

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**Busca por fontes de resistência à *Bemisia tabaci* e ao  
*Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) em  
germoplasma de *Solanum melongena***

**BRUNA PINHEIRO DE LIMA**

**BRUNA PINHEIRO DE LIMA**

**Busca por fontes de resistência à *Bemisia tabaci* e ao  
*Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) em  
germoplasma de *Solanum melongena***

Monografia apresentada à Faculdade de  
Agronomia e Medicina Veterinária da  
Universidade de Brasília – UnB, como parte das  
exigências do curso de Graduação em  
Agronomia, para a obtenção do título de  
Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. RITA DE CÁSSIA PEREIRA  
CARVALHO

**Brasília, DF**

**Dezembro de 2014**

## FICHA CATALOGRÁFICA

LIMA, Bruna Pinheiro de.

“BUSCA POR FONTES DE RESISTÊNCIA À BEMISIA TABACI E AO *TOMATO CHLOROTIC MOTTLE VIRUS* (TOCMOV) EM GERMOPLASMA DE *SOLANUM MELONGENA*”. Orientação: Rita de Cássia Pereira Carvalho, Brasília 2014. 31 páginas.

Monografia de Graduação (G) – Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2014.

1. Solanáceas, mosca-branca, *Begomovirus*, resistência.

I. Pereira-Carvalho, R.C. II. Dra.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

PINHEIRO-LIMA, B. BUSCA POR FONTES DE RESISTÊNCIA À BEMISIA TABACI E AO *TOMATO CHLOROTIC MOTTLE VIRUS* (TOCMOV) EM GERMOPLASMA DE *SOLANUM MELONGENA*. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2014, 31 páginas. Monografia.

## CESSÃO DE DIREITOS

**Nome do Autor:** BRUNA PINHEIRO DE LIMA

**Título da Monografia de Conclusão de Curso:** BUSCA POR FONTES DE RESISTÊNCIA À BEMISIA TABACI E AO *TOMATO CHLOROTIC MOTTLE VIRUS* (TOCMOV) EM GERMOPLASMA DE *SOLANUM MELONGENA*

**Grau:** 3º **Ano:** 2014

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia de graduação e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia de graduação pode ser reproduzida sem autorização por escrito do autor.

**BRUNA PINHEIRO DE LIMA**

**Busca por fontes de resistência à *Bemisia tabaci* e ao  
*Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) em  
germoplasma de *Solanum melongena***

Monografia apresentada à Faculdade de  
Agronomia e Medicina Veterinária da  
Universidade de Brasília – UnB, como parte das  
exigências do curso de Graduação em  
Agronomia, para a obtenção do título de  
Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. RITA DE CÁSSIA PEREIRA  
CARVALHO

BANCA EXAMINADORA:

---

Rita de Cássia Pereira Carvalho

Universidade de Brasília – UnB

Orientador / email: rcpcarvalho@unb.br

---

Cleber Furlanetto

Universidade de Brasília – UnB

Examinador / email: cfurla@hotmail.com

---

Leonardo Silva Boiteux

Embrapa Hortaliças - CNPH

Examinador / email: boiteux@cnph.embrapa.br

*À minha maior fonte de inspiração. Maria*

*Lúcia Pinheiro.*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao melhor e maior companheiro, amigo, colaborador e incentivador, Pedro;

À minha mãe e irmã, por todas as torcidas, preces e mãos na massa quando foi preciso;

Ao meu pai, Antônio, por todo incentivo, apoio e confiança que sempre me prestou;

À minha avó por todas as suas orações;

Aos meus amigos de semestre que tornaram todos esses anos de curso mais leves e agradáveis. Em especial, ao Carlos Eduardo que além de tudo sempre esteve disposto a me ajudar e ensinar;

Às colegas do laboratório pelo aprendizado e pela colaboração. Em especial, Brenda, Caroline, Marcela, Mariana e Michelle;

Ao Sr. Fábio, Evandro e Aldo que me deram apoio fundamental e tornaram possível a realização desse trabalho;

À professora Rita por toda confiança, oportunidades oferecidas, ensinamentos e principalmente, doação e enorme boa vontade.

PINHEIRO - LIMA, BRUNA. **Busca por fontes de resistência ao vetor *Bemisia tabaci* e ao vírus *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) em germoplasma de *Solanum melongena*.** 2014. Monografia (Bacharelado em Agronomia). Universidade de Brasília – UnB.

## RESUMO

A berinjela (*Solanum melongena*) e o tomate (*Solanum lycopersicum*) representam duas importantes solanáceas amplamente cultivadas no Brasil e no mundo. A berinjela destaca-se dentre outros atributos, pela alta rusticidade à patógenos e pragas. Por outro lado, o tomate uma das olerícolas mais conhecidas e consumidas no mundo, apresenta alta suscetibilidade à estes organismos. Dentre as viroses que afetam a cultura, as espécies classificadas no gênero *Begomovirus* (família *Geminiviridae*), incluindo *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV), merecem destaque, pois são podem causar grandes perdas de produção. O controle de tais doenças é oneroso e pouco eficiente devido às dificuldades inerentes ao controle do vetor aleirodídeo, popularmente conhecido como mosca branca (*Bemisia tabaci*). Uma alternativa de controle é o emprego de fontes de resistência de amplo espectro e duráveis ao vírus e/ou ao vetor, que podem ser obtidas em bancos de germoplasma de solanáceas. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi buscar fontes de resistência à mosca branca e ao ToCMoV em berinjela. Um total de 30 acessos de berinjela e o tomate ‘Santa Clara’ (controle suscetível ao vírus e ao vetor) foram expostos ao vetor virulífero (ToCMoV) por um período de 21 dias. O delineamento empregado foi de blocos casualizados em três repetições. Após a inoculação, as plantas foram pulverizadas com Imidacloprid e a segunda folha (a partir do ápice de cada planta) foi coletada para avaliação do número de ovos, ninfas e adultos. Em seguida, os acessos foram transplantados e as plantas foram dispostas em delineamento inteiramente casualizado e mantidas em casa de vegetação livre do vetor mosca branca. A avaliação de sintomas foi realizada aos 7, 14, 21, 28, 45, 60 e 120 dias após inoculação (dai). No 35º dia após a inoculação foi conduzido um ensaio de *Tissue Blot* para detecção viral. Os acessos de

berinjela não apresentaram sintomas típicos de infecção viral durante os 120 dias, enquanto as plantas dos controles positivos mostraram sintomas de intensa clorose a partir do 14o dia. Nos ensaios de hibridização, a acumulação viral foi detectada apenas nas plantas de tomate. Quanto ao vetor, todos os acessos foram classificados como suscetíveis. Os resultados obtidos na inoculação via vetor sugerem que o tipo de resistência da berinjela ao ToCMoV seja do tipo não-hospedeira.

**Palavras-chave:** solanáceas, *Bemisia tabaci*, *Begomovirus*, resistência.

### ABSTRACT

Eggplant (*Solanum melongena*) and tomato (*Solanum lycopersicum*) both represent two important solanaceae groups vastly harvested in Brazil and worldwide. Eggplant is highlighted, alongside other attributes, by its rusticity to pathogens and plagues. The tomato (*Solanum lycopersicum*) is one of the most economically important vegetable crops around the world. Species belonging to the genera *Begomovirus* (Family *Geminiviridae*), including *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) are among the most important tomato pathogens, inducing severe yield and quality losses. The chemical control of such diseases is expensive and has little efficiency due to the inherent difficulties controlling the whitefly vector, *Bemisia tabaci*. An alternative for control of begomoviruses is the use of wide spectrum and durable resistance sources against the virus and/or the vector, which can be obtained in Solanaceae germplasm banks. In this context, the main purpose of the present work was to search for resistance sources to both whitefly and ToCMoV on eggplant. Overall, 30 eggplant access and the susceptible control (to both virus and vector), tomato ‘Santa Clara’, were exposed to the virus-positive vector (ToCMoV) to an inoculation period of 21 days in delimitation in randomized blocks in three repetitions. After inoculation, plants were sprayed



with Imidacloprid and the second leaf of each plant was collected for the number of eggs, nymphs and adults analysis. Then, the access were transplanted and plants were organized in delimitation integrally randomized and maintained in greenhouse whitefly free. Analyses of the symptoms were done at 7, 14, 21, 28, 45, 60 and 120 days after inoculation (dai) and on the 35th day was made Tissue Blot to viral detection. During the 120 days, eggplant access plants did not show any typical viral infection symptoms, while the tomato control plants showed chlorosis since the 14 dai. On the hybridization assays, viral accumulation was only detected on tomatoes plants. Regarding to the whitefly vector, all access seemed susceptible. Obtained results on inoculation by vector suggests that the eggplant ToCMoV's resistance is 'non-host' type.

