento do inseto, dentre elas a preferência e não preferência por estas espécies arbóreas.

2.1. Resposta de espécies arbóreas a inoculação mecânica com PVY via extrato vegetal tamponado

Nas análises visuais a maioria das espécies arbóreas não apresentou sintomas evidentes de infecção por PVY como: jenipapo (**Figura 12A**), baru (**Figura 12B**), angico, amburana, arará, cabeludinha, mutamba, sucupira branca, quaresmeira, ipê branco e carambola. As plantas que apresentaram sintomas foram: copaíba (redução foliar e bronzeamento - **Figura 12C**), ipê caraíba (encarquilhamento e necrose do bordo foliar - **Figura 12D**) e ipê amarelo (amarelecimento e necrose - **Figura 12E**).

Quanto aos controles positivos e negativos de *N. tabacum* cv. TNN, foram observados que os controles positivos já apresentavam sintomas de mosaico, mosqueado, bolhosidade e redução foliar (**Figura 12F**) aos dias após a re-inoculação. Plantas do controle negativo permaneceram assintomáticas (**Figura 12G**).



Figura 12. A-G: Plantas inoculadas mecanicamente com *Potato virus Y* (PVY). A e B. Plantas assintomáticas de Jenipapo (*Genipa americana*) e Baru (*Coumarouna alata*). C. Planta de Copaíba (*Copaiifera langsdorfii*) com sintoma de redução foliar e bronzeamento. D. Planta de Ipê caraíba (*Tecoma aurea*) com sintomas de encarquilhamento e necrose próximo aos bordos foliares. E. Planta de Ipê amarelo (*Handroanthus serratifolius*) com sintoma de necrose. F e G. Plantas de fumo (*Nicotiana tabacum*) cv. TNN com sintomas (controle positivo, inoculado) e sem sintomas (controle negativo, não inoculado).

Apenas o controle positivo foi detectado via Dot Blot aos 35 dai e nenhuma espécie arbórea foi detectada neste teste sorológico.

Como plantas de copaíba, ipê amarelo e ipê caraíba apresentavam-se sintomáticas e foram negativas por Dot Blot, testes de inoculação (recuperação viral) em plantas de fumo foram realizados, principalmente devido ao fato de que a carga viral presente nestas espécies arbóreas poderia estar baixa. Assim, dois pools de cada uma das espécies acima citadas (compostos por duas plantas) foram inoculadas em fumo para confirmar se a ausência de detecção em Dot-Blot era devida a baixa concentração viral.

Procedeu-se também inoculações em plantas de fumo a partir das outras onze espécies arbóreas, cujas plantas inoculadas permaneceram assintomáticas.

Os resultados são apresentados a seguir entre parênteses indicando o número de plantas positivas em um número total de plantas avaliadas (2). Plantas de fumo sintomáticas (aos 26 dias após inoculações) foram provenientes de amostras de amburana (1 planta com sintoma/2 plantas inoculadas), ipê amarelo (2/2), cabeludinha (2/2), ipê caraíba (2/2), copaíba (2/2), quaresmeira (2/2), jenipapo (1/2) e ipê branco (1/2) (**Figura 13A - 13H** nesta ordem). A **Figura 13I** representa o controle negativo *Nicotiana tabacum* cv TNN inoculado apenas com o tampão fosfato de potássio. Plantas de fumo inoculadas com amostras das demais espécies arbóreas permaneceram assintomáticas.

Todas as plantas de fumo que exibiram sintomas reagiram positivamente no novo teste de Dot Blot realizado.



Figura 13. A-I: Plantas de fumo (*Nicotiana tabacum* cv. TNN) inoculadas mecanicamente com extrato vegetal de espécies arbóreas previamente inoculadas com *Potato virus Y* (PVY). Os sintomas ilustrados nesta figura foram observados aos 26 dias após inoculações (dai). Na ordem espécies arbóreas usadas como fonte para as inoculações: **A.** ipê amarelo (*Handroanthus serratifolius*). **B.** cadeludinha (*Eugenia tomentosa*). **C.** ipê caraíba (*Tecoma aurea*). **D.** copaíba (*Copaifera langsdorffii*). **E.** quaresmeira (*Tibouchina granulosa*). **F.** jenipapo (*Genipa americana*). **G.** ipê branco (*Handroanthus roseo - albus*). **H.** amburana (*Amburana cearensis*) e **I.** controle inoculado somente com tampão.

Estas espécies podem ser consideradas como potenciais reservatórios de PVY na natureza. A transmissão a partir destas fontes pelo vetor (pulgão) precisa ser estudada para determinar a real importância destas espécies como fontes de inóculo viral.

As plantas de araçá, angico, baru, carambola, sucupira branca e mutamba apresentaram uma resposta de não hospedeira uma vez que não há relatos de infecção por PVY e não houve

detecção viral após a inoculação nestas espécies e nem após a tentativa de recuperação em plantas de fumo.

A idade das plantas no momento das inoculações é um critério importante a ser considerado. A inoculação foi realizada em plantas jovens quando a grande maioria delas exibia de 5-6 folhas. A escolha das plantas no viveiro da NOVACAP seguiu rigorosamente este critério, entretanto plantas das espécies jenipapo, carambola e araçá apresentavam-se um pouco mais desenvolvidas, apesar da idade semelhante entre todas elas. Sabe-se que este fato pode interferir no resultado, visto que para jenipapo a detecção somente foi confirmada após a recuperação em plantas de fumo, porém não se sabe se este fato ocorreu pela idade da planta ou por outro fator, tendo em vista que comportamento similar foi observado em espécies que foram inoculadas com número menor de folhas.

Para araçá e carambola os resultados obtidos indicam uma provável resistência ao vírus, contudo estudos futuros poderão ser conduzidos em plantas com idade precoce.

As espécies ipê caraíba, copaíba e ipê amarelo mostraram-se suscetíveis e podem servir como fonte de inóculo de PVY, entretanto testes com aquisição e transmissão pelo vetor deverão ser realizados futuramente.

Farias (2012) relata que paineira do Cerrado (*Eriotheca pubescens*) e ingá-branco (*Inga laurina*) comportaram-se como suscetíveis a PVY.

Por outro lado, ainda de acordo com Farias (2012) mutamba foi considerada como resistente. Resultado idêntico foi observado neste trabalho.

Vicent *et al.* (2014) também realizaram estudos de inoculação viral em várias espécies nativas da Austrália e confirmaram através de sintomas e testes sorológicos que muitas destas são hospedeiras de espécies de *Potyvirus*.

Estes trabalhos são importantes para conhecimento da gama de hospedeiras de espécies virais, bem como do ponto de vista epidemiológico tendo em vista que podem contribuir futuramente para adoção de técnicas de manejo e controle de vírus em espécies cultivadas.

3.2. Resposta de espécies arbóreas a inoculação mecânica com GRSV via extrato vegetal tamponado

Nas avaliações visuais das espécies arbóreas foram observados sintomas de bronzeamento em copaíba (**Figura 14A**), amarelecimento internerval em ipê amarelo (**Figura 14B**), encarquilhamento em ipê caraíba e necrose foliar em quaresmeira coincidindo com as plantas positivas na detecção via Dot-Blot. As demais espécies arbóreas permaneceram assintomáticas como as plantas de baru (**Figura 14C**), ipê branco (**Figura 14D**), angico, araçá, amburana, cabeludinha, carambola, jenipapo, mutamba e sucupira branca (fotos não mostradas).

As plantas do controle positivo *D. stramonium* apresentaram os sintomas ilustrados na **Figura 14E**, enquanto plantas do controle negativo permaneceram assintomáticas (**Figura 14F**).



Figura 14. A-F: Plantas inoculadas mecanicamente com *Groundnut ringspot virus* (GRSV). **A.** Planta de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) com sintoma de bronzeamento foliar. **B.** Planta de ipê amarelo (*Handroanthus serratifolius*) com sintoma leve de amarelecimento. **C e D.** Plantas de baru (*Coumaruna alata*) e ipê branco (*Handroanthus roseo - albus*) assintomáticas. **E e F.** Plantas de *Datura stramonium*, controle positivo (inoculado) e controle negativo (inoculado apenas com tampão de inoculação) respectivamente.

Ao realizar o Dot Blot dez das quatorze espécies arbóreas apresentaram pelo menos uma planta positiva para o GRSV. Os resultados são apresentados a seguir entre parênteses indicando o número de plantas positivas em um número total avaliado. As plantas positivas foram de baru (1/6), carambola (3/6), ipê amarelo (1/6), ipê branco (1/6), ipê caraíba (1/6), jenipapo (1/6), mutamba (1/6), copaíba (1/6), quaresmeira (3/6) e sucupira branca (2/6), enquanto que amburana, angico, araçá e cabeludinha foram negativas.

Para confirmar a presença viral foi realizada inoculação de extrato vegetal das espécies arbóreas em *D. stramonium* (conforme procedimento descrito acima para recuperação viral de PVY em plantas de fumo).

Para as espécies amburana, angico, araçá e cabeludinha mesmo após testes de recuperação em *D. stramonium*, nenhum sintoma foi observado e os resultados foram negativos em Dot-Blot.

Dentre as outras dez espécies arbóreas usadas como inóculo para *D. stramonium* na tentativa de recuperação viral, apenas a amostra proveniente de copaíba foi capaz de induzir sintomas na indicadora utilizada (**Figura 15A**). O controle negativo permaneceu assintomático (**Figura 15B**). Não houve detecção viral (via Dot-Blot) em nenhuma destas plantas (**Figura 15C**).

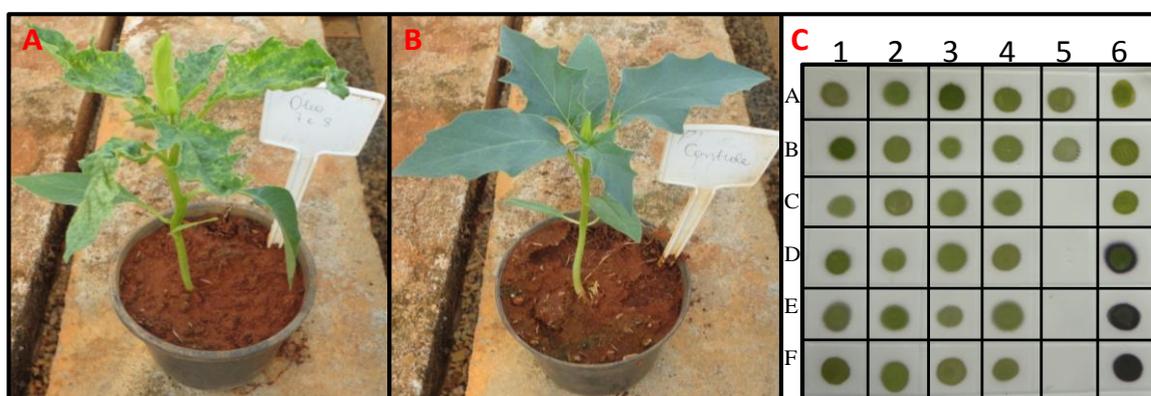


Figura 15. A-B: Plantas de *Datura stramonium* inoculadas a partir de espécies arbóreas infectadas com *Groundnut ringspot virus* (GRSV). **A.** Planta inoculada com amostra de copaíba (*Copaifera langsdorfii*) exibindo sintomas de encarquilhamento e desvio de cor 26 dias após inoculações (daí). **B.** Controle inoculado apenas com tampão. **C.** Membrana de Dot Blot para GRSV. Somente os controles positivos foram detectados (posições 6D, 6E e 6F).

A maioria das espécies arbóreas avaliadas comportou-se como hospedeira de GRSV. As espécies copaíba, ipê amarelo, ipê caraíba e quaresmeira foram confirmadas como potenciais hospedeiras de GRSV, onde após a observação de sintomas evidentes a detecção foi confirmada mediante Dot-Blot.

Plantas de baru, carambola, ipê branco, jenipapo, mutamba e sucupira branca, apesar de assintomáticas tiveram detecção positiva após realização de teste sorológico, indicando que as

mesmas, caso sejam infectadas, podem servir também como reservatório de vírus em condições naturais.

Por outro lado nenhum sintoma (nem detecção viral) foi observado em plantas de angico, araçá, amburana e cabeludinha.

Farias (2012) realizou testes de inoculação mecânica, em espécies arbóreas do bioma Cerrado, com intuito de detectar potenciais hospedeiras de GRSV. Através de sorologia (Dot Blot) confirmou-se a presença deste vírus em paineira rosa (*Ceiba speciosa*), paineira do Cerrado, ingá-branco, pacari (*Lafoensia pacari*) e aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius*).

Vicent *et al.* (2014) também realizaram inoculações mecânicas de espécies de *Tospovirus* em plantas nativas da Austrália. Inoculações com TSWV resultaram em sintomas severos e perdas de até 100% na matéria seca de folhas e frutos.

As plantas inoculadas com GRSV e PVY ainda estão sendo avaliadas periodicamente e vale enfatizar a importância da realização de estudos futuros de transmissão via vetores usando estas espécies arbóreas como fontes de inóculo viral para distintas espécies cultivadas de interesse.

4. Conclusão

Conclui-se que as espécies testadas apresentaram uma resposta do tipo não hospedeira ao ToCMoV, porém ao vetor em todas as plantas houve ao menos a presença de um dos estágios do ciclo de vida. Na análise de variância, mutamba e quaresmeira mostraram-se altamente suscetíveis a *B. tabaci*.

As espécies ipê caraíba, copaíba e ipê amarelo mostraram-se suscetíveis ao PVY, enquanto araçá, angico, baru, carambola, sucupira branca e mutamba apresentaram-se resistentes. As demais espécies testadas (amburana, cabeludinha, ipê branco, quaresmeira e

jenipapo) apesar de assintomáticas podem funcionar como fontes de reservatório desta espécie viral.

A maioria das espécies arbóreas (dez ao todo) avaliadas comportou-se como hospedeira de GRSV. Esta espécie viral parece ser bastante polífaga e quatro espécies arbóreas comportaram-se como suscetíveis (copaíba, ipê amarelo, ipê caraíba e quaresmeira) exibindo sintomas evidentes e detecção positiva por sorologia. Outras seis espécies (baru, carambola, ipê branco, jenipapo, mutamba e sucupira branca) não desenvolveram sintomas, mas tiveram plantas positivas na sorologia. Comportamento de resistência foi observado nas espécies angico, araçá, amburana e cabeludinha.

CAPÍTULO 4

Avaliação do potencial de *Solanum melongena* (berinjela) como hospedeira de *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV), *Potato virus Y* (PVY) e *Groundnut ringspot virus* (GRSV)

Resumo

Espécies de *Begomovirus*, *Potyvirus* e *Tospovirus* causam grandes prejuízos em diversas solanáceas, incluindo o tomateiro. A tentativa de reduzir a disseminação de doenças causadas por espécies destes gêneros virais é bastante difícil e dispendiosa. Desta forma, o uso de variedades resistentes ao vírus e/ou ao vetor é uma das opções mais desejadas. Uma alternativa é a busca de novas fontes de resistência no próprio tomate ou em espécies afins. Neste cenário, a berinjela (*Solanum melongena*) é considerada uma opção atraente, principalmente pelas observações de plantas assintomáticas próximas a fontes de inóculo de culturas suscetíveis. No Brasil até o presente momento não existe relato de nenhuma espécie de *Begomovirus* infectando berinjela, entretanto algumas espécies deste gênero vêm sendo relatadas na cultura, principalmente na Ásia e África. Por outro lado espécies de *Potyvirus* (*Potato Virus Y* - PVY) e *Tospovirus* (*Groundnut ringspot virus* - GRSV) já foram relatadas em berinjela no Brasil. Neste contexto, 93 acessos de berinjela que fazem parte do Banco de Germoplasma de Berinjela da Embrapa Hortaliças (BGB-CNPH) foram avaliados visando encontrar materiais resistentes a espécies de *Begomovirus* (*Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV) e *Potyvirus* (PVY) e 88 acessos foram avaliados para GRSV. Para ToCMoV a inoculação foi realizada via exposição ao vetor mosca-branca (*Bemisia tabaci*) durante 20 dias e o controle positivo foi o tomate (*Solanum lycopersicum*) cv. Santa Clara. Após o período de inoculação, amostras foliares foram coletadas para contagem de diferentes estágios do vetor. A avaliação para *B. tabaci* mostrou que todos os acessos foram visitados pelo vetor. Sete acessos foram altamente suscetíveis ao vetor e outros sete foram resistentes: CNPH 013, CNPH 176, CNPH 177, CNPH 178, CNPH 188, CNPH 354 e CNPH 395. Os demais acessos, de um modo geral, apresentaram alguns valores similares ao controle positivo e outros diferiram estatisticamente. As avaliações para vírus foram realizadas mediante observação de sintomas dos sete aos 120 dias após o término da inoculação (dati) pelo vetor. Testes de hibridização molecular e PCR foram realizados aos 35 dati. Nenhuma planta de berinjela foi detectada como positiva ao ToCMoV. Para PVY e GRSV plantas de cada acesso foram inoculadas mecanicamente via extrato vegetal tamponado. Os controles utilizados foram *Nicotiana tabaccum* cv. TNN e *Datura stramonium* respectivamente. A avaliação de sintomas foi feita dos sete até os 120 dati e aos 35 dati foi realizada a detecção por Dot Blot. Para PVY as plantas permaneceram assintomáticas e não houve plantas positivas na detecção sorológica. Para o GRSV na detecção via Dot Blot, plantas de 32 acessos foram negativas e não haviam mostrado sintomas apresentando uma resposta de resistência. Estes resultados indicam que alguns destes acessos podem constituir boas fontes para uso em programas de melhoramento para resistência a *Begomovirus*, *Potyvirus* e *Tospovirus* que infectam tomateiro no Brasil.

Palavras chave: berinjela, *Begomovirus*, *Potyvirus*, *Tospovirus*

Abstract

Species of the genera *Begomovirus*, *Potyvirus* and *Tospovirus* may cause major damages in many solanaceous crops, including tomato. The attempt to reduce the spread of diseases caused by these viral species is quite difficult and expensive. Thus, the use of virus-resistant varieties and/or the vector is one of the most desirable choices. An alternative is to search for new sources of resistance in tomato itself or in related species. In this scenario, the eggplant (*Solanum melongena*) is considered an attractive option, especially for observations of asymptomatic plants near sources of inoculum to susceptible crops. In Brazil to date there are no reports of *Begomovirus* species infecting eggplant, however some species of this genus have been reported in this crop, especially in Asia and Africa. On the other hand species of *Potyvirus* (*Potato Virus Y* - PVY) and *Tospovirus* (*Groundnut ringspot virus* - GRSV) have been reported in eggplant in Brazil. In this context, 93 eggplant accessions were assessed searching for resistant materials to *Begomovirus* (*Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV) and *Potyvirus* (PVY) and 88 accessions were evaluated for GRSV. ToCMoV inoculation was carried out via its whitefly vector (*Bemisia tabaci*) during 20 days and tomato (*Solanum lycopersicum*) cv. Santa Clara was used as positive control. After this period, leaf samples were collected for future count different stages of the vector. The evaluations for *B. tabaci* resistance showed that all accessions were visited by the vector. Seven accessions were found to be highly susceptible to vector and others seven accessions were found to be resistant: CNPH 013, CNPH 176, CNPH 177, CNPH 178, CNPH 188, CNPH 354 e CNPH 395. Other accessions showed similarity to positive control in the some aspects. Evaluations were performed by visual symptom analyzes from seven to 120 days after the inoculation (dai). Molecular hibridization and PCR assays were carried out at 35 dai. No eggplant plant was detected as positive to ToCMoV. Accessions were mechanically inoculated with GRSV and PVY isolates. The controls were *Nicotiana tabacum* cv. TNN and *Datura stramonium* respectively. A symptom assessment for both virus was made from seven to 120 dai and 35 dai the detection was carried out by Dot Blot. For PVY, all accessions remained asymptomatic with no positive serological detection in all plants. For GRSV in Dot Blot detection via plants of 32 accessions were negative and had shown no symptoms presenting a resistance response. Other accessions were found to be susceptible to GRSV. The results indicate that some of these accessions can be good sources for use in breeding programs for resistance to *Begomovirus*, *Tospovirus* and *Potyvirus* from tomatoes in Brazil.

Keywords: eggplant, *Begomovirus*, *Potyvirus* and *Tospovirus*

1. Introdução

A berinjela (*Solanum melongena*) é uma espécie classificada na família Solanaceae. Estudos indicam que a berinjela é originária das regiões tropicais da Índia e o seu cultivo tem sido realizado há muitos séculos pelos chineses e árabes (Filgueira, 2008).

Plantações de berinjela representam aproximadamente dois milhões de hectares plantados espalhados pelo mundo, sendo a China e a Índia os maiores produtores desta hortaliça (FAO,

2011). No Brasil, o cultivo ainda não é expressivo e a produção concentra-se nas regiões Sul e Sudeste (Santos *et al.*, 2006 e Reis *et al.*, 2007).

A berinjela é uma cultura bastante rústica, sendo mais tolerante a doenças que outras olerícolas da família *Solanaceae* como o tomate (*Solanum lycopersicum*), a batata (*Solanum tuberosum*) e o pimentão (*Capsicum annuum*). Mesmo sendo tolerante, existem alguns patógenos nos diferentes grandes grupos de microrganismos (fungos, nematóides, bactérias e vírus) que são capazes de infectar berinjela (Eck & Snyder, 2006).

Informações sobre a tolerância da berinjela têm sido confirmadas por observações de campo (informações pessoais: Dr. Leonardo Silva Boiteux), onde mesmo na presença de fontes de inóculo de várias espécies virais (espécies dos gêneros *Begomovirus*, *Potyvirus* e *Tospovirus*) que acometem solanáceas, plantas de berinjela permanecem assintomáticas.

As espécies classificadas no gênero *Begomovirus* possuem DNA de fita simples e podem apresentar um ou dois componentes genômicos sendo chamadas de monopartidas ou bipartidas, respectivamente (Brown *et al.*, 2011 e Seal *et al.*, 2006). Em berinjela já foram relatadas três espécies de *Begomovirus*, todas elas com genoma bipartido. Green *et al.* (2003) relataram as espécies: *Tomato yellow leaf curl Thailand virus* (TYLCTHV) e *Ageratum yellow vein virus* (AYVV) na Tailândia, enquanto Pratap *et al.* (2011) relataram *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV) na Índia.

No Brasil, em tomate, existe uma grande diversidade genética de espécies de *Begomovirus* formando um agrupamento filogeneticamente distante de qualquer begomovírus relatado em outros países do mundo (Ambrozeviccius *et al.*, 2002; Faria *et al.*, 1997; Galvão *et al.*, 2003; Ribeiro *et al.*, 2003).

Em torno de doze novas espécies foram relatadas infectando tomateiros no Brasil (Albuquerque *et al.*, 2011; Andrade *et al.*, 2006; Calegario *et al.*, 2007; Faria *et al.*, 1997;

Fauquet *et al.*, 2008; Fernandes *et al.*, 2008; Fernandes *et al.*, 2006; Ferreira *et al.*, 2007; Ribeiro, 2006; Ribeiro *et al.*, 2006; Zerbini *et al.*, 2005).

Uma destas espécies, o *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV), é considerada importante pela distribuição e usada como modelo em vários estudos pelo grupo de virologistas da UnB e Embrapa (Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças - CNPH e Embrapa Centro Nacional de Recursos Genéticos - Cenargen).

A transmissão de espécies do gênero *Begomovirus* ocorre via vetor *Bemisia tabaci* (família Aleyrodidae), popularmente conhecido como mosca-branca. O ciclo de vida deste aleirodídeo passa pelos estágios de ovo, ninfas de 1º, 2º, 3º e 4º ínstar e adulto (Villas-Bôas & Castelo-Branco, 2009).

Com a introdução de um novo biótipo de *B. tabaci* no Brasil, conhecido até pouco tempo atrás como biótipo B, houve um aumento na incidência e severidade das doenças causadas por espécies de *Begomovirus* (Lourenção & Nagai, 1994 e Souza-Dias *et al.*, 1996). Este aumento foi atribuído principalmente às características deste biótipo que é altamente polífago e com alto grau de adaptação (Bedford *et al.*, 1994; Morales & Jones, 2004).

Durante muitos anos, a classificação de mosca-branca foi feita em biótipos, entretanto De Barro *et al.* (2011) re-classificaram os antigos 41 biótipos em 11 grupos contendo 24 espécies indistinguíveis morfologicamente. Dinsdale *et al.* (2010) subdividiram estas 24 espécies em onze grupos genéticos. Dentre eles podem ser citados: Middle East-Asia Minor (MEAM1) relacionado com os biótipos “B” e “B2”, Mediterranean species (MED) relacionado com os biótipos: “Q”, “J” e “L”, New World species relacionado com os biótipos “A”, “C”, “D”, “F”, *Jatropha*, “N”, “R” e *Sida*. Estudo recente de Marubayashi *et al.* (2012) com várias populações de *B. tabaci* presente nos estados de São Paulo e Mato Grosso mostrou que as espécies foram classificadas nos grupos MEAM1, New World e New World 2.

Por outro lado, espécies de *Potyvirus* e *Tospovirus*, que também acometem o tomateiro e outras solanáceas, são transmitidas mecanicamente e por afídeos e tripes, respectivamente.

Espécies de *Potyvirus* apresentam RNA de fita simples sentido positivo (Adams *et al.*, 2011). A espécie-tipo do gênero é o *Potato virus Y* (PVY), bastante cosmopolita e de distribuição mundial. Dentre as várias hospedeiras em solanáceas, destacam-se o tomate, pimentão, fumo e batata (Janzac *et al.*, 2008). De acordo com Scholthof *et al.* (2011) o PVY é considerado o quinto vírus mais importante economicamente.

