**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Efeito de inseticidas no controle das transmissões primária e secundária do *Tomato chlorosis virus* (ToCV) para tomateiro por *Bemisia tabaci* MEAM1

Talita Nicola Zocca Silva

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Fitopatologia

**Piracicaba
2018**

Talita Nicola Zocca Silva
Engenheira Agrônoma

**Efeito de inseticidas no controle das transmissões primária e secundária do
Tomato chlorosis virus (ToCV) para tomateiro por *Bemisia tabaci* MEAM1**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **JORGE ALBERTO MARQUES REZENDE**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Fitopatologia

Piracicaba
2018

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Silva, Talita Nicola Zocca

Efeito de inseticidas no controle das transmissões primária e secundária do *Tomato chlorosis virus* (ToCV) para tomateiro por *Bemisia tabaci* MEAM1 / Talita Nicola Zocca Silva. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2018.

44 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. *Solanum lycopersicum* 2. Crinivirus 3. Mosca-branca 4. Controle
I. Título

*Aos meus pais Antonio Carlos Zocca e Iris Aparecida Nicola Zocca,
Ao meu irmão Fabricio Nicola Zocca,
Ao meu marido Maicon dos Santos Silva,*

Com todo amor e carinho

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar presente em todos os momentos e por guiar meus passos, tendo feito com que eu concluísse uma importante etapa da minha vida.

Aos meus pais e meu marido, pelo apoio e incentivo durante este período.

Ao Prof. Dr. Jorge Alberto Marques Rezende, por ter me aceito como parte do grupo de pesquisa, pela confiança, paciência, atenção e excelente orientação.

Ao Grupo de Oração Universitário (GOU - Água Viva), pela amorosa acolhida e encontros maravilhosos, tendo feito com que minha fé aumentasse cada vez mais.

Aos colegas de laboratório Gabriel Madoglio Favara, Tatiana Mituti, Daiana Bampi, Arnaldo Esquivel Fariña, Viviana Marcela Camelo García, Heron Delgado Kraide, David Marques Spadoti, Vanessa Cícera dos Santos Ramos e Luiz Rafael Pinto, pela prazerosa convivência, pelos ensinamentos e momentos de descontração.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e aos Professores do Departamento de Fitopatologia e Nematologia, pelos ensinamentos e pela estrutura disponibilizada para a realização deste trabalho.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, meu muito obrigada!

“A fé é o fundamento da esperança, é uma certeza a respeito do que não se vê.”

Hebreus 11,1.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1. O TOMATEIRO	11
2.2. <i>TOMATO CHLOROSIS VIRUS</i>	12
2.3. EPIDEMIOLOGIA DO <i>ToCV</i>	15
2.4. MANEJO DA DOENÇA	17
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1. PLANTAS-TESTE	19
3.2. FONTE DE INÓCULO DO <i>ToCV</i>	19
3.3. COLÔNIA DE <i>B. TABACI</i> /MEAM1	19
3.4. TRANSMISSÃO DO <i>ToCV</i>	19
3.5. DETECÇÃO DO <i>ToCV</i>	20
3.5.1 EXTRAÇÃO DE RNA TOTAL	20
3.5.2 RT-PCR.....	20
3.6. SEQUENCIAMENTO DE NUCLEOTÍDEOS	21
3.7. SIMULAÇÕES DAS TRANSMISSÕES PRIMÁRIA E SECUNDÁRIA DO <i>ToCV</i> POR <i>B. TABACI</i> /MEAM1 EM TOMATEIROS PULVERIZADOS COM INSETICIDAS	21
3.8. AVALIAÇÃO DO TEMPO QUE <i>B. TABACI</i> /MEAM1 É CAPAZ DE TRANSMITIR O <i>ToCV</i> PARA TOMATEIRO, APÓS CONFINAMENTO EM TOMATEIRO INFECTADO E PULVERIZADO COM O INSETICIDA PIMETROZINA PARA AQUISIÇÃO DO VÍRUS.....	24
4 RESULTADOS.....	27
4.1 EFICIÊNCIA DE INSETICIDAS NO CONTROLE DAS TRANSMISSÕES PRIMÁRIA E SECUNDÁRIA DO <i>ToCV</i> POR <i>B. TABACI</i> /MEAM1 EM TOMATEIRO	27
4.2 TRANSMISSÃO DO <i>ToCV</i> POR <i>B. TABACI</i> /MEAM1 APÓS DIFERENTES TEMPOS DE CONFINAMENTO EM TOMATEIRO INFECTADO E PULVERIZADO COM O INSETICIDA PIMETROZINA PARA AQUISIÇÃO DO VÍRUS	30
4.3 IDENTIDADE DO ISOLADO DE <i>TOMATO CHLOROSIS VIRUS</i>	30
5 DISCUSSÃO	31
REFERÊNCIAS	39

RESUMO

Efeito de inseticidas no controle das transmissões primária e secundária do *Tomato chlorosis virus* (ToCV) para tomateiro por *Bemisia tabaci* MEAM1

Tomato chlorosis virus (ToCV), gênero *Crinivirus*, é transmitido por *Bemisia tabaci* MEAM1 (biótipo B) de maneira semi-persistente. O tomateiro (*Solanum lycopersicum*), quando infectado ainda jovem com o ToCV pode ter a produção reduzida. A ausência de variedades e/ou híbridos resistentes faz do controle químico do vetor a medida mais utilizada pelos produtores, porém nem sempre eficiente. Os objetivos deste trabalho foram: 1. avaliar a eficiência dos inseticidas ciantraniliprole solo, flupiradifurone, cloridrato de cartape, pimetrozina e acetamiprido no controle das transmissões primária e secundária do ToCV por *B. tabaci* MEAM1 em tomateiro e 2. verificar o tempo que o vetor transmite o ToCV, após diferentes períodos de acesso à aquisição (PAA) do vírus em tomateiro infectado e pulverizado com pimetrozina. Para simular a infecção primária, tomateiros sadios pulverizados com cada um dos inseticidas separadamente, mais insetos virulíferos para o ToCV foram confinados em diferentes gaiolas. No caso da simulação da infecção secundária, tomateiros sadios e infectados com o ToCV, pulverizados com cada um dos inseticidas separadamente, mais insetos livres de vírus foram confinados em diferentes gaiolas. Os mesmos tratamentos foram repetidos, pulverizando-se as plantas com água, para simular os controles das infecções primária e secundária. Para avaliar o efeito do inseticida pimetrozina na longevidade da transmissão do ToCV por *B. tabaci* MEAM1, insetos adultos livres de vírus foram confinados em folhas de tomateiro infectadas e tratadas com o inseticida, por PAA de 2, 4, 6, 8 e 24 h. Após cada PAA, grupos de 20 insetos foram transferidos para tomateiros por um período de acesso à inoculação (PAI) de 48 h. A infecção dos tomateiros de todos os ensaios foi avaliada por RT-PCR com RNA total extraído de cada planta separadamente. Nenhum inseticida foi eficiente para controlar as simulações das transmissões primária e secundária do ToCV. As taxas de infecção de tomateiros nas simulações das infecções primária e secundária variaram de 70% a 88% e de 56% a 84%, respectivamente. As taxas de infecção dos tomateiros nos respectivos controles foram de 92% e 79%. *B. tabaci* transmitiu o ToCV após 24 h de confinamento em folha de tomateiro infectada e tratada com o inseticida pimetrozina para a aquisição do vírus. Tais resultados indicam que a aplicação de inseticidas de maneira isolada para o controle desta fitovirose poderá não ser eficiente, já que o vetor pode transmitir o vírus antes de ser afetado pelo inseticida.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum*; Crinivirus; Mosca-branca; Controle

ABSTRACT

Effect of insecticides on the control of primary and secondary transmissions of *Tomato chlorosis virus* (ToCV) to tomato by *Bemisia tabaci* MEAM1

Tomato chlorosis virus (ToCV), genus *Crinivirus*, is transmitted semi-persistently by the whitefly *Bemisia tabaci* MEAM1 (former biotype B). Tomato (*Solanum lycopersicum*), when infected with this crinivirus may have reduced production. In the absence of resistant varieties and/or hybrids, the chemical control of the vector is the measure most used by growers, but not always efficient. The objectives of this work were: 1. to evaluate the efficiency of the insecticides cyantraniliprole drench, flupyradifurone, cartap hydrochloride, pymetrozine and acetamiprid for the control of the primary and secondary ToCV transmissions by *B. tabaci* MEAM1 to tomato, and 2. to verify for how long the vector is able to transmit the ToCV to tomato, after confinement in ToCV-infected tomato sprayed with the insecticide pymetrozine for virus acquisition. To simulate the primary infection, healthy tomatoes sprayed with each of the insecticides separately, and ToCV-viruliferous insects were confined in different cages. For simulating secondary infection, healthy tomatoes plants together with ToCV-infected tomato plants, sprayed with each of the insecticides separately, plus virus-free insects were confined in different cages. The same treatments were repeated by spraying the plants with water, to represent the controls of primary and secondary infections. To evaluate the effect of the insecticide pymetrozine on the longevity of ToCV transmission by *B. tabaci* MEAM1, virus-free adult were confined in ToCV-infected tomato leaves treated with the insecticide for the following acquisition access periods (AAP): 2, 4, 6, 8 and 24 h. After each AAP, groups of 20 insects were transferred to tomato plants for a 48 h inoculation access period (IAP). Infection of tomato plants from all trials was evaluated by means of RT-PCR with total RNA extracted from each of the plants separately. None of the insecticides was effective to control the simulations of the primary and secondary transmissions of ToCV. For the primary transmission, 70%, 72%, 80%, 87% and 88%, respectively, of tomatoes treated with the insecticides flupyradifurone, cyantraniliprole drench, pymetrozine, acetamiprid and cartap hydrochloride were infected, against 92% of tomato plants infected in the control. For the secondary transmission, the percentages of tomatoes plants treated with the same insecticides and infected with ToCV were 56%, 74%, 64%, 84% and 72%, against 79% of infected tomatoes in the control. *B. tabaci* was able to transmit ToCV to tomato plants even after 24 h of confinement in infected tomato leaves treated with the insecticide pymetrozine for virus acquisition. These results indicate that insecticide spraying alone may not be efficient for the control of the disease cause by this crinivirus, as *B. tabaci* can transmit the virus before being affected by the insecticide.