Key-words: Solanaceae, *Bemisia tabaci*, *Begomovirus*, resistance.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Fases do desenvolvimento do vetor *Bemisia tabaci*, em que (A) ovos, (B) (C) ninfas de diferentes ínstares, (D) ninfa de 4º ínstar e (E) adulto (Fotos: E:I. Nogueira e A-D: C.A. Souza) ..... 11
- Figura 2.** Casa de vegetação destinada à criação de moscas (*Bemisia tabaci*) virulíferas (*Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV), em tomateiro (*Solanum lycopersicum* cv Santa Clara) com bandejas de isopor com acessos de berinjela (*Solanum melongena*). ..... 16
- Figura 3.** Plantas de *Solanum melongena* livres de sintomas e *Solanum lycopersicum* ('Santa Clara') sintomáticas, 60 dias após inoculação com *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV). ..... 18
- Figura 4.** Resultado da hibridização do teste de inoculação com *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) via vetor, em *Solanum melongena* e *S. lycopersicum*. Em que foram avaliados 12 acessos de berinjela e 17 plantas de tomate 'Santa Clara', sendo 14 pertencentes ao controle interno (I, J e K 9-12 e L 10-11) e dois caracterizados como controles externos (L e M 12). 19
- Figura 5.** Médias dos números de ovos de *Bemisia tabaci* por folha nos acessos de berinjela (405, 432, 439, 443 e 472) e no controle (C) tomate pertencentes ao ensaio 1. Em que médias seguidas da mesma letra não apresentaram diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste F. .... 20
- Figura 6.** Médias dos números de ovos de *Bemisia tabaci* por folha nos acessos de berinjela (406, 410, 451, 462 e 474) e no controle (C) tomate pertencentes ao ensaio 1. Em que médias seguidas da mesma letra não apresentaram diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste F. .... 20
- Figura 7.** Médias dos números de ninfas de 1º ao 3º instares de *Bemisia tabaci* por folha nos acessos de berinjela (405, 432, 439, 443 e 472) e no controle (C) tomate pertencentes ao ensaio 1. Em que médias seguidas da mesma letra não apresentaram diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste F..... 21
- Figura 8.** Médias dos números de adultos de *Bemisia tabaci* por folha nos acessos de berinjela (64, 66, 69, 71, 112, 124, 127 e 131) e no controle (C) tomate pertencentes ao ensaio 2. Em que médias seguidas da mesma letra não apresentaram diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste F..... 21



## 1. INTRODUÇÃO

A berinjela (*Solanum melongena*) é uma solanácea que tem apresentado elevação em seu consumo devido ao fato de possuir características fitoterápicas como a de redução do colesterol alto. O Oriente e a Ásia são seus centros de origem e seu plantio é realizado hoje em diversas regiões do mundo, principalmente nas tropicais em que pode apresentar pleno desenvolvimento devido às condições climáticas favoráveis (FILGUEIRA, 2012). No Brasil, em 2006, a produção desta olerícola foi de 72 mil toneladas, número esse que torna a cultura não tão expressiva como a do tomate, por exemplo (IBGE, 2006). Por outro lado a rusticidade à pragas e patógenos, aliada à facilidade de cultivo representam vantagens à programas de melhoramento de olerícolas.

Diferente da berinjela, o tomate (*Solanum lycopersicum*) apresenta uma alta suscetibilidade a pragas e patógenos desde que começou a ser cultivado. Após sua introdução no Brasil no século XIX, o tomateiro passou a ser uma das hortaliças mais cultivadas graças à possibilidade de consumo tanto “in natura” como processado (FILGUEIRA, 2007). A produção estimada da cultura para 2014 é de 3,9 milhões de toneladas, aproximadamente, sendo Goiás o maior estado produtor com 1,2 milhões de toneladas, seguido por São Paulo e Minas Gerais (IBGE, 2014).

O tomate pode ser severamente atacado por pragas como a mosca branca, *Bemisia tabaci* (ordem Hemiptera e família Aleyrodidae). Devido ao seu hábito alimentar sugador, o inseto atinge o floema ocasionando lesões nos tecidos da planta. A infestação severa de mosca branca também provoca uma severa redução na atividade fotossintética devido à liberação de substâncias açucaradas que promovem um substrato adequado para o crescimento de fungos causadores das chamadas “fumaginas”. Além de danos diretos, o inseto é capaz de transmitir uma gama de vírus pertencentes ao gênero *Begomovirus* (Família *Geminiviridae*). Esse grupo de patógenos (que apresenta mais de 60 espécies já detectadas infectando o tomateiro) pode induzir severos danos econômicos (RODRIGUÉZ-LÓPEZ *et al.*, 2011).

Os vírus classificados na família *Geminiviridae* possuem partículas geminadas e icosaédricas com genoma de DNA fita simples de aproximadamente 2,7 kilobases. Podem ser monopartidos (quando apresentam apenas uma molécula de DNA), ou bipartidos (possuem duas molécula de DNA, A e B) (BRIDDON & STANLEY, 2009; BROWN *et al.*, 2011).

Essa família viral encontra-se representada atualmente por sete gêneros: *Begomovirus*, *Curtovirus*, *Mastrevirus*, *Topocuvirus*, *Becurtovirus*, *Eragrovirus* e *Turncurtovirus* (os

últimos três foram inseridos nesta família recentemente). Tais alterações foram feitas visando a melhor classificação das novas espécies que, por apresentarem características diferenciadas não poderiam ser agrupadas aos gêneros previamente descritos (VARSANI *et al.*, 2014a). Os gêneros são separados de acordo com a organização do genoma, as hospedeiras que infectam e o tipo de inseto vetor (ADAMS; KING; CARSTENS, 2013; BROWN *et al.*, 2011; FAUQUET *et al.*, 2008; GUTIERREZ, 1999; HERNANDÉZ-ZEPEDA, VARSANI; BROWN, 2013; HEYDARNEJAD *et al.*, 2013).

Todas as espécies de gêneros da família *Geminiviridae* apresentam apenas um componente genômico, exceto aquelas classificadas no gênero *Begomovirus* que podem apresentar um ou dois componentes genômicos sendo denominadas monopartidas (apenas um componente) ou bipartidas (dois componentes) (BROWN *et al.*, 2011; HERNANDÉZ-ZEPEDA; VARSANI; BROWN, 2013; HEYDARNEJAD *et al.*, 2013).

O gênero *Begomovirus* é hoje o maior gênero de vírus de plantas, em termos de número de espécies de acordo com o *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV, 2011) e, infectando a cultura do tomateiro, no Brasil, são reconhecidas hoje 11 espécies de *Begomovirus*. Deste total, alguns vírus apresentam maior frequência de infecções no campo, como o *Tomato severe rugose virus* (ToSRV), *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV), *Tomato common mosaic virus* (ToCmMV) e *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) (AGUILERA *et al.*, 2014).

Segundo Ribeiro *et al.* (2007) o primeiro vírus classificado no gênero *Begomovirus* relatado no nordeste brasileiro foi o ToCMoV. Relatos desta espécie também foram feitos em infecções mistas ocorrendo em tomateiros tanto no Rio de Janeiro, quanto no Distrito Federal que são regiões características da produção de tomate tipo mesa e que até 2004 apresentavam-se livres de begomovirose.

Além das espécies de *Begomovirus*, *Bemisia tabaci* funciona também como um eficiente vetor de espécies virais classificadas nos gêneros *Ipomovirus* (família *Potyviridae*), *Crinivirus* (família *Closteroviridae*), *Carlavirus* (família *Betaflexiviridae*) e *Torradovirus* (família *Secoviridae*) (NAVAS-CASTILLO, FIALLO-OLIVÉ & SÁNCHEZ-CAMPOS, 2011; MARUBAYASHI *et al.*, 2010, ICTV, 2011).

*Bemisia tabaci* consiste em um complexo de espécies crípticas em que não há diferenças morfológicas entre elas, somente em relação a características comportamentais, aos organismos endossimbiontes que elas abrigam e a eficiência com que são capazes de transmitir vírus (LIU *et al.*, 2013; VAN BRUNSCHOT *et al.*, 2014). A partir de 1980, dois

biótipos foram amplamente disseminados (*B. tabaci* biótipo B, atualmente denominado de Middle East Asia Minor 1 -MEAM1 e *B. tabaci* biótipo Q, atualmente Mediterranean -MED) e acredita-se que por consequência, tenha elevado o número de viroses no mundo (VAN BRUNSCHOT *et al.*, 2014).

No Brasil, o biótipo B (=MEAM1) foi introduzido em 1990 e desde então tem se mostrado como importante praga em hortícolas. À essa maior colonização, tem sido associada a ampla disseminação de viroses pelo mundo, tendo em vista que essas moscas além de serem vetores, podem apresentar elevada resistência à inseticidas (BALDIN *et al.*, 2005; VAN BRUNSCHOT *et al.*, 2014).

O controle químico da mosca branca no tomateiro apresenta hoje, no Brasil, 17 produtos registrados, sendo que a maioria deles pertence à classe dos neonicotinóides ou ainda, misturas de piretróides com neonicotinóides (MAPA, 2014). Segundo Baldin *et al.* (2005), o emprego de inseticidas consiste em um método muito utilizado para o controle da mosca branca, embora esse possa promover alterações ambientais e ocasionar perda da diversidade de insetos e demais artrópodes, bem como induzir a resistência aos produtos pelos indivíduos alvos. Neste contexto, alguns estudos vêm sendo conduzidos para que se possa agregar a esse manejo atualmente adotado, a resistência genética da hospedeira à *Bemisia tabaci*.

A mosca branca apresenta preferência por folhas com tricomas às glabras para realizar a oviposição, porém o tipo do tricoma pode afetar a densidade populacional e sobrevivência do inseto nos diferentes estádios fisiológicos, pois em alguns há a liberação de substâncias capazes de repelir ou matar pragas. Espécies selvagens como *S. pennellii*, *S. habrochaites*, *S. habrochaites f. glabratum*, *S. pimpinellifolium* e *S. chilense* têm apresentado diferentes níveis de resistência ao inseto, a depender de suas características morfofisiológicas intrínsecas (FIRDAUS *et al.*, 2012).

Uma alternativa de controle das doenças causadas por begomovírus é o emprego de fontes de resistência de amplo espectro e duráveis ao vírus e/ou ao vetor, que podem ser obtidas em banco de germoplasma de solanáceas. De fato, vários genes de resistência a *Begomovirus* tais como o *Ty-1*, *Ty-2*, *Ty-3*, *Ty-4*, *Ty-5*, *ty-5*, *tcm-1* e *tgr-1* foram introgrididos em *S. lycopersicum* a partir de acessos de espécies selvagens (PEREIRA-CARVALHO *et al.*, 2010).

Assim, esse trabalho teve como objetivo a busca de fontes de resistência à mosca branca e ao ToCMoV em berinjela (*S. melongena*).