Algumas espécies de *Potyvirus* são relatadas infectando berinjelas: *Eggplant mosaic virus* (EMV) (Briand *et al.*, 1997), *Eggplant severe mottle virus* (ESMV) (Ladipo *et al.*, 1988) e PVY (Sastry *et al.*, 1974). No Brasil, Brioso *et al.* (1988) relataram PVY em plantas de berinjela no Rio de Janeiro.

No gênero *Tospovirus*, estão classificados vírus de RNA fita simples (Plyusnin *et al.*, 2011). As espécies apresentam ampla gama de hospedeiras e estão distribuídas em todo o mundo afetando não apenas solanáceas, mas também espécies de outras famílias botânicas. No Brasil destacam-se as espécies virais *Tomato spotted wilt virus* - TSWV, *Groundnut ringspot virus* - GRSV, *Tomato chlorotic spot virus* - TCSV e *Chrysanthemum stem necrosis virus* - CSNV, responsáveis por causarem a doença conhecida como ‘vira-cabeça do tomateiro. Dentre estas espécies virais, o GRSV já foi citado como a predominante em alguns locais do país (Reis *et al.*, 2011 e Nagata *et al.*, 1995).

Todas estas espécies de *Tospovirus* acima citadas (TSWV, GRSV, TCSV e CSNV) também infectam a berinjela (Lima *et al.*, 2002 e Reis *et al.*, 2011).

Assim, devido a importância dos vírus citados e a ampla distribuição das espécies ToCMoV, PVY e GRSV, especialmente no cultivo de solanáceas, dentre as quais destaca-se o tomate, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar a resposta de vários acessos de berinjela

como hospedeiras destas espécies virais no intuito de encontrar materiais que possam servir como fontes de resistência.

2. Material e Métodos

2.1. Locais dos ensaios

- Laboratório de Virologia Vegetal do Departamento de Fitopatologia da Universidade de Brasília, localizado em Brasília, Distrito Federal.

- Estação Experimental de Biologia (EEB) da Universidade de Brasília - Distrito Federal.

2.2. Origem dos acessos de berinjela (*S. melongena*)

Os acessos de berinjela utilizados neste trabalho foram provenientes do Banco de Germoplasma de Berinjela da Embrapa Hortaliças (BGB-CNPH). Foram utilizados neste trabalho um total de 93 acessos de berinjela na avaliação para *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) e *Potato virus Y* (PVY). Devido a problemas na germinação de sementes, 88 acessos destes 93 foram avaliados para *Groundnut ringspot virus* (GRSV).

2.3. Origem dos isolados de vírus

Foram utilizadas três espécies virais:

- 1) *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV): mantido em plantas de tomate cv Santa Clara, em casa de vegetação na presença do vetor virulífero (*B. tabaci* biótipo B). As primeiras plantas usadas como fonte de inóculo foram obtidas através de bombardeamento com clone infeccioso de ToCMoV na Embrapa Cenargen.

- 2) *Potato virus Y* (PVY): mantido em plantas de fumo cultivar TNN. Proveniente da Embrapa CNPH.

3) *Groundnut ringspot virus* (GRSV): mantido em plantas de *Datura stramonium*.

Proveniente da Embrapa CNPH.

2.4. Origem de população de *Bemisia tabaci*

Os primeiros insetos avirulíferos foram provenientes da criação de insetos da Embrapa CNPH.

A população avirulífera do vetor *B. tabaci* biótipo B vem sendo mantida em plantas de repolho (*Brassica oleraceae* var. *capitata*) enquanto a população virulífera vem sendo mantida em tomate infectado com ToCMoV.

2.5. Delineamento experimental e análise estatística

• ToCMoV

Plantas dos 93 acessos foram dispostas em Delineamento em Blocos Casualizados (DBC) para inoculação de ToCMoV via vetor. Foram usadas 12 plantas por cada acesso. Estas plantas foram distribuídas em três bandejas e dispostas em um insetário contendo moscas-brancas virulíferas.

A análise estatística foi realizada usando os dados obtidos através da contagem dos diferentes estágios do ciclo de vida do vetor: ovos, ninfas de 1° ínstar, 2° e 3° ínstars (contados juntos), 4° ínstar e adulto de *B. tabaci*.

Os resultados de contagem foram transformados por $\log_{10}(x+1)$ e re-transformados por $10^{(x+1)}$ (10 elevado a soma de x mais um) e comparados as médias pelo Teste de Scott-Knott. Foi utilizado o programa SAS (2008).

• GRSV e PVY

Foram utilizadas cinco plantas de cada acesso de berinjela para inoculação viral e dez plantas de *Nicotiana tabacum* cv. TNN e *Datura stramonium* para controle da inoculação por PVY e GRSV, respectivamente. Destas dez plantas, cinco foram utilizadas como controles positivos (inoculado) e cinco como controles negativos (não inoculado). O delineamento foi inteiramente casualizado (DIC).

2.6. Métodos de inoculação

2.6.1. Inoculação de ToCMoV via moscas-brancas virulíferas em condições de insetário

As inoculações foram realizadas em um insetário contendo moscas-brancas (*Bemisia tabaci* biótipo B) virulíferas (ToCMV). Foram avaliadas 16 plantas por cada acesso. Deste total, quatro plantas formaram o grupo não inoculado (GNI) e permaneceram em ambiente livre do vetor. As demais plantas (12) apresentando de 3-4 folhas foram distribuídas em três bandejas e dispostas em DBC formando assim o grupo inoculado (GI). O controle utilizado foi o tomate cv. Santa Clara (suscetível ao vírus e ao vetor). A cada dois dias as bandejas eram casualizadas e as plantas fonte de inóculo (tomate) agitadas para facilitar a visita dos insetos nas plantas de berinjela.

Decorridos 20 dias da exposição das plantas ao vetor virulífero, procedeu-se a coleta de uma amostra por planta (terceira folha do ápice para base) para contagem futura dos diferentes estágios do ciclo de vida do vetor. Após a coleta, as plantas do GI e GNI foram tratadas com Imidacloprid e mantidas em DIC em ambiente livre do vetor.

As plantas foram avaliadas para infecção viral (presença ou ausência de sintomas) até 120 dias após o término da inoculação (dati).

Devido ao elevado número de acessos, associados à desuniformidade da germinação e a metodologia empregada para avaliação dos estágios de vida do vetor (contagens individuais em

toda folha) optou-se por uma avaliação escalonada de acessos, aqui denominada de acessos avaliados na primeira remessa (11 acessos), segunda (28 acessos) e terceira remessa (54 acessos) conduzidos a partir dos meses de março, setembro e outubro respectivamente.

2.6.2. Inoculação mecânica de PVY e GRSV

As plantas utilizadas como fontes de inóculo de GRSV e PVY foram inoculadas duas semanas antes da data prevista para inoculação dos acessos de berinjelas

A inoculação foi realizada quando as plantas apresentavam de três a cinco folhas. Foram utilizados em média 10 mL de tampão fosfato de potássio ($\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$) 0,01 M e sulfito de sódio (Na_2SO_3) 1% (P/V) em água destilada, pH 7,0. Em média foram utilizados de 10 a 15 discos foliares das plantas fontes de inóculo. Hastes flexíveis umedecidas em tampão de inoculação com folhas infectadas maceradas foram friccionadas na região adaxial das folhas de mudas de berinjela previamente polvilhadas com o abrasivo “Carborundum” (carboneto de silício). Re-inoculações foram realizadas sete dias após as inoculações conforme descrito acima.

2.7. Avaliação sintomática para resposta à infecção por ToCMoV, GRSV e PVY

As plantas foram avaliadas aos 7, 14, 21, 28, 35, 60 e 120 dias de ToCMoV. Avaliações sintomáticas também foram realizadas nestes intervalos e até aos 120 dias após as re-inoculações para GRSV e PVY.

2.8. Métodos de detecção

2.8.1 *Begomovirus* - ToCMoV

Os testes realizados foram tissue print (acessos da primeira, segunda e terceira remessa) e PCR (acessos da terceira remessa).

2.8.1.1. Extração de DNA

As extrações de DNA foram realizadas segundo protocolo CTAB modificado (Boiteux *et al.*, 1999). Detalhes do processo encontram-se detalhados no item 2.4.2.1 do Capítulo 2.

Para cada acesso do GI de plantas de berinjela da terceira remessa foram realizados dois pools no momento da extração. Assim, meio disco foliar de cada uma das seis plantas de cada acesso foi usado para compor o primeiro pool (plantas de 1-6) e as outras seis para compor um segundo pool (plantas de 7-12).

Para os controles também foram realizados pools, sendo de seis plantas para o controle positivo (tomate) e de quatro plantas para o GNI

2.8.1.2. Reação em Cadeia da Polimerase - PCR

Ao todo foram 166 pools (54 acessos no total sendo 108 pools do GI e 54 pools do GNI, 2 pools de tomate controle positivo e 2 pools de tomate controle negativo) provenientes das extrações de DNA. As condições das reações de PCR foram conduzidas conforme descrito anteriormente no item 2.4.2.1 do Capítulo 2. Como controle positivo utilizou-se uma planta de tomate proveniente d insetário onde ocorreu a inoculação via vetor virulífero.

2.8.1.3. Tissue Print

Para realização da técnica de tissue print, a segunda folha do ápice da planta foi cortada e o seu pecíolo pressionado cuidadosamente em membrana de náilon carregada positivamente (Amersham Hybond - N+). As detecções foram realizadas com sonda marcada com P³² (para 11 acessos da primeira remessa) e sonda marcada com digoxigenina (para 82 acessos da segunda e terceira remessa). As hibridizações foram realizadas na Embrapa Cenargen e Embrapa CNPH respectivamente.

2.8.1.3.1. Sonda marcada com P³²

Antes da hibridização, a membrana foi tratada com 4 mL de NaOH 0.4M por 5 minutos (min.). A seguir adicionou-se 4 mL Tris-HCl 1M (pH 7.5) durante 5 min. por duas vezes. Finalmente a membrana foi lavada com SSC2X e deixada para secar a temperatura ambiente (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 foram feitas com tampão Church modificado a 55 °C e as lavagens com SSC 2X e SSC 1X na mesma temperatura. As membranas foram expostas no Imaging plate BAS-MS (Fuji Film) e analisadas em um equipamento BioImaging Analyser FLA 3000 (Fuji Film) de acordo com metodologia realizada por Fontenele *et al.* (2010).

2.8.1.3.2. Sonda marcada com digoxigenina

Não houve tratamento anterior ao procedimento da membrana. Inicialmente a membrana foi colocada em tubo de vidro com 25 mL de tampão ultrasensível (ultrahyb, Life Tech) por 1 hora a 68°C. Após esta etapa, retirou-se parte do tampão, deixando em torno de 10 mL deste tampão, ao qual adicionou-se 50 µL da sonda.

A sonda foi produzida previamente através de uma reação de PCR usando 50 µL de tampão 10x, 40 µL MgCl₂, 20 µL dNTP, 5 µL de cada primer, 5 µL Taq DNA polimerase, 25 ng de DNA, 365 µL água miliQ autoclavada e 2,5 µL DIGdUTP (Roche). Os primers utilizados foram Cp1 e Cp2: CCCGTCGACATGYCTAAGMGKGAKGCCCC e

CCCCTGCAGAACTTCCAAGTCTGGACG amplifica um fragmento de 820 pb (Fernandes *et al.*, 2010).

A seguir realizou-se a hibridização a 68°C overnight. A próxima etapa foi retirar a sonda do tubo e armazená-la a - 20°C para uso futuro. A membrana foi lavada duas vezes com SSC2X durante 5 min. a temperatura ambiente. Posteriormente, mais duas lavagens com SSC0,5X foram realizadas. Cada lavagem foi realizada por 15 min. a 68°C. Depois de descartada a solução, um volume de 50 mL do tampão de bloqueio foi adicionado ao tubo (50 mL PBS Tween 1x e 2% de leite em pó) por 1 hora (h) a temperatura ambiente. O tampão de bloqueio foi então coletado e, em 10 mL do mesmo, adicionou-se 1 µL de anticorpo anti-digoxigenina (150U/µL, Roche) deixando em contato com a membrana por 1h a temperatura ambiente. Decorrido esse tempo, a membrana foi lavada por três vezes com 15 mL de PBS Tween a temperatura ambiente por 10 min. cada lavagem. A reação foi visualizada por colorimetria, após deixar 15 min. em tampão de revelação adicionado de BCIP (5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato) e NBT (cloreto nitroazul de tetrazólio), na proporção 1:2 BCIP-NBT. Para interrupção da reação, a membrana foi lavada com água destilada.

2.8.2. Detecção de PVY e GRSV

Foram coletadas amostras foliares aos 35 dias após as re-inoculações. Três discos foliares foram macerados em tubos eppendorf de 1,5 mL, na presença de 1 mL de tampão PBS-1X, com 0,1 % de sulfito de sódio. A seguir 3 µL foram pipetados em membrana de nitrocelulose Hybond C. Esperou-se até que a membrana secasse e aplicou-se a solução de bloqueio PBS-1X + Tween (2 %) (PBS-T)+ 5 % p/v de leite desnatado. Após 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 ou GRSV, na proporção de 1:1.000. A membrana foi incubada a temperatura ambiente por 2h sob agitação e novamente

lavada com PBS-T por três vezes de 5 min. cada, sob agitação. Adicionou-se o anticorpo secundário (goat-anti-rabbit-SIGMA/A3887-1 mL) na diluição de 1:30.000) seguindo-se incubação a temperatura ambiente por 3h em agitação. Após novas lavagens de 15 min. cada, em agitação, foram colocados 10 mL da solução fosfatase alcalina e nesta adicionou-se 33 µL de BCIP e 66 µL de NBT. Para interrupção da reação, a membrana foi lavada com água destilada.

3. Resultados e Discussão

3.1. Resposta a inoculação por ToCMoV via *B. tabaci*

Plantas de noventa e três acessos de berinjela e o controle tomate suscetível ‘Santa Clara’ receberam intensa visita do vetor virulífero durante os 20 dias em que permaneceram no insetário. Após este período a terceira folha do ápice para a base de cada planta individual foi coletada para contagem dos diferentes estágios de vida do vetor. Neste momento todas as plantas de berinjela não apresentavam sintomas típicos de vírus de plantas (**Figura 16A**), entretanto pontos cloróticos observados na face adaxial eram correspondentes a ninfas na face abaxial indicando a alta oviposição nestes acessos (**Figura 16B**).

Quanto ao controle tomate os primeiros sintomas (amarelecimento e encarquilhamento) foram observados após sete dias de exposição ao vetor virulífero (**Figura 16C**). Este resultado em tomate confirma resultados anteriores com esta espécie de *Begomovirus* obtidos por Fernandes-Acioli *et al.* (2011). Das doze plantas de tomate inoculadas, todas mostraram sintomas aos 14 dias após dati, entretanto três delas morreram aos 28 dati e uma aos 35 dati.

Os acessos de berinjela não apresentaram sintomas virais desde a inoculação (**Figura 16D**) até os 120 dati.

A **Figura 16E** mostra plantas de tomate do GI apresentando sintomas severos de deformação foliar e nanismo, enquanto os tomates do GNI permaneceram assintomáticos, demonstrando que houve controle de infecções secundárias.



Figura 16. A-E: Plantas de acessos de berinjela (*Solanum melongena*) provenientes do Banco de Germoplasma da Embrapa Hortaliças (BAG - CNPH) inoculadas via *B. tabaci* com *Tomato chlorotic mottle virus* ToCMoV (A, B, C e D) e tomate (*Solanum lycopersicum*) controles negativo e positivo (E). **A.** Acessos de berinjela assintomáticos 20 dias após o término das inoculações (dati). **B.** Folha de berinjela acesso CNPH 395 exibindo pontos cloróticos na face adaxial coincidindo com ninfas de *B. tabaci* na face abaxial da folha. **C.** Planta de tomate (*Solanum lycopersicum*) com sintomas de amarelecimento e encarquilhamento disposta em Delineamento inteiramente casualizado (DIC). **D.** Plantas de berinjela acesso CNPH 7 assintomáticas aos sete dati (3 plantas da esquerda foram inoculadas e a planta da direita não foi inoculada). **E.** Plantas de tomate controle negativo (à esquerda) assintomático, e controle positivo (à direita), com sintomas severos de nanismo e encarquilhamento.

Aos 40 dati procedeu-se os testes de detecção via hibridizações (**Figura 17**) e PCR (géis não mostrados). Apenas controles positivos foram detectados conforme ilustrado na linha 15 e posições **17A** a **17I**. Planta da posição **17E** na **Figura 17** estava morta no momento da coleta e avaliação. Nenhuma planta dos acessos mostrou resultado positivo em nenhuma avaliação.

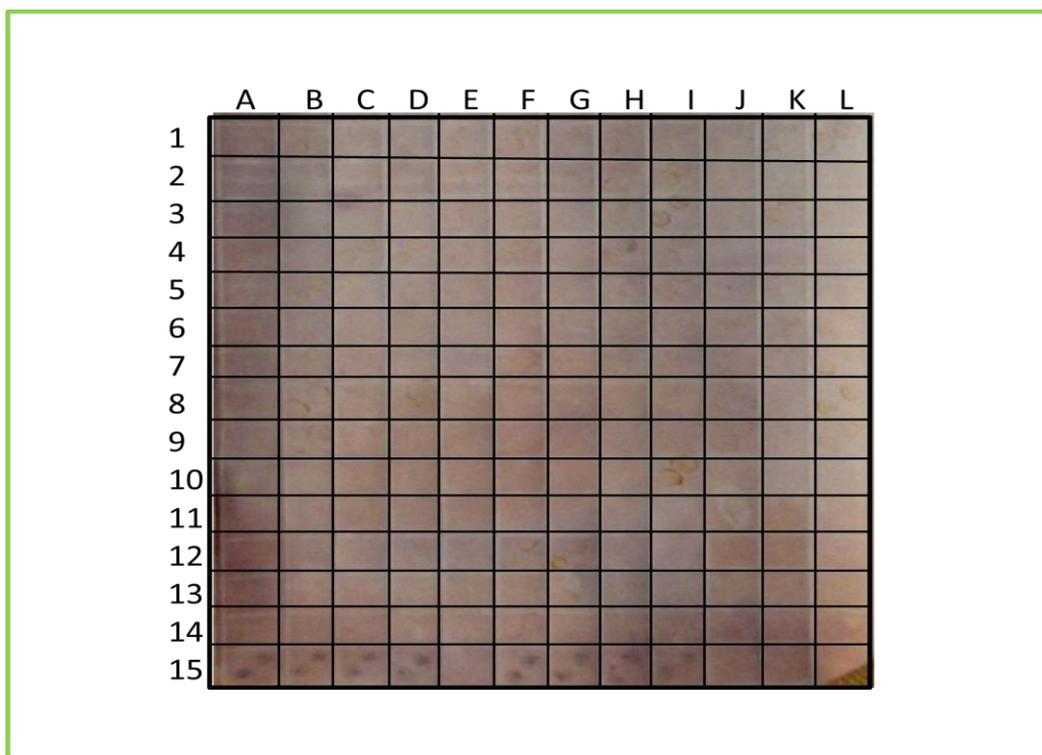


Figura 17: Resultado da hibridização de 14 acessos de berinjela (*Solanum melongena*) para *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV). Cada linha representa as doze plantas de cada acesso na ordem de 1 a 14: CNPH 329, CNPH 330, CNPH 332, CNPH 334, CNPH 335, CNPH 337, CNPH 354, CNPH 357, CNPH 369, CNPH 373, CNPH 387, CNPH 388, CNPH 390 e CNPH 393. Plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) cv. Santa Clara usadas como controle positivo (inoculados) encontram-se na linha 15 letras de A a I. Posição 15E: planta morta. Os controles negativos (não inoculados) encontram-se na linha 15, letras J a L.

Após realizar as hibridizações para os acessos da primeira, segunda e terceira remessa e a PCR para os acessos da terceira remessa (géis não mostrados) verificou-se que nenhuma planta dos 93 acessos de berinjela testados foi positiva. A resposta observada nestes materiais pode ser classificada como um tipo de resistência da não hospedeira ao ToCMoV.

Estes resultados corroboram estudos de Amaral (2013) no qual nenhum dos 45 acessos de berinjela testados mostraram resultados positivos ao ToCMoV em acessos de berinjela. Até o momento não há relatos de ToCMoV em berinjela, nem de outras espécies de begomovírus na cultura no Brasil.

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 *et al.* (2011) detectaram a espécie *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV) na Índia.

Trabalhos de busca de fontes de resistência em berinjela ainda são escassos, porém pesquisas com espécies de *Begomovirus*, inclusive para ToCMoV, já foram realizadas, principalmente em acessos de tomate. Santana *et al.* (2001) encontraram fontes de resistência promissoras, as quais serviram como base para trabalhos posteriores de introgressão de genes via melhoramento genético em tomateiro, como é o exemplo do material TX-468RG com resistência a espécies de *Begomovirus* monopartidos e bipartidos (Giordano *et al.*, 2005; Garcia-Cano *et al.*, 2008).

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.

Com relação ao comportamento destes acessos aos vetores as plantas dos 93 acessos de berinjela também foram avaliadas em três remessas sendo 11, 28 e 54 acessos avaliados na primeira, segunda e terceira remessa respectivamente.

O ciclo de vida de *B. tabaci* inicia-se com oviposição. De acordo com Villas Boas *et al.* (2001), em torno de 300 ovos são colocados por cada fêmea. O ciclo de vida passa por ninfa de 1º ínstar (único estágio que se movimenta), 2º, 3º e 4º ínstar e adulto.

A avaliação foi feita considerando os diferentes estágios do ciclo de desenvolvimento de *B. tabaci*. Após transformação e re-transformação dos dados, os resultados foram comparados e encontram-se nas **Tabelas 7, 8 e 9**.

Dentre os acessos avaliados e apresentados na **Tabela 7** observa-se que todos, exceto CNPH 30, não diferiram estatisticamente da testemunha tomate quanto às ninfas de primeiro, segundo e terceiro ínstaes. A contagem de adultos do vetor na testemunha suscetível e nos acessos também não diferiu estatisticamente, exceto para CNPH 12 que apresentou valor relativamente baixo. A contagem de ovos variou bastante entre os acessos avaliados que se comportaram como mais suscetíveis e diferiram estatisticamente da testemunha.

Dentre estes 11 acessos de berinjela avaliados na primeira remessa, somente no acesso CNPH 13 não foi observada a presença de ovos. Uma baixa contagem de ninfas de quarto ínstar foi observada neste acesso também, diferindo estatisticamente da testemunha.

Este fato foi observado em outros acessos, que apesar de uma alta contagem para outros ínstaes (primeiro, segundo e terceiro), apresentaram baixo valor de ninfas de quarto ínstar. Resultado interessante foi observado para os adultos apesar, dos acessos não diferirem da testemunha somente o acesso CNPH 12 apresentou média menor que o tomate. Estes resultados mostram que a mosca branca colonizou a berinjela de forma semelhante ao tomate, entretanto algum fator da hospedeira (berinjela) pode ter interferido no desenvolvimento do ciclo de vida do vetor.

Na segunda remessa foram avaliados 28 acessos de berinjela e o controle tomate cv. Santa Clara. Os resultados encontram-se apresentados na **Tabela 8**. Para a variável número de ovos, 20 acessos diferiram estatisticamente da testemunha suscetível.

Quanto aos estágios ninfais, observou-se que houve diferença estatística, para o 1º ínstar, entre a testemunha e outros 17 acessos. O acesso CNPH 331 apresentou média (102,72) bem superior quando comparado aos demais tratamentos e diferiu estatisticamente da testemunha suscetível que apresentou média de ninfas de 1º ínstar de 30,36. No acesso CNPH 378 foi observado menores valores para ninfas de primeiro ínstar (12,08), entretanto o mesmo não diferiu estatisticamente da testemunha.

Tabela 7: Relação de onze acessos de berinjela (*Solanum melongena*), quanto à colonização (ovos, ninfas de diferentes instares e adultos) pelo aleirodídeo mosca-branca (*Bemisia tabaci*) virulífero (*Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV).

Acessos	Estágios do ciclo de vida do vetor				
	Ovos	1° ínstar	2° e 3° ínstar	4° ínstar	Adultos
CNPH 12	94,7 a	42,65 a	59,32 a	37,29 b	0,85 b
CNPH 13	0 d	15,76 a	31,75 a	1,62 e	5,67 a
CNPH 15	105,38 a	35,04 a	36,83 a	11,32 c	7,17 a
CNPH 23	71,4 b	26,29 a	40,36 a	13,96 c	5,31 a
CNPH 25	68,28 b	17,67 a	25,83 a	4,53 d	6,31 a
CNPH 26	114,01 a	42,16 a	55,72 a	10,15 c	4,25 a
CNPH 27	138,65 a	28,02 a	36,01 a	6,63 c	4,22 a
CNPH 30	68,21 b	17,19 a	14,89 b	5,31 d	4,91 a
CNPH 33	91,6 a	30,25 a	28,01 a	7,12 c	4,63 a
CNPH 36	97,45 a	33,98 a	41,28 a	11,69 c	5,74 a
CNPH 38	138,97 a	39,57 a	56,48 a	20,2 b	5,21 a
Tomate	34,82 c	27,51 a	53,38 a	71,9 a	3,89 a

* Doze plantas de cada acesso e do controle suscetível tomate foram expostas à inoculação via vetor virulífero durante 20 dias. Médias re-transformadas seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Scott- Knot (5% de significância).