Keywords: *Solanum lycopersicum*; Crinivirus; Whitefly; Control

1. INTRODUÇÃO

A cultura do tomateiro no Brasil é a mais importante dentre as hortaliças, tanto no âmbito econômico, quanto no social, pelo seu grande volume de produção e geração de empregos. No ano de 2016, a produção brasileira foi de 3.667.121 ton, em 57.590 hectares plantados (IBGE, 2017). No ranking da produção mundial de tomate, o país ocupa a nona posição, sendo a China o maior produtor, seguida dos Estados Unidos e da Índia (FAOSTAT, 2017).

Atualmente, a produção brasileira está concentrada no Sudeste e no Centro Oeste, sendo os estados de Goiás (934.658 ton), São Paulo (753.283 ton) e Minas Gerais (702.510 ton) os maiores produtores desta hortaliça (IBGE, 2017).

Dentre as doenças fitopatogênicas, há inúmeras causadas por diferentes espécies de vírus, sendo que o grande fator complicador quando comparado às doenças de etiologias fúngica e bacteriana, reside no fato de não existirem produtos químicos com capacidade curativa, uma vez instalada a infecção viral (Inoue-Nagata, 2013). Dentre as doenças viróticas, as que mais têm sido relatadas causando problemas em tomateiro nos últimos anos no Brasil são as tospoviroses, as begomoviroses e uma crinivirose, denominada amarelão do tomateiro, associada ao *Tomato chlorosis virus* (ToCV).

O ToCV foi relatado pela primeira vez no Brasil no ano de 2008, em campos comerciais de tomateiro no município de Sumaré, São Paulo (Barbosa et al., 2008). Pouco tempo depois foi encontrado nos estados de MG, RJ, ES, GO e BA (Barbosa et al., 2011). O ToCV infecta também naturalmente outras espécies cultivadas de solanáceas como a batateira (Freitas et al., 2012), o pimentão (Barbosa et al., 2010), a berinjela e o jiloeiro (Fonseca et al., 2015). Além das infecções naturais o vírus já foi transmitido experimentalmente para várias plantas, incluindo daninhas. Souza (2016) relata que a gama de hospedeiros do vírus abrange 69 espécies de plantas de 24 famílias botânicas.

Dentre as espécies vetoras, a mosca-branca *Bemisia tabaci* MEAM1 (anteriormente biótipo B) é a espécie predominante no Brasil e está disseminada mundialmente. Outras espécies de mosca-branca também são transmissoras do ToCV: *B. tabaci* NW (anteriormente biótipo A) e MED (anteriormente biótipo Q), *Trialeurodes abutiloneus* e *T. vaporariorum*. *T. abutiloneus* e *B. tabaci* MEAM1 são as espécies mais eficientes na transmissão deste crinivirus (Wintermantel & Wisler,

2006). Não há relatos da presença de *T. abutiloneus* no Brasil. De acordo ainda com aqueles autores, a relação vírus-vetor para este crinivírus é do tipo semi-persistente e o vírus persiste em *B. tabaci* MEAM1 por até três dias. Devido a relação vírus-vetor do tipo semi-persistente, o inseto é capaz de transmitir o vírus logo após a aquisição, uma vez que não há período de latência. A transmissão desse vírus por sementes é improvável (OEPP, 2005) e ele não é transmitido mecanicamente.

O manejo do amarelão em tomateiro, bem como em outras solanáceas cultivadas, baseia-se principalmente no controle do vetor, por meio de pulverizações com inseticidas, pois não há variedades ou híbridos resistentes disponíveis no mercado (Mansilla-Córdova et al., 2018). Embora seja um método de controle amplamente praticado pelos agricultores, nem sempre é eficiente para controlar a doença. Tais falhas no controle da doença podem ser explicadas pela ausência de compreensão das características de transmissão do vírus, o seu padrão de disseminação e a pouca eficiência dos inseticidas em eliminar o inseto vetor antes que este inocule o vírus na planta, como apontado por Broadbeent (1957) e Perring et al. (1999).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência dos inseticidas constituídos pelos ingredientes ativos ciantraniliprole solo (Verimark), flupiradifurone (Sivanto), cloridrato de cartape (Cartap), pimetrozina (Chess) e acetamiprido (Mospilan) no controle das transmissões primária e secundária do ToCV por *B. tabaci* MEAM1 em tomateiro. Avaliou-se também o tempo que este vetor foi capaz de transmitir o ToCV para tomateiro, após confinamento em tomateiro infectado e pulverizado com o inseticida pimetrozina para aquisição do vírus.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O tomateiro

O tomateiro (*Solanum lycopersicum*) tem sua origem nas regiões andinas do Peru, Bolívia e Equador e seu fruto era chamado pelos indígenas mexicanos de tomati ou jitomate. Quando os espanhóis chegaram à América, o tomate já era utilizado no México e em vários outros locais da América Central e do Sul. Levado para a Europa, começou a ser ali cultivado no século XVI, mas seu consumo difundiu-se e ampliou-se somente no século XIX (EMBRAPA, 1993).

O tomateiro pertence à família das solanáceas, da qual também fazem parte a batateira, a berinjela, a pimenta e o pimentão, entre outras hortaliças. Ele é cultivado em quase todo o mundo e a sua produção global duplicou nos últimos 20 anos (EMBRAPA, 1993). De acordo com o CEPEA (2007), um dos principais fatores para a expansão da cultura é o crescimento do consumo, que está relacionado, entre outros fatores, à consolidação de redes de “fast food”, que utilizam essa hortaliça nas formas processada e fresca.

Mais recentemente, a demanda por tomate foi reforçada pela busca de alimentos mais saudáveis, favorecendo também o crescimento da venda do produto fresco. O tomate é um alimento funcional devido aos altos teores de vitaminas A e C, além de ser rico em licopeno. Pesquisas apontam que o consumo dessa substância, presente tanto no fruto fresco como no processado, ajuda na prevenção de cânceres, principalmente aqueles relacionados ao aparelho digestivo (CEPEA, 2007).

No Brasil, a cultura do tomateiro está concentrada nos estados de Goiás, São Paulo e Minas Gerais, que respondem por 73% do volume comercializado, numa área de 57.590 hectares, sendo o rendimento médio nacional de 63.995 kg por hectare (IBGE, 2017). Em estimativas feitas pela ABCSEM (2012), a cadeia produtiva do tomate no país gera anualmente cerca de 300 mil empregos, e movimenta, em termos de mão de obra, o montante de R\$ 280 milhões.

2.2. *Tomato chlorosis virus*

O primeiro relato do *Tomato chlorosis virus* (ToCV) foi em 1996 no estado da Florida, Estados Unidos. Na época, plantas de tomate em casa de vegetação exibiam sintomas que eram denominados de 'yellow leaf disorder' e a causa era atribuída a distúrbios fisiológicos ou nutricionais, à fitotoxicidez ou a um vírus. (Simone et al., 1996; Wisler et al., 1998). Testes de transmissão indicaram que os sintomas presentes em tomateiro eram causados por uma espécie emergente pertencente ao gênero *Crinivirus*, caracterizada em 1998 por Wisler et al. (1998). Navas-Castillo et al. (2011) apontam que este crinivirus já está presente em pelo menos 20 países, infectando, além do tomateiro, o pimentão.

O ToCV pertence à família *Closteroviridae*, gênero *Crinivirus*. Possui partículas alongadas e flexuosas, com aproximadamente 800-850 nm de comprimento. O genoma é bipartido, de 16,8 kb, composto por duas moléculas de RNA de fita simples, senso positivo, encapsidadas separadamente (Liu et al., 2000). O RNA1 possui quatro ORFs que codificam proteínas associadas à replicação do vírus e à supressão do silenciamento de genes (Wintermantel et al., 2005; Cañizares et al., 2008). Já o RNA2 possui até nove ORFs que codificam proteínas envolvidas em diversas funções, incluindo encapsidação do ácido nucléico, movimento célula a célula, associação com membrana e transmissão pelo vetor (Stewart et al., 2010; Chen et al., 2011).

No Brasil, o primeiro relato do ToCV foi feito por Barbosa et al. (2008), em campos comerciais de tomateiro, no município de Sumaré, São Paulo. Os autores observaram entre os anos de 2006 e 2007 plantas apresentando clorose internerval e necrose nas folhas basais, atribuindo os sintomas à doença conhecida como 'amarelão do tomateiro'. Posteriormente o vírus foi constatado nos estados da Bahia, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais e Rio de Janeiro (Barbosa et al., 2011). Barbosa et al. (2010) também constataram a presença desse vírus em pimentão no estado de São Paulo e Freitas et al. (2012) detectaram o ToCV infectando pela primeira vez plantas de batata, no município de Cristalina, GO. Além das solanáceas referidas anteriormente, o vírus causador do amarelão do tomateiro também infecta naturalmente a berinjela e o jiloeiro (Fonseca et al., 2015). Para Inoue-Nagata et al. (2016), o vírus pode estar presente em outras regiões do Brasil, visto que plantas da

família das solanáceas estão presentes em todo território nacional e é transmitido por um vetor cosmopolita.