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. A berinjela e os vírus que infectam a cultura

A berinjela (*Solanum melongena* L.) é uma olerícola originária do Oriente e Ásia que foi levada aos países europeus ainda na Idade Média e passou a ser amplamente produzida pelo mundo, principalmente, em regiões tropicais onde encontra condições climáticas ideais para seu desenvolvimento (FILGUEIRA, 2012). O consumo dessa solanácea apresentou certa elevação após serem atribuídas à ela características fitoterápicas para o combate à hipercolesterolemia (ANTONINI *et al.*, 2002).

De acordo com os dados do Censo Agropecuário, no Brasil, em 2006, a cultura apresentou uma produção de, aproximadamente, 72 mil toneladas composta basicamente por híbridos, pois são plantas capazes de expressar maior uniformidade, produtividade, além da capacidade de tolerarem melhor o ataque de pragas e doenças (ANTONINI *et al.*, 2002; FAO, 2012; IBGE, 2006). Em 2012, a China apresentou a maior produção, acima de 28 milhões de toneladas, seguida pela Índia e o Irã.

Apesar de apresentar-se, de modo geral, como uma planta consideravelmente rústica, no Brasil, há relatos de microrganismos causadores de murchas e podridões (*Phytophthora* spp., *Sclerotinia sclerotiorum* e *Ralstonia solanacearum*), galhas (*Meloidogyne* spp.) e vira cabeça (vírus do gênero *Tospovirus*) (REIS *et al.*, 2011).

Há relatos de que a berinjela pode ser acometida por diversos vírus, tanto de DNA, como de RNA, sendo que os de RNA encontram-se classificados nos seguintes gêneros: *Carlavirus*, *Cucumovirus*, *Potyvirus*, *Tobamovirus*, *Tymovirus* e são responsáveis pelo surgimento de mosaicos. O gênero *Potyvirus* apresenta as seguintes espécies: *Tobacco etch virus*, *Potato virus Y*, *Pepper veinal mottle virus*, *Brinjal mild mosaic virus*, *Eggplant green mosaic virus* e *Eggplant severe mottle virus* (SADEGHI *et al.*, 2008).

Apesar de sua alta suscetibilidade à mosca branca, até pouco tempo acreditava-se não haver infecção por *Begomovirus* em *S. melongena*. O primeiro relato da associação de um vírus pertencente ao gênero à doença do mosaico amarelo da berinjela (Eggplant yellow mosaic disease - EYMD) ocorreu na Tailândia, porém a etiologia viral não satisfaz as regras do postulado de Koch (PRATAP *et al.*, 2011).

Após a investigação de sintomas associados com a presença da mosca branca em campos da cultura na Índia, entre 2009 e 2010, pesquisadores sugerem que a infecção presente deve-se a uma variante do vírus bipartido *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV), TLCNDV-IN. O ToLCNDV tem sido relatado infectando cucurbitáceas, batata, mamão, algodão e pimentão em países como Bangladesh, Tailândia, Paquistão e Índia (PRATAP *et al.*, 2011).

Venkataravanappa *et al.* (2014) relataram pela primeira vez a incidência do que acreditam ser uma variante de um *Begomovirus* monopartido, *Tomato leaf curl Joydebpur virus* (ToLCJoV) em associação com um betassatélite sobre plantas de berinjela ocasionando o enrolamento das folhas (BRIDDON *et al.*, 2010).

## **2.2. A família *Geminiviridae***

A família *Geminiviridae* passou a apresentar uma maior importância na década de 1990, quando houve uma expansão dos relatos da ocorrência de espécies de *Begomovirus* infectando diversas culturas, como tomate, algodão e mandioca em países da América do Sul e Central, África, Europa, Índia e Paquistão. Em 1991, somente no estado da Flórida, EUA, os prejuízos ocasionados por essas viroses na cultura do tomate foram estimados em \$140 milhões (MOFFAT, 1999).

As espécies virais classificadas na família *Geminiviridae* podem apresentar genoma monopartido ou bipartido, ou seja, contendo uma ou duas moléculas de DNA circular fita simples (*single strand* DNA - ssDNA) com 2,5 a 3,0 kilobases (kb). As partículas são geminadas e possuem o formato icosaédrico, com dimensões de 22 x 38 nm. Por apresentarem capacidade de codificar poucos genes, esses vírus possuem alta dependência dos mecanismos celulares das plantas monocotiledôneas ou dicotiledôneas hospedeiras (BRIDDON & STANLEY, 2009; ICTV, 2011).

As espécies virais dessa família são transmitidas por insetos que ao se alimentarem, inserem na planta o vírus. Após o processo de desencapsidação, o ácido nucleico, já no núcleo da célula inicia o processo replicativo. Primeiramente, o DNA é super-helicoidado assumindo conformação de fita dupla (*double strand* DNA – dsDNA) que, em seguida, é amplificado por meio de círculo-rolante. Essa etapa ocorre por meio do reconhecimento entre proteínas



iniciadoras e uma região intergênica (*intergenic region* – IR) (TAATATTAC). Por fim, ocorre a produção e encapsidação de novos genomas de fita simples (GUTIERREZ, 1999). Os vírus classificados na família eram, inicialmente, agrupados de acordo com as hospedeiras, o inseto vetor, e sua organização genômica em quatro gêneros: *Begomovirus*, *Curtovirus*, *Mastrevirus* e *Topocuvirus*.

Devido ao emprego da técnica de amplificação em círculo-rolante com a enzima polimerásica  $\phi$ 29, sequenciamento em larga escala e o reduzido tamanho dos genomas virais, várias amostras podem, hoje, ser processadas rapidamente, o que tem contribuído para a crescente caracterização de novas espécies. Estas informações novas propiciaram o estabelecimento de três gêneros: *Becurtovirus*, *Eragrovirus* e *Turncurtovirus*. De um modo geral *Becurtovirus* e *Turncurtovirus* infectam dicotiledôneas e *Eragrovirus*, monocotiledôneas e apenas o *Turncurtovirus* apresenta a mesma região intergênica conservada para *Begomovirus*, *Curtovirus*, *Mastrevirus* e *Topocuvirus* (VARSANI *et al.*, 2014a).

Vírus classificados no gênero *Curtovirus* já estavam associados aos sintomas encontrados em beterrabas desde relatos feitos em 1800. A espécie tipo deste gênero é *Beet curly top virus* (BCTV) que apresenta uma ampla gama de hospedeiras com mais de 300 espécies em 44 famílias botânicas. Espécies do gênero caracterizam-se por possuírem um genoma composto por 2,8 a 3,0 kb em uma só molécula de ssDNA, transmitidos por *Circulifer tenellus* para dicotiledôneas. No sentido viral estão os genes que codificam a capa proteica (cp), gene regulatório (V2) e proteína de movimento (mp), enquanto no sentido complementar são quatro ORFs para proteína de replicação (Rep), proteína supressora de silenciamento (C2), proteína potencializadora da replicação (REn) e gene relacionado a expressão dos sintomas (C4) (VARSANI *et al.*, 2014b).

As cigarrinhas (*Cicadulina mbila*: Cicadellidae) são os vetores das espécies do gênero *Mastrevirus* que possui o *Maize streak virus* (MSV) como espécie tipo. O genoma destes vírus é monopartido e apresenta duas regiões intergênicas opostas de tamanhos distintos (LIR: *large intergenic region* e SIR: *small intergenic region*). A proteína de movimento e capa proteica são codificadas no sentido viral, enquanto, RepA e Rep são codificadas no sentido complementar (GUTIERREZ, 1999). Grande parte das plantas infectadas são monocotiledôneas, geralmente da família Poaceae, porém o *Bean yellow dwarf virus* (BeYDV), *Tobacco yellow dwarf virus* (TYDV) e o candidato *Chikpea chlorotic dwarf virus*

(CpCDV) possuem dicotiledôneas como hospedeiras (BRIDDON & STANLEY, 2009; ICTV, 2011).

A inclusão do gênero *Topocuvirus* na família foi aceita pelo ICTV em 1999, apresentando o *Tomato pseudo curl top virus* (TPCTV) como única espécie. Sua transmissão para dicotiledôneas se dá por meio do membracídeo *Micrutalis malleifera*. Seis proteínas semelhantes às codificadas pelos *Begomovirus* monopartidos são comuns ao gênero, o que leva a crer que tenha havido um evento de recombinação culminando com a diferenciação entre esses vírus, refletindo na especificidade do vetor (FAUQUET & STANLEY, 2005; ICTV, 2011).

As espécies *Beet curly top Iran virus* (BCTIV) e *Spinach curly top Arizona virus* (SCAV) estão classificadas no novo gênero *Becurtovirus* e apresentam uma IR diferenciada dos demais gêneros da família, “TAAAGATTCC”. Os isolados de BCTIV foram encontrados no Irã em plantas de vigna, tomate, feijão e acelga. SCAV foi caracterizada em plantas de espinafre no Arizona, EUA (VARSANI *et al.*, 2014a).

*Eragrostis curvula streak virus* é a única espécie reconhecida de *Eragrovirus* descrita na África do Sul ocasionando doenças em *Eragrostis curvula* (monocotiledônea) e apresenta a mesma IR do gênero *Becurtovirus* (VARSANI *et al.*, 2014a).

Hoje, aceitos pelo ICTV e classificados no gênero *Turncurtovirus*, são 20 isolados do *Turnip curly top virus* relatados infectando *Brassica rapa* *Raphanus sativus* e todos possuem a mesma região intergênica conservada para *Begomovirus*, *Curtovirus*, *Mastrevirus* e *Topocuvirus* (TAATATTAC) (Varsani *et al.*, 2014a).

## **2.3. O gênero *Begomovirus***

### **2.3.1. Histórico dos *Begomovirus* monopartidos e bipartidos no Brasil e no mundo**

Dentre os gêneros da família *Geminiviridae*, o *Begomovirus* é o que apresenta maior número de espécies caracterizadas infectando dicotiledôneas em regiões tropicais e subtropicais (Briddon & Stanley, 2009; ICTV, 2011). As espécies podem ser classificadas, segundo a localidade de ocorrência, filogenia e tipo de genoma, em espécies do “Velho Mundo” e do “Novo Mundo” (Rocha *et al.*, 2013).