Ninfas de 2° e 3° instares foram avaliadas juntas. Não houve diferença estatística entre o controle positivo e a maioria dos acessos, porém oito acessos apresentaram menores valores destes estágios ninfais (CNPH 329, CNPH 369, CNPH 378, CNPH 383, CNPH 393, CNPH 396, CNPH 400 e CNPH 405) evidenciando uma provável resistência ao vetor. Resultado interessante foi observado para ninfas de 4° ínstar, pois o tomate não diferiu estatisticamente de 17 acessos e diferiu estatisticamente dos demais. Neste caso, estes acessos se comportaram de forma mais suscetível que a própria testemunha.

Para contagem de adultos, os acessos CNPH 407, CNPH 357, CNPH 354, CNPH 337, CNPH 415, CNPH 369, CNPH 387 e CNPH 405 diferiram do controle suscetível. Houve grande variação entre os acessos, sendo considerados os acessos CNPH 395 e CNPH 354 com

taxas mais elevadas para a maioria dos estágios de vida do vetor avaliado. Os acessos CNPH 393 e CNPH 400 apresentaram baixas médias para todos os estágios avaliados.

Tabela 8: Relação de vinte e oito acessos de berinjela (*Solanum melongena*) quanto à colonização (ovos, ninfas de diferentes instares e adultos) pelo aleirodídeo mosca-branca (*Bemisia tabaci*) virulífero (*Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV).

Acessos*	Estágios do ciclo de vida do vetor				
	Ovos	1° ínstar	2° e 3° ínstar	4° ínstar	Adulto
CNPH 329	28,96 b	12,48 b	12,38 b	1,26 c	0,66 b
CNPH 330	65,78 b	72,21 a	24,48 a	4,24 a	0,79 b
CNPH 331	65,61 b	102,72 a	22,97 a	2,43 b	0,26 b
CNPH 332	58,82 b	77,97 a	39,19 a	2,96 b	0,3 b
CNPH 334	104,75 a	84,81 a	36,12 a	3,83 a	0,33 b
CNPH 335	36 b	45,54 a	31,42 a	5,7 a	0,19 b
CNPH 337	54,07 b	54,03 a	36,05 a	5,59 a	1,56 a
CNPH339	45,1 b	37,72 a	36,82 a	4,41 a	0,47 b
CNPH 354	60,6 b	65,51 a	68,59 a	5,6 a	1,62 a
CNPH 357	158,22 a	43,1 a	47,84 a	3,24 b	1,87 a
CNPH 369	29,12 b	28,53 b	13,75 b	0,74 c	1,11 a
CNPH 373	45,82 b	30,89 b	25,27 a	0,77 c	0,44 b
CNPH 378	50,2 b	12,08 b	13,41 b	0,32 c	0 b
CNPH 383	70,34 b	24,41 b	11,96 b	2,38 b	0,59 b
CNPH 387	55,15 b	22,66 b	27,9 a	0,53 c	1,07 a
CNPH 388	117,42 a	28,53 b	22,07 a	0,42 c	0,17 b
CNPH 390	70,22 b	15,26 b	24,29 a	0,23 c	0,46 b
CNPH 393	41,58 b	17,48 b	11,05 b	0,44 c	0,3 b
CNPH 395	185,98 a	62,4 a	49,08 a	0,28 c	0,67 b
CNPH 396	39,88 b	36,13 a	13,32 b	1,09 c	0,46 b
CNPH 397	30,07 b	36,55 a	22,87 a	0,15 c	0,32 b
CNPH 400	50,43 b	18,66 b	13,02 b	0,22 c	0,29 b
CNPH 405	39,65 b	53,47 a	18,73 b	2,35 b	0,89 a
CNPH 406	129,81 a	34,36 a	28,32 a	1,06 c	0,41 b
CNPH 407	84,55 a	35,7 a	39,79 a	0,41 c	2,42 a
CNPH 408	151,67 a	46,06 a	40,17 a	0,38 c	0,51 b
CNPH 414	69,92 b	22,2 b	25,88 a	0,16 c	0,3 b
CNPH 415	118,31 a	47,32 a	55,14 a	0 c	1,54 a
Tomate	98,4 a	30,36 b	36,68 a	1,08 c	0,49 b

* Doze plantas de cada acesso e do controle suscetível tomate foram expostas à inoculação via vetor virulífero durante 20 dias. Médias re-transformadas seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Scott- Knot (5% de significância).

Dos 54 acessos de berinjela representados na **Tabela 9** avaliados na terceira remessa, quanto à contagem de ovos observam-se diferenças estatísticas para a testemunha em quase

todos os casos. Na grande maioria das vezes os valores de contagem foram menores para os acessos do que o controle (tomate) evidenciando a resistência dos mesmos ao vetor. Apenas nove dos cinquenta e quatro acessos (CNPH 236, CNPH 245, CNPH 209, CNPH 225, CNPH 240, CNPH 243, CNPH 232, CNPH 222 e CNPH 203) não diferiram do tomate demonstrando suscetibilidade ao vetor.

Para a contagem de ninfas de 1º ínstar os acessos que apresentaram maiores valores foram CNPH 209 e CNPH 236 diferindo-se estatisticamente da testemunha quanto à suscetibilidade ao vetor, porém 48 acessos diferiram da testemunha com menores valores de ninfas de 1º ínstar.

Para contagem de ninfas de 2º e 3º ínstars, 28 acessos diferiram estatisticamente da testemunha com resultados menores. Para as ninfas de 4º ínstar, 47 acessos apresentaram as menores médias diferindo estatisticamente do tomate e dos demais acessos.

Na contagem de adultos não houve diferença estatística entre os acessos e a testemunha exceto para 23 acessos que tiveram médias superiores ao controle tomate. Os acessos CNPH 236, CNPH 245, CNPH 209 e CNPH 240 tiveram as maiores médias para todos os estágios de vida do vetor, enquanto, os acessos CNPH 176, CNPH 177, CNPH 178, CNPH 188 apresentaram menores médias para todos os estágios de vida do vetor.

De um modo geral todos os acessos foram visitados, em todos os ensaios. Houve variação entre os estágios de vida do vetor na contagem das três remessas levando em consideração a quantidade de acessos inoculados e a variação ambiental.

Na contagem de adultos nos três ensaios os acessos de berinjela apresentaram diferença com relação ao controle positivo com resultados superiores, embora não tenham diferido estatisticamente. Um total de sete acessos: CNPH 13, CNPH 176, CNPH 177, CNPH 178, CNPH 188, CNPH 354 e CNPH 395 mostraram-se altamente resistentes ao vetor devido à baixa quantidade dos diferentes estágios de vida de *B. tabaci* em comparação aos demais

acessos. Por outro lado os CNPH 38, CNPH 209, CNPH 236, CNPH 240, CNPH 245, CNPH 393 e CNPH 400 mostraram-se altamente suscetíveis.

Acessos aqui considerados também como suscetíveis tiveram comportamento similar à testemunha tomate em pelo menos três das cinco variáveis avaliadas. Estes acessos acima citados poderão ser usados em ensaios posteriores com objetivo de serem usados como controles suscetíveis e resistentes de berinjela.

Embora existam na literatura vários relatos de plantas resistentes ao vetor *B. tabaci*, tais como: abóbora (*Curcubita* spp.) (Alves *et al.*, 2005), algodão (*Gossypium hirsutum*) (Toscano *et al.*, 2003), soja (*Glycine max*) (Valle & Lourenção, 2002 e Lima & Lara, 2004) e tomate (Toscano *et al.*, 2002), estudos para berinjela não estão disponíveis na literatura. Os acessos aqui avaliados mostraram em sua maioria suscetibilidade a colonização pelo vetor, entretanto alguns destes acessos apresentaram-se potencialmente resistentes ao vetor, como os citados acima.

Baldin *et al.* 2005 avaliaram nove genótipos de tomate quanto aos mecanismos de resistência a *B. tabaci* e observaram que o tomate cv. Santa Clara foi a mais atrativa e suscetível as moscas-brancas.

Mecanismos de resistência a insetos já foram descritos para outras espécies do gênero *Solanum*, principalmente em tomateiro. 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). Em *Solanum pennelli* a presença do aleloquímico acilaçúcar confere um aspecto pegajoso na superfície foliar funcionando como armadilha para o vetor e em consequência disto, resistência (Gilardón *et al.*, 2001). Futuramente deverão ser conduzidos estudos para estes mecanismos de resistência em berinjela.

Tabela 9: Relação de cinquenta e quatro acessos de berinjela (*Solanum melongena*) quanto à colonização (ovos, ninfas de diferentes ínstares e adultos) pelo aleirodídeo mosca-branca (*Bemisia tabaci*) virulífero (*Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV).

Acessos*	Estágios de ciclo de vida do vetor				
	Ovos	1º ínstar	2º e 3º ínstar	4º ínstar	Adulto
CNPH 170	11,91 c	0,45 e	0,29 d	0 d	0,53 c
CNPH 174	4,84 c	0,54 e	0,7 d	0 d	0,28 c
CNPH 176	0,86 d	0 e	0 d	0 d	0,06 c
CNPH 177	4,04 c	0,05 e	0 d	0 d	0,41 c
CNPH 178	2,37 d	0,41 e	0,1 d	0 d	0,8 c
CNPH 180	8,42 c	1,49 d	0,29 d	0 d	0,69 c
CNPH 181	15,37 b	4,18 c	3,75 b	0,26 d	0,78 c
CNPH 182	11,39 c	0,94 d	0,46 d	0 d	0,84 c
CNPH 183	11,94 c	0,66 d	0,54 d	0 d	2,27 b
CNPH 185	2,92 d	0,13 e	0,19 d	0,07 d	1,28 c
CNPH 186	8,85 c	0 e	0 d	0 d	2,66 b
CNPH 188	2,25 d	0,14 e	0,15 d	0 d	1,02 c
CNPH 189	6,51 c	0 e	0,41 d	0 d	0,82 c
CNPH 190	5,93 c	0 e	0,38 d	0 d	0,82 c
CNPH 192	33,15 b	4,58 c	4,71 b	0,35 d	1,68 c
CNPH 193	25,92 b	4,51 c	2,39 c	0,11 d	0,42 c
CNPH 194	4,92 c	1,72 d	1,2 c	0,29 d	0,84 c
CNPH 195	29,14 b	9,54 b	4,64 b	0 d	4,04 a
CNPH 196	9,24 c	4,64 c	1,39 c	0 d	0,64 c
CNPH 197	6,14 c	1,63 d	0,69 d	0,12 d	1,05 c
CNPH 200	2,42 d	1,42 d	1,77 c	0,23 d	2,14 b
CNPH 203	43,36 a	8,89 b	5,09 b	0,32 d	4,18 a
CNPH 204	2,05 d	2,67 c	1,39 c	0,12 d	2,31 b
CNPH 207	2,54 d	1,56 d	1,25 c	0,21 d	1,57 c
CNPH 208	30,66 b	11,05 b	12,07 a	0,7 d	3,45 b
CNPH 209	68,18 a	35,19 a	34,7 a	3,25 d	3,02 b

CNPH 219	0 d	0,74 d	0,78 d	0 d	1,45 c
CNPH 220	12,11 c	4,06 c	2,34 c	0,06 d	0,69 c
CNPH 221	27,21 b	7,84 c	8,78 b	0,12 d	2,06 b
CNPH 222	43,8 a	4,17 c	10,54 a	1,09 d	4,22 a
CNPH 223	19,87 b	3,62 c	1,42 c	0,17 d	1,77 c
CNPH 225	66,14 a	0,09 e	14,42 a	0,55 d	5,6 a
CNPH 226	5,48 c	7,52 c	7,09 b	0,78 d	2,66 b
CNPH 228	6,92 c	1,48 d	1,92 c	0,3 d	1,63 c
CNPH 231	37,23 b	6,87 c	16,32 a	0,26 d	1,05 c
CNPH 232	50,57 a	4,26 c	12,46 a	0,06 d	1,55 c
CNPH 234	11,98 c	2,04 d	2,04 c	0 d	1,14 c
CNPH 235	38,07 b	4,64 c	5,03 b	0,34 d	2,9 b
CNPH 236	80,68 a	23,71 a	15,45 a	2,16 c	4,76 a
CNPH 237	27,14 b	1,33 d	5,33 b	0,07 d	8,68 a
CNPH 239	28,18 b	1,4 d	9,09 b	0,12 d	3,12 b
CNPH 240	60,91 a	9,54 b	19,94 a	1,42 c	3,82 b
CNPH 241	5,05 c	0,98 d	1,75 c	0,09 d	2,52 b
CNPH 242	20,03 b	1,75 d	8,71 b	0,2 d	2,75 b
CNPH 243	54,79 a	0,65 d	10,21 a	0,34 d	5,28 a
CNPH 244	35,1 b	1,43 d	12,74 a	0,1 d	8,28 a
CNPH 245	72,57 a	3,14 c	27,55 a	0,06 d	6,12 a
CNPH 249	1,68 d	3,14 c	2,45 c	0,34 d	1,26 c
CNPH 250	21,89 b	4,48 c	10,58 a	1,13 c	0,32 c
CNPH 251	6,75 c	4,79 c	7,27 b	1,03 c	0,62 c
CNPH 252	18,06 b	4,52 c	4,19 b	1,29 c	0,96 c
CNPH 253	17,1 b	7,44 c	5,78 b	1,68 c	1,11 c
CNPH 254	5,71 c	0,92 d	1,91 c	0,39 d	0,58 c
CNPH 255	30,79 b	6,29 c	11,08 a	6,63 a	2,26 b
Tomate	51,47 a	16,47 b	8,62 b	2,12 c	0,69 c

* Doze plantas de cada acesso e do controle suscetível tomate foram expostas à inoculação via vetor virulífero durante 20 dias. ¹ Médias re-transformadas seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Scott- Knot (5% de significância).

Assim, pode-se concluir que alguns acessos não diferiram estatisticamente do controle suscetível (para ovos, ninfas de 1º, 2º e 3º ínstars), mas diferiram em relação à testemunha para o número de ninfas de 4º ínstar e adultos, o que poderia indicar 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) que observaram o mesmo tipo de comportamento de três acessos de 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.

Ensaio para análise de preferência e não preferência do vetor pelos distintos acessos poderão ser conduzidos futuramente visando avaliar também características de comportamento do inseto.

Quanto ao vírus, os materiais apresentando resistência ao vetor após as avaliações poderão ser avaliados novamente através da inoculação através de outro método (como biobalística ou enxertia).

3.2. Resposta à inoculação por PVY

Os primeiros sintomas (mosaico e deformação foliar) nas plantas do controle positivo fumo (*Nicotiana tabacum* cv TNN) foram observados aos sete dias após as re-inoculações, garantindo o sucesso da infecção viral.

Em alguns acessos de berinjela os sintomas foram de necrose nas folhas inoculadas como pode ser observado nos acessos CNPH 337 aos 14 dai e CNPH 38 aos sete dai (**Figuras 18A e B**), entretanto acredita-se que esta necrose tenha sido causada pela inoculação mecânica. Nas avaliações seguintes não houve evolução destes sintomas e as plantas desenvolveram normalmente.

A maioria das plantas não apresentou sintomas como observado nas **Figuras 18C, D e E** (acessos CNPH 20, CNPH 339 e CNPH 7 respectivamente).

Ao realizar as avaliações semanais foram observados sintomas de mosqueado/mosaico e redução da área foliar em todas as plantas do controle suscetível fumo. Nos controles não inoculados, as plantas de fumo permaneceram assintomáticas desenvolvendo-se normalmente, excluindo a possibilidade de infecções secundárias. Na **Figura 18F** estão ilustradas plantas de fumo do controle positivo inoculado e não inoculado.

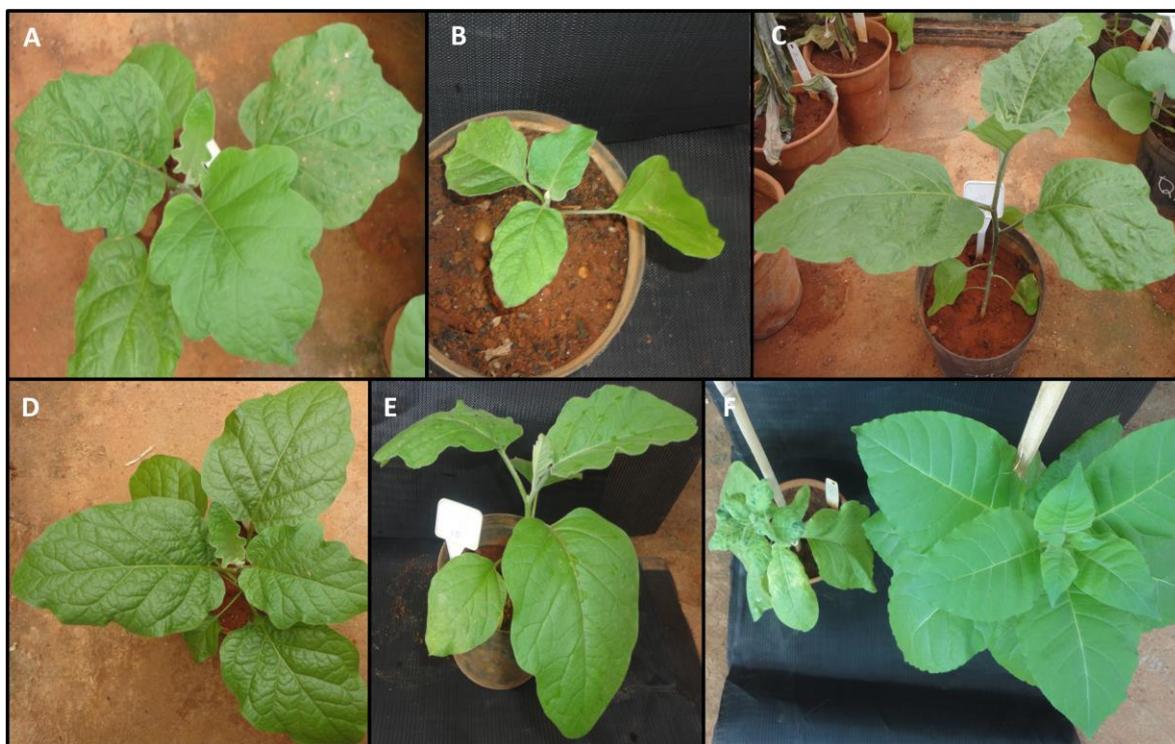


Figura 18. A-F: Plantas de acessos de berinjela (*Solanum melongena*) provenientes do Banco de Germoplasma de Berinjela - Embrapa Hortaliças (BGB - CNPH) e controles (*Nicotiana tabacum* - TNN) inoculados e não inoculados mecanicamente com *Potato virus Y* (PVY). **A e B.** Acesso CNPH 337 aos 14 dai e CNPH 38 aos 7 dai com sintomas de lesão necrótica na parte adaxial da folha no local da inoculação. **C.** Acesso CNPH 20 assintomático aos 28 dai. **D.** Acesso CNPH 339 assintomático aos 28 dai. **E.** Acesso CNPH 7 assintomático aos 28 dai. **F.** Plantas de *Nicotiana tabacum* cv TNN controle positivo à esquerda sintomático e controle negativo à direita, assintomático.

Neste trabalho as plantas permaneceram assintomáticas até os 120 dias pós-inoculação em comparação ao controle positivo.

Após realizar o Dot-Blot nenhuma planta dos 93 acessos avaliados apresentou resultado positivo. Na **Figura 19** encontram-se representados 14 acessos e os controles positivos (Linha H de 1 a 6) e os controles negativos (Linha H de 7 a 10). Os demais acessos não foram representados aqui.

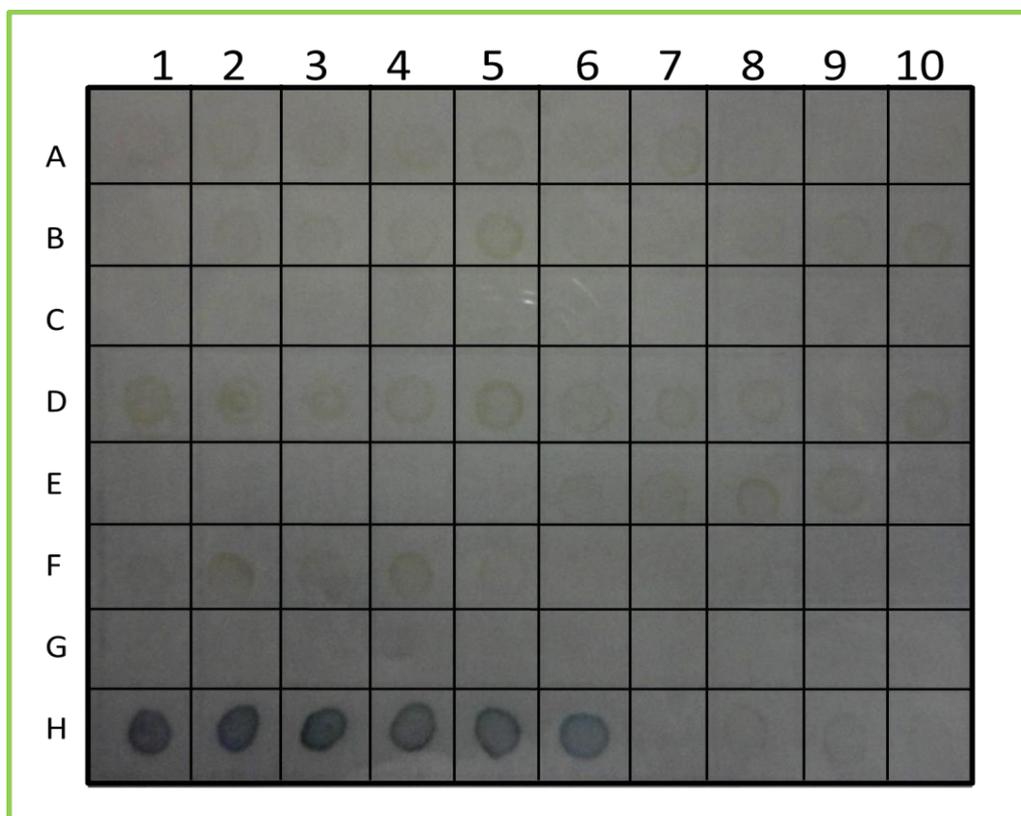


Figura 19: Resultado de Dot-Blot realizado com 14 acessos de berinjela proveniente do Banco de Germoplasma de Berinjela (*Solanum melongena*) - Embrapa Hortaliças (BGB - CNPH) e plantas do controle positivo e negativo (*Nicotiana tabacum* cv TNN) inoculadas mecanicamente com *Potato virus Y* - PVY. Na linha H estão representados os controles positivos inoculados (1-6) e os controles negativos: não inoculados (7-10). Ordem dos acessos na linha, a cada cinco plantas refere-se a cada acesso avaliado. Os acessos avaliados foram: CNPH 329, CNPH 330, CNPH 331, CNPH 332, CNPH 334, CNPH 335, CNPH 337, CNPH 339, CNPH 354, CNPH 357, CNPH 369, CNPH 373, CNPH 378 e CNPH 383.

Várias espécies pertencentes ao gênero *Potyvirus* já foram encontrados em berinjela destacando as espécies: *Eggplant green mosaic virus* (EGMV) (Lapido *et al.*, 1988a), *Eggplant severe mottle virus* (ESMV) (Lapido *et al.*, 1988b), *Pepper veinal mottle virus* (PVMV)

(Igwegbe & Waterworth, 1982) e *Brinjal mild mosaic virus* (BMMV) (Navqi & Mahmood, 1976).

Espécies de PVY em berinjela já foram relatadas por Sastry *et al.* (1974) e Brioso *et al.* (1988). Em estudo de Brioso *et al.* (1988) após inoculação mecânica de PVY em 30 linhagens de berinjela apenas cinco cultivares mostraram-se resistentes.

De acordo com os resultados obtidos para os acessos de berinjela ao PVY, ausência de sintomas e detecção viral via Dot-Blot, e ainda considerando que já existem relatos desse vírus infectando linhagens de berinjela avalia-se que a resposta da berinjela ao PVY foi de resistência. Isto demonstra uma possível fonte de resistência e estimula o desenvolvimento de análises moleculares visando identificar os genes envolvidos na resistência afim de introgridilos em outras espécies do gênero *Solanum*, principalmente o tomate, via estratégias de transgenia.

3.3.Resposta à inoculação por GRSV

Os primeiros sintomas nas plantas do controle positivo *Datura stramonium* foram observados aos sete dias após as re-inoculações, garantindo o sucesso do processo de inoculação.

Plantas dos acessos de berinjela exibiram sintomas nas folhas inoculadas aos sete dias após a re-inoculação tais como manchas necróticas conforme ilustrado no acesso CNPH 15 (**Figura 20A**). Sintomas de bolhosidades foram observados aos 28 dias em alguns acessos conforme ilustrado para o CNPH 27 na **Figura 20B**. Nas avaliações seguintes estes sintomas não evoluíram e nem foram observados outros tipos de sintomas.

Plantas da maioria dos acessos não apresentaram sintomas e algumas delas encontram-se ilustradas abaixo (plantas dos acessos CNPH 337, CNPH 38 e CNPH 33 ilustradas nas **Figuras 20C, D e E** respectivamente).