Os sintomas em tomateiros caracterizam-se principalmente por clorose internerval, especialmente nas folhas baixas. Esse sintoma pode vir acompanhado por bronzeamentos ou manchas avermelhadas, enrolamento das margens das folhas para cima e engrossamento do limbo foliar, que se torna quebradiço. No campo, frequentemente esses sintomas podem ser erroneamente atribuídos à fitotoxidez por uso de agroquímicos ou a desordens nutricionais (Wisler et al., 1998). Os mesmos sintomas já foram observados em plantas de pimentão e batateira (Barbosa et al., 2010; Freitas et al., 2012). Embora não sejam observados sintomas óbvios em frutos de tomate, o amadurecimento é afetado e há aborto de flores, resultando em danos econômicos (Fortes et al., 2012).

O ToCV possui um período latente relativamente longo nas plantas infectadas, muitas vezes não induzindo sintomas antes de três semanas após a infecção (Tzanetakis et al., 2013). Estudos recentes, conduzidos por Favara (2017), mostraram que o período de latência para o ToCV em tomateiros foi de 13 dias, sendo que o período de incubação ocorreu, em média, 17 dias após a latência.

Infecções precoces com este crinivírus em tomateiro podem acarretar perdas de produção. Em ensaios de avaliação de resistência/tolerância de diferentes genótipos de tomateiro à infecção com o ToCV, a redução do peso dos frutos de plantas infectadas logo nos estágios iniciais de desenvolvimento variou de 21% a 52%, quando comparada com os frutos colhidos de plantas saudáveis; variação atribuída principalmente à redução da massa fresca das plantas infectadas (Mansilla-Córdova et al., 2018). Para o pimentão, em avaliações experimentais em casa de vegetação, Fortes et al. (2012) encontraram reduções na produção que variaram de 45% a 75%, em diferentes variedades. Estas reduções na produção foram atribuídas às reduções do tamanho e do número de frutos. Em conjunto, tais resultados indicam o grande potencial de dano deste vírus nestas culturas.

Dados recentes apontam que a gama de hospedeiros do ToCV agrega 69 espécies de plantas de 24 famílias botânicas, incluindo plantas daninhas e cultivadas, sendo a família *Solanaceae* a que abrange o maior número de espécies suscetíveis ao ToCV (Souza, 2016), o que evidencia uma ampla gama de plantas hospedeiras deste vírus e que plantas daninhas próximas às áreas de produção podem servir como potencial fonte de inóculo do vírus.

O ToCV é o único membro do gênero Crinivirus que é transmitido por três espécies da família Aleyrodidae: *Bemisia tabaci* New World 1 (NW1) e New World 2 (NW2); *B. tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1); *B. tabaci* Mediterranean (MED); *Trialeurodes abutiloneus* e *T. vaporariorum* (Wintermantel e Wisler, 2006). Ainda de acordo com os mesmos autores, *T. abutiloneus* e *B. tabaci* MEAM1 são os vetores mais eficientes. As epidemias da doença no Brasil são causadas por *B. tabaci* MEAM1, embora tenha sido constatado que *T. vaporariorum* também transmite o isolado brasileiro de ToCV, porém com eficiência inferior (Freitas, 2012). Não há relatos da presença de *T. abutiloneus* no país.

A relação vírus-vetor é do tipo semi-persistente. O vírus persiste na *B. tabaci* MEAM1 por até três dias (Wintermantel e Wisler, 2006). Freitas (2012) determinou períodos mínimos de acesso à aquisição e à inoculação do ToCV em tomateiro por *B. tabaci* MEAM1, de cinco minutos. Devido a relação vírus-vetor do tipo semi-persistente, o inseto é capaz de transmitir o vírus logo após a aquisição, uma vez que não há período de latência. A transmissão desse vírus por sementes é improvável (OEPP, 2005) e ele não é transmitido mecanicamente (Dovas et al., 2002), dependendo, portanto, do vetor para ser disseminado planta à planta, sendo restrito aos vasos do floema (Wisler et al., 1998; Medina et al., 2003).

Análises filogenéticas realizadas com base nas sequências de nucleotídeos do gene que codifica a proteína HSP70h (homóloga da “heat shock protein”) e do genoma completo de isolados brasileiros do ToCV, indicaram alto nível de conservação, com identidades de sequências superiores a 99% (Albuquerque et al., 2013; Barbosa et al., 2013). Em ambos os trabalhos, os autores também constataram que os isolados brasileiros de ToCV apresentaram maiores identidades com isolados de ToCV de países do Mediterrâneo, sugerindo que os isolados brasileiros devem ter origem a partir de uma única introdução. Tendo em conta que o ToCV não é transmitido verticalmente e a relação com o vetor é semi-persistente, o mais provável é que a introdução desse vírus no Brasil tenha acontecido por meio de material vegetativo infectado (Barbosa et al., 2013).

2.3. Epidemiologia do ToCV

A epidemiologia de doenças de plantas é tradicionalmente classificada em dois grandes grupos, dependendo da fonte de inóculo que dará origem à doença. No primeiro grupo, o inóculo que causa infecções é produzido durante a epidemia por indivíduos que foram anteriormente infectados ao longo da epidemia atual. Doenças pertencentes a este grupo são chamadas doenças policíclicas ou doenças de juro compostos (Van Der Plank, 1963; Madden et al., 2007). No segundo grupo, o inóculo que causa infecção não é produzido durante a epidemia em questão, mas pelo inóculo gerado por outras fontes, como solo, hospedeiros secundários ou cultivos do mesmo hospedeiro em outras áreas (Bergamin-Filho et al., 2016). Doenças pertencentes a este grupo são chamadas monocíclicas ou doenças de juro simples, ocorrendo apenas um ciclo infeccioso por cultivo. (Van Der Plank, 1963; Madden et al., 2007; Savary, 2007).

Para ambos os grupos, o inóculo que inicia a epidemia é chamado inóculo primário e a infecção causada é chamada infecção primária (Butt & Royle, 1980). Este processo é chamado de disseminação primária. Por outro lado, o inóculo secundário e a infecção secundária ocorrem somente em doenças policíclicas. O inóculo secundário resulta de infecções primárias e secundárias que acontecem na epidemia atual. Infecções secundárias originam de inóculo secundário. Este processo é chamado de disseminação secundária. A epidemiologia clássica considera que o papel da disseminação primária é introduzir o patógeno em áreas ainda ausentes, o subsequente desenvolvimento da epidemia é governada pela disseminação secundária (Bergamin-Filho et al., 1995).

Entretanto, recentemente, um terceiro grupo epidemiológico de doenças de plantas tem sido sugerido. Para este grupo, o inóculo primário desempenha um papel importante ao longo das epidemias, com infecções secundárias podendo ou não ocorrer simultaneamente. Em outras palavras, a epidemia é governada principalmente por diversos ciclos de infecção primária, que ocorrem simultaneamente. As doenças que seguem este padrão são chamadas de doenças policíclicas com infecção primária contínua, e seu manejo tem sido muito difícil. Doenças como o Huanglongbing em citrus, begomovirose e a crinivirose causada pelo ToCV em tomateiro pertencem a este grupo intermediário e complexo de doenças de plantas (Bergamin-Filho et al., 2016).

O manejo de doenças de plantas que possuem vetor representa um enorme desafio devido à complexa dinâmica e interação entre plantas hospedeiras, vetor e vírus, dentro de um ambiente variável. Esses três componentes estão sujeitos a uma interação indeterminável de fatores físicos e bióticos que influenciam a trajetória da doença nas culturas. Compreender como esses fatores afetam a incidência da doença e a implementação de um manejo eficiente para reduzir sua ocorrência, é o objetivo da epidemiologia de vírus de plantas (Castle et al., 2009). A identificação de hospedeiros alternativos, o conhecimento sobre vetores, a eficiência com que as espécies transmitem vírus ou o número relativo de vetores que se deslocam e colonizam a cultura em uma safra é de fundamental importância para se entender porquê epidemias acontecem e como elas devem ser manejadas.

O primeiro estudo realizado para se compreender a epidemiologia do ToCV em tomateiro foi realizado por Calaça (2011), com objetivo de acompanhar a evolução da incidência da virose e caracterizar os padrões temporal e espacial da doença no campo, na região de Sumaré, SP. Foram feitos levantamentos sistemáticos da incidência da doença em sete campos comerciais de tomateiro. O comportamento da epidemia causada pelo ToCV no tempo assumiu um padrão linear de crescimento, o qual foi atribuído à reposição contínua de vetores infectivos vindos de fora das plantações, com predomínio de infecções primárias. A distribuição espacial foi caracterizada por um forte efeito de borda, apontando para fontes de inóculo externas à lavoura. Foi observado, de modo geral, que o aumento de plantas doentes com o ToCV foi atribuído à predominância de infecções primárias em relação às secundárias.

Recentemente, Macedo (2016) conduziu um estudo epidemiológico para avaliar a distribuição temporal e espacial do ToCV e do begomovírus *Tomato severe rugose virus* (ToSRV), em campos comerciais de tomateiro nas regiões de Luziânia e Distrito Federal, GO. Nos estudos de distribuição temporal para as duas viroses foi observada uma diferença significativa entre as parcelas localizadas no centro e nas bordas da área de cultivo, sendo a maior incidência das viroses nas parcelas das bordas. Em estudo espacial, verificou-se que o padrão de distribuição da crinivirose e da begomovirose é semelhante, embora os vírus causadores dessas doenças tenham modos de transmissão distintos por *B. tabaci* MEAM1. Esse padrão foi similar ao observado nas plantas das parcelas localizadas nas bordas, indicando

que a disseminação primária assume papel relevante na disseminação dos dois vírus.