A transmissão desses vírus se dá por meio da mosca branca, *Bemisia tabaci* (Família Aleyrodidae) e está relacionada com uma série de doenças em plantas de importância econômica como mandioca, pimenta, algodão, tomate e feijão. As duas últimas apresentam-se como as culturas mais afetadas nos plantios brasileiros. A produção da cultura do tomate, em especial, tem apresentado sérias limitações nas Américas, devido ao fato de apresentar-se suscetível a muitas begomoviroses (Castillo-Urquiza *et al.*, 2008; Galvão *et al.*, 2003; Rocha *et al.*, 2013).

Na década de 1980 houve uma ampla disseminação tanto em regiões tropicais, como subtropicais de viroses que antes eram encontradas somente em plantas não cultivadas. Tal incidência foi associada à ampla propagação de moscas-brancas de um novo biótipo, *B. tabaci* biótipo B = *B. tabaci* Middle East Asia Minor 1 (MEAM1), caracterizadas por serem extremamente polífagas e resistentes à inseticidas (MORIONES & NAVAS-CASTILLO, 2000).

No Brasil, o *Tomato golden mosaic virus* (TGMV) foi reportado pela primeira vez por Flores *et al.* (1960) e caracterizado por Matyis *et al.* (1975). O TGMV era o único *Begomovirus* infectando tomate até 1990, quando então o biótipo B da *B. tabaci* foi introduzido no país, culminando em massivas infecções nessa cultura (RIBEIRO *et al.*, 2007). Devido à baixa capacidade do biótipo A (que prevalecia no país até 1990) em transmitir o TGMV, a infecção por esse vírus não apresentava-se como uma doença de grande importância econômica (ANDRADE *et al.*, 2006).

Hoje, no Brasil, são onze as espécies pertencentes ao gênero identificadas infectando naturalmente tomateiros: *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV), *Tomato common mosaic virus* (ToCmMV), *Tomato golden mosaic virus* (TGMV), *Tomato golden vein virus* (TGVV), *Tomato interveinal chlorosis virus* (ToICV), *Tomato mild mosaic virus* (ToMIMV), *Tomato mottle leaf curl virus* (TMoLCV), *Tomato yellow spot virus* (ToYSV), *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV), *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV) e *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) (AGUILERA *et al.*, 2014).

Dentre todos esses vírus somente alguns têm demonstrado maior frequência nas infecções no campo como, o ToSRV, ToYVSV, ToCmMV e ToCMoV na região sudeste brasileira (AGUILERA *et al.*, 2014). Além de ocasionar doenças no tomate, muitas espécies, como ToYSV, ToRMV e ToCMoV, possuem plantas não cultivadas e selvagens como

hospedeiras alternativas, a exemplo: *Nicandra physaloides*, *Solanum nigrum* e *Datura stramonium* (ROCHA *et al.*, 2013).

A espécie viral ToCMoV ainda não havia sido relatado no Rio de Janeiro e Distrito Federal, até que em 2004, isolados foram caracterizados infectando *S. lycopersicum* do tipo mesa. Sua primeira identificação na região nordeste brasileira veio há ocorrer três anos mais tarde, caracterizando assim a primeira ocorrência de um *Begomovirus* na área (RIBEIRO *et al.*, 2007).

Rocha *et al.* (2013) reiteraram a importância da infecção por vírus característicos de plantas daninhas como o *Sida mottle virus* (SiMoV) e *Sida micranta mosaic virus* (SimMV) em tomate. Tais ocorrências podem ser justificadas pela capacidade desses vírus se adaptarem rapidamente à hospedeiras cultivadas por meio de mecanismos de evolução característicos de membros da família *Geminiviridae* como recombinação, deriva genética e principalmente, mutação. As taxas de recombinação ou pseudorecombinação viral das espécies podem ser explicadas pelo fato dessas viroses apresentarem um único inseto como vetor e poderem estar frequentemente associadas em infecções mistas, com pelo menos duas espécies em um mesmo indivíduo hospedeiro.

### **2.3.2. A organização genômica dos *Begomovirus***

Os *Begomovirus* bipartidos do “Novo Mundo”, possuem um genoma com dois componentes, A e B, de aproximadamente 2,6 kb cada. Entre as moléculas, há em comum uma região (*common region*, CR) de aproximadamente 200 pares de bases contendo inclusive a sequência conservada dentre alguns membros da família, “TAATATTAC”. Essa CR conservada é o que garante que haja a replicação das duas moléculas de DNA pela proteína de replicação codificada pelo componente A, a Rep. O DNA-A tem a capacidade de se replicar sozinho, porém necessita do DNA-B para que seja transportado por movimentos de curta e longa distância (BRIDDON *et al.*, 2010; GUTIERREZ, 1999; ICTV, 2011).

O componente A pode codificar até seis proteínas. No sentido viral, na ORF AV1, é codificada a proteína da capa proteica que é necessária para a transmissão pelo vetor, enquanto no sentido complementar estão as ORFs AC1, AC2 e AC3 que possuem genes para a expressão das proteínas Rep, TrAP e REn, respectivamente. A Rep consiste numa sequência de DNA que se liga especificamente na região comum dos DNAs A e B. A TrAP é um fator

de transativação necessário para que a capa proteica e a proteína de movimentam sejam formadas. A REn é uma potenciadora da acumulação viral (GALVÃO *et al.*, 2003).

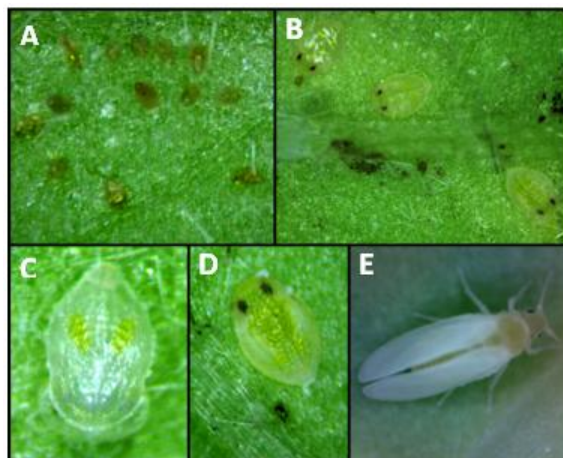
No componente B estão as ORFs BV1 e BC1 nos sentidos viral e complementar, respectivamente. A primeira possui o gene que codifica a proteína de movimento núcleo-citoplasma (*nuclear shuttle protein*, Nsp) enquanto a segunda, apresenta o gene que codifica a proteína de movimento, capaz de permitir a passagem pelos plasmodesmas (GUTIERREZ, 1999; ICTV, 2011).

As espécies monopartidas do gênero apresentam um genoma de aproximadamente 2,8 kb, com duas ORFs no sentido viral, V1 e V2, que possuem genes capazes de expressarem a proteína capsidial e pré-capsidial. No sentido complementar encontram-se C1, C2, C3 e C4 que codificam Rep, TrAP, REn e C4. A última está relacionada com movimento viral e a expressão dos sintomas que consistem em abortos florais, bordos dos folíolos curvados para cima, nanismo, além do amarelecimento que surge nos folíolos mais novos (MORIONES & NAVAS-CASTILLO, 2000).

#### **2.4. A mosca branca (*Bemisia tabaci*) como inseto praga e vetor e aspectos acerca de seu controle**

A mosca branca, *Bemisia tabaci* Gennadius é um inseto classificado na ordem Hemiptera, família Aleyrodidae caracterizado por medir de 1 a 2 mm, possuir corpo amarelo e asas brancas e apresentar certo dimorfismo sexual. As fêmeas dessa espécie são maiores que os machos e capazes de ovipositar até 300 ovos por ciclo, a depender das condições ambientais como disponibilidade de alimento e temperatura (VILLAS BÔAS & BRANCO, 2009).

Os ovos são depositados na face abaxial das folhas, geralmente agrupados. Após a eclosão os estádios sucessores são os ninfais de 1º, 2º, 3º e 4º instares e por fim, a fase adulta (**Figura 1**). Somente os adultos são capazes de migrar entre plantas, por meio de vos curtos para plantas situadas nas proximidades, ou vos longos auxiliados pelos ventos (VILLAS BÔAS & BRANCO, 2009).



**Figura 1.** Fases do desenvolvimento do vetor *Bemisia tabaci*, em que (A) ovos, (B) (C) ninfas de diferentes ínstares, (D) ninfa de 4º ínstar e (E) adulto (Fotos: E.I. Nogueira e A-D: C.A. Souza)

*B. tabaci* tem sido caracterizada como inseto-praga e vetor de viroses em diversas culturas, inclusive plantas ornamentais. As observações da associação entre os danos em culturas cultivadas nos EUA e em Israel e a presença da mosca branca ganhou forças em 1980 e após esse período, sua disseminação já foi constatada em todo o mundo, exceto na Antártica (DE BARRO *et al.*, 2005).

Segundo Liu *et al.* (2013) muito se questionou acerca da possibilidade da *B. tabaci* representar um grupo de espécies ou uma espécie complexa. Hoje, o que se sabe é que há um complexo contendo 28 espécies crípticas que não diferem morfológicamente entre si e sendo assim, a diferenciação entre esses diversos biótipos pode ser feita no âmbito genético, comportamental, na eficiência como vetor, além da colonização por endossimbiontes (VAN BRUNSCHOT *et al.*, 2014).

Em muitas regiões do mundo, a presença dos biótipos naturais de *B. tabaci* tornou-se menos significativa a partir da entrada de outros dois, *B. tabaci* Middle East Asia Minor 1 (MEAM1 ou antigo biótipo B) e *B. tabaci* Mediterranean (MED ou antigo biótipo Q) (VAN BRUNSCHOT *et al.*, 2014).