Nos controles positivos, os sintomas foram severos e evoluíram com o tempo. As plantas de *D. stramonium*, não inoculadas, permaneceram assintomáticas, excluindo-se assim a possibilidade de infecções secundárias. Na **Figura 20F** pode ser observado que a planta de *D. stramonium* inoculada, a esquerda apresenta sintomas severos de nanismo, enquanto, a planta de *D. stramonium* não inoculada à direita, está bem desenvolvida e assintomática.

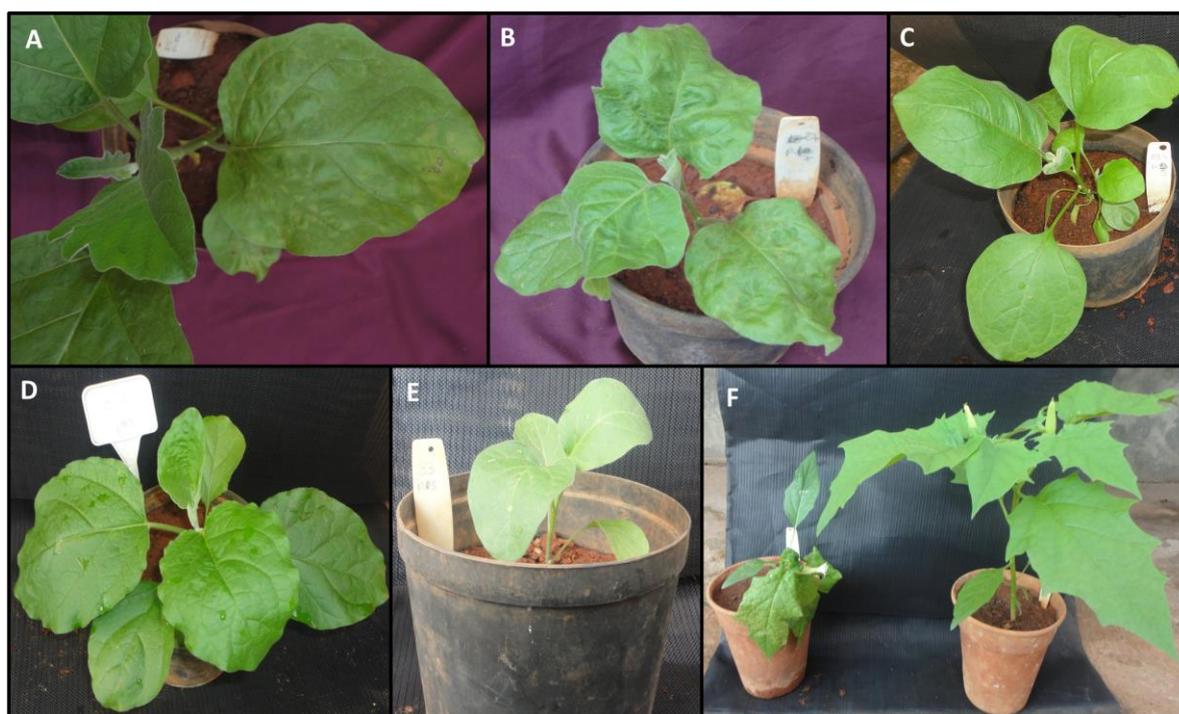


Figura 20: A-F: Plantas de acessos de berinjela (*Solanum melongena*) provenientes do Banco de Germoplasma de Berinjela - Embrapa Hortaliças (BGB - CNPH) e controles (*Datura stramonium*) inoculados e não inoculada mecanicamente com *Groundnut ringspot virus* (GRSV). **A.** Acesso CNPH 15 aos 7 dias após a re-inoculação com sintomas de pontos necróticos. **B.** Acesso CNPH 27 aos 28 dai com sintomas de bolhosidades. **C.** Acesso CNPH 337 assintomático aos 28 dai. **D.** Acesso CNPH 38 assintomático aos 28 dai. **E.** Acesso CNPH 33 assintomático aos 28 dai. **F.** Plantas de *D. stramonium* controle positivo à esquerda, e controle negativo, à direita, assintomático.

Dos 88 acessos avaliados, 56 deles tiveram pelo menos uma planta positiva (Dot Blot) em um total de seis plantas inoculadas por acesso. Destes 56, dez acessos (CNPH 357, CNPH 373, CNPH 380, CNPH 383, CNPH 387, CNPH 397, CNPH 400, CNPH 407, CNPH 408 e CNPH

415) apresentaram plantas com sintomas de lesões necróticas e bolhosidades nos primeiros 28 dai.

O sintoma de lesão local necrótica é típico de um tipo de resposta de resistência conhecido como Reação de Hipersensibilidade (HR). Neste trabalho, entretanto, outro sintoma associado às lesões locais corresponde a bolhosidades. Este tipo de deformação foliar não foi observado nas plantas do controle inoculado apenas com tampão.

Plantas dos dez acessos que apresentaram estes sintomas desenvolveram-se normalmente e os sintomas não evoluíram com o tempo, permanecendo nas folhas inoculadas, no entanto, foi possível confirmar que houve movimento viral a longa distância, uma vez que aos 35 dai, resultados positivos foram observados em Dot-Blot realizado com a segunda folha da planta (distante do local de infecção primária). Neste grupo, foram detectadas mais de quatro plantas positivas por acesso (**Figura 21**). O tipo de comportamento destes acessos é diferente de HR, uma vez que apesar da lesão local, houve inicialmente sintoma de bolhosidade, mas não houve evolução de sintomas. Estes acessos poderão ser avaliados futuramente quanto à sua produtividade para verificar se os mesmos podem ser considerados como tolerantes.

Em tomate resistência do tipo reação de hipersensibilidade é conferida pelo gene *Sw-5* que confere resistência a mais de uma espécie do gênero *Tospovirus* (Brommonschenkel *et al.*, 2000; Lau, 2001; Picoli, 2000). Marcador molecular já se encontra disponível para este gene (Dianese *et al.*, 2010) e extrações de DNA estão sendo realizadas com intuito de verificar a possível existência de análogos do *Sw-5* em berinjela.

Conforme mencionado anteriormente dez acessos tiveram mais de quatro plantas positivas. Estudo de Lima *et al.* (2002) avaliou a resistência de berinjelas às espécies virais TSWV, TCSV, CNSV e GRSV. Todos os isolados virais infectaram pelo menos uma das variedades inoculadas e os sintomas observados foram clorose, manchas necróticas, mosaico, distorção foliar, manchas cloróticas nas folhas e frutos e caule e necrose do pecíolo. Em

algumas combinações de isolado viral e genótipo de berinjela a infecção levou à morte da planta.

Dos outros 46 acessos, 13 apresentaram (CNPH 15, CNPH 27, CNPH 36, CNPH 192, CNPH 220, CNPH 242, CNPH 329, CNPH 332, CNPH 334, CNPH 335, CNPH 339, CNPH 393 e CNPH 405) de uma a três plantas exibindo sintomas de mosaico aos 21 dai. Estas plantas foram positivas via Dot Blot realizado aos 35 dai, entretanto nas avaliações de 60 e 120 dias estes sintomas não eram tão evidentes e as plantas pareciam ter se recuperado.

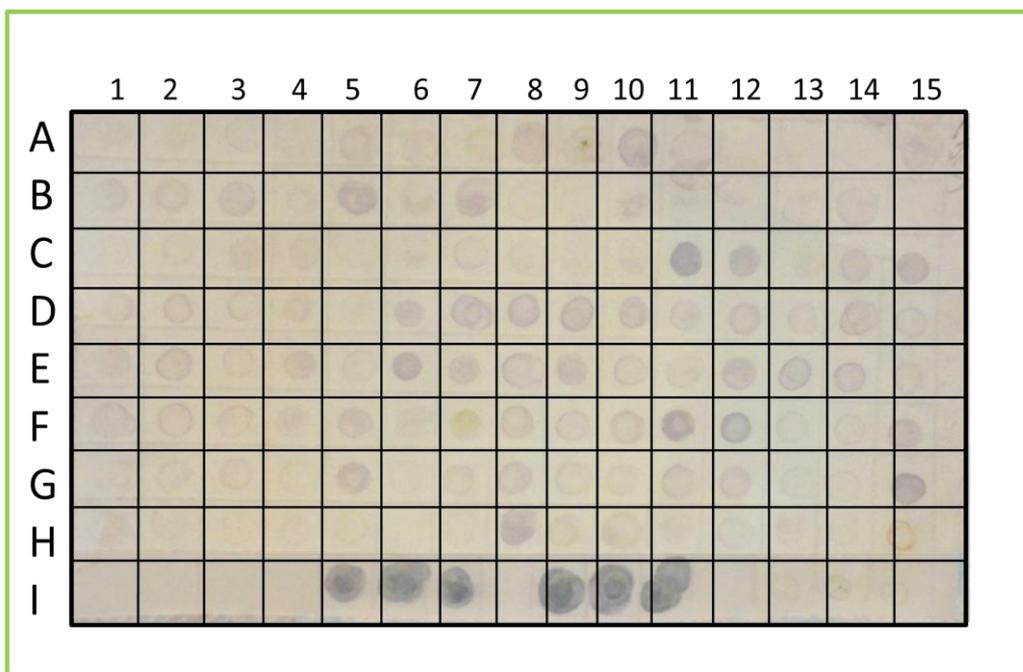


Figura 21: Resultado de Dot-Blot realizado com 32 acessos de berinjela proveniente do Banco de Germoplasma de Berinjela (*Solanum melongena*) - Embrapa Hortaliças (BGB - CNPH) e plantas do controle positivo e negativo de *Datura stramonium* inoculadas mecanicamente com *Groundnut ringspot virus* - (GRSV). Ordem dos acessos na linha, a cada cinco plantas refere-se a um acesso avaliado. Os acessos avaliados foram: CNPH 329, CNPH 330, CNPH 332, CNPH 334, CNPH 335, CNPH 337, CNPH 355, CNPH 339, CNPH 357, CNPH 354, CNPH 373, CNPH 380, CNPH 383, CNPH 387, CNPH 397, CNPH 388, CNPH 390, CNPH 393, CNPH 405, CNPH 406, CNPH 413, CNPH 396, CNPH 414 e CNPH 412. Plantas de *Datura stramonium* usadas como controle positivo (inoculado) encontram-se na linha I números de 5 a 11. Posição 8 planta morta. E como controle negativo (não inoculado) linha I números de 12 a 15.

Os outros 33 acessos (CNPH 12, CNPH 23, CNPH 33, CNPH 38, CNPH 170, CNPH 174, CNPH 176, CNPH 180, CNPH 181, CNPH 182, CNPH 183, CNPH 185, CNPH 188, CNPH 194, CNPH 203, CNPH 204, CNPH 222, CNPH 223, CNPH 228, CNPH 231, CNPH 235, CNPH 241, CNPH 243, CNPH 245, CNPH 254, CNPH 330, CNPH 337, CNPH 354, CNPH 388, CNPH 390, CNPH 406, CNPH 413 e CNPH 414) não apresentaram sintomas em nenhuma das avaliações realizadas embora tenham tido de 1-3 plantas positivas na sorologia.

Trinta e dois acessos foram considerados resistentes, pois não apresentaram sintomas e nem detecção via Dot Blot. São eles: CNPH 13, CNPH 30, CNPH 177, CNPH 178, CNPH 186,

CNPH 189, CNPH 190, CNPH 196, CNPH 197, CNPH 200, CNPH 206, CNPH 207, CNPH 208, CNPH 209, CNPH 219, CNPH 221, CNPH 225, CNPH 232, CNPH 236, CNPH 237, CNPH 238, CNPH 240, CNPH 244, CNPH 249, CNPH 250, CNPH 251, CNPH 252, CNPH 253, CNPH 255, CNPH 355, CNPH 396 e CNPH 412. Estes acessos deverão ser analisados futuramente também para outras espécies virais do gênero *Tospovirus*.

Estes resultados mostram que houve uma variação entre os acessos e entre as plantas de cada acesso. Infere-se que entre as plantas de cada acesso pode ter ocorrido um ou mais fatores que desencadearam uma vulnerabilidade da planta à infecção, uma vez que outras plantas não demonstraram esta suscetibilidade. Pode ser sugerida uma possível segregação dentro dos materiais.

4. Conclusão

Conclui-se que todos os acessos de berinjela avaliados foram resistentes ao ToCMoV e PVY não detectando sintomas e nem a presença viral. Os acessos CNPH 13, CNPH 176, CNPH 177, CNPH 178, CNPH 188, CNPH 354 e CNPH 395 apresentaram resistência a *B. tabaci* devido à baixa quantidade de ovos, ninfas e adulto enquanto os acessos CNPH 38, CNPH 209, CNPH 236, CNPH 240, CNPH 245, CNPH 393 e CNPH 400 mostraram-se altamente suscetíveis com alta quantidade de ovos, ninfas e adulto, em quantidades até mesmo superiores ao controle.

Para o GRSV, a maioria das plantas dos acessos avaliados apresentou-se assintomática, entretanto muitos tiveram detecção positiva em Dot Blot. Trinta e dois acessos apresentaram uma resposta de resistência manifestada através da ausência de sintomas e detecção viral.

O resultado indica que estes acessos aqui analisados do BGB - CNPH podem se constituir em um potencial fornecedor de gene(s) para uso em programas de melhoramento para

resistência a *Begomovirus*, *Potyvirus* e *Tospovirus* que infectam tomateiro e outras solanáceas no Brasil.

CONCLUSÕES GERAIS

Conclui-se que espécies arbóreas e arbustivas podem ser reservatório de vírus importantes para agricultura e de vírus ainda desconhecidos. As espécies arbóreas e arbustivas que foram tratadas neste trabalho são hospedeiras de vírus importantes para agricultura dentro de cinco gêneros importantes: *Begomovirus*, *Cucumovirus*, *Potyvirus*, *Tobamovirus* e *Tospovirus*. Espécies do gênero *Tospovirus* foram as mais detectadas em espécies arbóreas e arbustivas.

Espécies arbóreas quando inoculadas com diferentes espécies virais, mostraram-se como potenciais hospedeiras de GRSV e PVY. Para ToCMoV o tipo de resposta observado foi de resistência da não hospedeira e algumas espécies foram confirmadas hospedeiras de *Bemisia tabaci*.

Acessos de berinjela apresentaram uma resposta de não hospedeira ao ToCMoV, e alguns destes apresentaram resistência ao PVY e ao GRSV.

Referências Bibliográficas

- ABRAF - Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas, 2013. Anuário Estatístico - ano base 2012, ABRAF- 2013. Disponível em: <www.abraflor.org/estatística/anuário>. Acesso em: 07 janeiro de 2014.
- ADAMS, A.N. 1978. The detection of *Plum pox virus* in *Prunus* species by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Annals of Applied Biology* 90:215-221.
- ADAMS, M.J.; KING, A.M. & CARSTENS, E.B. 2013. Ratification vote on taxonomic proposals to the international committee on taxonomy of viruses. *Archives of Virology* 158: 2023-2030.
- 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. 2011 (eds.) *Virus taxonomy*. 9th report of the international committee on taxonomy of viruses. San Diego: Elsevier Academic Press. pp. 1069-1089.
- AGRIOS, G. 2005. *Plant Pathology*. 5th Edition. Elsevier - Burlington.
- ALABI, N.S.; WHANGER, P.D. & WU, A.S. 1985. Interactive effect of organic and inorganic selenium with cadmium and mercury on spermatozoal oxygen consumption and motility in vitro. *Biology of Reproduction* 33:911-919.
- AL-ANI, R.A.; ADHAB, M.A. & ISMAIL, K.A.H. 2011. *Eggplant blister mottled virus* (EBMV): A possible new potyvirus characterized from Iraq. *Journal of General and Molecular Virology* 3:049-052.
- ALBERTER, B.; ALI REZAIAN, M.; JESKE, H. 2005. Replicative intermediates of Tomato leaf curl virus and its satellite DNAs. *Virology*, New York, v. 331, n. 2, p.441-448, Jan.
- ALBOUY, J. & DEVERGNE, J.C. 1999. Diseases produced by viruses on ornamental plants. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, Spain. p.480 (in Spanish).
- ALBUQUERQUE, L.C.; MARTIN, D.P.; AVILA, A.C. & INOUE-NAGATA, A.K. 2010. Characterization of *Tomato yellow vein streak virus*, a begomovirus from Brazil. *Virus Genes* 40:140-147.
- ALBURQUERQUE, L.C.; INOUE-NAGATA, A.K.; PINHEIRO, B.; RIBEIRO, S. da G. RESENDE, R.; MOIRONES, E. & NAVAS-CASTILHO, J. 2011. A novel monopartite begomovirus infecting sweet potato in Brazil. *Archives of Virology* 156: 1291-1294.
- ALENCAR, C.C.O. 2008. Arborização urbana no Distrito Federal: História e espécies do Cerrado. Novacap. Brasília.
- ALFENAS, A.C.; ZAUZA, E.A.V.; MAFIA, R.G. & ASSIS, T.F.de. 2004. Clonagem e doenças do eucalipto. UFV - Viçosa. p. 442.

ALFENAS, A.C.; ZAUZA, E.A.V.; MAFIA, R.G. & ASSIS, T.F.de. 2009. Clonagem e doenças do eucalipto. 2º. ed. UFV - Viçosa. p. 500.

ALFENAS, P.; GALVÃO, R.; ANDRADE, E.; MANDELLI, M.; FERNANDES, A.; ZERBINI, F. & FONTES, E. 1998. Detecção e caracterização molecular de novos geminivírus que infectam tomateiros. *Fitopatologia Brasileira* 23: 311.

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.

ALMEIDA, A.M.R. 2000. Vírus de soja. *Cultivar* 23: 26–32.

ALMEIDA, A.M.R. 1995. Noções de sorologia aplicadas a fitovirologia. Londrina: Embrapa-CNPSO. 105 p.

ALMEIDA, A.M.R.; SAKAI, J.; SOUTO, E.R.; KITAJIMA, E.W.; FUKUJI, T. & HANADA, K. 2002. Mosaic in *Senna occidentalis* in southern Brazil induced by a new strain of *Soybean mosaic virus*. *Fitopatologia Brasileira* 27:151–156.

ALMEIDA, C.E.; COSTA, J. & BARTH, O.M. 1995. Analysis of antidiarrhoeic effect of plants used in popular medicine. *Revista de Saúde Pública* 29:428-433.

ALONSO, I. GARCÍA-LUQUE, M.J. AVILA-RINCÓN, B. WICKE, M.T. SERRA, J.R. DÍAZ-RUIZ 1989. A tobamovirus causing heavy losses in protected pepper crops in Spain. *Journal Phytopathology* 125:67–76.

ALVES, A.C.; LOURENÇÃO, A.L. & MELO, A.M.T. 2005. Resistência de genótipos de aboboreira *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera:Aleyrodidae). *Neotropical Entomology* 34:973-979.

ALVES, E.O.; MOTA, J.H.; SOARES, T.S.; VIEIRA, M.doC. & SILVA, C.B.de. 2008. Levantamento etnobotânico e caracterização de plantas medicinais em fragmentos florestais de Dourados-MS. *Ciência Agrotécnica* 32:651–658.

AMANN, R.I.; LUDWIG, W.; & SCHLEIFER, K.H. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 59:143-169.

AMBROZEVICIUS, L.P.; CALEGARIO, R.F.; FONTES, E.P.B.; CARVALHO, M.G. & ZERBINI, F.M. 2002. Genetic diversity of begomovirus infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 27:372-377.

AMICO, L.A.; O'SHEA, M.T.; CASTELLO, J.D. & HIBBEN, C.R. 1985. Transmission of *tobacco mosaic* and *tobacco ringspot* viruses from Moraine ash in New York. *Plant Disease*. 69: 542.

ANDRADE, E.C.; MANHANI, G.G.; ALFENAS, P.F.; CALEGARIO, R.F.; FONTES, E.P. & ZERBINI, F.M. 2006. *Tomato yellow spot virus*, a tomato-infecting begomovirus from Brazil with a closer relationship to viruses from *Sida* sp., forms pseudorecombinants with begomoviruses from tomato but not from *Sida*. *Journal of General Virology* 87: 3687–3696.

- ARMANDO, M.S.; BUENO, Y.M.; ALVES, E.R. da S. & CAVALCANTE, C. H. 2002. Agrofloresta para agricultura familiar. Embrapa. Circular Técnica. p.1–11.
- ARNDT, N.; BARGEN, S.VON; GRUBITS, E.; JALKANEN, R. & BUTTNER, C. 2009. Occurrence of EMARAV and CLRV in tree species native to Finland. *In*: FELDMANN, F.; ALFORD, D. V. & FURK, C. Crop Plant Resistance to Biotic and Abiotic Factors. Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft. Braunschweig - Germany.p. 573–574.
- ARNDT, V. ROGON, C. & HOHFELD, J. 2007.To be, or not to be - molecular chaperones in protein degradation. *Cellular and Molecular Life Sciences* 64: 2525–2541.
- ASHBY, J.W. 1977. Infection of karaka (*Corynocarpus laevigatus* JR & G. Forst.) by *Cucumber mosaic virus*. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 20: 533–534.
- ATREYA, P. L.; ATREYA, C. D.; PIRONE, T. P. 1991. 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* 88:7887-7891.
- AUER, C.G. & SANTOS, A.F. 2012. Impactos causados por patógenos introduzidos em espécies florestais no Brasil e riscos de introdução de novas espécies. *In*: Anais do Seminário Internacional sobre Pragas Quarentenárias Florestais. p..25. <http://www.bibliotecaflorestal.ufv.br>. Consultado em: 10/01/2014.
- AUER, C.G.; SANTOS, A.F. & GRIGOLETTI, A.J. 2000. Patógenos florestais quarentenários para o Brasil. *Floresta* 30: 101–118.
- AVIDOS, M.F.D. & FERREIRA, L.T. 2003. Frutos dos Cerrados - Preservação gera muitos frutos. <http://www.biotecnologia.com.br/bio15/frutos>. Consultado em: 12/01/2014.
- ÁVILA A.C. de, INOUE-NAGATA A.K., COSTA H., BOUITEUX L.S., NEVES L.O.Q., PRATES R.S. & BERTINI, L.A. 2004. Ocorrência de viroses em tomate e pimentão na região serrana do estado do Espírito Santo. *Horticultura Brasileira* 22: 655-658.
- ÁVILA, A. C.; POZZER, L.; BEZERRA, I.; KORMELINK, R.; PRINS, M.; PETERS, D.; NAGATA, T.; KITAJIMA, E. & RESENDE, R. 1998. Diversity of tospoviruses in Brazil. *In*: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TOSPOVIRUSES AND THRIPS IN FLORAL AND VEGETABLE CROPS, 4. Wageningen: Abstract: 32–34.
- ÁVILA, A.C. de & INOUE-NAGATA, A.K. 2008. Diversity and prevalence of Brazilian bipartite begomovirus species associated to tomatoes. *Virus Genes* 36:251–258.
- AZZAM, O.; FRAZER, J.; DE LA ROSA, D.; BEAVER, J. S.; AHLQUIST, P. & MAXWELL, D. P. 1994. Whitefly transmission and efficient ssDNA accumulation of bean golden mosaic geminivirus requires functional coat protein. *Virology*. 204: 289–296.
- BALANDRIN, M.F.; KLOCKE, J.A.; WURTELE, E. S. & BOLLINGER, W.H. 1985. Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. *Science* 228: 1154–1160.

- BALDIN E.L.L.; VENDRAMIN J.D. & LOURENÇÃO A.L. 2005. Resistência de genótipos de tomateiro à mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera: Aleyroididae). *Neotropical Entomology* 34: 435-441.
- BARNETT, O.W. 1971. Mosaic of blackjack oak. *Plant Disease Management Reports* 55: 411.
- BARRETO, SS. 2012. Estudo de plantas invasoras como fonte de begomovírus para o tomateiro. 136 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília.
- BARRO, P.D. 1995. *Bemisia tabaci* biotype B: A review of its biology, distribution and control. Ed. CSIRO Australia Division of Entomology. 2ª edição. pp. 58.
- BASÍLIO, P.R.R.C. 2008. Caracterização de isolados de *Sphaeropsis sapinea* e avaliação de resistência de progênies de *Pinus radiata*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, Brasil.
- BATISTA, M.F. & MARINHO, V.L.A. 2002. Vírus e viroides transmitidos por sementes. EMBRAPA. Brasília. p.74.
- BENNETT, C.W. 1969. Seed transmission of plant viruses. *Advances in Virus Research* 14: 221–261.
- BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H. & AMORIN, L. 1995. Manual de Fitopatologia - princípios e conceitos. 3º Ed. Ceres - São Paulo. p.417-453.
- BERGER, P.H.; ADAMS, M.J.; BARNETT, O.W.; BRUNT, A.A.; HAMMOND, J.; HILL, J.H.; JORDAN, R.L.; KASHIWAZAKI, S.; RYBICKI, E.; SPENCE, N.; STENGER, D.C.; OHKI, S.T.; UYEDA, I.; ZAAZEN, A. van; VALKONEN, J.; VETTEN, H.J. 2005. Family Potyviridae. In: FAUQUET, C.M.; MAYO, M.A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U. & BALL, L.A (Ed.). *Virus taxonomy*. London: Academic Press p.819-841.
- BESERRA Jr, J.E.A; CARVALHO, M.G.; BARGUIL, B.M.; & ZERBINI, F.M. 2011. Partial genome sequence of a *Potyvirus* and of a virus in the order *Tymovirales* found in *Senna macranthera* in Brazil. *Tropical Plant Pathology* 36: 2.
- BEZERRA, I.C.; RESENDE, R.O.; POZZER, L.; NAGATA, T.; KORMELINK, R. & ÁVILA, A.C. 1999. Increase of tospoviral diversity in Brazil with the identification of two new tospovirus species, one from chrysanthemum and one from zucchini. *Phytopathology*. St. Paul. v.89, p.823-830.
- BIDDLE, P.G. & TINSLEY, T.W. 1968. Virus diseases of conifers in Great Britain. *Nature* 219: 1387–1388.
- BIDDLE, P.G. & TINSLEY, T.W. 1971. *Poplar Mosaic Virus* Commonw. Mycol. Inst./Assoc. *Applied Biology Descriptions of Plant Viruses* 75: 3.