2.4. Manejo da doença

Atualmente, as viroses associadas às moscas-brancas despontam em todo o Brasil pela alta incidência e pelas perdas que causam. O seu manejo é dificultado pela complexidade do sistema agrícola brasileiro, onde áreas de produção contêm bons hospedeiros do aleirodídeo, presentes ao longo de todo o ano. Sendo um inseto polífono, a mosca-branca coloniza e multiplica-se em inúmeras plantas cultivadas, silvestres e invasoras, sendo, porém, as plantas cultivadas as mais prejudicadas (Inoue-Nagata et al., 2016). *B. tabaci* MEAM1 pode transmitir mais de 120 vírus de plantas. Na cultura do tomateiro, esta espécie é vetora de pelo menos 16 espécies de Begomovirus e do ToCV (Inoue-Nagata et al., 2016). A alta infestação de moscas-brancas em áreas agrícolas do Brasil, a presença de um grande número de hospedeiros alternativos do ToCV no campo, e a dificuldade de manejo do vetor, são provavelmente responsáveis pela alta incidência deste vírus na cultura do tomateiro.

O manejo do amarelão do tomateiro, no Brasil, é exclusivamente feito pela aplicação de inseticidas, para o controle do vetor, visto que não há variedades ou híbridos comerciais de tomateiro resistentes/tolerantes à doença (Mansilla-Córdova et al., 2018). Também é muito difícil, ou praticamente inviável, a eliminação de plantas hospedeiras fontes do vírus e do vetor nos arredores das plantações. O controle químico do vetor, portanto, torna-se a ferramenta mais viável e amplamente utilizada pelos produtores, porém nem sempre com resultados eficazes. Embora inseticidas possam reduzir populações do inseto-vetor, este método de controle pode não ser eficiente para o controle da infecção com o ToCV, que a mosca-branca virulífera pode transmitir o vírus antes de ser morta pelo inseticida, pois o vírus é transmitido em períodos curtos de alimentação (Freitas, 2012; Tzanetakis et al., 2013). Além disso, o aumento do número de pulverizações não impedirá infecções primárias se houver fontes de inóculo externas à plantação com a presença do vetor. Ensaios experimentais sobre a eficácia de inseticidas para controlar transmissões do begomovirus ToSRV, em trabalho desenvolvido por Gôuvea et al. (2017), demonstraram que aplicações de inseticidas não foram eficientes para controlar a

transmissão primária desse vírus por *B. tabaci* MEAM1. Os inseticidas ciantraniliprole e cloridrato de cartape, no entanto, foram eficientes em controlar a transmissão secundária do begomovírus com o vetor.

Para melhor eficiência no controle químico, Perring et al. (1999) mencionam ser necessário entender as características de transmissão do vírus bem como seus padrões de disseminação. Quando o padrão de disseminação de um vírus é predominante primário, a aplicação de inseticidas raramente é eficiente, principalmente se há o influxo de insetos viruflíferos para dentro da plantação. A aplicação de inseticida, neste caso, seria mais eficiente em plantas hospedeiras do vírus ou do vetor, adjacentes à plantação. Quando o padrão de disseminação de um vírus é secundário, a aplicação de um inseticida pode ser mais eficiente, dependendo do tipo de relação vírus-vetor. Para relação do tipo persistente, após a aquisição pelo vetor, o vírus deve passar por um período de latência (geralmente horas a dias), para só então ser inoculado na planta. Neste caso, inseticidas podem ser rápidos o suficiente para matar o inseto ou evitar a transmissão do vírus, pela alteração do comportamento alimentar do inseto. Para relações do tipo não persistente e semi-persistente, o vírus é inoculado imediatamente após aquisição pelo vetor, não havendo período de latência, sendo inseticidas pouco eficientes para evitar a transmissão do vírus.

De forma geral, o manejo do amarelão do tomateiro deve focar na integração de medidas de controle preventivas direcionadas ao vírus e ao vetor. As medidas de controle direcionadas ao vírus incluem: a escolha de áreas distantes de outras culturas hospedeiras, a escolha de épocas de plantio de menor incidência do vetor, o uso de mudas sadias produzidas em telados que impeçam a entrada do vetor, a eliminação de fontes de inóculo dentro e fora da área de cultivo (tiguera e plantas daninhas), a indução de resistência ao tomateiro, a destruição dos restos culturais após a colheita, e a adoção de vazios sanitários. Para o vetor recomendam-se medidas que dificultem seu deslocamento (barreiras físicas no viveiro e ao redor do cultivo) e seu comportamento (superfícies reflectivas ou fotoseletivas e repelentes/deterrentes químicos), que reduzam sua população (inseticidas e eliminação de hospedeiros) e interfiram no processo de transmissão (óleos, etc.). Para o sucesso do manejo da doença, todas estas medidas devem ser adotadas em um programa de manejo integrado implementado em escala regional (Inoue-Nagata et al., 2016; Michereff-Filho et al., 2014).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Plantas-teste

Foram utilizadas plantas de tomate do Grupo Santa Cruz, cultivar (cv.) Kada. As sementeiras foram feitas em bandejas de poliestireno expandido, contendo substrato da marca comercial Plantmax[®]. As plântulas foram transplantadas no estágio de primeiras folhas verdadeiras para vasos esterilizados, contendo o mesmo substrato. A adubação foi feita a cada vinte dias, utilizando o adubo NPK (04-14-08).

3.2. Fonte de inóculo do ToCV

Foi utilizado um isolado do vírus obtido de planta de tomate, coletado no município de Sumaré, SP. A transmissão do vírus foi feita para tomateiros cv. Kada, por meio do vetor *B. tabaci* MEAM1. A identidade da espécie viral foi confirmada por RT-PCR e sequenciamento de nucleotídeos dos amplicons. Os tomateiros infectados foram mantidos em gaiolas protegidas com tecido *voil*, na casa de vegetação no Departamento de Fitopatologia e Nematologia (LFN) da ESALQ/USP.

3.3. Colônia de *B. tabaci* MEAM1

Colônias de *B. tabaci* MEAM1 livres de vírus foram obtidas a partir de adultos provenientes de colônias pré-existentes do LFN. Estas colônias foram mantidas em plantas de couve (*Brassica oleraceae* L.) em gaiolas protegidas com tecido *voil* e acondicionadas na casa de vegetação no campo experimental do departamento, sendo as plantas renovadas periodicamente. A identidade da espécie foi confirmada molecularmente.

3.4. Transmissão do ToCV

A transmissão do vírus foi feita por *B. tabaci* MEAM1. Adultos livres de vírus foram inicialmente colocados sobre folhas destacadas de tomateiro comprovadamente infectadas com o ToCV, acondicionadas em potes de vidro. Para manter a aeração no ambiente de aquisição do vírus, os potes foram recobertos com

tecido *voil*. Os aleirodódeos foram mantidos nas folhas-fonte de ToCV por um período de acesso à aquisição (PAA) de 24 h e após esse período foram transferidos para as plantas-teste de tomateiro, de acordo com a finalidade dos experimentos descritos a seguir.

3.5. Detecção do ToCV

3.5.1 Extração de RNA total

A extração de RNA total das plantas-teste foi realizada utilizando o protocolo de Dellaporta *et al.* (1983). O RNA total extraído de plantas sabidamente infectadas com o ToCV e de plantas sadias foram usados nas reações de RT-PCR como controles positivo e negativo, respectivamente.

3.5.2 RT-PCR

A detecção do ToCV foi feita por RT-PCR a partir do RNA total extraído. Para a síntese da primeira fita do DNA complementar (cDNA) foram utilizados 2,5 µL de RNA total, misturados a 1 µL de água nuclease-free e 2 µL do oligonucleotídeo iniciador específico (anti-senso) HS-12 (5' – CC(G/T)CCACCAAA(A/T)TCGTA-3') à 20 pM/µL, em tubos de PCR de 0,6 mL. A mistura foi acondicionada em termociclador à 70°C por 5 min, seguida de incubação no gelo por 5 min. Em seguida foram adicionados 2,5 µL de buffer AMV; 0,5 µL de desoxinucleosídeos trifosfatados (dNTP's à 2,5 mM); 3,5 µL de água nuclease-free e 0,5 µL da enzima transcriptase reversa AMV. A mistura foi incubada à 42 °C por 1 h e à 4 °C até sua retirada.

A reação de PCR foi realizada utilizando o kit de PCR Master Mix (Promega). Para um volume de 25 µL foram adicionados 3 µL do cDNA; 12,5 µL de tampão Master Mix; 7,9 µL de água nuclease free e 0,8 µL dos oligonucleotídeos específicos ToC-5 senso (5'- GGTTTGGATTTTGGTACTACATTTCAGT-3') e ToC-6 anti-senso (5' - AAAGTGCCTGCATGAAAAGTCTC - 3') a 20 pM/µL (DOVAS *et al.*, 2002). O regime do termociclador foi de 95°C por 1 min, seguido de 40 ciclos de 95°C por 20 s, 60°C por 15 s, 72°C por 10 s e um período final de 10 min à 72°C.

A separação dos fragmentos amplificados foi feita através de eletroforese em gel de agarose a 1% contendo SYBR[®] Safe DNA gel Stain, por cerca de 40 min. Os fragmentos de DNA de 463 pb (pares de bases) amplificados foram visualizados em transiluminador de luz UV.

3.6. Sequenciamento de nucleotídeos

Para confirmar a identidade do ToCV nas plantas-teste dos ensaios, os amplicons da RT-PCR de algumas amostras foram enviados para sequenciamento de nucleotídeos. Para isso, foi utilizado o kit comercial de purificação SV Gel and PCR clean-up system (Promega). Após a purificação, os amplicons foram quantificados e encaminhados juntamente com os oligonucleotídeos iniciadores específicos para a empresa Macrogen, na Coreia. As sequências de nucleotídeos obtidas foram editadas e alinhadas usando o programa Electropherogram Quality Analysis, da Embrapa (disponível em: <http://bioinformatica.cenargen.embrapa.br/phph/>). A identidade das sequências de nucleotídeos obtidas foi analisada pelo BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool) ferramenta disponibilizada pelo NCBI (National Center for Biotechnology Information, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) que permite a comparação com sequências de nucleotídeos correspondentes ao ToCV depositadas no GenBank.