No Brasil, o biótipo B (hoje denominado de MEAN) foi introduzido em 1990 e desde então tem se mostrado como importante praga em hortícolas, sendo responsável tanto pelos danos diretos ocasionados por sua alimentação, como os indiretos pela transmissão de espécies de *Begomovirus* que ocasionam clorose, nanismo, amarelecimento, mosaico e alterações na conformação foliar (BALDIN *et al.*, 2005; MICHEREFF-FILHO *et al.*, 2012).

Por apresentar hábito alimentar sugador, o inseto insere seu aparelho bucal nos tecidos de sua hospedeira de modo a alcançar a seiva elaborada e desse modo, ocasiona uma depauperação da planta. Além da sucção, a mosca branca pode estimular o crescimento de fumagina devido à substância açucarada por ela liberada e, conseqüentemente reduzir a área fotossintética. Apesar disso, os danos indiretos são os que mais afetam as culturas, tendo em vista que as viroses são capazes de reduzir significativamente a produção (BALDIN *et al.*, 2005).

A mosca branca apresenta um grande número de hospedeiras, mais de 300 espécies, cultivadas ou não, em regiões tropicais e subtropicais. A maioria das plantas hospedeiras encontra-se nas famílias: Euphorbiaceae, Solanaceae, Malvaceae, Fabaceae e Compositae. (MICHEREFF-FILHO *et al.*, 2012; SOTTORIVA *et al.*, 2014).

Estratégias de controle para esse inseto podem consistir no emprego de táticas que visem a prevenção como rotação de culturas, controle de plantas daninhas, manejo de restos culturais, alqueive e resistência (SOTTORIVA *et al.*, 2014). As plantas podem apresentar mecanismos de defesa contra outros organismos, como por exemplo, aqueles regulados por genes como o *Mi-1* que pode conferir às plantas de tomate maior tolerância a *Meloidogyne spp.*, *B. tabaci* e ao pulgão *Macrosiphum euphorbiae* (ORIANI *et al.*, 2011).

De acordo com Fridaus *et al.* (2012) compostos como derivados de ácido carboxílico sesquiterpeno, metil-cetonas e acilacúcares são liberados pelos tricomas do tipo IV e VI e, em conjunto com a quantidade desses 'pêlos' pela área foliar, são responsáveis pela resistência da planta à mosca branca. Plantas com essas características apresentam-se desfavoráveis para a forma adulta do inseto e conseqüentemente, para a taxa de oviposição.

Para os tomates, alguns acessos com certo grau de resistência a *B. tabaci* já foram encontrados em *S. habrochaites*, *S. pennellii*, *S. pimpinellifolium* e *S. chilense* (FRIDAUS *et al.*, 2012). Outro exemplo é a linhagem ABL14-8 que possui genes introgrididos de *S. pimpinellifolium* e tricomas do tipo IV, culminando em uma menor eficiência na alimentação do vetor (RODRÍGUEZ-LÓPEZ *et al.*, 2012).

## **2.5. Genes de resistência e o controle das begomoviroses monopartidas e bipartidas no tomateiro**

Em resposta à ação de patógenos, as plantas podem apresentar diversos mecanismos de defesa, dentre os quais merecem destaque aqueles mediados por genes de resistência, como o locus *I* para resistência ao *Potyvirus Bean common mosaic virus* (BCMV), *Rx2* para o *Potexvirus Potato virus X* (PVX) e *Sw-5* que confere a resistência do tomateiro a *Tospovirus*. Nesse tipo de mecanismo, ocorre o reconhecimento do agente etiológico por fatores genéticos da hospedeira e uma reação de hipersensibilidade é desencadeada, culminando com a morte das células infectadas (VERLAAN *et al.*, 2013).

Sabendo-se que a dispersão e estabelecimento de patógenos bem como a variabilidade de isolados virais podem mostrar diferenças significativas com relação a áreas demográficas distintas, uma fonte de resistência viável em uma localidade pode não ser em outra. Além disso, é de grande valia a piramidização de genes de resistência para que se alcance um efeito mais duradouro, tendo em vista que essa técnica implica em um maior acúmulo de diversidade de genes (PICÓ *et al.*, 2000).

No caso da cultura do tomateiro que apresenta espécies de *Begomovirus* capazes de causar grandes perdas na produção e, devido às dificuldades em se controlar o vetor *B. tabaci*, o desenvolvimento de plantas resistentes ou tolerantes torna-se uma alternativa viável (BIAN *et al.*, 2007).

*Solanum chilense*, *S. pimpinellifolium*, *S. peruvianum* e *S. habrochaites* são tomates selvagens que têm sido testados em busca de tolerância e resistência a *Begomovirus*. Diferentes níveis de resposta têm sido encontrados nestas espécies selvagens de tomate (ZAMIR *et al.*, 1994). Além das espécies acima citadas, *S. habrochaites* também tem apresentado resistência em experimentos conduzidos em condições controladas e em campo, no Brasil (GIORDANO *et al.*, 2005; PEREIRA-CARVALHO *et al.*, 2010).

Ao avaliar populações de *S. chilense* em relação ao monopartido *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), Zamir *et al.* (1994) constataram a presença de um gene de dominância parcial no cromossomo 6, o *Ty-1*, que confere ao tomate selvagem um fenótipo de tolerância. Ao ser introgridido no tomate cultivado, o gene demonstrou ser uma boa alternativa para o controle de TYLCV em Israel e na Europa (BOITEUX *et al.*, 2007).

Alguns genes responsáveis por conferir resistência a espécies de *Begomovirus* têm sido descritos além do *Ty-1*, como *Ty-2*, *Ty-3*, *Ty-4*, *Ty-5*, *tcm-1*, *tgr-1* e *ty-5* (ANBINDER *et al.*, 2009, BIAN *et al.*, 2007, GIORDANO *et al.*, 2005, HANSON *et al.*, 2006, HANSON



*et al.*, 2000, *JI et al.*, 2007, *JI & SCOTT*, 2006, *JI et al.*, 2009, *LATERROT*, 1995, *MAXWELL*, 2009, *NAKHLA et al.*, 2004, *ZAMIR et al.*, 1994).

Alguns destes genes já foram mapeados, como é o caso de *Ty-2*, mapeado no cromossomo 11 de *S. habrochaites* conferindo resistência a isolados de TYLCV em Taiwan e na Índia, enquanto o *Ty-3* foi introgridido no *S. lycopersicum* a partir de *S. chilense* apresentando efeito sobre TYLCV e tolerância a *Begomovirus*, nos EUA em tomate (*GIORDANO et al.*, 2005; *PEREIRA-CARVALHO et al.*, 2010).

Em 2005, o *tcm-1* foi relatado na linhagem ‘TX468-RG’ derivada do híbrido de tomate ‘Tyking’ conferindo resistência a *Begomovirus* bipartidos no Brasil, como o *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) (*GIORDANO et al.*, 2005). Um alelo recessivo *tgr-1* também foi relatado em 2007 numa linhagem (FLA653) oriunda de cruzamento entre *S. chilense* e ‘Tyking’ conferindo resistência por impedir a movimentação viral do *Begomovirus* monopartido *Tomato leaf curl virus* (TLCV) (*BIAN et al.*, 2007).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Manutenção da casa das moscas avirulíferas e virulíferas utilizadas nos ensaios.

As moscas-brancas (*Bemisia tabaci* MEAM1) foram mantidas em duas casas de vegetação na Estação Experimental de Biologia, Universidade de Brasília. Uma delas destinou-se à criação de moscas avirulíferas em plantas de repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*) e a outra à criação de moscas virulíferas (*Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV) em tomate (*Solanum lycopersicum* cv. Santa Clara)

Em ambas as casas de vegetação os cuidados adotados visavam eliminar oídio, bem como insetos predadores e parasitóides com o intuito de manter uma elevada população de moscas. Além disso, frequentemente plantas velhas de tomate e repolho eram substituídas por plantas novas.

#### 3.2. Busca de fontes de resistência ao vetor *Bemisia tabaci* no germoplasma de *Solanum melongena*

Ao todo 30 acessos de *S. melongena* (cedidos pelo pesquisador Leonardo Silva Boiteux) provenientes do Banco de Germoplasma de Berinjela da Embrapa Hortaliças (BGB-CNPH) foram testados quanto à resistência a mosca branca em três ensaios realizados em casas de vegetação em períodos diferentes, sendo um em agosto e dois em outubro de 2013.

No primeiro ensaio, testaram-se 10 acessos (CNPH 405, CNPH 406, CNPH 410, CNPH 432, CNPH 439, CNPH 443, CNPH 451, CNPH 462, CNPH 472 e CNPH 474) e nos outros dois, 12 (CNPH 63, CNPH 64, CNPH 66, CNPH 69, CNPH 71, CNPH 83, CNPH 112, CNPH 124, CNPH 127, CNPH 131, CNPH 139 e CNPH 156) e 8 (CNPH 73, CNPH 84, CNPH 88, CNPH 113, CNPH 125, CNPH 143, CNPH 148 e CNPH 155) acessos todos comparados com o controle suscetível ao vírus e ao vetor, tomate ‘Santa Clara’.

Os acessos avaliados no primeiro ensaio, bem como os tomates de todos os ensaios foram semeados em vasos contendo 30 sementes cada e após 45 dias, as plântulas foram transplantadas para bandejas de isopor de 128 células.

No mês de outubro de 2013, as sementes de outros dois grupos foram primeiramente tratadas com solução de hipoclorito a 1% e posteriormente, semeadas em *gerbox* com solução de nitrato de potássio 0,2%, conforme as Regras de Análise de Sementes (RAS) 2009. As sementes foram mantidas em câmara de germinação com ventilação e temperatura média de

28°C até o transplante para bandejas que ocorreu em novembro. Este procedimento foi adotado visando quebrar qualquer possível dormência fisiológica e obter uma maior uniformidade da germinação das sementes.