- BIDDLE, P.G. & TINSLEY, T.W. 1971. *Poplar mosaic virus* in Great Britain. *New Phytologist* 70:61–66.
- BLATTNY, C. 1965. Further information on Poplar mosaic. *Lesn.Cas. Praha.* 11:637–648.
- BLAWID, R.; NOGUEIRA, I.; PEREIRA-CARVALHO, R.C.; RIBEIRO, S.G; NAGATA, T. & RESENDE, R.O. 2012. Localization of endosymbionts in viruliferous and aviruliferous *Bemisia tabaci* populations from Brazil. *In: XXIII Brazilian Congress of Virology & VII Mercosur Meeting of Virology. Foz do Iguaçu. 2012. Virus Reviews and Research* p. 344.
- BOCCARDO, G.; LUISONI, E. & LOVISOLO, D. 1973. Characterization of an Italian isolate of Poplar mosaic virus. *In: 2nd International Congress of Plant Pathology, University of Minnesota, Minneapolis, Minnesota, U.S.A.* p. 928.
- BOITEUX, L.S. & DE AVILA, A.C. 1994. Inheritance of a resistance specific to tomato spotted wilt tospovirus in *Capsicum chinense*. *Euphytica* 75:139–142.
- BOITEUX, L.S.; FONSECA, M.E.N. & SIMON, P.W. 1999. Effects of plant tissue and DNA purification method on randomly amplified polymorphic DNA-based genetic fingerprinting analysis in carrot. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 124:32–38.
- BORN, R. H. 2006. Agenda 21 e a biodiversidade. Brasília: MMA, 2006. p..23. (Caderno de debate agenda 21 e sustentabilidade).
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Lista de pragas quarentenárias ausentes (A1). *In: Instrução normativa nº 52, de 20 de novembro de 2007. Diário Oficial da União: Seção 1, Brasília, DF, ano 144, n. 223, p. 31-34, 21 nov. 2007. <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/sanidade-vegetal>. Consultado em: 29/01/2014.*
- BRASIL. Primeiro relatório nacional para a convenção sobre diversidade biológica. <http://www.mma.gov.br/biodiversidade.pdf>. Consultado em: 3/1/2014.
- BRASILEIRO, A.C.M. & CARNEIRO, V.T. 1998. Manual de transformação genética de plantas. Embrapa-SPI/Embrapa- Cenargen. Brasília. p. 111–125.
- BRCAK, J. & BLATTNY, C. 1962. Electron microscope investigation of poplar mosaic. *Phytopathology* 52: 954–955.
- BRIDDON, R. W.; PINNER, M. S.; STANLEY, J. & MARKHAM, P.G. 1990. Geminivirus coat protein gene replacement alters insect specificity. *Virology.* 177: 85–94.
- BRIGHT, C. 1999. Invasive species: pathogens of globalization. *Foreign Policy* Fall, p. 50–64.
- BRIOSO, P.S.T.; CUNHA, L.F.C.; KITAJIMA, E.W.; OLIVEIRA, S. & PIMENTEL, J.P. 1988. *Potato virus Y* - identificação do vírus e resistência em berinjela. *Fitopatologia Brasileira* 13:144.

- BRITO, J. O. 2002. Goma-Resina de Pinus e Óleos Essenciais de Eucalipto: Destaques na Área de Produtos Florestais Não-Madeireiros. IPEF. <http://www.ipef.br/tecprodutos/gomaeoleos>. Consultado em: 20/01/2014.
- BROWN, J.K. & BIRD, J. 1992. Whieflly: transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease* 76:220–225.
- BROWN, J.K. 1994. Current status of *Bemisia tabaci* as a plant pest and virus vector in agroecosystems worldwide. *FAO.Plant Protection Bulletin*. 42:3–32.
- BROWN, J.K.; FAUQUET, C.M.; BRIDDON, R.W.; ZERBINI, M. & MORIONES, E. 2011. Family *Geminiviridae*. In: KING, A.M.Q.; ADAMS, M.J.; CARSTENS, E.B. & LEFKWITZ, E.J. (eds.). *Virus Taxonomy.Classification and Nomenclature of Viruses.Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier Academic Press. p. 351–373.
- BROWN, J.K.; FROHLICH, D.R. & ROSELL, R.C. 1995. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: Biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex? *Annual review of Entomology* 40:511–534.
- BRUNT, A.A.; CRABTREE, K.; DALLWITZ, M.J.; GIBBS, A.J.; WATSON, L. & ZURCHER, E.J. 1997. Plant viruses online: description and lists from VIDE database, version 16. <http://www.biology.anu.edu.au/groups/mes>. Consultado em: 10/02/2014.
- BRUNT, A.A.; CRABTTREE, K.; DALLWITZ, M.J.; GIBBS, A.J.; WATSON, L. & ZURCHER, E.J. (eds.) (1996 onwards). *Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database*. Version: 20th August 1996. <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES>. Consultado em: 21/02/2014.
- BRZOSTOWSKI, H. W. & GRACE, T. D. C. 1974. Virus-like particles isolated from diseased Eucalyptus. *The Plant Disease Reporter* 58:92-93.
- BUTLER JUNIOR, G.D.; COUDRIET, D.L.; HENNEBERRY, T.J. 1989. Sweetpotato whitefly: host plant preference and repellent effect of plant-derived oils on cotton, squash, lettuce and cantaloupe. *Southwestern Entomologist* 18: 429-432.
- BUTTNER, C. & NIENHAUS, F. 1989. Virus contamination of soils in forest ecosystems of the Federal Republic of Germany. *European Journal of Plant Pathology* 19: 47–53.
- BYERS, J.E. 2000. Competition between two estuarine snails: implications for invasions of exotics species. *Ecology* 81:1225–1239.
- CADMAN, C. H. 1963. Biology of soil-borne viruses. *Annual Review of Phytopathology* 1: 143.
- CALEGARIO, R. F.; FERREIRA, S. D. S.; de ANDRADE, E. C. & ZERBINI, F. M. 2007. Characterization of *Tomato yellow spot virus*, a novel tomato-infecting begomovirus in Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 42:1335–1343.

- CAMINHA FILHO, A. 1940. Timbós e rotenonas: uma riqueza nacional inexplorada. Serviço de Informação Agrícola - MA. Rio de Janeiro. p.14.
- CARRINGTON, J.C.; HALDEMAN, R.; DOLJA, V.V. & RESTREPO-HARTWIG, M.A. 1993. Internal cleavage and trans-proteolytic activities of the VPg-proteinase (NIa) of tobacco etch potyvirus in vivo. *Journal of Virology* 67: 6995–7000.
- CARRINGTON, J.C.; JENSEN, P.E. & SCHAAD, M.C. 1998. Genetic evidence for an essential role for potyvirus CI protein in cell-to-cell movement. *The Plant Journal* 14:393– 400.
- CARVALHO, R.M.M.A.; SOARES, T.S. & VALVERDE, S.R. 2005. Caracterização do setor florestal: uma abordagem comparativa com outros setores da economia. *Ciência Florestal* 15:105–118.
- CASALICCHIO, G. 1965. La punteggiatura cloro-necrotica del Fragsino maggiore (Chloro-necrotic spotting of ash). *Monti Boschi* 16:39–46.
- CASTELLO, D.; AMICO, L.A. & O'SHEA, M. T. 1984. Detection of tobacco mosaic and tobacco ringspot viruses in white ash trees by enzyme-linked immunosorbent assay. *Plant Disease* 68:787–790.
- CASTELLO, J.D. & BERBEE, J.G. 1978. The detection and elimination of viruses from hybrid poplar clones. *Phytopathology News* 12:186.
- CASTELLO, J.D.; AMICO, L. A. & SHIEL, P. 1983. Seasonal distribution of tobacco mosaic virus in Moraine ash *fraxinus-holotricha* cultivar 'Moraine'. *Phytopathology* 73:364.
- CATION, D. 1952. Further studies on transmission of ringspot and cherry yellows viruses through seed. *Phytopathology* 42: 4.
- CECH, M.; KRAIK, O. & BLATTNY, C. 1961. Rod-shaped particles associated with virosis of spruce. *Phytopathology* 5:183-185.
- CENTRO DE INTELIGÊNCIA EM FLORESTAS (2008) <http://www.ciflorestas.com.br/texto>. Consultado em: 10/01/2014.
- CEZAR, M.A.; PAVAN, M.A.; KOBORI, R.F. & KRAUSE-SAKATE, R. 2003. Detecção de tobamovírus em pimentão (*Capsicum annuum*) por meio de RT-PCR. *Summa Phytopathologica* 29:59 (Resumo).
- CHAO, S. 2012. Forest peoples: Numbers across the word. Forest People Programme. United Kingdom.
- CHAVES, C.L. & MANFREDI, C.S. 2010. Arbóreas medicinais das matas ciliares do Rio Canoas: potencialidade de uso em projetos de restauração. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais* 12: 322–332.
- CHEN, C.C. & CHIU, R.J. 1996. A tospovirus infecting peanut in Taiwan. *Acta Horticulturae* 431: 57–67.

CIFERRI, R., CORTE, A. & RUI, D. 1961. Two viruses of *Fraxinus*: necrotic leaf curl and leaf marbling. *Rivista di Patologia Vegetale* 3: 241–250.

COCK, M.J.W. (Ed.) 1986. *Bemisia tabaci* – a literature survey on the cotton whitefly with an annotated bibliography. FAO, CAB: London. 121p.

COCO, D.; CALIL, I. P.; BRUSTOLINI, O. J. B.; SANTOS, A. A.; INOUE-NAGATA, A. K. & FONTES, E. P. B. 2013. *Soybean chlorotic spot virus*, a novel begomovirus infecting soybean in Brazil. *Archives of Virology* 158:457–462.

COHEN, J.; GERA, A.; ECKER, R.; BEN-JOSEPH, R.; PERLSMAN, M.; GOKKES, M.; LACHMAN, O. & ANTIGNUS, Y. 1995. *Lisianthus leaf curl* - a new disease of *lisianthus* caused by *Tomato yellow leaf curl virus*. *Plant Disease* 79: 416-420.

COLARICCIO, A.; EIRAS, M.; CHAVES, A.L.R.; LOURENÇÃO, A.L.; MELO, A.M.T. & SIQUEIRA, W.J. 2000. Detecção do '*Chrysanthemum stem necrosis virus*' em tomateiro no Estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica* 25: 252–254.

COLARICCIO, A.; EIRAS, M.; CHAVES, A.L.R.; ROGGERO, P. & CHAGAS, C.M. 2001. Diversidade de tospovírus em diferentes regiões produtoras de olerícolas do Estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica* 27: 177–182.

COLSON, P.; FANCELLO, L.; GIMENEZ, G.; ARMOUGOM, F.; DESNUES, C.; FOUMOUS, G.; YOOSUF, N.; MILLION, M.; LA SCOLA, B. & RAOULT, D. 2013. Evidence of the megavirome in humans. *Journal of Clinical Virology* 57: 191–200.

COMPANHIA ENERGÉTICA DE MINAS GERAIS. Manual de arborização. 2011. Belo Horizonte: Cemig / Fundação Biodiversitas. P.112.

CONSERVAÇÃO INTERNACIONAL (CI). Hotspot Revisitados. 2005. <http://www.conservation.org.br/publicacoes/files/.pdf>. Consultado em: 12/01/2014.

Consumo Sustentável: Manual de educação. 2005. Consumers International/ MMA/ MEC/ IDEC. Brasília.

COOPER, J. I. & ATKINSON, M. A. 1975. *Cherry leaf roll virus*, a cause of chlorotic symptoms in *Betula* spp. in the United Kingdom. *Forestry* 48: 193–203.

COOPER, J. I. & JONES, A. T. 1983. Responses of plants to viruses: proposal for the use of terms. *Phytopathology* 73: 127-128.

COOPER, J. I. & MASSALSKI, P. R. 1984. Viruses and virus-like diseases affecting *Betula* spp. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh Section B: Biological Sciences* 85: 183–195.

COOPER, J. I. & SWEET, J. B. 1976. The detection of viruses with nematode vectors in six woody hosts. *Forestry* 49: 73–78.

- COOPER, J. I. 1975. *Arabis mosaic virus*, a cause of chlorotic symptoms in leaves of *Fraxinus excelsior* L. *Plant Pathology* 24: 114–116.
- COOPER, J. I. 1979. *Virus Diseases of Trees and Shrubs*. Institute of Terrestrial Ecology. Cambridge. 74pp.
- COOPER, J.I. 1980. The prevalence of *Cherry leafroll virus* in *Juglans regia* in the United Kingdom. *Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 15: 139–145.
- COPEL. Guia de arborização para os municípios. http://www.copel.com/manual_arborizacao/.htm. Consultado em: 18/01/2014.
- CORREA, A. D.; SIQUEIRA-BATISTA, R. & QUINTAS, L.E.M. 2001. *Plantas Mediciniais*. Vozes. Rio de Janeiro. P. 20-25.
- COSAVE. 1997. Lista de pragas quarentenárias para a região do COSAVE. Brasília, DF.
- COSTA, A.S. 1976. Whitefly-transmitted plant diseases. *Annual Review of Phytopathology* 14: 429–449.
- COSTA, A.S.; CARVALHO, A.M.B. & KITAJIMA, E.W. 1960. Risca do tomateiro em São Paulo, causada por estirpe do vírus Y. *Bragantia* 19: 1111–1128.
- COSTA, C.L. 1998. Vetores de vírus de plantas. - 1. Insetos. *Rev. Anu. Patol. Plant.* 6:103-171.
- COSTA, D.M.; CASTRO, L.A.S. & PETERS, J.A. 1989. Batata: a busca de maior produtividade. *Horticultura Brasileira* 1: 40–42.
- COSTA, H.S.; BROWN, J.K. & BYRNE, D.N. 1991. Host plant selection by the whitefly, *Bemisia tabaci* (*Gennadius*), (Hom., Aleyrodidae) under greenhouse conditions. *Journal of Applied Entomology* 112: 146–152.
- CRUZ, A.V.M. & KAPLAN, M.A.C. 2004. Uso medicinal de espécies das famílias Myrtaceae e Melastomataceae no Brasil. *Floresta e Ambiente* 11: 47–52.
- CUADRADO-GÓMEZ, I. M. 1994. Las virosis de las hortalizas en los cultivos de invernadero de Almeria. .5.
- CUPERTINO, F.P.; COSTA, C.L & SILVA, A.M.R. 1993. Transmissão de três estirpes do vírus Y da batata por *Myzus nicotianae*. *Fitopatologia Brasileira* 18:102–106.
- CUPERTINO, F.P.; COSTA, C.L.; MELO, A.B.P.; SUDO, S & SILVA, A.M.R. 1992. Transmissão de estirpes de PVY vindas de batata, pimentão ou tomate por meio de *Myzus persicae*. *Fitopatologia Brasileira* 17: 187.
- DALE, W. T. 1954. Sap- transmissible mosaic diseases of solanaceous crops in Trinidad. *Annals Applied Biology* 41: 240-247.

DANIELS, J. 1999. Quando o vírus está na semente. *Revista Cultivar Hortaliças e Frutas* 1: 34–35.

DE AVILA, A. C.; DE HAAN, P.; KORMELINK, R.; RESENDE, R. de O.; GOLDBACH R.W. & PETERS D. 1993. Classification of tospoviruses based on phylogeny of nucleoprotein gene sequences. *Journal of General Virology* 74: 153-159.

DE BARRO, P.J.; LIU, S.S.; BOYKIN, L.M. & DINSDALE, A.B. 2011. *Bemisia tabaci*: A statement of species status. *Annual Review of Entomology* 56: 1–19.

DE HAAN, P.; GIELEN J.J.L.; PRINS, M.; WIJKAMP, L.G.; VAN SCHEPEN, A.; PETERS, D.; VAN GRINSVEN, M.Q.M & GOLDBACH, R. 1992 Characterization of RNA-mediated resistance to tomato spotted wilt virus in transgenic tobacco plants. *Nature Biotechnology* 10: 1133-1137.

DE HAAN, P.; KORMELINK, R.; RESENDE, R.O.; VAN POELWIJK, F.; PETERS, D. & GOLDBACH, R. 1991. Tomato spotted wilt virus L RNA encodes a putative RNA-polymerase. *Journal of General Virology*. 72: 2207-2216.

DE HAAN, P.; WAGEMAKERS, L.; PETERS, D. & GOLDBACH, R. 1990. The S RNA segment of Tomato spotted wilt virus has an ambisense character. *Journal of General Virology* 71:1001-1007.

DELLA LUCIA, T. M. C. (Ed). 1996. As formigas cortadeiras. Folha de Viçosa. Viçosa. 262 pp.

DELWART, E. 2013. A roadmap to the human virome. *Plos Pathogens*. 9: e1003146.

DIANESE, É. C., RESENDE, R. O. & INOUE-NAGATA, A. K. 2008. Alta incidência de *Pepper yellow mosaic virus* em tomateiro em região produtora no Distrito Federal. *Tropical Plant Pathology* 33:67-68.

DIANESE, E.C. 2008. Estratégias para o desenvolvimento de resistência ampla e durável em *Solanum* (Secção *lycopersicon*) a *Potyvirus* e *Tospovirus*. Tese de doutorado. Departamento de Fitopatologia. Universidade de Brasília, Brasília.

DIANESE, J.C.; DRISTIG, M.C.G.; CRUZC, A.P. 1990. Susceptibility to wilt associated with *Pseudomonas solanacearum* among six species of Eucalyptus growing in equatorial Brazil. *Australasian Plant Pathology* 19: 71–76,

DINSDALE, A.; COOK, L.; RIGINOS, C.; BUCKLEY, Y.M.; DE BARRO, P. 2010. Refined global analysis of *Bemisia tabaci*(Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) Mitochondrial cytochrome oxidase 1 to identify species level genetic boundaries. *Annals of the Entomological Society of America* 103: 196-208.

DIRETORIA DE PESQUISAS, DEPARTAMENTO DE AGROPECUÁRIA, PESQUISA PRODUÇÃO VEGETAL E DA SILVICULTURA. <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Consultado em: 20/12/2013.

- DOLJA, V. V.; HALDEMAN, R.; ROBERTSON, N. L.; DOUGHERTY, W. G. & CARRINGTON, J. C. 1994. Distinct functions of capsid protein in assembly and movement of tobacco etch potyvirus in plants. *The EMBO Journal*, Oxford 15: 1482–1491
- DOMBROVSKY, A.; SAPKOTA, R.; LACHMAN, O. & ANTIGNUS, Y. 2012. Eggplant mild leaf mottle virus (EMLMV), a new putative member of the genus *Ipomovirus* that harbors an HC-Pro gene. *Virus Genes*, Boston 44: 329–337.
- DOMBROVSKY, A.; SAPKOTA, R.; LACHMAN, O.; PEARLSMAN, M. & ANTIGNUS, Y. 2011. 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.
- DORIGONI, P.A. 2001. Levantamento de dados sobre plantas medicinais de uso popular no Município de São João Polésine, RS, Brasil. I-relação entre enfermidades e espécies utilizadas. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais* 4: 69–79.
- DOUGHERTY, W. G.; CARRINGTON, J. C.; CARY, S. M. & PARKS, T. D. 1988. Biochemical and mutational analysis of a plant-virus polyprotein cleavage site. *The EMBO Journal*, Oxford, v. 7: 1281–1287.
- DOUGHERTY, W.G. & HIEBERTY, E. 1980. Translation of potyvirus RNA in a rabbit reticulocyte lysate: identification of nuclear inclusion proteins as products of tobacco etch virus RNA translation cylindrical inclusion protein as a product of the potyvirus genome. *Virology* 104: 174–182.
- DUARTE, K.M.R. 1995. Produção de anticorpos monoclonais contra o vírus do mosaico do tomateiro (ToMV). 84 p (Dissertação Mestrado). Universidade de Brasília, Brasília.
- DUIJSINGS, D.; KORMELINK, R.. & GOLDBACH, R. 2001. In vivo analysis of the TSWV cap-snatching mechanism: inle base complementarity and primer length requirements. *EMBO Journal* 20: 1-8.
- EASTWELL K.C.; MEKURIA T.A. & DRUFFEL K.L. 2012. Complete nucleotide sequences and genome organization of a cherry isolate of *Cherry leaf roll virus*. *Archives of Virology* 157: 761–764.
- EIRAS, M.; COLARICCIO, A.; CHAVES, A.L.R.; MOREIRA, S.R. & ARAUJO, J. 2003. *Pepper mild mottle Tobamovirus*: Caracterização biológica, molecular e identificação sorológica em sementes de pimenta. *Summa Phytopathologica* 29: 60–61.
- EITEN, G. 1993. Vegetação do Cerrado. In: PINTO, M. N. (ORGS) (Ed.). *Cerrado: caracterização, ocupação e perspectivas*. 2º. ed. Editora da Universidade de Brasília - EdUnB/ Secretaria do Meio Ambiente, Ciência e Tecnologia – SEMATEC - Brasília. p. 17-74.
- ERKAN, S.; DELEN, N. 1985. Seed treatments to eliminate seed-borne tobacco mosaic virus in pepper seeds. *Capsicum and Eggplant Newsletter*, Turim, v. 4, n. 2, p. 50.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. FRA 2000: termos e definições. Roma: Departamento de Florestas Organização das Nações Unidas

para a Agricultura e a Alimentação, 1998. www.fao.org/forestry/fo/fra.PDF. Consultado em: 31/12/2013.

FAO. 2010. Forests and Genetically Modified Trees. Rome.

FAO. 2010. Global Forest Resources Assessment 2010 - Main report. FAO Forestry Paper 163. Roma.

FAO. Secretariat of the International Plant Protection Convention. International standards for phytosanitary measures: guidelines for regulating wood packing material in the international trade. Rome, 2002. 14 p. (Publication, n. 15). ICPM 02 / Report. Appendix. <http://www.natlhardwood.org/pdf>. Consultado em: 12/01/2014.

FAOSTAT. FAO. 2006. Statistical Databases <http://faostat.fao.org>. Consultado em: 23/01/2014.

FAOSTAT. FAO. 2011. Statistical Databases <http://faostat.fao.org>. Consultado em: 23/01/2014.

FAOSTAT. FAO. 2012. Statistical Databases <http://faostat.fao.org>. Consultado em: 23/01/2014.

FARIA, J.C. & ZERBINI, F.M. Família *Geminiviridae* - taxonomia, replicação e movimento. Revisão Anual de Patologia de Plantas 8: 25–65.

FARIA, J.C.; BEZERRA, I.C.; ZERBINI, F.M.; RIBEIRO, S.G. & LIMA, M.F. 2000. Situação atual das geminivirose no Brasil. Fitopatologia Brasileira 25: 125–137.

FARIAS P. C. 2012. Avaliação da resposta de espécies florestais do Cerrado a espécies virais dos gêneros Potyvirus e Tosspovirus e estudos de caracterização de vírus em *Mimosa caesalpinifolia*. Monografia de graduação. Universidade de Brasília, Brasília.

FAUQUET C.M. & STANLEY J. 2003. Geminivirus classification and nomenclature: progress and problems. Annals Applied Biology. 142: 165–189.

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

FAUQUET, C.M.; MAYO, M.A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L.A. Eighth FAUQUET, C.M.; MAYO, M.A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L.A. (Ed.) Virus taxonomy. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. 1259p. (Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, 8).

FAZOLIN, M. & SILVA, W.S. 1996. Comportamento de Pragas de Importância Econômica em Culturas Anuais, Componentes de Sistemas Agroflorestais. Boletim de Pesquisa n° 14. Embrapa Agroflorestal do Acre. Rio Branco-AC.

FERGUSON, I.A.C. 1951. Four virus diseases of solanaceous plants in Trinidad. *Plant Disease Reporter* 35: 102-105.

FERNANDES, A.G. 2007. *Fitogeografia brasileira*. Fortaleza: Multigraf, 1998. P. 339
Fitogeografia brasileira: fundamentos fitogeográficos: primeira parte. 3. ed. Fortaleza: Edições UFC, p.183.

FERNANDES, F. R.; ALBUQUERQUE, L. C.; GIORDANO, L. B.; BOITEUX, L. S.; de AVILA, A. C. & INOUE-NAGATA, A. K. 2008. Diversity and prevalence of Brazilian bipartite begomovirus species associated to tomatoes. *Virus Genes* 36: 251–258.

FERNANDES, F. R.; CRUZ, A. R.; FARIA, J. C.; ZERBINI, F. M. & ARAGÃO, F. J. 2009. Three distinct begomoviruses associated with soybean in central Brazil. *Archives of Virology* 154: 1567–1570.

FERNANDES, F.R.; ALBUQUERQUE, L.C. de; GIORDANO, L. de B.; BOITEUX, L.S.; FERNANDES, J. J.; CARVALHO, M. G.; BROMMONSCHENKEL, S. H.; FONTES, E. P. B. & ZERBINI, F. M. 2006. Biological and molecular properties of *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV), a new tomato-infecting begomovirus from Brazil. *Plant Pathology* 55: 513–522.