3.7. Simulações das transmissões primária e secundária do ToCV por *B. tabaci* MEAM1 em tomateiros pulverizados com inseticidas

Foram realizados dois ensaios independentes para avaliar a eficiência dos inseticidas constituídos pelos ingredientes ativos ciantraniliprole solo (Verimark), pimetozina (Chess), acetamiprido (Mospilan), flupiradifurone (Sivanto) e cloridrato de cartape (Cartap) no controle das transmissões primária e secundária do ToCV por *B. tabaci* MEAM1. Cada ensaio foi composto por três tratamentos, todos realizados no mesmo tempo. Dois tratamentos simularam as transmissões primária e secundária, respectivamente, e o terceiro, o controle, onde as plantas foram pulverizadas com água. Os tratamentos foram conduzidos em gaiolas separadas, confeccionadas em madeira, nas dimensões 0,7 x 1,2 x 1,7 m, revestidas com tecido *voil*.

O primeiro tratamento simulou a infecção primária, a qual ocorre em um campo de tomateiro pulverizado com inseticida, adjacente a outras plantas infectadas com o vírus, não pulverizadas, nas quais adultos de *B. tabaci* MEAM1 podem adquirir o ToCV e o levá-lo para a plantação. Sendo assim, vinte e cinco plantas sadias de tomate cv. Kada foram previamente pulverizadas com cada um dos inseticidas: pimetrozina (0,4 g/L), acetamiprido (0,4 g/L), flupiradifurone (2 mL/L) e cloridrato de cartape (2,5 g/L). As plantas foram pulverizadas no estágio de três folhas verdadeiras, até o ponto de escorrimento, exceto para ciantraniliprole solo (2,5 mL/L), sendo utilizados 25 µL de calda, diluídos em 20 mL de água, por planta. As plantas pulverizadas com cada um dos inseticidas foram acondicionadas em gaiolas separadas. Após 48 horas foram liberados 250 insetos virulíferos no interior de cada gaiola (a aquisição do vírus foi realizada conforme descrito no item 3.4), uma média de 10 insetos por planta. A pulverização e posterior liberação de 250 insetos virulíferos foram repetidas mais duas vezes nessas gaiolas, com o intervalo de sete dias após a liberação anterior. Nas mesmas condições descritas acima, 25 tomateiros sadios foram acondicionados em outra gaiola, representando o controle da infecção primária. Nesta, porém, as plantas foram pulverizadas com água e o mesmo número de insetos virulíferos foi usado.

O segundo tratamento simulou a infecção secundária, a qual ocorre no interior de um campo de tomateiros pulverizados com inseticida e que contém em seu interior tomateiros infectados com o vírus e tomateiros sadios. Vinte e cinco tomateiros sadios e três infectados com o ToCV, distribuídos aleatoriamente, foram pulverizados com cada um dos inseticidas e confinados em gaiolas diferentes. A mesma solução de cada ingrediente ativo na dose recomendada foi aplicada às plantas sadias e infectadas. Quarenta e oito horas após a pulverização foram liberados 250 adultos de *B. tabaci* MEAM1 livres de vírus. A pulverização e posterior liberação de insetos livres de vírus também foram repetidas mais duas vezes, concomitantemente às repetições no primeiro tratamento. Nas mesmas condições descritas acima, 25 tomateiros sadios e 3 infectados com o ToCV foram acondicionados em outra gaiola representando o controle da infecção secundária. Nesta, porém, as plantas foram pulverizadas com água e o mesmo número de insetos livres de vírus foi liberado. A Figura 1 ilustra o interior das gaiolas contendo plantas-teste de tomateiro, simulando as infecções primária (A) e secundária (B), respectivamente.

A detecção do vírus nas plantas-teste foi realizada 43 dias após a primeira liberação de insetos. Os resultados foram convertidos em porcentagens de plantas infectadas e analisados estatisticamente. As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Figura 1. Ilustração das plantas de tomate no interior das gaiolas, simulando as transmissões primária (A) e secundária (B), respectivamente. As setas indicam as plantas fontes de ToCV.

3.8. Avaliação do tempo que *B. tabaci* MEAM1 é capaz de transmitir o ToCV para tomateiro, após confinamento em tomateiro infectado e pulverizado com o inseticida pimeprozina para aquisição do vírus

Foi realizado um ensaio para verificar por quanto tempo *B. tabaci* MEAM1 é capaz de transmitir o ToCV após confinamento em tomateiro infectado e pulverizado com o inseticida pimeprozina para aquisição do vírus. O ensaio foi composto por dois tratamentos, como ilustrado na Figura 2. No primeiro tratamento, tomateiros cv. Kada, comprovadamente infectados com o ToCV, foram pulverizados com pimeprozina, na concentração de 0,4 g/L. Folhas com sintomas típicos de ToCV foram destacadas dessas plantas, 48 h após a pulverização e utilizadas para a aquisição do vírus pelo vetor. Esta foi realizada em gaiolas “clip-cage” (Figura 3), onde 50 insetos adultos de *B. tabaci* MEAM1 livres de vírus foram confinados em diferentes folhas, por períodos de acesso à aquisição (PAA) de 2, 4, 6, 8 e 24 h. Após cada PAA, grupos de vinte insetos de cada folha utilizada como fonte de inóculo foram transferidos para plantas-teste sadias de tomate para transmissão do vírus, por um período de acesso à inoculação (PAI) de 48 h. Foram utilizadas 3 plantas-teste para cada PAA. O segundo tratamento, o controle, foi realizado concomitantemente ao primeiro tratamento, diferindo apenas no fato de que os tomateiros infectados com o ToCV foram pulverizados com água. Após cada PAA dos insetos em folhas de tomateiro tratadas com o inseticida e a água, foi contabilizado o número de insetos mortos.

Todas as plantas-testes foram mantidas em gaiolas individualizadas para evitar possíveis contaminações. A detecção do vírus foi realizada 40 dias após inoculação.

Figura 2. Ilustração do ensaio de avaliação do tempo que *B. tabaci* MEAM1 é capaz de transmitir o ToCV para tomateiro, após 2, 4, 6, 8 e 24 horas de acesso à aquisição do vírus em folhas de tomateiro tratadas com o inseticida pimetozina e água (controle).

Figura 3. Gaiola "clip-cage" utilizada para aquisição do vírus por *B. tabaci* MEAM1 em folha de tomateiro infectada com o ToCV e tratada com pimetozina.

4 RESULTADOS

4.1 Eficiência de inseticidas no controle das transmissões primária e secundária do ToCV por *B. tabaci* MEAM1 em tomateiro

Os resultados de dois ensaios independentes para avaliar a eficiência dos inseticidas constituídos pelos ingredientes ativos ciantranilliprole solo, pimetrozina, acetamiprido, flupiradifurone e cloridrato de cartape na transmissão do ToCV por *B. tabaci* MEAM1 estão apresentados na Tabela 1. Nenhum inseticida foi eficiente para controlar as infecções primária e secundária do ToCV. De maneira geral, a média de infecção de tomateiros pulverizados com os inseticidas simulando a infecção primária variou de 70 a 88%, contra 92% de tomateiros infectados no controle. Para a infecção secundária, a média de infecção variou de 56 a 84%, contra 79% de tomateiros infectados no respectivo controle.

Flupiradifurone e pimetrozina foram os únicos que apresentaram efeito um pouco mais acentuado na redução da transmissão secundária do ToCV por *B. tabaci* MEAM1. As porcentagens de tomateiros pulverizados com esses produtos e infectados com o ToCV foram de 56% e 64%, respectivamente. No caso dos demais inseticidas, a proporção de tomateiros infectados variou de 72% a 84%. Por este motivo, pimetrozina foi selecionada para o experimento de avaliação do tempo que *B. tabaci* MEAM1 é capaz de transmitir o ToCV após confinamento em tomateiro infectado e pulverizado com este inseticida para aquisição do vírus.

A Figura 4 ilustra a detecção do ToCV em tomateiros, por meio da RT-PCR, em um conjunto de plantas tratadas com o inseticida pimetrozina, representando as simulações das transmissões primária (A) e secundária (B), respectivamente.

Tabela 1. Taxas de transmissão do ToCV por *B. tabaci* MEAM1 para tomateiros cv. Kada pulverizados com os inseticidas cloridrato de cartape, acetamiprido, ciantraniliprole solo, flupiradifurone e pimetrozina, simulando as transmissões primária (P) e secundária (S). No controle as plantas foram pulverizadas com água.

Gaiola	Nº plantas infectadas / total de plantas - % de infecção				Média (% de infecção)*
	Ensaio I			Ensaio II	
	Controle				
P	21/25	84	25/25	100	92 a
S	17/24	71	22/25	88	79 A
	Cloridrato de cartape				
P	21/25	84	23/25	92	88 a
S	15/25	60	21/25	84	72 A
	Acetamiprido				
P	19/24	79	24/25	96	87 a
S	18/25	72	24/25	96	84 A
	Ciantraniliprole solo				
P	14/20	70	17/23	74	72 a
S	18/25	72	19/25	76	74 A
	Flupiradifurone				
P	15/22	68	18/25	72	70 a
S	11/21	52	15/25	60	56 A
	Pimetrozina				
P	16/25	68	22/24	92	80 a
S	11/24	46	19/23	83	64 A

*Médias seguidas por letras maiúsculas e minúsculas iguais não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Figura 4. Análise dos produtos da RT-PCR, em gel de agarose a 1%, para a detecção do ToCV em tomates cv. Kada pulverizados com o inseticida pimetrozina, simulando as transmissões primária (A) e secundária (B) do segundo ensaio. MP: marcador de peso molecular 1 Kb plus DNA; (-) planta sadia.