O delineamento experimental utilizado para inoculação foi em blocos casualizados (DBC) com três repetições e a parcela experimental adotada variou de 2 a 4 plantas, a depender do ensaio em questão. As bandejas foram colocadas na casa de vegetação com moscas virulíferas do biótipo B, entre vasos com tomateiros previamente inoculados e mantidos com ToCMoV, conforme ilustrado na **Figura 2**.



**Figura 2.** Casa de vegetação destinada à criação de moscas (*Bemisia tabaci*) virulíferas (*Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV), em tomateiro (*Solanum lycopersicum* cv Santa Clara) com bandejas de isopor com acessos de berinjela (*Solanum melongena*).

Após o período de inoculação de 21 dias, coletou-se a 2ª folha do ápice de cada planta para realização de contagem do número total de ovos; ninfas de 1º, 2º e 3º ínstaes; ninfas de 4º ínstar de adultos situados na face abaxial das folhas, pois de maneira geral, *B. tabaci* assim como outros insetos da ordem Hemiptera, apresenta preferência por se estabelecer nessa face foliar (RODRÍGUEZ-LÓPEZ *et al.*, 2012).

Os dados gerados foram transformados para raiz quadrada de  $x+0,5$  a fim de satisfazer os pressupostos da análise de variância e em seguida, analisados pelo programa SAS, 2002.

### **3.3. Busca de fontes de resistência ao vírus *Tomato chlorotic mottle virus* no germoplasma de *Solanum melongena***

Após os 21 dias de inoculação, as plantas testadas para resistência ao vetor tiveram suas folhas coletadas e então foram pulverizadas com Imidacloprid. Posteriormente, as plantas foram transplantadas para vasos com solo e então, mantidas em uma casa de vegetação livre de moscas, dispostas em delineamento inteiramente casualizado.

Avaliações de sintomas foram realizadas aos 7, 14, 21, 28, 35, 60 e 120 dias após inoculação e a detecção viral foi verificada por meio de *Tissue Print* de cada planta no 35º dia, bem como dos controles positivos tomate ‘Santa Clara’.

As membranas foram submetidas à luz UV para uma melhor fixação dos ácidos nucleicos a 700x100 uJ/cm<sup>2</sup> e, posteriormente foram pré hibridizadas com tampão ultrasensível (ULTRAhyb, Life Tech) por 1 hora a 65°C. Para a hibridização utilizou-se uma sonda fria produzida por meio de reação de PCR contendo os primers Cp1 (CCC-GTC-GAC-ATG-YCT-AAG-MGK-GAK-GCC-CC) e Cp2 (CCC-CTG-CAG-AAC-TTC-CAA-GTC-TGG-ACG) que amplificam 820 pb. A hibridização foi realizada por 14 horas, a 65°C.

Após a hibridização procedeu-se as lavagens de baixa e alta estringência com 2xSSC 0,1%SDS por 5 minutos e 0,1xSSC 0,1%SDS por 15 minutos, respectivamente. Depois que a solução foi descartada adicionou-se o tampão de bloqueio (leite em pó 10% em tampão ácido maleico) e agitou-se por 1 hora a temperatura ambiente.

A solução foi descartada e um novo tampão de bloqueio foi adicionado contendo 1uL do anticorpo marcado com digoxigenina (Anti-DIG-AP) para cada 10 mL do tampão. Depois de 1 hora sob agitação e a temperatura ambiente, realizou-se três lavagens com o tampão de lavagem por 10 minutos cada.

Para a detecção de ácidos nucleicos nas amostras inicialmente, a membrana foi equilibrada com o tampão de detecção (pH 9,5) A temperatura ambiente e posteriormente, acrescentou-se NBT BCIP na seguinte proporção: 60uL de NBT e 35 uL de BCIP para cada 10 mL de solução. A revelação ocorreu no escuro sob agitação por cerca de 1 hora.

As mesmas membranas foram tratadas com Tris-HCl 1 M pH 7.4 por 5 min e SSC 2 X por 5 min e procedeu-se uma hibridização com sonda radioativa. A pré-hibridização foi feita com tampão Church a 55°C. A sonda utilizada apresenta especificidade para uma região do DNA-A, marcada radioativamente com  $\alpha^{32}\text{PdCTP}$ , além do kit Redprime II Labeling System da GE healthcare.

Após a hibridização procedeu-se com as lavagens de baixa e alta estringência com 2xSSC 0,1%SDS e 0,1xSSC 0,1%SDS, respectivamente. Ao fim, as membranas passaram por exposição em Imaging plate BAS-MS e então pelo BioImaging Analyser FLA 3000, para serem analisadas.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

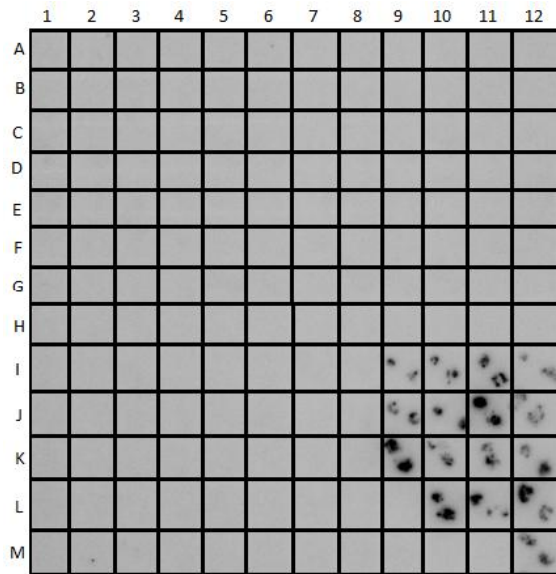
Nos ensaios de resistência conduzidos com os 30 genótipos de *S. melongena* ao ToCMoV, por todo o período de avaliações (120 dias) não foram observados sintomas característicos de infecção viral, entretanto foram nítidas pontuações amarelcidas na face adaxial correspondendo a ninfas na face abaxial (ocasionadas pela alimentação dos insetos, inclusive, ninfas, **Figura 3**).

Já a cultivar de tomate ‘Santa Clara’ (utilizada como controle positivo da inoculação) apresentou o desenvolvimento de sintomas a partir do 14º dia, o que permitiu comprovar visualmente a eficácia da inoculação viral via vetor. Inicialmente, surgiu o amarelecimento das folhas e posteriormente, deformações como enrugamento dos folíolos, sintomas esses que assim como o amarelecimento internerval, mosaico dourado, clorose e nanismo, podem ser característicos de infecções por *Begomovirus* (INOUE-NAGATA *et al.*, 2006; MICHEREFF-FILHO *et al.*, 2012).



**Figura 3.** Plantas de *Solanum melongena* livres de sintomas e *Solanum lycopersicum* (‘Santa Clara’) sintomáticas, 60 dias após inoculação com *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV).

Além da ausência de sintomas, os acessos de berinjela também não apresentaram resultados positivos na hibridização de ácidos nucleicos. A detecção viral só se mostrou positiva para os controles de plantas de tomateiros que foram inoculados em conjunto com as berinjelas e para os controles externos (tomates da mesma variedade sabidamente infectados pelo vírus). Esses resultados positivos confirmam a eficiência da inoculação realizada pelos insetos e podem ser visualizados na forma de pontuações negras nas membranas, na **Figura 4**.



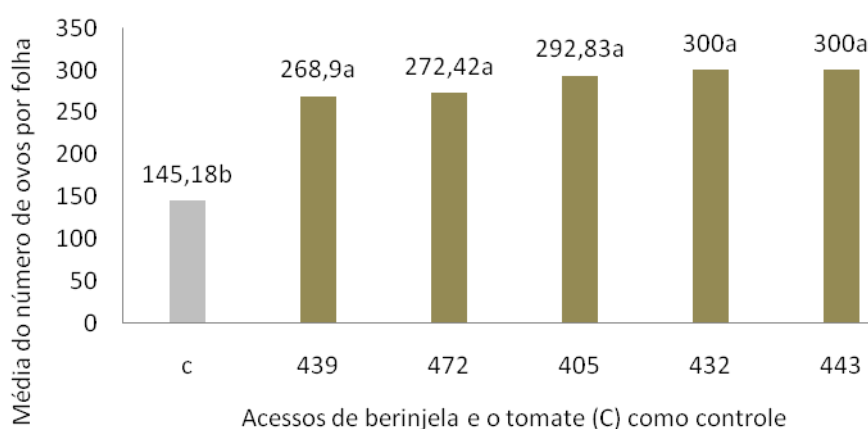
**Figura 4.** Resultado da hibridização do teste de inoculação com *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) via vetor, em *Solanum melongena* e *S. lycopersicum*. Em que foram avaliados 12 acessos de berinjela e 17 plantas de tomate 'Santa Clara', sendo 14 pertencentes ao controle interno (I, J e K 9-12 e L 10-11) e dois caracterizados como controles externos (L e M 12).

Plantas de berinjela apresentando sintomas de mosaico amarelo foram observadas na Índia em 2009 e, posteriormente analisadas quanto ao agente causal. Um isolado do vírus foi sequenciado e após satisfazer os postulados de *Koch*, comprovou-se tratar-se do *Begomovirus* bipartido *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV). Esta espécie, ToLCNDV detectada em berinjela, foi clonada e, posteriormente agroinfiltrada, apresentando sintoma típico de mosaico após 60 e 45 dias nas berinjelas e tomates sadios, respectivamente (PRATAP *et al.*, 2011).

No presente trabalho, não se detectou sintomas ou acumulação viral de ToCMoV na berinjela. Com base no pressuposto de que para outros 45 genótipos pertencentes ao Banco de Germoplasma de Berinjela da Embrapa CNPH testados por Souza (2013) o resultado obtido foi o mesmo, sugere-se que a berinjela apresenta uma resistência de não hospedeira ao vírus em questão.