FERNANDES-ACIOLI, N.A.N.; PEREIRA-CARVALHO, R.C.; FONTENELE, R.S.; LACORTE, C.; RIBEIRO, S.G.; FONSECA, M.E.N. & BOITEUX, L.S. 2011. First Report of *Sida micrantha mosaic virus* in *Phaseolus vulgaris* in Brazil. *Plant Disease* 95: 1196.

FERREIRA C.A. & GALVÃO, A.P. 2000. Importância da atividade florestal no Brasil. In: Galvão, A.P.M. *Reflorestamento de propriedades rurais para fins produtivos e ambientais: um guia para ações municipais e regionais*. Brasília. Embrapa Floresta, p.15-18.

FERREIRA, F.A. 1989. *Patologia florestal: principais doenças florestais no Brasil*. SIF. Viçosa. P.570.

FERRIS, M. A.; CASTELLO, J. D. & SINCLAIR, W. A. 1987. Symptom development on white ash and green ash seedlings inoculated with viruses and a mycoplasma-like organism. *Phytopathology* 77: 116 (Abstr.).

FERRIS, M. A.; CASTELLO, J. D. & SINCLAIR, W. A. 1989. Effects of virus and MLO infection on green and white ash. *Phytopathology* 79: 579–583.

FERRREIRA C.S.; TORRES, L.C.; CARVALHO C.F. & SOUZA, B. 2008. Ocorrência de *Bemisia tabaci* biótipo b em *Eucalyptus camaldulensis*. comunicação científica. *Arquivos do Instituto de Biologia, São Paulo*, v.75, n.4, p.527-528, out./dez.

FILGUEIRA, F.A.R. 2000. *Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. UFV - Viçosa. 402 pp.

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

FIRMINO, A.C. 2007. Estudo da interação do *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV) e seu vetor *Bemisia tabaci* biótipo B e identificação de hospedeiras alternativas do vírus. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília, Brasília.

FIRTH, C. & LIPKIN, W. I. 2013. The genomics of emerging pathogens. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 14: 281–300.

FLEGG, C.L. & CLARK M.F. 1979. The detection of *Apple chlorotic leaf spot virus* by a modified procedure of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Annals of Applied Biology* 91: 61–65.

FOELKEL, C. 2009. Plantações de eucalipto e árvores geneticamente modificadas. http://www.eucalyptus.com.br/newspt_2009. Consultado em: 30/01/2014.

FONTENELE, R. S.; BLAWID, R.; LACORTE, C. C.; PEREIRA-CARVALHO, R. C.; RESENDE, R. O., BOITEUX, L. S., FONSECA, M. E. N. & RIBEIRO, S. G. 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).

FORD, R. E.; MOLINE, H. E.; MCDANIEL, G. L.; MAYHEW, D. E. & EPSTEIN, A. H. 1972. Discovery and characterization of *Elm mosaic virus* in Iowa. *Phytopathology* 62: 987–992.

FRANCKI, R.I.B.; MILNE, R.G. & HATTA, T. 1985. Potyvirus group. *Atlas of Plant Viruses*. Boca Raton: CRC Press, 2: 183–217.

FRASER, R.S.S. 1990. The genetics of resistance to plant viruses. *Annual Review of Phytopathology* 28: 179–200.

FREITAS, S. de; BIANCHI, C.G.; GRAZIANO, T.T. 1992. Ocorrência de *Cratossomus curassaviensis* (Coleoptera-Curculionidae) em canelinhas (*Nectandra saligna* Ness, Lauraceae) na cidade de Jaboticabal, SP. 1992. In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE ARBORIZAÇÃO URBANA, 1, ENCONTRO NACIONAL SOBRE ARBORIZAÇÃO URBANA, Vitória. Anais.Vitória: PMV/SMMA, p.457.

FRENZEL, B. 1987. Studies on the hormone balance of coniferous trees in the North Black Forest being healthy, diseased by air pollution or effected by sulphur. Interim report, 3rd status colloquium, KfK-PEF 12, March 1987. <http://agris.fao.org/agris-seca>. Consultado em: 03/02/2014.

FRISCHMUTH, S.; WEGE, C.; HÜLSER, D. & JESKE, H. 2007. The movement protein BC1 promotes redirection of the nuclear shuttle protein BV1 of Abutilon mosaic geminivirus to the plasma membrane in fission yeast. *Protoplasma* 230: 117–123.

FULTON, J. P. & FULTON, R. W. 1970. A comparison of some properties of elm mosaic and tomato ringspot viruses. *Phytopathology* 60:114–115.

- FULTON, J.P. 1969. Transmission of *Tobacco ringspot virus* to the roots of a conifer by a nematode. *Phytopathology* 59: 236.
- FULTON, R.W. 1970. *Prunus necrotic ringspot virus*. CMI/AAB. Descriptions of Plant Viruses. N° 5.
- GAFNI, Y. & EPEL, B. L. 2002. The role of host and viral proteins in intra-and inter-cellular trafficking of geminiviruses. *Physiological and molecular plant pathology* 60: 231–241.
- GALLETI, S.R. & REZENDE, J.A.M. 2005. Doenças da Figueira. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. & CAMARGO, L.E.A. (Eds.) Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas. 4° ed. Editora Agronômica Ceres - São Paulo. p.351–354.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRMIN, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.C. & OMOTO, C. 2002. Entomologia Agrícola. FEALQ. Piracicaba. 920 pp.
- 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. 2003. A naturally occurring recombinant DNA-A of a typical bipartite begomovirus does not require the cognate DNA-B to infect *Nicotiana benthamiana* systemically. *Journal General Virology* 84: 715–726.
- GENDA Y.; SATO K.; NUNOMURA O.; HIRABAYASHI T.; OHNISHI J. & TSUDA S. 2005. Immunolocalization of *Pepper mild mottle virus* in *Capsicum annuum* seeds. *Journal Genetics Plant Pathology*. 71: 238-242.
- GERMAN, T.L.; ULLMAN, D.E. & MOYER, J.W. 1992. Tospoviruses: diagnosis, molecular biology, phylogeny, and vector relationships. *Annual Review of Phytopathology* 30: 315–348.
- GHANIM, M.; BRUMIN, M. & POPOVSKI, S. 2009. A simple, rapid and inexpensive method for localization of *Tomato yellow leaf curl virus* and *Potato leafroll virus* in plant and insect vectors. *Journal of Virological Methods*. 159: 311–314.
- GHANIM, M.; MORIN, S.; ZEIDAN, M. & CZOSNEK, H. 1998. Evidence for transovarial transmission of *Tomato yellow leaf curl virus* by its vector, the whitefly *Bemisia tabaci*. *Virology* 240: 295–303.
- GHEDIN, E. & CLAVERIE, J.M. 2005. *Mimivirus* relatives in the Sargasso sea. *Virology Journal* 2: 62.
- GILARDÓN, E.; POCOVI M.; HERNÁNDEZ C. & OLSEN A. 2001. Papel dos tricomas glandulares da folha do tomateiro na oviposição de *Tuta absoluta*. *Pesquisa. Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.36, n.3, p.585-588.

GIORDANO, L.B.; SILVA-LOBO, V.L.; SANTANA, F.M.; FONSECA, M.E.N.; BOITEUX, L.S. 2005. Inheritance of resistance to bipartite *Tomato chlorotic mottle Begomovirus* derived from *Lycopersicon esculentum* cv 'Tyking'. *Euphytica* 143: 27-33.

GISP - Programa Global de Espécies Invasoras. 2005. América do Sul invadida. A crescente ameaça das espécies exóticas invasoras. 80 pp.

GISP - Programa Global de Espécies Invasoras. 2008. Assessing the risk of invasive alien species promoted for biofuels. Boletim preparado para a Conferência das Partes da COP - 9 (Convenção Internacional da Diversidade Biológica). Bonn, Alemanha.

GONÇALVES, E.O.; PAIVA, H.N.; GONÇALVES, W.; & JACOVINE, L.A.G. 2004. Avaliação qualitativa de mudas destinadas à arborização urbana no estado de Minas Gerais. *Revista Árvore* 28: 479–486.

GOSTCH, E. 1994. Break-throught in agriculture. Disponível em: <http://www.agrofloresta.net/bibliotecaonline>. Consultado em: 22/02/2014.

GOTLIEB, A. R. & BERBEE, J. G. 1973. Line pattern of birch caused by *Apple mosaic virus*. *Phytopathology* 63: 470–477.

GOTLIEB, A. R. 1975. *Apple mosaic virus* infecting yellow birch in Vermont. *Proceedings of the American Phytopathological Society* 2:97 (Abstr.).

GOTLIEB, A.R. 1974. Isolation, characterization and transmission of *Apple mosaic virus* in white birch and isolation and characterization of a latent virus in yellow birch. PhD thesis. University Wisconsin, Madison. USA.

GOTTLIEB, Y.; GHANIM, M.; CHIEL, E.; GERLING, D.; PORTNOY, V.; STEINBERG, S.; TZURI, G.; HOROWITZ, A.R.; BELAUSOV, E.; MOZES-DAUBE, N.; KONTSEDALOV, S.; GERSHON, M.; GAL, S.; KATZIR, N. & ZCHORI-FEIN, E. 2006. Identification and localization of a *Rickettsia* sp. in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Applied and Environmental Microbiology* 72: 3646-3652.

GOTTLIEB, Y.; ZCHORI-FEIN, E.; MOZES-DAUBE, N.; KONTSEDALOV, S.; SKALJAC, M.; BRUMIN, M.; SOBOL, I.; CZOSNEK, H.; VAVRE, F.; FLEURY, F. & GHANIM, M. 2010. 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* 84: 9310–9317.

GOULART, A.M.C. 2007. Diversidade de nematóides em agroecossistemas e ecossistemas naturais. Documentos /Embrapa Cerrados. p. 191.

GRAY, B. 1972. Economic tropical forest entomology. *Annual Review of Entomology* 17: 313–354.

- GRAZIANO, T.T., CASTIGLIONI, F.M., VASQUES, L.H. 1987. Caracterização e análise da arborização das ruas do município de Jaboticabal, SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 6, Campinas. Anais. Campinas:SBFPO.
- GREEN, S.K; TSAI, W.S.; SHIH, S.L.; REZAIAN, M.A.; 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.
- GRUNTZIG, M.; FUCHS, E.; KRATKOVA, J.; KEGLER, H.; KLEINHEMPEL, H. & RICHER, J. 1989. On the causal agent of detrimental canker of sweet and mazzard cherry in the GDR. *Archiv fur Phytopathologie und Pflanzenschutz* 25: 203–207.
- GUENTHER, E. 1976. *The Essential Oils*. Krieger Publishing Company, Maiahar, Florida, v. 4, p. 526-448.
- GUGERLI, P.; VOSS, A. & BENZ, G. 1986. Electron microscopic demonstration of the presence of virus-like particles in extracts from Norway spruce needles. *Schweizerische Zeitschrift fur Forstwesen* 137: 237–244.
- GUIA de arborização. 1988. 3.ed. São Paulo:CENTRAIS ELÉTRICAS DE SÃO PAULO - CESP,33p. (Coleção Ecosystemas Terrestres, 006).
- GURIB-FAKIM, A. 2006. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine* 27:1–93.
- GUTIERREZ, C. 1999. Geminivirus DNA replication. *Cellular and molecular life sciences*, Basel, v. 56, n. 3-4, p. 313-329, out.
- HAMACHER, J. 1986. Viruskontamination von ForstgehOlzen unter besonderer Beriicksichtigung der Birke.Mitt. Bioi. Bundesanst. Land.
- HAMACHER, J.; KREUTZ, G. & JACOB, S. 1987. Histological investigations on birch infected by cherry leaf roll virus. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent* 52: 1049–1057.
- HANLEY-BOWDOIN, L.; SETTLAGE, S. B.; OROZCO, B. M.; NAGAR, S.; ROBERTSON, D. 1999. 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.
- HANSEN, I. M.; LAPIDOT, M. & THOMMA, B. P. 2010. Emerging viral diseases of tomato crops. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 23: 539–548.
- HARDCASTLE, T. & GOTLIEB, A. R. 1980. An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of apple mosaic virus in yellow birch. *Canadian Journal of Forest Research* 10: 278–283.
- HARRIS, A. 2002. *Nepoviruses and Their Diagnosis in Plants - a Novel Polymerase Chain Reaction Diagnostic Test for Nepoviruses in Nursery Stock Consultancy Report*. Department of

HARRISON, B. D., SWANSON, M. M. & FARGETTE, D. 2002. Begomovirus coat protein: serology, variation and functions. *Physiology Molecular Plant Pathology*. 60:257–271.

HARRISON, B.D. 1964. Infection of gymnosperms with nematode transmitted viruses of flowering plants. *Virology* 24: 228–229.

HARRISON, B.D. 1985. Advances in geminivirus research. *Annual Review of Phytopathology* 23: 55–82.

HEYDARNEJAD, J.; KEYVANI, N.; RAZAVINEJAD, S.; MASSUMI, H. & VARSANI, A. 2013. 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.

HIBBEN, C. R.; BOZARTH, R.F. & REESE, J. 1979. Identification of *Tobacco necrosis virus* in deteriorating clones of aspen. *Forest Science* 25: 557–567.

HIBBEN, C. R.; REESE, J. & CASTELLO, J. D. 1988. Identification of *Tomato ringspot virus* in ash in New York. *Plant Disease*. 72:175.

HIBBEN, C.R. 1966. Transmission of a ringspot-like virus from the leaves of white ash. *Phytopathology* 56: 323–325.

HIBBEN. C. R. & HAGAR. S. S. 1975. Pathogenicity of an ash isolate of *Tobacco ringspot virus*. *Plant Disease Reporter* 59: 57–60.

HIBBEN. C. R. & REESE. J. 1983. Identification of *Tomato ringspot virus* and mycoplasma-like organisms in stump sprouts of ash. *Phytopathology* 73: 367 (Abstr.).

HÖFER, P.; BEDFORD, I. D.; MARKHAM, P. G.; JESKE, H. & FRISCHMUTH, T. 1997. 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.

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

HORTIBRASIL. 2007. Instituto Brasileiro de Qualidade em Horticultura. Programa brasileiro para a modernização da horticultura. On line. Disponível em <http://www.hortibrasil.org.br>.

HORVATH, J.; EKE, I.; GAL, T. & DEZSERY, M. 1975. Demonstration of virus-like particles in sweet chestnut and oak with leaf deformations in Hungary. *Z.PfiKrankh PfiSchutz* 82: 498–502.

HOUGHENOUT, S.A.; AMMAR, E.D.; WHITFIELD, A.E. & REDINBAUGH, M.G. 2008. Insect vector interactions with persistently transmitted plant viruses. *Annual Review of Phytopathology* 46: 327-359.

HSU, H. T.; BARZUNA, L.; HSU, Y. H. & PERRY, K. L. 2000. Identification and sub-grouping of cucumber mosaic Cucumovirus with mouse monoclonal antibodies. *Phytopathology* 90:615-620.

HULL, R. 2002. *Plant Virology*. Great Britain: Academic Press. P.1001.

IBAMA. 2013. *Ecosistemas Brasileiros*. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/ecossistemas/cerrado.htm> . Acesso em fevereiro de 2014.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de recuperação automática – SIDRA. Produção da extração vegetal e da silvicultura. <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Consultado em: 20 de dezembro de 2013.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2006. Anuário estatístico brasileiro. Rio de Janeiro.

ICTV online. 2013. Disponível em http://www.ictvonline.org/Official_ICTV_Proposals.htm. 451 Acessado em 10 de dezembro de 2013.

IDRIS, A.M. & BROWN, J.K. 1998. *Sinaloa tomato leaf curl* geminivirus: biological and molecular evidence for a new subgroup III virus. *Phytopathology* 88: 648–657.

IEDE, E. T. 2005. Importância das Pragas Quarentenárias Florestais no Comércio Internacional Estratégias e Alternativas para o Brasil. Circular Técnica. p. 10-12.

IPEF. INSTITUTO DE PESQUISAS E ESTUDOS FLORESTAIS. 2006. Ciência e tecnologia no setor florestal brasileiro: diagnóstico, prioridades e modelo de financiamento. <http://www.ipef.br>. Consultado em: 16 de setembro de 2013.

IUCN. 2000. IUCN Guidelines for the prevention of biodiversity loss caused by alien invasive species. 51st Meeting of Council.

IUFRO. 2013. The World's Network of Forest Science. <http://www.iufro.org/>. Acesso em: 20 de dezembro de 2013.

JACQUEMOND M. 2012. Cucumber mosaic virus. *Advances in Virus Research* 84: 439–504.
JAMALAINEN, E.A. 1957. On plant virus diseases and viruslike diseases in Finland. Publications of the Finnish State Agricultural Research Board N^o. 158. Agricultural Research Centre, Tikkurila, Finland. 12pp.

JAN F.J. & YEH S.D. 1995. Purification, *in situ* localization, and comparative serological properties of passionfruit woodiness virus-encoded amorphous inclusion protein and two other virus proteins. *Phytopathology* 85: 64–71.

JANZAC, B. FABRE, M-F, PALLOIX, A. & MOURY, B. 2008. Mechanism and spectrum of action of the *Pvr4* resistance in pepper against potyviruses and selection of virulents variants. *Plant Pathology* 58: 443–449.

- JOLY, B. A. 1998. Botânica: introdução à taxonomia vegetal. Companhia Editora Nacional, p. 586- 590.
- JOLY, C. A.; HADDAD, C.F. B.; VERDADE, L. M.; OLIVEIRA, M. C. de; BOLZANI, V. da S. & BERLINCK, R. G. S. 2011. Diagnóstico da pesquisa em biodiversidade no Brasil. Revista USP 89: 114–133.
- JONES, A. T. 1973. A comparison of some properties of four strains of *Cherry leaf roll virus*. Annals Applied BioIogy 74: 11–17.
- JONES, A.T. & MAYO M.A. 1973. Purification and properties of elm mottle virus. Annals Applied BioIogy 75: 347–357.
- JONES, D.R. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies: mini review. European Journal of Plant Pathology 109: 195–219.
- JONES. A.T. 1974. *Elm mottle virus*. Commonwealth Mycol. Inst. Assoc. Appl. Bioi. Descriptions Plant Viruses 1: 4.
- KALLINEN, A.K.; LINDBERG, I.L.;TUGUME, A.K. & VALKONEN, J.P. 2009. Detection, distribution, and genetic variability of European mountain ash ringspot-associated virus. Phytopathology 99: 344–352.
- KASSCHAU, K. D. & CARRINGTON, J. C. 1998. A counter defensive strategy of plant viruses: Suppression of posttranscriptional gene silencing. Cell, Cambridge, v. 95, n. 4, p. 461-470, nov.
- KEGLER, H. 1996. Das Ringfleckmosaik der Eberesche. (*Sorbus aucuparia* L.). Phytopathology Z 37: 214–216 (in German).
- KENKNIGHT. G. 1960. *Prunus injacunda* Small and *Acer rubrum* L., natural hosts of peach rosette virus. Plant Disease Reporter 44: 220.
- KHAN, A.J.; DJKSTRA. 2002. Plant viruses as molecular pathogens. New York: Haworth Press. p.105-126.
- KIKKERT, M.; VAN LENT, J.; STORMS, M.; BODEGOM, P.; KOMERLINK, R. & GOLDBACH, R. 1999. Tomato spotted wilt virus particle morphogenesis in plant cells. Journal Virology 73: 2288-2297.
- KIM, K. S. & MARTIN, E. M. 1978. Viruslike particles associated with yellow ringspot of red bud. Phytopathology News 12: 199 (Abstr.).
- KIM. K. S. & FULTON, J. P. 1973. Association of viruslike particles with a ringspot disease of oak. Plant Disease Reporter 57:1029–1031.

- KING, A.M.; LEFKWITZ, E.; ADAMS, M. & CARSTENS, E.B. 2011. Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier. San Diego. 1338 pp.
- KING, A.M.Q.; ADAMS, M.J.; CARSTENS, E.B. & LEFKOWITZ, E.J. 2012. Virus Taxonomy, Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Ed International Union of Microbiological Societies Vd. Elsevier Academic Press, London, UK, 1327 pp.
- KITAJIMA, E.W. & SANTOS, A.A. 1993. Yellow blotch of soursop caused by a rhabdovirus. *Plant Disease* 77: 276–278.
- KITAJIMA, E.W.; CHAGAS, C.M. & RODRIGUES, J.C.V. 2003. *Brevipalpus*-transmitted plant vírus and virus-like diseases: cytopathology and some recent cases. *Experimental and Applied Acarology* 30: 135–160.
- KLINK, C.A. & MACHADO, R.B. 2004. Conservation of Brazilian Cerrado. *Conservation Biology*. 2005.19:707-713.
- KNAPP G.M.; DANYLUK D.A. & LEWANDOWSKI D.J. 2005. A bipartite Tobacco mosaic virus–defective RNA (dRNA) system to study the role of the N-terminal methyltransferase domain in cell-to-cell movement of dRNAs. *Virology*. 341: 47–58.
- KNUHTSEN, H.; HIEBERT, E. & PURCIFULL, D.E. 1974. Partial purification and some properties of tobacco etch virus induced intranuclear inclusions. *Virology*, New York, v.61, n. 1, p. 200- 209, set. 1974.
- KOBORI, R.F.; WIERZBICKI, R.; DELLA VECCHIA, P.T.; PAVAN, M.A. & REZENDE, J.A.M. 2001. Ocorrência do *Pepper mild mottle virus* (PMMoV) em pimentão (*Capsicum annuum*) cultivado sob estufas no Estado de São Paulo. *Fitopatologia Brasileira* 26: 516. (Resumo).
- KOKALIS-BURELLE, N.; PORTER, D.M.; RODRIGUEZ-KABANA, R.; SMITH, D.H. & SUBRAHMANYAM, P. 1997. Compendium of peanut diseases. APS Press. St Paul. 94pp.
- KORMELINK, R.; DE HAAN, P.; MEURS, C.; PETERS, D. & GOLDBACH, R. 1992. The nucleotide sequence of the M RNA segment of tomato spotted wilt vírus, a bunyavirus with two ambisense RNA segments. *Journal of General Virology* 73: 2795-2804.
- KOVACHEVSKY, J. C. 1968. Das Bohnengelbmosaik- Virus in Bulgarien. *Phytopathol. Z.* 6: 41–48.
- KRUGNER, T.L. & AUER, C.G. 2005. Doenças dos pinheiros. *In: Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas*.
- KRÜGNER, T.L. 1977. Controle de doenças fúngicas em viveiros de *Eucalyptus* e *Pinus*. Circular técnica, IPEF, Piracicaba 26: 1–5.
- LABONTE, J. M. & SUTTLE, C. A. 2013. Previously unknown and highly divergent ssDNA viruses populate the oceans. *The ISME journal* 7: 2169–2177.

- LADIPO, J.I.; LESEMAN, D.E. & KOENIG, R. 1988. Host ranges, serology and Cytopathology of eggplant and tomato strains of *Eggplant severemottled virus*, a new potyvirus from Nigeria. *Journal of Phytopathology* 122: 359–371.
- LANA, A. O. & AGRIOS, G. N. 1974. Properties of a strain of *Tobacco mosaic virus* isolated from white ash trees. *Phytopathology* 64:1490–1495.
- LANA, A. F.; THOMAS, O. T. & PETERSON, J. F. 1980. A virus isolated from sugar maple. *Journal of Phytopathology* 97: 214–218.
- LARTEY, R.T.; VOSS, T.C. & MELCHER, U. 1996. Tobamovirus evolution: genes overlaps, recombination and taxonomic implications. *Molecular Biological Evolution* 13: 1327–1338.
- LASS, R.A. 1985. Diseases. In: WOOD, G.A.R. & LASS, R.A. (eds.) *Cocoa*. 4th Edition. Longman Science & Technical. London. UK. p. 265–365.
- LAZAROWITZ S.G. 1992. Geminiviruses: Genome structure and gene function. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 11: 327-349.
- LEGNANI, R.; SELASSIE, R.G.; WOMDIM, R.N.; GOGNALONS, P.; MOTTI, A.; LATERROT, H. & MARCHOUX, G. 1995. Evaluation and inheritance of the *Lycopersicon hirsutum* resistance against potato virus Y. *Euphytica* 86: 219–226.
- LEWANDOWSKI D.J. 1999. Genus Tobamovirus. In: Van Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, Carstens EB, Estes MK, Lemon SM, Maniloff J, Mayo MA, McGeoch D, Pringle CR, Wickner RB (eds) *Virus taxonomy: Seventh report of the International Committee for the Taxonomy of Viruses*. Academic Press, San Diego, pp: 889–894.
- LIMA, A.C.S.; LARA, F.M. 2004. Resistance of soybean genotypes to the silverleaf whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae). *Neotropical Entomology*, Londrina, v.33, n.1, p. 1-75, jan./feb.
- LIMA, G. D. A.; LAU, D.; PICOLI, E. A. T.; ASSUNÇÃO, I. P.; BROMMONSCHENKEL, S. H.; OTONI, W. C. 2002. Reação de genótipos de berinjela a quatro espécies de tospovírus. *Summa Phytopathologica*, Jaguariuna, v. 28, n. 3, p. 242-247, jul/set.
- LIMBERGER, R.P.; APEL, M.A.; SOBRAL, M.; SCHAPOVAL. E.S.; HENRIQUES. A.T. 1998. Investigação da atividade antimicrobiana do óleo volátil de espécies da família Myrtaceae. *Revista Brasileira de Farmacologia*. V. 79, p. 49-52.
- LIN M.T.; KITAJIMA E.W.; CUPERTINO F.P. & COSTA C.L. 1979. B Properties of a possible carlavirus isolated from a Cerrado native plant, *Cassia sylvestris*. *Plant Disease Reporter* 63:501-505.
- LIN, M.T.; KITAJIMA, E.W. & COSTA, C.L. 1980. Association of *Cassia mild mosaic virus* with dieback of *Cassia macrantherain* central Brazil. *Plant Disease* 64: 587–589.
- LISTER, R. M.; BANCROFT, J. B. & NADKAVUKAREN, J. 1965. Some sap-transmissible viruses from apple. *Phytopathology* 55: 859–870.