4.2 Transmissão do ToCV por *B. tabaci* MEAM1 após diferentes tempos de confinamento em tomateiro infectado e pulverizado com o inseticida pimetozina para aquisição do vírus

Os resultados do ensaio para verificar por quanto tempo *B. tabaci* MEAM1 é capaz de transmitir o ToCV após confinamento em tomateiro infectado e pulverizado com o inseticida para aquisição do vírus estão apresentados na Tabela 2. Independente do tempo de confinamento (2 - 24 h) para a aquisição do ToCV em folha de tomateiro tratada com pimetozina, adultos de *B. tabaci* MEAM1 foram capazes de transmitir o vírus para tomateiros sadios, exceto para o PAA de 6 h, onde não ocorreu transmissão. A porcentagem de insetos mortos aumentou notavelmente com 24 h de aquisição do vírus em tomateiro pulverizado com o inseticida, quando comparada com tomateiro pulverizado com água, com índices de 33,5% e 15,3%, respectivamente.

Tabela 2. Transmissão do ToCV por *B. tabaci* MEAM1 para tomateiros cv. Kada e porcentagem média de insetos mortos após 2, 4, 6, 8 e 24 horas de acesso à aquisição do vírus em folhas de tomateiro tratadas com o inseticida pimetozina e água (controle).

PAA (horas)	nº plantas infectadas / nº plantas inoculadas		Média de insetos mortos (%)	
	Pimetozina	Água	Pimetozina	Água
2	1/3	2/3	0	2
4	2/3	1/3	5	5
6	0/3	1/2	31	14
8	1/3	1/3	15	13
24	2/3	2/3	33	15

4.3 Identidade do isolado de *Tomato chlorosis virus*

As sequências de nucleotídeos dos amplicons obtidos a partir do RNA total de amostras das plantas-teste mostraram identidade de 94% a 96%, quando comparadas com as sequências correspondentes disponíveis no NCBI GenBank, acessos KT888067.1 (Arábia Saudita) e KY400134.1 (Brasil).

5 DISCUSSÃO

Para doenças cujos vírus são transmitidos por vetor, como é o caso do ToCV, para dar início a uma epidemia, o inóculo inicial pode ser considerado como a primeira migração de insetos virulíferos (disseminação primária). Estes insetos podem ter adquirido o vírus em plantios adjacentes de tomateiro ou outra solanácea, em plantas voluntárias (tigueras) ou em plantas daninhas hospedeiras infectadas com o vírus. Após a introdução do patógeno, a epidemia da doença em lavouras de tomateiros, no Brasil, é governada principalmente por constantes influxos de insetos virulíferos, simultaneamente com infecções que podem ocorrer devido à disseminação de planta a planta (secundária) (Calaça, 2011; Macedo, 2016; Bergamin-Filho et al., 2016). Paralelamente aos estudos epidemiológicos brasileiros feitos com este patossistema, outros estudos semelhantes foram realizados com outras espécies de vírus transmitidos por *B. tabaci*, com resultados variáveis. Na Espanha, Ruiz et al. (2006) monitoraram a incidência do *Curcubit yellow stunting disorder virus* (CYSDV - Crinivirus) e *Cucumber vein yellowing virus* (CVYV - Ipomovirus) e seus padrões de disseminação, durante seis plantios consecutivos de pepino, em casa de vegetação. O modelo logístico foi o que melhor se ajustou às curvas de progresso das doenças, sugerindo que a epidemia foi governada, principalmente, pela disseminação de planta a planta (secundária). Outros fatores também impulsionaram a introdução e a disseminação de CYSDV e CVYV, como a fonte de inóculo e a migração de população de *B. tabaci* no início de uma nova safra. Os autores também citam que além de várias espécies de plantas daninhas poderem atuar como fonte de inóculo dos vírus, plantas de estufas vizinhas infectadas são as grandes responsáveis pelo início das epidemias, devido à alta densidade de estufas naquela área de produção, nas quais os insetos adquirem os vírus e os levam para novos plantios. Na China, Tang et al. (2017) apontaram que a incidência de plantas doentes em plantios de tomateiros e de pepino infectados com o ToCV e com o *Cucurbit chlorotic yellows virus* (CCYV - Crinivirus) respectivamente, era devido à proximidade com *Alternanthera philoxeroides*, uma planta daninha amplamente distribuída na região e infectada com ambos os vírus. Os plantios que se iniciavam livres dos vírus eram então infectados pelo influxo de insetos virulíferos provenientes de *A. philoxeroides*, devido ao amadurecimento e senescência das plantas. Nos EUA, Polston et al. (1996) relataram que a

abundância de moscas-brancas virulíferas imigrantes era a principal responsável pelas epidemias de *Tomato mottle virus* (Begomovirus), ao invés da disseminação secundária, em lavouras de tomateiro, que eram caracterizadas por frequentes aplicações de inseticidas. Sendo assim, os autores recomendaram a eliminação de fontes externas de inóculo, como plantios velhos de tomateiros e plantas daninhas hospedeiras do vírus e do vetor, como alternativa de manejo da doença.

Recentemente, no Brasil, Macedo et al. (dados não publicados) compararam o progresso temporal e espacial do ToSRV e do ToCV em lavouras comerciais de tomateiros. Foi constatado que, assim como o ToSRV, o ToCV, embora apresente modo de transmissão diferente pela mosca-branca, possui a mesma epidemiologia e é disseminado pelos mesmos mecanismos. A ausência de um período de latência no vetor para a transmissão do ToCV deveria produzir um padrão agregado de plantas sintomáticas, pois o vetor após adquirir o vírus pode imediatamente inoculá-lo em plantas vizinhas sadias. Os autores sugerem que a similaridade nos padrões temporal e, especialmente espacial (que produziu um padrão aleatório de plantas sintomáticas) para ambas as doenças, pode ser consequência da alta frequência de pulverizações com inseticidas, que elimina em grande parte a disseminação secundária, porém não parece prevenir a disseminação primária.

O controle químico do vetor deveria, em teoria, ser eficiente tanto para controlar a infecção primária, que demonstra ser a prevalente, quanto a infecção secundária. Falhas no controle da doença através do controle químico do vetor estão relacionadas com o tipo de relação vírus-vetor (Broadbent, 1957). No caso do ToCV, sabe-se que a relação vírus-vetor é do tipo semi-persistente. O vírus pode ser adquirido e inoculado após, no mínimo, cinco minutos de alimentação da *B. tabaci* MEAM1, porém a eficiência de transmissão aumenta à medida que os tempos de aquisição e inoculação aumentam. Após a aquisição, o vírus é imediatamente transmitido para plantas sadias através da alimentação do vetor, pois não há um período de latência. O ToCV persiste neste inseto por até três dias (Freitas, 2012; Wintermantel & Wisler, 2006).

Os resultados do presente trabalho, em que se avaliou a eficiência dos inseticidas constituídos pelos ingredientes ativos ciantraniliprole solo, flupiradifurone, cloridrato de cartape, pimetrozina e acetamiprido no controle das transmissões primária e secundária do ToCV por *B. tabaci* MEAM1, simuladas em gaiolas com plantas de tomate, indicaram que nenhum deles foi eficiente para controlar ambas as

infecções com este vírus (Tabela 1). Estes resultados foram parcialmente similares aqueles obtidos por Gouvêa et al. (2017), em que os inseticidas cloridrato de cartape, ciantraniliprole, espiromesifeno e tiametoxam foram ineficientes no controle da simulação da transmissão primária do ToSRV por *B. tabaci* MEAM1, porém ciantraniliprole e cloridrato de cartape foram eficientes no controle da simulação da transmissão secundária, quando comparados ao controle.

Castle et al. (2017) avaliaram o efeito dos ingredientes ativos ciantraniliprole (solo e foliar), flupiradifurone (solo e foliar), acetamiprido (foliar), pirifluquinazon (foliar), imidacloprid (solo), dinotefuran (solo e foliar) e tiametoxam (solo e foliar) na transmissão do CYSDV por *B. tabaci* MEAM1, em plantas de melão em estufa, onde variaram o número de insetos virulíferos (3, 10 e 30). Mesmo com alta pressão de inóculo (30 insetos por planta), flupiradifurone e acetamiprido reduziram significativamente a transmissão do CYSDV, isto é, 0% e 4,3% de plantas infectadas, respectivamente. Ciantraniliprole aplicado via solo não foi eficiente em reduzir a transmissão do vírus, porém, quando aplicado nas folhas, reduziu significativamente a porcentagem de plantas infectadas (< 10% de infecção), quando comparado ao controle. Os autores apontaram que o efeito significativo desses inseticidas na redução da transmissão deste crinivirus pode ser devido ao longo período de alimentação do vetor para atingir e penetrar o tecido do floema, sendo que este tempo o torna mais vulnerável à ação de alguns inseticidas, principalmente aqueles que modificam ou paralisam o comportamento alimentar do inseto. No entanto, a aplicação de inseticidas para redução da transmissão do CYSDV em certas regiões dos EUA tem limitações em áreas de altas infestações do vetor, e muitas vezes a aplicação do produto somente atrasa o aparecimento da doença ao invés de evitar sua ocorrência.

Inseticidas do grupo dos neonicotinóides se ligam aos receptores nicotínicos de acetilcolina no sistema nervoso central do inseto, interrompendo a transmissão neural e levando à excitação do sistema nervoso, paralisando, consequentemente, a movimentação de adultos de *B. tabaci*. Fazem parte deste grupo os ingredientes ativos acetamiprido, tiametoxam, imidacloprid, thiacloprid, clotianidina, nitenpyram e dinotefuran (Simon-Delso et al., 2015). Acetamiprido, avaliado no presente trabalho, como já apontado, não foi eficiente para controlar as infecções primária e secundária do ToCV. Tomateiros tratados com este inseticida apresentaram altas taxas de infecção primária e secundária (87% e 84%, respectivamente) com o crinivirus. Nos

controles, 92% e 79% das plantas foram infectadas, nas simulações das transmissões primária e secundária, respectivamente.