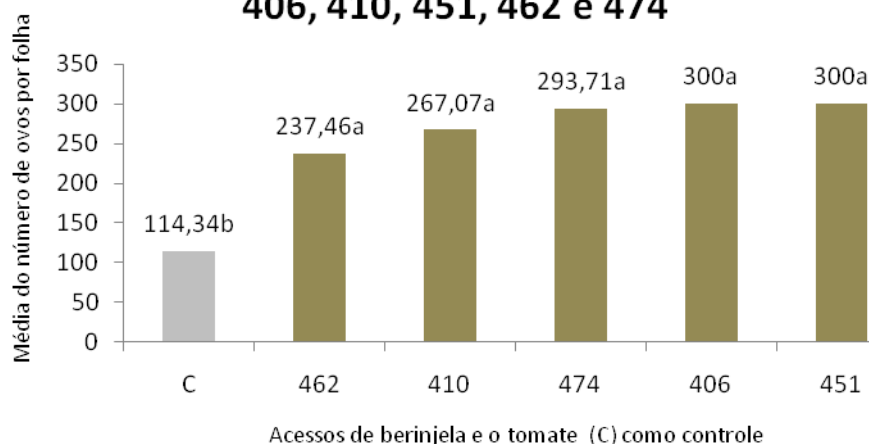
Quanto aos experimentos realizados para os testes de resistência da berinjela à mosca branca, pôde-se observar que no ensaio 1 os genótipos CNPH 405, CNPH 406, CNPH 410, CNPH 432, CNPH 439, CNPH 443, CNPH 451, CNPH 462, CNPH 472 e CNPH 474 de berinjela apresentaram-se mais suscetíveis à mosca branca em relação ao controle, tendo em vista que a oviposição nesses acessos foi mais elevada que no tomate (**Figuras 5 e 6**).

### Número de ovos nos acessos 405, 432, 439, 443 e 472



**Figura 5.** Médias dos números de ovos de *Bemisia tabaci* por folha nos acessos de berinjela (405, 432, 439, 443 e 472) e no controle (C) tomate pertencentes ao ensaio 1. Em que médias seguidas da mesma letra não apresentaram diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste F.

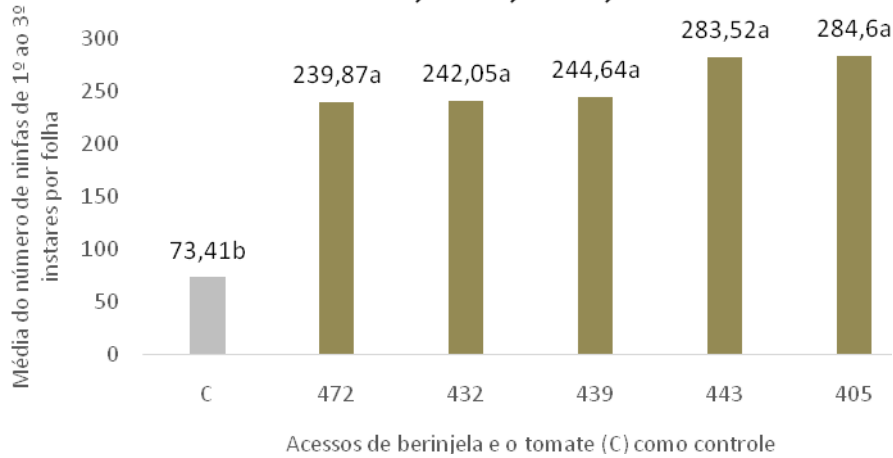
### Número de ovos nos acessos 406, 410, 451, 462 e 474



**Figura 6.** Médias dos números de ovos de *Bemisia tabaci* por folha nos acessos de berinjela (406, 410, 451, 462 e 474) e no controle (C) tomate pertencentes ao ensaio 1. Em que médias seguidas da mesma letra não apresentaram diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste F.

Além disso, nesse mesmo ensaio, os acessos CNPH 405, CNPH 432, CNPH 439, CNPH 443 e CNPH 472 apresentaram um maior número de ninfas pertencentes aos estádios 1, 2 e 3 em comparação com o controle (**Figura 7**).

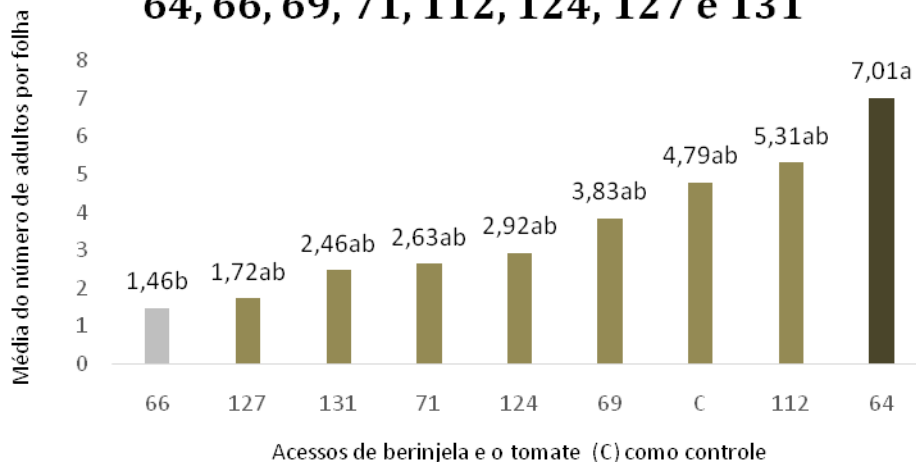
### Número de ninfas de 1º ao 3º instares nos acessos 405, 432, 439, 443 e 472



**Figura 7.** Médias dos números de ninfas de 1º ao 3º instares de *Bemisia tabaci* por folha nos acessos de berinjela (405, 432, 439, 443 e 472) e no controle (C) tomate pertencentes ao ensaio 1. Em que médias seguidas da mesma letra não apresentaram diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste F.

Dentre os demais acessos, diferenças estatísticas só foram obtidas entre os genótipos, quando se avaliou a variável número de adultos e somente em um ensaio, o de número 2 em que o CNPH 64 apresentou um maior número de insetos adultos em comparação com os demais e o tomate. Já o CNPH 66, apresentou a menor média de moscas adultas dentre o grupo de acessos testados (**Figura 8**).

### Número de adultos nos acessos 64, 66, 69, 71, 112, 124, 127 e 131



**Figura 8.** Médias dos números de adultos de *Bemisia tabaci* por folha nos acessos de berinjela (64, 66, 69, 71, 112, 124, 127 e 131) e no controle (C) tomate pertencentes ao ensaio



2. Em que médias seguidas da mesma letra não apresentaram diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste F.

Neste trabalho, para todo o material testado, não se encontrou nenhum acesso como promissor para a resistência à *Bemisia tabaci*, pois, de modo geral, todos se apresentaram tão suscetíveis quanto, ou mais que o tomate ‘Santa Clara’. Resultados diferentes foram observados frente a testes com mosca branca em germoplasma de tomate, em que dentre os acessos testados, todos mostraram-se menos suscetível ao inseto, em comparação com o tomate ‘Santa Clara’ (BALDIN *et al.*, 2005; MICHEREFF-FILHO *et al.*, 2012).

## 5. CONCLUSÕES

As análises realizadas permitiram concluir que a berinjela apresenta elevada suscetibilidade à *B. tabaci*, já que os acessos avaliados ou apresentaram elevados níveis de oviposição e apresentaram maior quantidade de ninfas de 1º a 3º ínstar que a testemunha, ou não diferiram desta estatisticamente.

Quanto à resistência ao vírus, acredita-se que os acessos de *S. melongena* apresentem uma resistência do tipo não-hospedeira ao ToCMoV, levando-se em consideração as avaliações de ausência de sintomas em todos os acessos avaliados, resultado semelhante aos já descritos na literatura (SOUZA, 2013).

Novos ensaios estão sendo conduzidos com esse material, visando a realização de uma transmissão viral por meio da enxertia de tomate sabidamente infectado em plantas de berinjela sadias. Além desse método, em 2015, serão avaliados por meio de inoculação por biobalística.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

AGUILERA, J. G.; HURTADO, F. D.; SOBRINHO, R. R.; ALMEIDA, V. S.; TAVARES, S. S.; NICK, C.; SOARES, M. O.; XAVIER, C. A. D.; FREITAS, R. D.; GIL, M. A.; ZERBINI, F. M.; SILVA, D. J. H. Response of tomato (*Solanum L.* section *Lycopersicon* Mill.) germplasm to *Begomovirus* inoculation under controlled and field conditions. **Genetic Resource Crop Evolution**, n. 61, p. 435-450, 2014.

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

ANTONINI, A.C.C.; ROBLES, W.G.R.; TESSARIOLI NETO, J.; KLUGE, R.A. Capacidade produtiva de cultivares de berinjela. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 646-648, 2002.

BALDIN, E. L. L.; VENDRAMIM, J. D.; LOURENÇÃO, A. L. Resistência de genótipos de tomateiro à mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) Biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). **Neotropical Entomology**, n. 34, v. 3, p. 435-441, 2005.

BIAN, X. Y.; THOMAS, M. R.; RASHEED, M. S.; SAEED, M.; HANSON, P.; DE BARRO, P. J.; REZAIAN, M. A. A Recessive Allele (*tgr-1*) Conditioning Tomato Resistance to *Geminivirus* Infection Is Associated with Impaired Viral Movement. **The American Phytopathological Society**, Vol. 97, No. 8, 2007.

BOITEUX, L. S.; OLIVEIRA, V. R.; SILVA, C. H.; MAKISHIMA, N.; INOUE-NAGATA, A.; FONSECA, M. E. N.; GIORDANO, L. B. Reaction of tomato hybrids carrying the Ty-1 locus to Brazilian bipartite *Begomovirus* species. **Horticultura Brasileira**, Brasília n. 25, p.20-23. 2007.

BRIDDON, R. W.; PATIL, B. L.; BAGEWADI, B.; NAWAZ-UL-REHMAN, M. S.; FAUQUET, C. M. Distinct evolutionary histories of the DNA-A and DNA-B components of bipartite begomoviruses. **Evolutionary Biology**, v. 10, n. 97, p. 1-17, 2010.