- LORENZI, H. & MATOS, F.J.A. 2008. Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas. 2^a ed. Instituto Plantarum - São Paulo.
- LOURENÇÃO, A.L. & NAGAI, H. 1994. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no Estado de São Paulo. *Bragantia* 53: 53–59.
- LOURENÇÃO, A.L.; MELO, A.M.T.; SIQUEIRA, W.J.; COLARICCIO, A. & MELO, P.C.T. 2004. Avaliação da resistência de acessos de tomateiro a tospovírus e a geminivirus. *Horticultura Brasileira* 22: 192–195.
- LOURENÇÃO, A.L.; NAGAI, H. & ZULLO, M.A.T. 1984. Fontes de resistência a *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick, 1917) em tomateiro. *Bragantia* 43: 569–577.
- LOVATO, F.A.; NAGATA, T.; RESENDE, R.O.; DE ÁVILA, A.C. & INOUE-NAGATA, A.K. 2004. Sequence analysis of the glycoproteins of Tomato chlorotic spot virus and groundnut ringspot virus and comparison with other tospoviruses. *Virus Genes* 29: 321–328.
- LUISONI, E.; BOCCARDO, G. & MILNE, R. G. 1976. Purification and some properties of an Italian isolate of *Poplar mosaic virus*. *Phytopathology* 85: 65–73.
- LUKACS, N. 1994. Detection of virus infection in plants and differentiation between coexisting viruses by monoclonal antibodies to double-stranded RNA. *Journal Virology Methods* 47: 255–272.
- MACDIARMID, R.; RODONI, B.; MELCHER, U.; OCHOA-CORONA, F. & ROOSSINCK, M. 2013. Biosecurity implications of new technology and discovery in plant virus research. *PLoS pathogens* 9: e1003337.
- MACEDO, A. C. 1993. Produção de Mudas em Viveiros Florestais: Espécies Nativas. São Paulo: Fundação Florestal. 18pp.
- MACHADO, J.W.B.; ALENCAR, F.O.C.C. de; RODRIGUES, M.das G.R. 1992. Árvores de Brasília. Brasília: GDF/Secretaria de Obras e Serviços Públicos/Departamento de Parques e Jardins. 90p.
- MACIEL-ZAMBOLIM, E.; COSTA, H.; CAPUCHO, A.S.; ÁVILA, A.C.; INOUE-NAGATA, A.K. & KITAJIMA, E.W. 2004. Surto epidemiológico do vírus do mosaico amarelo do pimentão em tomateiro na região serrana do Espírito Santo. *Fitopatologia Brasileira* 29: 325–327.
- MAHAJAN, S.; DOLJA, V. V. & CARRINGTON, J. C. 1996. 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.
- MAKKOUK, K.M.; KOENIG, R. & LESSEMANN, D.E. 1981. Characterization of a Tombusvirus isolated from eggplant. *Phytopathology* 71: 572–577.

MALMSTROM, C. M.; MELCHER, U. & BOSQUE-PEREZ, N. A. 2011. The expanding field of plant virus ecology: historical foundations, knowledge gaps, and research directions. *Virus Research* 159: 84–94.

Manual Técnico de Arborização Urbana 2ª Edição, 2005 http://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/upload/manual_arborizacao_1253202256.pdf. Consultado em: 23/01/2014.

MARQUES, C. A. 2001. Importância econômica da família Lauraceae Lindl. *Floresta e Ambiente* 8: 195–206.

MARQUESINI, N.R. 1995. Plantas usadas como medicinais pelos índios do Paraná e Santa Catarina, sul do Brasil: Guarani, Kaingang, Xogleng, Ava-Guarani, Kraô e Cayuá. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, Brasil.

MARTELLI, G.P. & HAMADI, A. 1986. Occurrence of *Eggplant mottled dwarfvirus* in Algeria. *Plant Pathology* 35: 595–597.

MARTIN, R. R.; BERBEE, J. G. & OMEUMU, J. O. 1982. Isolation of a potyvirus from declining clones of *Populus*. *Phytopathology* 72: 1158–1162.

MARTO, G.B.T. 2006. Arborização Urbana. <http://www.ipef.br/silvicultura/arborizacao urbana>. Consultado em: 30/01/2014.

MARUBAYASHI, J. M.; YUKI, V.A.; ROCHA, K.C.G.; MITUTI, T.; PELEGRINOTTI, F.M.; FERREIRA, F.Z.; MOURA, M.F.; NAVAS-CASTILLO J.; MORIONES E.; PAVAN M.A. & KRAUSE-SAKATE R. 2012. At least two indigenous species of the *Bemisia tabaci* complex are present in Brazil. *Journal of Applied Entomology*, Berlin, v. 137, n.1-2, p. 113–121.

MASSALSKI, P. R. & COOPER, J. I. 1984. The location of virus-like particles in the male gametophyte of birch, walnut, and cherry naturally infected with *Cherry leafroll virus* and its relevance to vertical transmission of the virus. *Plant Pathology* 33: 255–262.

MCNAMARA, D. G. 1980. The spread of *Arabis mosaic virus* through noncultivated vegetation. *Plant Pathology* 29: 173–176.

MEGAHED, E. S. & MOORE, J. D. 1967. Differential mechanical transmission of *Prunus* viruses from seed of various *Prunus* spp. and from different parts of the same seed. *Phytopathology* 57: 821–822 (Abstr.)

MEGAHED, E. S. & MOORE, J. D. 1969. Inactivation of necrotic rings pot and prune dwarf viruses in seeds of some *Prunus* spp. *Phytopathology* 59: 1758–1760.

MEHTA, P.; WYMAN, J.A.; NAKHLA, M.K. & MAXWELL, D.P. 1994. Transmission of tomato yellow leaf curl geminivirus by *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology* 87: 1291–1297.

MELCHER, U.; MUTHUKUMAR, V.; WILEY, G. B.; MIN, B. E.; PALMER, M. W.; VERCHOT-LUBICZ, J.; ALI, A.; NELSON, R. S.; ROE, B. A.; THAPA, V. & PIERCE, M. L. 2008. Evidence for novel viruses by analysis of nucleic acids in virus-like particle fractions from *Ambrosia psilostachya*. *Journal of Virological Methods* 152: 49–55.

MICHEREFF-FILHO, M. 2013. Análise de risco de pragas quarentenárias. *Valor Rural – fazendeiro*. <http://www.fazendeiro.com.br/Cietec/Artigos/ArtigosTexto.asp>. Consultado em: 31/01/2014.

MIELKE N.; WEBER M.; KHAN S. & MÜHLBACH H.P. 2008. Detection of *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARAV) in *Sorbus aucuparia* L by a specific antiserum and reverse transcription-PCR. *Forest Pathology* 38, 371–380.

MIELKE, N. & MUEHLBACH, H.-P. 2007. A novel, multipartite, negative strand RNA virus is associated with ringspot disease of European mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.). *Journal of General Virology* 88:1337–1346.

MIELKE-EHRET, N., THOMA, J., SCHLATERMUND, N., MUEHLBACH, H-P. 2010. "Detection of European mountain ash ringspot-associated virus-specific RNA and protein P3 in the pear leaf blister mite *Phytoptus pyri* (Eriophyidae)." *Archives of Virology* 155(6): 987-991.

MILANO, M. S. & DALCIN, E. 2000. *Arborização de vias públicas*. Rio de Janeiro: Fundação Parques e Jardins : Prefeitura do Rio: Light. xi, 206p, il.

MILINKO, I. & SCHMELZER, K. 1961. Zur Kenntnis der Mosaikkrankheit der Robinia (*Robinia pseudo-acacia* L). *Phytopathology* 4:36–41.

MIN, B. E.; FELDMAN, T. S.; ALI, A.; WILEY, G.; MUTHUKUMAR, V.; ROE B. A.; ROOSSINCK, M.; MELCHER, U.; PALMER, M. W. & NELSON, R. S. 2012. Molecular characterization, ecology, and epidemiology of a novel *Tymovirus* in *Asclepias viridis* from Oklahoma. *Phytopathology* 102:166–176.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE <http://www.mma.gov.br/florestas/manejo-florestal-sustent%C3%A1vel/produtos-madeireiros>. Consultado em 07/01/2014:

MIRCETICH, S. M.; SANBORN, R. R. & RAMOS, D. E. 1980. Natural spread, graft transmission, and possible etiology of walnut blackline disease. *Phytopathology* 70: 962–968.

MIRCETICH, S.M. & ROWHANI, A. 1984. The relationship of *Cherry leaf roll virus* and the blackline disease of English walnut trees. *Phytopathology* 74: 423–428.

MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C.G; MYERS, N & PATRÍCIO, R.G. 1999. *Hotspots Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions*. Cemex S/A. México.

- MOKILI, J. L.; ROHWER, F. & DUTILH, B. E. 2012. Metagenomics and future perspectives in virus discovery. *Current Opinion in Virology* 2: 63–77.
- MONIER, A.; LARSEN, J.B.; SANDAA, R.A.; BRATBAK, G.; CLAVERIE, J.M. & OGATA, H. 2008. Marine mimivirus relatives are probably large algal viruses. *Virology Journal* 23: 5–12.
- MOREIRA, N.J. 1962. *Diccionario de plantas medicinaes brasileiras*. Typographia do Correio Mercantil. Rio de Janeiro.
- MORIN, S.; GHANIM, M.; ZEIDAN, M.; CZOSNEK, H.; VERBEEK, M. & VAN DEN HEUVEL, J. F. J. M. 1999. A GroEL homologue from endosymbiotic bacteria of the whitefly *Bemisia tabaci* is implicated in the circulative transmission of *Tomato yellow leaf curl virus*. *Virology* 30: 75–84.
- MOUND, L.A. & HALSEY, S.M. 1978. *Whitefly of the world*. London: British Museum. 340p.
- MOUND, L.A. 1996. The Thysanoptera vector species of Tospoviruses. *Acta Horticulturae* 431: 298–307.
- MUKASA, S. B.; RUBAIHAYO, P. R. & VALKONEN, J. P. T. 2003. Incidence of viruses and virus-like disease of sweet potato in Uganda. *Plant Disease*, Saint Paul, v. 87, n. 4, p. 329–350, abr.
- MUKASA, S. B.; RUBAIHAYO, P. R. & VALKONEN, J. P. T. 2003. 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.
- MUMFORD R.A.; BARKER I. & WOOD K.R. 1996. The Biology of the Tospoviruses. *Annals of Applied Biology*. 128: 159-183.
- MURPHY, F.A.; FAUQUET, C.M.; BISHOP, D.H.L.; GHABRIAL, S.A.; JARVIS, A.W.; MARTELL, G.P.; MAYO, M.A. & SUMMERS, M.D. 1995. *Virus taxonomy 6 th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. *Archives of Virology*, 1 (suplemento), p. 1–586.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B. & KENT, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853–858.
- NAGAI, H.; LOURENÇÃO, A.L. & SIQUEIRA, W.J. 1992. Tomato breeding for resistance to diseases and pests in Brazil. *Acta Horticulturae* 301: 91–97.
- NAGATA, T.; ALMEIDA, A.C.L.; RESENDE R.O. & DE ÁVILA, A.C. 2004. The competence of four thrips species to transmit and replicate four tospoviruses. *Plant Pathology* 53: 136–140.

- NAGATA, T.; ÁVILA, A.C.; TAVARES, P.C.M.; BARBOSA, C.J.; JULIATTI, F.C. & KITAJIMA, E.W. 1995. Occurrence of different tospoviruses in six States of Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 20:90-95.
- NAGATA, T.; RESENDE, R.O.; KITAJIMA, W.E.; COSTA, H.; INOUE-NAGATA, A.K. & AVILA, A.C. 1998. First report on natural occurrence of Zucchini lethal chlorosis tospovirus in cucumber and Chrysanthemum stem necrosis tospovirus on tomato in Brazil. *Plant Disease* v. 82, n. 12, p. 143.
- NAQVI, Q.A. & MAHMOOD, K. 1976. Studies on brinjal mild mosaic virus. *Indian Phytopathology*, v. 29, p. 138–42.
- NASCIMENTO, A.R.T.; LONGHI, S.J. & BRENA, D. 2000. Estrutura e padrões de distribuição espacial de espécies arbóreas em uma amostra de floresta ombrófila mista em Nova Prata, RS. *Ciência Florestal* 11: 105–119.
- NAVRATIL, S. 1981. A rhabdovirus associated with vein yellowing and vein necrosis of balsam poplar. *Phytopathology* 7: 245 (Abstr.).
- NG, T. F.; DUFFY, S.; POLSTON, J. E.; BIXBY, E.; VALLAD, G. E. & BREITBART, M. 2011. Exploring the diversity of plant DNA viruses and their satellites using vector-enabled metagenomics on whiteflies. *PloS One* 6: e19050.
- NIENHAUS, F. & CASTELLO, J.D. 1989. Viruses in forests trees. *Annual Review Phytopathology* 27:165–186.
- NIENHAUS, F. & HAMACHER, J. 1989. Virose in Eschen. *Allg. Forstzeitg* 16: 385–386.
- NIENHAUS, F. & YARWOOD, C.E. 1972. Transmission of virus from oak leaves fractionated with Sephadex. *Phytopathology* 62: 313–315.
- NIENHAUS, F. 1975. Viren und virusverdächtige Erkrankungen in Eichen (*Quercus robur* und *Quercus sessiliflora*). *Z. Pflanzentr. Pflanzenschutz* 82: 739–749.
- NIENHAUS, F. 1985. Infectious diseases in forest trees caused by viruses, mycoplasma-like organisms and primitive bacteria. *Experientia* 4: 597–603.
- NIENHAUS, F. 1985. Zur Frage der parasitären Verseuchung von Forstgehölzen durch Viren und primitive Mikroorganismen. *AUg. Forstztg* 40: 119–124.
- NIENHAUS, F.; EBRAHIM-NESBAT, F.; FRICKE, M.; BIITNER, C. & WELTER, K. 1985. Investigations on viruses from declining beech trees in Rhineland and Westfalia, Federal Republic of Germany. *European Journal of Forest Pathology* 15: 402–411.
- NOGUEIRA, I. 2012. Levantamento e localização de alguns endossimbiontes de *Bemisia tabaci*. Monografia. Universidade de Brasília. Brasília.
- NOUEIRY, A. O.; LUCAS, W. J. & GILBERTSON, R. L. 1994. Two proteins of a plant DNA virus coordinate nuclear and plasmodesmal transport. *Cell* 76: 925–932.

- NOVAK J.B. & LANZOVA J. 1980. Natural infection of sufar beet with tomato bushy stunt virus. *Biology Plant* 22: 473.
- OCFEMIA, G.O. 1937. The probable nature of cadang-cadang disease of coconuts. *The Philippine Agriculturist* 26: 338–340.
- OHKI, S.T.; UYEDA, I.; van ZAAYEN, A. VALKONEN, A.; VETTEN, H.J. Potyviridae. In: OKA N.; OHKI T.; HONDA Y.; NAGAOKA K.; & TAKENAKA M. 2008. Inhibition of Pepper mild mottle virus with Commercial Cellulases, *Journal Phytopathology* 156: 65-67.
- OLIVEIRA, D.L. 2011. Viabilidade econômica de algumas espécies medicinais nativas do Cerrado. *Estudos, Goiânia* 38: 301–332.
- OLIVEIRA, F. Q.; JUNQUEIRA, R. G.; STEHMANN, J. R. & BRANDÃO, M. G. L. 2003. Potencial das plantas medicinais como fonte de novos antimaláricos: espécies indicadas na bibliografia etnomédica brasileira. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 5: 23–31.
- OLIVEIRA, J. T. da S.; SOUZA, L. C. de; DELLA LUCIA, R. M. & SOUZA JUNIOR, W. P. de. 2005. Influência dos estrativos na resistência ao apodrecimento de seis espécies de madeira. *Revista Árvore* [online]. 29: 819-826. <http://dx.doi.org>. Consultado em: 31/01/2014.
- OLIVEIRA, P. S. & MARQUIS, R. J. 2002. *The Cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna*. Columbia University Press, New York.
- OLIVEIRA, V.B.; LIMA, J.A.A.; VALE, C.C. & PAIVA, W.O. 2000. Caracterização biológica e sorológica de isolados de potyvirus obtidos de cucurbitáceas no Nordeste brasileiro. *Fitopatologia Brasileira* 25:628-636.
- OROZCO, B. M.; HANLEY-BOWDOIN, L. 1996. A DNA structure is required for geminivirus origin function. *Journal of Virology*, Washington, v. 270, p. 148-158.
- PAGUIO, O.R. & KITAJIMA, E.W. 1981. Isolamento de um potyvirus de *Cassia hoffmannsegii* Mart. *Fitopatologia Brasileira* 6: 187–193.
- PALAZZO, S.R.L.; BERGMANN, J.C.; CHAVES, A.L.R.; EIRAS, M.; CHAGAS, C.M. & COLARICCIO, A. 2004. Surto de *Potyvirus* associado ao mosaico amarelo do tomateiro no Estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica* 30: 117. (Resumo).
- PALUKAITIS, P. & GARCÍA-ARENAL, F. 2003. Cucumoviruses. *Adv. Virus Res.* 62:242-323.
- PAPPU, H.R.; JONES, R.A.C. & JAIN, R.K. 2009. Global status of tospovirus epidemics in diverse cropping systems: successes achieved and challenges ahead. *Virus Research* 141: 219–246.
- PAPPU, S.S.; FEBRES, V.J.; PAPPU, H.R.; LEE, R.F. & NIBLETT, C.L. 1997. Characterization of the 3' proximal gene of the citrus tristeza closterovirus genome. *Virus Research*, Amsterdam, v.47, p.51-57.

PARES, R. D. & GUNN, L. V. 1989. The role of non-vectored soil transmission as a primary source of infection by pepper mild mottle and cucumber mosaic viruses in glasshouse-grown capsicum in Australia. *Journal of Phytopathology*, Berlin, v. 126, n. 4, p. 353-360.

PARES, R. D.; GUNN, L. V. & KESKULA, E. N. 1996. The role of infective plant debris, and its concentration in soil, in the ecology of tomato mosaic tobamovirus -a non-vectored plant virus. *Journal of Phytopathology*. Berlin. v. 144, n. 3, p. 147-150.

PASSADOR, M. M. 2011. Mancha de micoserela em *Eucalyptus globulus*: características e ascogênese do patógeno, estrutura e composição química foliar. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu, Brasil.

PASTORE Jr.F.; ARAUJO, V.F.; FERNANDES, E.C.; PETRY, A.C.; ECHEVERRIA, R.M. & LEITE, F.H.F. 2007. 60 espécies do extrativismo florestal amazônico. http://www.itto.int/files/itto_project_db_input/2202/Technical/2.2%20Plantas.pdf. Consultado em: 23/01/2014.

PEREIRA-CARVALHO, R.C.; BOITEUX, L.S.; FONSECA, M.E.N.; DIAZ-PENDON, J.A.; MORIONES, E.; FERNANDEZ-MUNHOZ, R.; CHARCHAR, J.M. & RESENDE, R.O. 2010. Multiple resistance to *Meloidogyne bipartite* and monopartite Begomovirus in wild *Solanum* accessions. *Plant Disease* 94: 179–185.

PERRING, T.M. 2001. The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Protection* 20: 725–737.

PERSLEY D.M.; THOMAS J.E. & SHARMAN M. 2006. Tospoviruses – an Australian perspective. *Australasian Plant Pathology*. 35: 161-180.

PINTO R.L. 2013. Taxtomina A no controle do vírus do mosaico do pepino e do mosaico amarelo em abobrinha de moita e da podridão mole (*Rhizopus stonolifer*) em uva. Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz, São Paulo.

PIVETTA, K. F. L. & SILVA FILHO, D. F. 2002. Arborização Urbana. Boletim Acadêmico. Jaboticabal: UNESP/FCAV/FUNEP.

PLOETZ, R.C.; ZENTMYER, G.A.; NISHIJIMA, W.T.; ROHRBACH, K.G. & OHR, H. D. 1994. Compendium of Tropical Fruit Diseases. APS Press. St Paul. 88pp.

PLYUSNIN, A., BEATY, B., ELLIOTT, R., GOLDBACH, R., KORMELINK, R., LUNDKVIST, A., SCHMALJOHN, C. & TESH, R. 2011. *Bunyaviridae*. Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses–Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego, Elsevier, 693-709.

PNUMA - Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente. 2011. Caminhos para o Desenvolvimento Sustentável e a Erradicação da Pobreza - Síntese para tomadores de decisão. www.unep.org/greeneconomy. Consultado em: 02/02/2014.

POLAK, Z., & ZIEGLEROVA, J. 1996. Towards ringspot and variegation in mountain ash leaves. *Journal of Plant Disease Protection* 103: 432–435.

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

POSNETTE, A.F. 1947. Virus diseases of cacao in West Africa I. Cacao viruses 1A, 1B, 1C, and 1D. *Annals of Applied Biology* 34: 388–402.

POZZER, L.; RESENDE, R.O.; LIMA, M.I.; KITAJIMA, E.W.; GIORDANO, L.B. & ÁVILA, A.C. 1996. Tospovírus: uma visão atualizada. *Revisão Anual de Patologia de Plantas* 4: 95–148.

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.

PRUSS, G.; GE, X.; SHI, X.M.; CARRINGTON, J.C. & BOWMAN VANCE, V. 1997. Plant viral synergism: the potyviral genome encodes a broad-range pathogenicity enhancer that transactivates replication of heterologous viruses. *Plant Cell*. 9: 859–868.

RAIJ, B.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. & FURLANI, A.M.C. 1996. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. Campinas: Instituto Agrônomo Fundação IAC, Boletim Técnico. 100pp.

RANCKI, R. I. B.; MOSSOP, D. W. & HATTA, T. 1979. *Cucumber mosaic virus*. AAB/DPV <http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php>. Consultado em: 24/01/2014.

RANDIES, J.W. 1975. Association of two ribonucleic acid species with cadang-cadang disease of coconut palm. *Phytopathology* 65: 163–167.

RAZAVINEJAD, S., HEYDARNEJAD, J., KAMALI, M., MASSUMI, H., KRABERGER, S. & VARSANI, A. 2012. Genetic diversity and host range studies of Turnip curly top virus. *Virus Genes* 46:345–353.

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

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. 2007. 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 2014.

- REYES, M.I.; NASH, T.E.; DALLAS, M.M.; IBAÑEZ, T.A. & BOWDOIN, L.H. 2013. Peptide aptamers that bind to geminivirus replication proteins confer a resistance phenotype to *Tomato yellow leaf curl virus* and *Tomato mottle virus* infection in tomato. *Journal of Virology* 87: 9691–9706.
- REZENDE, J. A. M.; GALLETI, S. R.; RESENDE, R. de O; de AVILA, A. C.; SCAGLIUSI, S. M. M. 1997. Incidence and the biological and serological characteristics of a tospovirus in experimental fields of zucchini in São Paulo State, Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, DF, v. 22, p. 92-95.
- RIBEIRO, D.; FORESTI, O.; DENECKE, J.; WELLINK, J.; GOLDBACH, R. & KORMELINK R.J.M. 2008. Tomato spotted wilt virus glycoproteins induce the formation of endoplasmic reticulum and Golgi-derived pleomorphic membrane structures in plant cells. *Journal of General Virology* 89: 1811-1818.
- RIBEIRO, J.F.; SILVA, J.C.S. & BATMANIAN, G.J. 1985. Fitossociologia de tipos fisionômicos de cerrado em Planaltina - DF. *Revista Brasileira de Botânica*. 8: 131–142.
- RIBEIRO, S. G. 2006. Diversity and host interactions of emerging tomato begomoviruses in Brazil. Starprint Gráfica e Editora. Brasília.
- RIBEIRO, S.G.; AMBROZEVICIUS, L.P.; AVILA, A.C.; BEZERRA, I.C.; CALEGARIO, R.F.; FERNANDES, J.J.; LIMA, M.F.; MELLO, R.N.; ROCHA, H. & ZERBINI, F.M. 2003. Distribution and genetic diversity of tomato-infecting geminiviruses in Brazil. *Archives of Virology* 148: 281–295.
- RIECHMANN, J. L.; LAIN, S. & GARCIA, J. A. 1989. 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.
- RIECHMANN, J. L.; LAIN, S. & GARCIA, J. A. 1992. Highlights and prospects of potyvirus molecular biology. *Journal of General Virology*, London, v. 73, p. 1-16.
- RODERJAM C.V.; GALVÃO F.; KUNIYOSHI Y.S. & HATSCHBACH G.G. 2002 As unidades fitogeográficas do estado do Paraná. *Ciência e Ambiente*. 24: 75-92.
- RODONI, B. 2009. The role of plant biosecurity in preventing and controlling emerging plant virus disease epidemics. *Virus Research* 141:150–157.
- ROJAS, M. R.; HAGEN, C.; LUCAS, W. J. & GILBERTSON, R. L. 2005. Exploiting links in the plant's armor: Evolution and emergence of geminiviruses. *Annual Review Phytopathology* 43:361–394.
- ROJAS, M.; GILBERTSON, R. & MAXWELL, D. 1993. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. *Plant Disease* 77: 340–347.