Palumbo (2012) avaliou o efeito dos inseticidas foliares flupiradifurone, ciantraniliprole, pirifluquinazon, endosulfan, piretróide e as combinações endosulfan + piretróide, flupiradifurone + piretróide, ciantraniliprole + piretróide e pirifluquinazon + piretróide na incidência do CYSDV (crinivirus), transmitido por *B. tabaci*, 1, 3 e 7 dias após tratamento com inseticida (DAT), em plantas de melão. Flupiradifurone e pirifluquinazon, tanto em mistura quanto em aplicações simples, proporcionaram reduções significativas na incidência da doença, enquanto que aplicações com ciantraniliprole, endosulfan e piretróide não foram eficientes, comparadas às plantas não tratadas. Os autores relatam que flupiradifurone e pirifluquinazon foram eficientes em reduzir a incidência da doença pelo fato de modificarem o comportamento alimentar do inseto.

O ingrediente ativo ciantraniliprole pertence ao grupo químico das diamidas antranílicas. Ativa receptores de rianodina, alterando e paralisando a função muscular de insetos pela liberação descontrolada de cálcio, o que resulta em rápido bloqueio da alimentação (Hanning et al., 2009). Este ingrediente ativo aplicado via solo, estudado no presente trabalho, também não proporcionou controle da transmissão do ToCV para tomateiro por *B. tabaci* MEAM1, cujas infecções foram de 72% para a transmissão primária e de 74% para a transmissão secundária, não diferindo dos respectivos controles.

O ingrediente ativo flupiradifurone pertence a um sub-grupo butenolides nova classe química, butenolida. Este inseticida atua reversivelmente como um agonista em receptores de acetilcolina nicotínica do inseto, mas é estruturalmente diferente de agonistas conhecidos, como os neonicotinóides, por exemplo. Ao contrário da acetilcolina, o flupiradifurone não pode ser inativado pela acetilcolinesterase, resultando em desordem do sistema nervoso e morte dos insetos, pela rápida paralisação da alimentação (Nauen et al., 2015).

Roditakis et al. (2017) ao avaliarem o efeito de flupiradifurone na prevenção da transmissão do begomovirus *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) por *B. tabaci* MEAM1 em tomateiros, constataram que este inseticida proporcionou redução da transmissão da ordem de 85%, quando comparado com tiametoxam, inseticida padrão relatado com efeito na redução da doença, cuja proteção foi de 25%, utilizando dez insetos virulíferos por planta. No controle, 100% das plantas foram

infectadas. Ainda, 90% dos insetos morreram dentro de trinta minutos após a aplicação de flupiradifurone, enquanto que a mesma mortalidade para tiametoxam foi alcançada com três horas. Os autores ressaltam que a aplicação de flupiradifurone pode ser uma nova e poderosa ferramenta, devido a sua rápida ação e longo poder residual, cessando rapidamente a alimentação do inseto, reduzindo, deste modo, a transmissão do vírus. O prolongado efeito residual de flupiradifurone no bloqueio da alimentação do inseto foi superior a outros inseticidas, dentre eles ciantraniliprole e pimetrozina. Ainda, os autores sugerem que a aplicação deste inseticida deve ser utilizada juntamente com outras estratégias de controle, dentro de um manejo integrado da doença. No presente trabalho, flupiradifurone foi o produto que proporcionou as maiores reduções nas simulações das transmissões primária e secundária do ToCV da ordem de 30% e 44%, respectivamente.

Smith e Giurcanu (2014) avaliaram o efeito dos inseticidas constituídos pelos ingredientes ativos ciantraniliprole, flupiradifurone, pirafluquinazon, sulfoxaflor, pimetrozina e uma combinação de zeta-cypermethrina com bifentrina na transmissão do ToYLCV por *B. tabaci* MEAM1, em tomateiros inoculados aos 3, 7 e 14 dias após tratamento (DAT), utilizando três insetos virulíferos por planta. A menor porcentagem de plantas infectadas foi encontrada naquelas tratadas com flupiradifurone, com infecções médias de 0% aos 3 e 7 DAT e 0 a 5% aos 14 DAT; seguida de ciantraniliprole, com 13 a 18% aos 3 DAT, 10 a 28% aos 7 DAT e 30 a 42% aos 14 DAT. A maior porcentagem de plantas infectadas foi encontrada naquelas tratadas com pimetrozina, isto é 13 a 63% aos 3 DAT, 18 a 72% aos 7 DAT e 40 a 85% aos 14 DAT. Esse resultado difere do obtido por Polston e Sherwood (2003), em que o ingrediente ativo pimetrozina reduziu significativamente a transmissão do TYLCV em tomateiro. Após 1, 4, 7 e 11 dias da aplicação do inseticida foram liberados de três a cinco insetos virulíferos por planta. Pimetrozina reduziu a transmissão do vírus em 100% (1 DAT), 90,2% (4 DAT) e 60% (7 DAT), comparado ao controle. Não houve controle aos 11 DAT. No presente trabalho, este inseticida não controlou as transmissões primária e secundária do ToCV, cujas porcentagens de plantas infectadas foram de 80% e 64%, respectivamente. Ressalta-se, no entanto, que este ingrediente ativo, juntamente com flupiradifurone foram os que proporcionaram maiores reduções nas taxas de transmissão secundária desse crinivírus (36% e 44%), respectivamente.

O ingrediente ativo pimetozina pertence ao sub-grupo derivados de piridina de azomectina, que se liga aos receptores neurais no sistema nervoso do inseto. Tem efeito na paralisação dos músculos do cibário, bloqueando a penetração estiletar, cessando, conseqüentemente, a alimentação do inseto (Polston e Sherwood, 2003).

Produtos químicos do sub-grupo (bis)tiocarbamato, por sua vez, como o ingrediente ativo cloridrato de cartape, agem por contato e ingestão. Este ingrediente ativo bloqueia canais iônicos do receptor nicotínico da acetilcolina, desorganizando o sistema nervoso central, causando paralisia dos insetos (Lee et al., 2004). Resultados do presente trabalho mostraram que o cloridrato de cartap também não foi eficiente para controlar as transmissões primária e secundária do ToCV, sendo que tomateiros tratados com este inseticida apresentaram infecções de 88% e 72%, respectivamente. Porém, cloridrato de cartap teve efeito significativo sobre a transmissão secundária do begomovirus ToSRV, em trabalho desenvolvido por Gôuvea et al., (2017), proporcionando redução da infecção da ordem de 94%, quando comparado ao controle. Isto se deve, provavelmente, ao fato de que este inseticida pode ter sido suficientemente rápido para matar os insetos, antes do vírus completar o período de latência no inseto, de aproximadamente 15 horas (Toloy et al., 2017) e efetuar a transmissão para plantas sadias. O efeito de inseticidas no controle da transmissão secundária do ToSRV, estudado por Gôuvea et al. (2017), mostrou que o inseticida ciantraniliprole também proporcionou reduções de infecções da ordem de 81% (foliar) e 94,5% (solo) de plantas infectadas, quando comparado ao controle. Neste caso, a interrupção da alimentação promovida por este ingrediente ativo, juntamente com o período de latência do vírus no vetor podem ser as causas da acentuada redução da disseminação secundária do ToSRV.

Fica evidente, portanto, que a eficiência do controle químico depende, principalmente, do tipo de relação vírus-vetor, mas também dos padrões de disseminação do vírus na plantação. Apesar da diminuição da taxa de infecção, o controle de fitoviroses através do controle químico do vetor dificilmente impede a infecção do vírus por completo, tanto na infecção primária quanto na secundária, como demonstrado na maioria dos trabalhos citados e no presente trabalho.

No único ensaio efetuado para avaliar o tempo que *B. tabaci* MEAM1 foi capaz de transmitir o ToCV após adquiri-lo em tomateiros tratados com pimetozina,

constatou-se que os insetos, mesmo após permanecerem 24 h em folhas tratadas com o inseticida, foram capazes de adquirir e transmitir o vírus para plantas sadias de tomateiro. Outros ensaios, com este e outros inseticidas, devem ser conduzidos para melhor compreensão dos efeitos desses produtos nos processos de aquisição e transmissão do ToCV por *B. tabaci* MEAM1.

Em conjunto, os resultados deste trabalho indicam que a aplicação de inseticidas de maneira isolada para o controle da transmissão do ToCV não é eficiente, já que o vetor pode transmitir o vírus antes de ter a alimentação interrompida ou ser morto pelo inseticida. O uso racional de inseticidas, utilizado em escala regional, aliado com a eliminação de fontes externas de inóculo, mais variedades e/ou híbridos resistentes, quando disponíveis, poderá contribuir para o melhor manejo da doença no campo.