BRIDDON, R. W.; STANLEY, J. *Geminiviridae*. **Encyclopedia of Life Sciences**. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. DOI: 10.1002/9780470015902.a0000750.pub2, 2009.

BROWN, J.; FAUQUET, C.; BRIDDON, R.; ZERBINI, F.; MORIONES, E.; NAVASCASTILLO, J. Family *Geminiviridae*. In: KING AMQ, ADAMS AJ, CARSTENS EB (EDS), L. E. (eds.) *Virus taxonomy. 9th report of the international committee on taxonomy of viruses*. San Diego: Elsevier Academic Press, 2011.

CASTILLO-URQUIZA, G. P.; BESERRA JR, J. E. A.; BRUCKNER, F. P.; LIMA, A. T. M.; ALFENAS-ZERBINI, P. MURILO ZERBINI, F. Six novel begomoviruses infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. **Archives of Virology**, n. 153, p. 1985-1989, 2008.

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

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

FAUQUET, C. M.; STANLEY, J. Revising the way we conceive and name viruses below the species level: A review of geminivirus taxonomy calls for new standardized isolate descriptors. **Archives of Virology**, n. 150, p. 2151-2179, 2005.

FILGUEIRA, F. A. R. Novo Manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Ed. UFV, 3ª ed., p. 421. Viçosa, MG, 2007.

FIRDAUS, S.; HEUSDEN, A. W.; HIDAYATI, N.; SUPENA, E. D. J; VISSER, R. G. F.; VOSMAN, B. Resistance to *Bemisia tabaci* in tomato wild relatives. **Euphytica**, n. 187, p. 31-45, 2012.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 2012. **Faostat**. Disponível em <http://www.faostat.fao.org>. Acessado em 3 de novembro de 2014.

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

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

GUTIERREZ, C. Review. *Geminivirus* DNA replication. **Cellular and Molecular Life Sciences**, n. 56, p. 313–329, 1999.

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

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

ICTV: **International Committee on Taxonomy of viruses**. In: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/>. Acesso em novembro de 2014.

INOUE-NAGATA, A. K.; MARTIN, D. P.; BOITEUX, L. S.; GIORDANO, L. B.; BEZERRA, I. C.; ÁVILA, A. C. New species emergence via recombination among isolates of the Brazilian tomato infecting *Begomovirus* complex. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.41, n.8, p.1329-1332, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola 2014**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 3 de novembro de 2014.

MARUBAYASHI, J. M.; YUKI, V. A.; WUTKE, E. B. Transmissão do *Cowpea mild mottle virus* pela mosca branca *Bemisia tabaci* biótipo B para plantas de feijão e soja. **Summa Phytopathologica**. v. 36, n. 2, 2010.

MICHEREFF-FILHO, M.; MACHINI, W. D. B.; MENDONÇA, J. L.; FONSECA, M. E.; FERNANDES-ACIOLI, N. A. N.; BOITEUX, L. S. Resposta à mosca-branca (*Bemisia tabaci*) e ao *Tomato severe rugose virus* de acessos de *Solanum* subgênero *Leptostemonum*. **Horticultura Brasileira**, n. 30, p. 440-445, 2012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **AGROFIT: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Disponível em [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons). Acessos em 3 de novembro de 2014.

MOFFAT, A. S. Geminiviruses Emerge as Serious Crop Threat. **Science**, v. 286, n. 5446 p. 1835, 1999.

MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J. *Tomato yellow leaf curl virus*, an emerging virus complex causing epidemics worldwide. **Virus Research**, n. 71, p. 123-134, 2000.

NAVAS-CASTILLO, J.; FIALLO-OLIVÉ, E.; SÁNCHEZ-CAMPOS, S. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. **Annual Review of Phytopathology**, v. 49, p. 219-248, 2011.

ORIANI, M. A. G.; VENDRAMIM, J. D.; VASCONCELOS, C. J. Biology of *Bemisia tabaci* (Genn.) B biotype (Hemiptera, Aleyrodidae) on tomato genotypes. **Scientia Agricola**, v.68, n.1, p.37-41, 2011.

PEREIRA-CARVALHO, R. C., BOITEUX, L. S., FONSECA, M. E. N., DÍAZ-PENDÓN, J. A., MORIONES, E., FERNÁNDEZ-MUÑOZ, R., CHARCHAR, J. M., AND RESENDE, R. O. Multiple resistance to *Meloidogyne* spp. and to bipartite and monopartite *Begomovirus* spp. in wild *Solanum (Lycopersicon)* accessions. **Plant Disease**, n. 94, p. 179-185.

PICÓ, B.; SIFRES, A.; ELÍA, M.; DÍEZ, M. J.; NUEZ, F. Searching for new resistance sources to *Tomato yellow leaf curl virus* within a highly variable wild *Lycopersicon* genetic pool. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 22, p. 344-350, 2000.

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**, v. 8, n. 305, p. 1-13, 2011.

REIS, A.; BOITEUX, L. S.; LOPES, C. A. Doenças da berinjela no Brasil. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, (**Embrapa Hortaliças. Circular Técnica**, 97) 8 p., 2011.

RIBEIRO, S. G.; MARTIN, D. P.; LACORTE, C.; SIMÕES, I. C.; ORLANDINI, D. R. S.; INOUE-NAGATA, A. K. Molecular and Biological Characterization of *Tomato chlorotic mottle virus* Suggests that Recombination Underlies the Evolution and Diversity of Brazilian Tomato Begomoviruses. **Phytopathology**, v. 97, n. 6, p. 702-711, 2007.

ROCHA, C. S.; CASTILLO-URQUIZA, G. P.; LIMA, A. T. M.; SILVA, F. N.; XAVIER, C. A. D.; HORA-JÚNIOR, B. T.; BESERRA-JÚNIOR, J. E. A.; MALTA, A. W. O.; MARTIN, D. P.; VARSANI, A.; ALFENAS-ZERBINI, P.; MIZUBUTI, E. S. G.; ZERBINI, F. M. Brazilian *Begomovirus* Populations Are Highly Recombinant, Rapidly Evolving, and Segregated Based on Geographical Location. **Journal of Virology**, v. 87, n. 10, p. 5784-5799, 2013.

RODRÍGUEZ-LÓPEZ, M. J.; GARZO, E.; BONANI, J. P.; FERNÁNDEZ-MUÑOZ, R.; MORIONES, E.; FERERES, A. Acylsucrose-Producing Tomato Plants Forces *Bemisia tabaci* to Shift Its Preferred Settling and Feeding Site. **PLoS ONE** 7(3): e33064. doi:10.1371/journal.pone.0033064, 2012.

SADEGHI, M. S.; BEHJATNIA, S. A. A.; MASUMI, M.; IZADPANA, K. Characterisation of a strain of *Potato virus Y* causing eggplant mosaic in southern Iran. **Australasian Plant Pathology**, v. 37, p. 79-86, 2008.

SOTTORIVA, L. D. M.; LOURENÇÃO, A. L.; COLOMBO, C. A. Performance of *Bemisia tabaci* (Genn.) Biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) on weeds. **Neotropical Entomology**, n. 43, p. 574-581, 2014.

SOUZA, C.A. Detecção de *Begomovirus* e *Ipomovirus* em genótipos de batata doce nos Estado de Pernambuco e Paraíba e análise de fontes de resistência a *Tomato chlorotic mottle*



*virus* e *Potato virus Y* em berinjela. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Instituto de Ciências Biológicas, **Universidade de Brasília**, Brasília. 2013.

VAN BRUNSCHOT, S. L.; BERGERVOET, J. H. W.; PAGENDAM, D. E.; WEERDT, M.; GEERING, A. D. W.; DRENTH, A.; VLUGT, R. A. A. A bead-based suspension array for the multiplexed detection of begomoviruses and their whitefly vectors. **Journal of Virological Methods**, n. 198, p. 86-94, 2014.

VARSANI, A.; MARTIN, D. P.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; HERNÁNDEZ-ZEPEDA, C.; IDRIS, A.; ZERBINI, F. M.; BROWN, J. K. Revisiting the classification of curtoviruses based on genome-wide pairwise identity. **Archives of Virology**, n. 159, p. 1873-1882, 2014b.

VARSANI, A.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; HERNÁNDEZ-ZEPEDA, C.; IDRIS, A.; BROWN, J. K.; ZERBINI, F. M.; MARTIN, P. D. Establishment of three new genera in the family *Geminiviridae*: *Becurtovirus*, *Eragrovirus* and *Turncurtovirus*. **Archives of Virology**, n. 159, p. 2193-2203, 2014a.

VERLAAN, M. G.; HUTTON, S.F.; IBRAHEM, R. M.; KORMELINK, R.; VISSER, R. G. F.; SCOTT, J. W.; EDWARDS, J. D.; BAI, Y. The *Tomato yellow leaf curl virus* resistance genes Ty-1 and Ty-3 are allelic and code for DFDGD-Class RNA-Dependent RNA polymerases. **PLoS Genetics** 9(3): e1003399. Doi:10.1371/journal.pgen.1003399, 2013.

VILLAS BOAS, G. L.; BRANCO, M. C. Manejo integrado da Mosca-branca (*Bemisia tabaci* biótipo B) em sistema de produção integrada de tomate indústria (PITI). **Circular Técnica**, n. 70, p. 1-16, 2009.

ZAMIR, D.; EKSTEIN-MICHELSON, I.; ZAKAY, Y.; NAVOT, N.; ZEIDAN, M.; SARFATTI, M.; ESHED, Y.; HAREL, E.; PLEBAN, T.; VAN-OSS, H. KEDAR, N.;

RABINOWITCH, H. D.; CZOSNEK, H. Mapping and introgression of a *Tomato yellow leaf curl virus* tolerance gene, Ty-1. **Theoretical and Applied Genetics**, n. 88, p. 141-146, 1994.