- ROSSON, M.R.; AUGUST, P.R.; BETTERMANN, A.D.; BRADY, S.F.; GROSSMAN, T.H.; LILES, M.R.; LOIACONO, K.A.; LYNCH, B.A.; MACNEIL, I.A. & MINOR, C. 2000. Cloning the soil metagenome: a strategy for accessing the genetic and functional diversity of uncultured microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 2541–2547.
- ROSSINCK, M. J. 2012. Plant virus metagenomics: Biodiversity and ecology. *Annual Review of Genetics* 46: 359–369.
- ROSSINCK, M. J. 2013. Plant virus ecology. *PLoS Pathogens* 9: e1003304.
- ROSSINCK, M. J.; SAHA, P.; WILEY, G. B.; QUAN, J.; WHITE, J. D.; LAI, H.; CHAVARRIA, F.; SHEN, G. & ROE, B. A. 2010. Ecogenomics: Using massively parallel pyrosequencing to understand virus ecology. *Molecular Ecology* 19: 81–88.
- ROUX, S.; KRUPOVIC, M.; DEBROAS, D.; FORTERRE, P. & ENAULT, F. 2013. Assessment of viral community functional potential from viral metagenomes may be hampered by contamination with cellular sequences. *Open Biology* 3: 130–160.
- ROWHANI, A., MIRCETICH, S.M.; SHEPHERD, R.J. & CUCUZZA, J.D. 1985. Serological detection of *Cherry leafroll virus* in English walnut trees. *Phytopathology* 75: 48–52.
- SAADI, H.; PAGNIER, I.; COLSON, P.; KANOUN CHERIF, J.; BEJI, M. & BOUGHALMI, M. 2013. First isolation of *Mimivirus* in a patient with pneumonia. *Clinical Infectious Diseases* 57: e127-e134.
- SANDERFOOT, A. A. & LAZAROWITZ, S. G. 1996. Getting it together in plant virus movement: cooperative interactions between bipartite geminivirus movement proteins. *Trends in cell biology* 6: 353–358.
- SANTANA, F.M.; RIBEIRO, S.G.; MOITA, A.W.; MOREIRA-JUNIOR, D.J.; GIORDANO, L.B. 2001. Sources of resistance in *Lycopersicon* spp. to a bipartite whitefly-transmitted geminivirus from Brazil. *Euphytica* 122: 45-51.
- SANTOS, A. R. S.; CALIXTO, J. B. 1997. Further evidence for the involvement of tachykinin receptor subtypes in formalin and capsaicin models of pain in mice. *Neuropeptides*, v. 31, p. 381–389.
- SANTOS, C.A.B.; ESPINDOLA, J.A.A.; ROCHA, M.V.C.; ALMEIDA, D.L.; GUERRA, J.G.M.; RIBEIRO, R.L.D. 2006. Plantio direto de berinjela (*Solanum melongena*), sob manejo orgânico, em solos com cobertura viva permanente de gramínea e leguminosa. *Comunicado Técnico*. P. 91.
- SANTOS, C.D.G; ÁVILA, A.C. & RESENDE, R.O. 2003. Estudo da interação de um begomovírus isolado de tomateiro com a mosca branca vetora. *Fitopatologia Brasileira* 28: 664–673.

SANTOS, N.R.Z. dos & TEIXEIRA, I.F. 1991. Avaliação qualitativa da arborização da cidade de Bento Gonçalves, RS. *Ciência Florestal*, v.1., n.1., p.88-99.

SARTORETTO, L.M.; SALDANHA, C.W. & CORDER, M.P.M. 2008. Transformação genética: estratégias e aplicações para o melhoramento genético de espécies florestais. *Ciência Rural* 38 (3): XX-XX.

SAS Institute. 2008. SAS online DOC, version 9.2 SAS Institute, Cary.

SASTRY, K. S. M.; THAKUR, R. N.; GUPTA, J. A. & PANDOTRA, V. R. 1971. Three virus diseases of *Eucalyptus citridodora*. *Indian Phytopathology* 24: 123–126.

SASTRY, K.S.; SASTRY, K.S.M. & SINGH, J. 1974. A mosaic disease of eggplant *Solanum melongena* L. *Phytopathologia Mediterranea* 13:176–178.

SAVINO, V.; QUACQUARELLI, A.; GALLITELLI, D.; PIAZZOLLA, P. & MARTELLI, G. P. 1976. Occurrence of two sap transmissible viruses in walnuts. *Mitteilungen, Biologische Bundesanstalt für Land und Forstwirtschaft* 170: 23–27.

SCHAAD, M. C.; HALDEMAN-CAHILL, R.; CRONIN, S. & CARRINGTON, J. C. 1996. 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.

SCHAAD, M. C.; JENSEN, P. E. & CARRINGTON, J. C. 1997. 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.

SCHIMANSKI, H. H.; SCHMELZER, K. & ALBRECHT, H. J. 1976. Seed transmission of cherry leaf roll virus in black cherry (*Prunus serotina* Ehrh.) *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Zweite naturwissenschaftliche Abt.: Allgemeine, landwirtschaftliche und technische Mikrobiologie* 131:117–119.

SCHIMANSKI, H. H.; SCHMELZER, K.; KEGLER, H. & ALBRECHT, H. J. 1975. Wild growing *Prunus* species of the subgenera *Prunophora* and *Padus* as natural host plants for cherry ringspot viruses (author's transl). *Zweite naturwissenschaftliche Abt.: Allgemeine, landwirtschaftliche und technische Mikrobiologie* 130:109-120.

SCHIMANSKI, H.H. & FUNK, T. 1968. Untersuchungen über das Ausmass der Übertragung von KirschenringfleckenViren in den Samen von Vogelkirschen (*Prunus avium* L.). *Arch. Gartenbau* 16: 143–150.

SCHIMANSKI, H.H.; ALBRECHT, H.J. & KEGLER, H. 1980 Seed transmission of *cherry leaf roll virus* in birch (*Betula pendula* Roth). *Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz* 16:1–32.

SCHMELZER K.; SCHMIDT E.S. & SCHMIDT H.B., 1966. Viruskrankheiten und virusverdächtige Erscheinungen an Forstgehölzen. *Archiv für Forstwesen* 15:107–120.

SCHMELZER, K. & SCHMIDT, H. E. 1967. Untersuchungen an Viren der Zier- und Wildgehölze, 6. Mitteilung. Ergänzende Befunde an Caryopteris sowie Virose an Philadelphus, Aristolochia, Buddleja, Lycium und Aesculus. *Phytopathology* 62: 105–126.

SCHMELZER, K. 1972. *Cherry leaf roll virus* from birch (*Betula pendula* Roth.) Zweite naturwissenschaftliche Abt.: Allgemeine, landwirtschaftliche und technische Mikrobiologie 127:10–12.

SCHMELZER, K. 1977. Zier-, Forst-, und Wildgehölze. In: Pflanzliche Virologie, vol. 4, Die Virose an Zierpflanzen, Gehölzen und Wildpflanzen. Akademie-Verlag -Berlin. p. 276-405.

SCHMELZER, K.; SCHMIDT, H. E. & SCHMIDT, H. B. 1966. Viruskrankheiten und virusverdächtige Erscheinungen an Forstgehölzen. *Archiv für Forstwesen* 1: 107–120.

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

SCHONBORN, J.; OBERSTRAB, J.; BREYEL, E.; TITGEN, J.; SCHUMACHER, J. & LUKACS, N. 1991. Monoclonal antibodies to double-stranded RNA as probes of RNA structure in crude nucleic acid extracts. *Nucleic Acids Research* 19: 2993–3000.

SCHUCH, M.I.S. 2006. Arborização Urbana: Uma contribuição à qualidade de vida com uso de geotecnologias. Dissertação de Mestrado. Ciências Rurais. Universidade Federal de Santa Maria, Brasil. 100pp.

SEAL, S.E.; VANDENBOSCH, F.; JEGER, M.J. 2006. Factors influencing begomovirus evolution and their increasing global significance: Implications for sustainable control. *Critical Reviews in Plant Sciences* 25: 23-46.

SEGAWA, H. 2006. Ao Amor ao Público: Jardins do Brasil. Studio Nobel. São Paulo.

SERVIÇO FLORESTAL BRASILEIRO (SFB). 2014. <http://www.florestal.gov.br/snif/recursos-florestais/conhecendo>. Consultado em: 05/01/2014.

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

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

SHEPHERD, R.J. 1972. Transmission of viruses through seed of *Phaseolus vulgaris* L. cultivar Beka. *Acta Botanica Neerlandica* 12: 433–497.

SHERWOOD . 2003. Tomato spotted wilt. The Plant Health Instructor. <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/viruses/Pages/TomatoSpottedWilt.aspx>. Consultado em: 07 de janeiro de 2014.

SHERWOOD, J.L.; GERMAN, T.L.; MOYER, J.W. & D.E. ULLMAN. 2003. *Tomato spotted wilt*. The Plant Health Instructor. <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/viruses/Pages/TomatoSpottedWilt>. Consultado em: 07 de janeiro de 2014.

SHIEL, P. J. & CASTELLO, J. D. 1985 . Detection of tobacco mosaic and tobacco ringspot viruses in herbaceous and woody plants near virus-infected white ash trees in central New York. *Plant Disease* 69: 791–795.

SHUKLA, D.D.; WARD, C.W. & BRUNT, A.A. *The Potyviridae*. 1994. University Press. Cambridge, p.1–500.

SILVA Jr, M. C. 2005. 100 árvores do Cerrado. 1^o ed. Rede de Sementes do Cerrado. Brasília.

SILVA Jr, M. C. 2009. 100 árvores do Cerrado: Matas de Galeria. 1^o ed. Rede de Sementes do Cerrado. Brasília.

SILVA Jr, M. C. 2010. 100 árvores urbanas de Brasília. 1^o ed. Rede de Sementes do Cerrado. Brasília.

SILVA, M.S.; MARTINS, C.R.F.; BEZERRA, I.C.; NAGATA, T.; DE AVILA, A.C. & RESENDE, R.O. 2001 Sequence diversity of NSm movement protein of tospoviruses. *Archives Virology* 146:1267–1281.

SILVA, P. P. V. 2002. Sistemas agroflorestais para recuperação de matas ciliares em Piracicaba. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil.

SILVA, S.J.C. 2006. Detecção, caracterização molecular e diversidade genética de Begomovirus que infectam Fava (*Phaseolus lunatus* L.). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Alagoas. Alagoas, Brasil.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A. & PETROVICK, P.R. 1999. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC.

SIQUEIRA, E.M.A.; ROSA, F.R.; FUSTINONI, A.M.; DE SANT'ANA, L.P. & ARRUDA, S.F. 2013. Brazilian Savanna Fruits Contain Higher Bioactive Compounds Content and Higher Antioxidant Activity Relative to the Conventional Red Delicious Apple. *PLoS ONE* 8: 72826.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE SILVICULTURA (SBS). 2007. Fatos e números do Brasil Florestal. <http://www.sbs.org.br/FatoseNumerosdoBrasilFlorestal.pdf>. Consultado em: 4 de janeiro de 2014.

SOUSA, N.J.; MARQUES, E.N. & CORRÊA, R.M. 1997. Magnólia grandiflora (Magnoliaceae), infectada por *Platypus sulcatus* (Coleóptera: Platypodidae), na cidade de Campo largo, PR. 1997. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE ARBORIZAÇÃO URBANA, 7. Belo Horizonte. Anais. Belo Horizonte: CEMIG/SBAU/ISA, p.34.

- SOUZA, F.J.A. & LORENZI, H. 2002. Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. Volume 1. 4^aed. Instituto Plantarum - São Paulo.
- SOUZA, F.J.A. & LORENZI, H. 2002. Árvores brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil. Volume 2. 4^aed Instituto Plantarum - São Paulo.
- SOUZA, V. C. & LORENZI, H. 2005. Botânica Sistemática - Guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Plantarum. Nova Odessa.
- STANLEY, J.; BISARO, D.M.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J.K.; FAUQUET, C.M.; HARRISON, B.D.; RYBICKI, E.P. & STENGER D.C. 2005. *Geminiviridae*. In: FAUQUET C.M., MAYO M.A., MANILOFF J., DESSELBERGER U. & BALL L.A. (eds.). Virus Taxonomy: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses Elsevier, Academic Press - London: 301–326.
- STUDART-GUIMARÃES, C.; LACORTE, C. & BRASILEIRO, A. C. M. 2003. Transformação genética em espécies florestais. *Ciência Florestal* 13:167-178.
- SUBIKOVA, V. 1973. The mechanical transmission of *Euonymus mosaic virus*, maple leaf perforation by leaf extract or leaf nucleic acid to herbaceous plants. *Biologia Plantarum* 1: 166–170.
- SVOBODA J.; CERVENA G.; RODOVA J. & JOKES M. 2006. First report of Pepper mild mottle virus in pepper seeds produced in the Czech Republic. *Plant Protect. Sci.* 42: 34–37.
- SWEET, J. B. & BARBARA, D. J. 1979. A yellow mosaic disease of horse chestnut (*Aesculus* spp.) caused by *Apple mosaic virus*. *Ann. Appl. Biology* 92:335-341.
- SWEET, J. B. 1980. Fruit tree infections of woody exotic and indigenous plants in Britain. *Acta Phytopathology. Acad. Sci. Hung* 1: 231–238.
- SZIRMAI, J. 1972. An Acer virus disease of maple trees planted in avenues. *Acta Phytopathology. Acad. Sci. Hung* 7: 197–207.
- TANZI, M.; BETTI, L. ; CANOVA, A. 1986. Behaviour of two new commercial pepper cvs. With L¹, L³ genotype towards TMV pepper strain infection. **Capsicum and Eggplant Newsletter**, Grugliasko, v. 5, n. 2, p. 45.
- TEIXEIRA, H.A.T.; DURIGAN, L.C.D.; & SILVA, J.A.A. 2001. Caracterização pós-colheita de seis cultivares de carambola (*Averrhoa carambola* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura* 23: 546–550.
- THAO, M.L. & BAUMANN, P. 2004. Evolutionary relationships of primary prokaryotic endosymbionts of whiteflies and their hosts. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 3401–3406.
- THOMAS, D. C. 1993. Host plant adaption in the glasshouse whitefly. Tese de doutorado. Netherlands: Land Bouwuniversiteit te Wagening. 129pp.

- THOMAS, P.R. 1970. Host status of some plants for *Xiphinema diversicaudatum* (Micol). and their susceptibility to viruses transmitted by this species. *Ann. Appl. Biology* 65: 169& 178.
- 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.
- TIMMERMANS, M. C.; DAS, O. P. & MESSING, J. 1994. Geminiviruses and their uses as extrachromosomal replicons. *Annual review of plant biology* 45:79–112.
- TOSCANO, L.C. 2001. Resistência de genótipos de tomateiro (*Lycopersicon* spp.) a *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). Jaboticabal: 101p. (Tese (Doutorado) – FCAV, UNESP).
- TOSCANO, L.C.; AUAD, A.M. & FIGUEIRA, L.K. 2003. Comportamento de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) em genótipos de tomateiro infestados com ovos de *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) biótipo B em laboratório. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.70, p.117-121.
- TRANCOSO, M. D. 2013. Essential oils project: Extraction, importance and applications in the Everyday. *Revista Praxis V* (9)xxx.
- URCUQUI-INCHIMA, S.; HAENNI, A. L. & BERNARDI, F. Potyvirus proteins: a wealth of functions. *Virus Research*, Amsterdam, v. 74, p. 157-175, 2001.
- VALDERATO, E.B.; CARAVALHO, A.P.V.; GAMBA, S.; DEMOLINARI, M.S.M. & SILVA, E. 2011. Árvores geneticamente modificadas: Técnicas, aplicações, riscos e os potenciais impactos associados a sua utilização. *Pesquisa Florestal Brasileira* 31:51–61.
- VALLE, G.E. & LOURENÇÃO, A.L. 2002. Resistência de genótipos de soja a *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). *Neotropical Entomology*, Londrina, v.31,n.1, p.285-295, 2002.
- VAN DE WETERING, F.; GOLDBACH, R. & PETERS, D. 1996. Tomato spotted wilt tospovirus ingestion by first instar larvae of *Frankliniella occidentalis* is a prerequisite for transmission. *Phytopathology* 86: 900–905.
- VAN REGENMORTEL, M.H.V.; FAUQUET, C.M.; BISHOP, D.H.L.; CARSTENS, E.B.; ESTES, M.H.; LEMON, S.M.; MANILOFF, J.; MAYO, M.A; MCGEOCH, D.J.; PRINGLE, C.R.; WICKNER, R.B. 2000. *Virus Taxonomy. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. New York, Academic Press, 1162 pp.
- VANITHARANI, R.; CHELLAPPAN, P.; PITA, J. S.; FAUQUET, C. M. 2004. 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.
- VARMA, A. & MALATHI, V. G. 2003. Emerging geminivirus problems: A serious threat to crop production. *Ann Appl Biology* 142: 145–164.

- VARNEY, E.H. & MOORE, J.D. 1952. Strain of tomato rings pot virus from American elm. *Phytopathology* 42:476–477 (Abstr.).
- VARNEY, E.H. & MOORE, J.D. 1965. Mechanical transmission of a virus from mosaic-infected elm to herbaceous plants. *Phytopathology* 55: 22 (Abstr.).
- VARSANI, A., SHEPHERD, D. N., DENT, K., MONJANE, A. L., RYBICKI, E. P. & MARTIN, D. P. 2009. A highly divergent South African geminivirus species illuminates the ancient evolutionary history of this family. *Virology* 6: 36.
- VELICEASA, D.; ENUNLU, N.; KÓS, P.B.; KOSTER, S.; BEUTHER, E.; MORGUM, B.; DESHMUKH, S.D. & LUKACS, N. 2006. Searching for a new putative cryptic vírus in *Pinus silvestres* L. *Virus Genes*, v. 32, p. 177-186.
- VERCHOT, J. & CARRINGTON, J. C. 1995. 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.
- VIEIRA, B.G.; MENDONZA, L.; FARIAS, P.C.; RESENDE, R.O.; FONSECA, M.E.; BOITEUX, L.S.; RIBEIRO, S.G. & PEREIRA-CARVALHO, R.C. 2011. Detecção via PCR de *Candidatus 'Portiera aleyrodidarum'* e *Wolbachia* em populações de *Bemisia tabaci* colonizando tomateiro. Poster apresentado em Congresso de Virologia-Bento Gonçalves.
- VILLAS BÔAS, G.L.; FRANÇA, F.H.; MACEDO, N. & MOITA, A.W. 2001. Avaliação da preferência de *Bemisia argentifolii* por diferentes espécies de plantas. *Horticultura Brasileira* 19: 130–134.
- VILLAS-BÔAS, GL & CASTELO-BRANCO, M. 2009. Manejo Integrado da Mosca-Branca (*Bemisia tabaci* biótipo B) em Sistema de Produção Integrada de Tomate Indústria (PITI). Circular Técnica 70.
- VINCENT, S.J.; COUTTS, B.A. & JONES, R.A.C. 2014. Effects of Introduced and Indigenous Viruses on Native Plants: Exploring Their Disease Causing Potential at the Agro-Ecological Interface. *PLoS ONE* 9: e91224.
- VORONTSOVA, M.S. & KNAPP, S. 2012. A new species of *Solanum* (Solanaceae) from South Africa related to the cultivated eggplant. *PhytoKeys*, v. 8, p. 1–11, jan.
- VUORINEN, A. L.; KELLONIEMI, J. & VALKONEN, J. 2011. Why do viruses need phloem for systemic invasion of plants. *Plant Science* 181: 355–363.
- WALIA J.J.; SALEM N.M. & FALK B.W. 2009. Partial sequence and survey analysis identify a multipartite, negative-sense RNA vírus associated with Fig mosaic. *Plant Disease*. 93: 4-10.
- WARD, B. M. & LAZAROWITZ, S.G. 1999. Nuclear export in plants: use of geminivirus movement proteins for a cell-based export assay. *The Plant Cell* 11: 1267–1276.

- WEBB, S.; TSAI, J. & MITCHELL, F. 1998. Bionomics of *Frankliniella bispinosa* and its transmission of *Tomato spotted wilt virus*. In: International Symposium on Tospoviruses and Thrips in Floral and Vegetable Crops, 4, Wageningen: Abstracts. 67.
- WEBSTER, C. G.; COUTTS, B. A.; JONES, R. A. C.; JONES, M. G. K. & WYLIE, S. J. 2007. Virus impact at the interface of an ancient ecosystem and a recent agroecosystem: studies on three legume-infecting potyviruses in the South West Australian Floristic. *Plant Pathology* 56: 729–742.
- WETTER C. & CONTI M. 1988. *Pepper mild mottle virus*. CMI/AAB descriptions of plant viruses: no. 330: p: 4.
- WIELEWSKI, P. & AUER, C.G. *Alternaria* sp. associada à mancha foliar em *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. 1997. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE ARBORIZAÇÃO URBANA, 7, 1997, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: CEMIG/SBAU/ISA, p.34.
- WIJKAMP I. & PETERS D. 1993. Determination of the median latent period of two tospoviruses in *Frankliniella occidentalis*, using a novel leaf disk assay. *Phytopathology* 83: 986-991.
- WIJKAMP I.; VAN LENT J.; KORMELINK R.; GOLDBACH R. & PETERS D. 1993. Multiplication of tomato spotted wilt virus in its insect vector, *Frankliniella occidentalis*. *Journal of General Virology*. 74: 341-349.
- WINTER, S. & NIENHAUS, F. 1989. Identification of viruses from European beech (*Fagus sylvatica* L.) of declining forests in Northrhine-Westfalia (FRG). *European Journal of Forest Pathology* 19: 111–118.
- WORLD BANK. 2012. Rio + 20: A Framework for action for sustainable development. World Bank Group. Maio, 2012. <http://siteresources.worldbank.org/EXTSDNET/Resources/RIO-BRIEF-Forests.pdf> Consultado em: 03/01/2014.
- WREN, J.D.; ROOSSINCK, M.J.; NELSON, R.S.; SCHEETS, K.; PALMER, M.W. & MELCHER, U. 2006. Plant virus biodiversity and ecology. *PLoS Biology* 4: e80.
- WU, F. & TANKSLEY, S.D. 2010. Chromosomal evolution in the plant family Solanaceae. *BMC Genomics* 11: 182.
- WWF - World Wildlife Fund- <http://www.wwf.org.br/> Consultado em: 10 de janeiro de 2014.
- XU, P.; CHEN, F.; MANNAS, J. P.; FELDMAN, T.; SUMNER, L. W. & ROOSSINCK, M. J. 2008. Virus infection improves drought tolerance. *The New Phytologist* 180: 911–921.
- YARWOOD, C. E. 1971. Erysiphaceae transmit virus to *Chenopodium*. *Plant Disease Reporter* 55: 342–344.
- YARWOOD. C.E. & HECHT-POINAR, E. 1973. Viruses from rusts and mildews. *Phytopathology* 63: 1111–1115.

- YEE, W.L. & TOSCANO, N.C. 1996. Ovipositional preference and development of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) in relation to alfafa. *Journal of Economic Entomology*. V. 89, n. 4, p. 870-876.
- YUNES, R.A. & CALIXTO, J.B. 2001. Plantas medicinais - sob a ótica da química medicinal moderna. Argos. Chapecó.
- ZANUNCIO, J. C.; BRAGANÇA, M. A. L.; LARANJEIRO, A. L. & FAGUNDES, M. 1993. Coleópteros associados à eucaliptocultura nas regiões de São Mateus e Aracruz, Espírito Santo. *Revista Ceres* 41: 584–590.
- ZANÚNCIO, J.C.; FAGUNDES, M.; ZANUNCIO, T.V. & MEDEIROS, A.G.B. 1992. Principais lepidópteros pragas primárias e secundárias de *Eucalyptus grandis*, na região de Guanhanes, Minas Gerais, durante o período de junho de 1989 a maio de 1990. *Científica* 20:145-155.
- ZCHORI-FEIN, E. & PERLMAN, J.P. 2004. Distribution of the bacterial symbiont *Cardinium* in arthropods. *Molecular Ecology* 13: 2009–2016.
- ZERBINI, F.M. & MACIEL-ZAMBOLIM, E. 1999. A família *Potyviridae* Parte I. *Revisão Anual de Patologia de Plantas* 7: 1–66.
- ZERBINI, F.M. 2005. Transmissão e controle de vírus em sementes. *In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). Sementes qualidade fitossanitária. UFV-DFP - Viçosa. p.135–154.*
- ZERBINI, F.M.; ANDRADE, E. C.; BARROS, D. R.; FERREIRA, S.S.; LIMA, A.T.M.; ALFENAS, P.F. & MELLO, R.N. 2005. Traditional and novel strategies for geminivirus management in Brazil. *Australasian Plant Pathology*34: 475–480.
- ZHOU, X.; LIU, Y.; CALVERT, L.; MUNOZ, C.; TIM-NAPE, G.W.; ROBISON, D.J. & HARRISON, B.D. 1997. Evidence that DNA-A of a geminivirus associated with severe cassava mosaic disease in Uganda has arisen by interspecific recombination. *Journal General Virology* 78: 2101–2111.
- ZILLER, S.R.; ZENNI, R.D. & DECHOUM, M.S. 2007. Espécies exóticas invasoras na arborização urbana: problemas e soluções. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARBORIZAÇÃO URBANA, 11. Vitória/ES. Anais. Vitória: SBAU, 2007. CD-ROM.*