REFERÊNCIAS

- ABCSEM. **Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudanças**. Disponível em: <http://www.abcsem.com.br/releases/2420/tomaticultura-valioso-segmento-do-agronegocio-nacional> . Acesso em: 03 de Ago. 2017.
- Albuquerque, L.C.; Villanueva, F.; Resende, R.O.; Navas- Castillo, J.; Barbosa, J.C.; Inoue-Nagata, A.K. Molecular characterization reveals Brazilian *Tomato chlorosis virus* to be closely related to a Greek isolate. **Tropical Plant Pathology**. v. 38, p. 332- 336, 2013.
- Barbosa, J.C.; Teixeira, A.P.M.; Moreira, A.G.; Carmargo, L.E.A.; Bergamin Filho, A.; Kitajima, E. W.; Rezende, J.A.M. First report of *Tomato chlorosis virus* infecting tomato crops in Brazil. **Plant Disease**, v. 92, n. 12, p. 1709, 2008.
- Barbosa, J.C.; Teixeira, L.D.D.; Rezende, J.A.M. First report on the susceptibility of sweet pepper crops to in Brazil. **Plant Disease**. v. 94, p. 374, 2010.
- Barbosa J.C.; Costa, H.; Gioria, R.; Rezende J.A.M. Occurrence of *Tomato chlorosis virus* in tomato crops in five Brazilian states. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 36, p. 256-258, 2011.
- Barbosa, J.C.; Rezende, J.A.M.; Bergamin-Filho, A. Low genetic diversity suggests a single introduction and recent spread of *Tomato chlorosis virus* in Brazil. **Journal of Phytopathology**. v. 161, p. 884-886, 2013.
- Bergamin-Filho, A.; Inoue-Nagata, A. K.; Bassanezi, R. B.; Belasque Jr, J.; Amorim, L.; Macedo, M. A.; Barbosa, J. C.; Willocquet, L.; Savary, S. The importance of primary inoculum and area-wide disease management to crop health and food security. **Food security**. v. 8, p. 1-18, 2016.
- Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. **Manual de Fitopatologia**. Princípios e Conceitos. São Paulo: Ceres. 1995.
- Broadbent, L. Insecticidal Control of the Spread of Plant Viruses. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 2, p. 339-354, 1957.
- Butt, D.J.; Royle, D.J. The importance of terms and definitions for a conceptually unified epidemiology. In: J. Palti & J. Kranz (Eds.), Comparative epidemiology. A tool for better disease management (p. 29-49). Wageningen: Pudoc, 1980.
- Calaça, H. A. **Dinâmica temporal e espacial da virose causada por *Tomato chlorosis virus* (ToCV) em tomateiro**. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 101p. Piracicaba, 2011.
- Cañizares, M.C.; Navas-Castillo, J.; Moriones, E. Multiple suppressors of RNA silencing encoded by both genomic RNAs of the crinivirus, *Tomato chlorosis virus*. **Archives of Virology**, v. 379, p. 168-174, 2008.

- Castle, S. J.; Palumbo, J. C.; Prabhaker, N. Newer insecticides for plant virus disease management. **Virus Research**, Amsterdam, v. 141, n. 2, p. 131-139, 2009.
- Castle, S.; Palumbo, J.; Merten, P.; Cowden, C.; Prabhaker, N. Effects of foliar and systemic insecticides on whitefly transmission and incidence of *Cucurbit yellow stunting disorder virus*. **Pest Management Science**, v. 73, n.7, p. 1462-1472, 2017.
- CEPEA. Tomate, um mercado que não para de crescer globalmente. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. **Hortifruti Brasil**, Junho de 2007. Disponível em: http://www.cepea.esalq.usp.br/hfbrasil/edicoes/58/mat_capa.pdf . Acesso em: 03 de Ago. 2017.
- Chen, A.Y.; Walker, G.P.; Carter, D.; Ng, J.C. A virus capsid component mediates virion retention and transmission by its insect vector. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** v. 108, p. 16777-16782, 2011.
- Dellaporta, S. L.; Wood, J.; Hicks, J.B. A plant DNA miniprep: version II. **Plant Molecular Biology Reporter**. v. 1, n. 4, p. 19-21, 1983.
- Dovas, C.I.; Katias, N.I.; Avgelis, A.D. Multiplex detection of criniviruses associated with epidemics of yellowing diseases of tomato in Greece. **Plant Disease**. v. 81, p. 423, 2002.
- EMBRAPA. A cultura do tomateiro (para mesa). Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Centro Nacional de Pesquisa de Hortalças. Brasília, 92p, **Coleção Plantar**; 5, 1993.
- Favara, G.M. **Cinética da invasão sistêmica e períodos de latência e de incubação do *Tomato severe rugose virus* e *Tomato chlorosis virus*, em infecções simples e mista em tomateiro**. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. p. 69. Piracicaba, 2017.
- FAO. FAOSTAT. Disponível em: <http://faostat.fao.org> . Acesso em: 03 de Ago. 2017.
- Fonseca, M.E.N.; Boiteux, L.S.; Lima, M.F.; Mendonça, J.L.; Costa, A.F.; Fontes, M.G.; Costa, H.; González-Arcos, M. First report of *Tomato chlorosis virus* infecting eggplant and scarlet eggplant in Brazil. **Plant Disease**, v. 100, p. 867, 2015.
- Fortes, I.M.; Moriones, E.; Navas-Castillo, J. *Tomato chlorosis virus* in pepper: prevalence in commercial crops in southeastern Spain and symptomatology under experimental conditions. **Plant Pathology**. v. 61, p. 994-1001, 2012.
- Freitas, D.M.S.; Nardin, I.; Shimoyama, N.; Souza Dias, J.A.C.; Rezende, J.A.M. First report of *Tomato chlorosis virus* in potato in Brazil. **Plant Disease**. v. 96, p. 593, 2012.

- Freitas, D.M.S. **Tomato severe rugose virus (ToSRV) e Tomato chlorosis virus (ToCV): relações com Bemisia tabaci biótipo B e eficiência de um inseticida no controle da transmissão do ToSRV**. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". 74p. Piracicaba, 2012.
- Gilbertson R.L.; Batuman O.; Webster C.G.; Adkins S. Role of the insect supervectors *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in the emergence and global spread of plant viruses. **Annual Review of Virology**. v. 2, p. 67-93, 2015.
- Gouvêa, M. M.; Freitas, D. M.; Rezende, J. A.; Watanabe, L. F.; Lourenção, A. L. Bioassay of insecticides on mortality of *Bemisia tabaci* biotype B and transmission of *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) on tomatoes. **Phytoparasitica**, v. 45, n.1, p. 95-101, 2017.
- Hanning, G.T.; Ziegler, M.; Marçon, P.G. Feeding cessation effects of chlorantraniliprole, a new anthranilic diamide insecticide, in comparison with several insecticides in distinct chemical classes and mode-of-action groups. **Pest Management**, v. 65, n. 9, p. 969-974, 2009.
- Inoue-Nagata, A.K. Doenças viróticas. In: Tomate: produção em campo, casa de vegetação e hidroponia. Lavras, Editora Universitária de Lavras, p.16, 2013.
- Inoue-Nagata, A.K.; Carvalho, C.M.; Zerbini, F.M.; Rezende, J.A.M.; Sakate, R.K.; Nagata, T. Vírus transmitidos por moscas-brancas no Brasil: vetores, principais doenças e manejo. In: **RAPP** – Revisão Anual de Patologia de Plantas. v. 24, p. 7-29, 2016.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento sistemático da produção agrícola: pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. **IBGE**, Rio de Janeiro, v. 30, n.1, 2017. Disponível em: [ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Fasciculo/lspa_201701.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/lspa_201701.pdf) . Acesso em 03 Ago. 2017.
- Lee, S.J.; Pierluigi, C.; Motohiro, T.; Casida, J.E. Cartap Hydrolysis Relative to Its Action at the Insect Nicotinic Channel. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 95-98, 2004.
- Liu, H.; Wisler, G.C.; Duffus, J.E. Particle length of whitefly- transmitted criniviruses. **Plant Disease**, v. 84, p. 803-805, 2000.
- Macedo, M.A. **Progresso temporal e espacial de begomovirose e crinivirose em tomateiro**. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília. 138p. 2016.
- Madden, L.V.; Hughes, G.; Van Den Bosch, F. The study of plant disease epidemics. **The American Phytopathology Press**, 2007.
- Mansilla-Córdova, P.J.; Bampi, D.; Rodinel-Mendoza, N.V.; Melo, P.C.T.; Lourenção, A.L.; Rezende, J.A.M. Screening tomato genotypes for resistance and tolerance to *Tomato chlorosis virus*. **Plant Pathology**, 2018.

- Medina, V.; Rodrigo, G.; Tian, T.; Juarez, M.; Dolja, V. V.; Achon, M.A.; Falk, B.W. Comparative cytopathology of Crinivirus infections in different plant hosts. **Annals of Applied Biology**, v.143, p. 99–110, 2003.
- Michereff-Filho, M.; Nagata, A.K.I.; Macedo, M.A. Manejo de viroses associadas à mosca-branca, *Bemisia tabaci*. In: **XXXV Congresso Brasileiro de Entomologia**. Goiânia, GO, 2014.
- Nauen, R.; Jeschke, P.; Velten, R.; Beck, M. E.; Ebbinghaus-Kintscher, U.; Thielert, W.; Wölfel, K.; Haas, M.; Kunz, K.; Raupach, G. Flupyradifurone: a brief profile of a new butenolide insecticide. **Pest Management Science**, v. 71, p. 850–862, 2015.
- Navas-Castillo J.; Fiallo-Olivé, E.; Sánchez-Campos, E. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. **Annual Review of Phytopathology**. v. 49, p. 219-248, 2011.
- OEPP/EPPO. *Tomato chlorosis crinivirus*. OEPP/EPPO, Bulletin, v. 35, p. 439-441, 2005.
- Palumbo, J.C. Control of sweetpotato whitefly adults and virus incidence with foliar insecticides on spring cataloupes, 2011. **Arthropod Management Tests**, v. 37, 2012.
- Perring, T.M.; Gruenhagen M.N.; C.A. Farrar. Management of plant viral diseases through chemical control of insect vectors. **Annual Review of Entomology**, v. 44, p. 457-481, 1999.
- Polston, J.E.; Chellemi D.O.; Schuster D.J.; MCGovern, R.J.; Stansly P.A. Spatial and temporal dynamics of *Tomato mottle geminivirus* and *Bemisia tabaci* (Genn.) in Florida tomato fields. **Plant Disease**, v.80, n.9, p.1022-1028, 1996.
- Polston, J.E.; Sherwood, T. Pymetrozine interferes with transmission of *Tomato yellow leaf curl virus* by the whitefly *Bemisia tabaci*. **Phytoparasitica**, v. 31, p. 490-498, 2003.
- Roditakis, E.; Stavrakaki, M.; Grispou, M.; Achimastou, A.; Van Waetermeulen, X.; Nauen, R.; Tsagkarakou, A. Flupyradifurone effectively manages whitefly *Bemisia tabaci* MED (Hemiptera: Aleyrodidae) and *Tomato yellow leaf curl virus* in tomato. **Pest management**, v. 73, n. 8, p. 1574-1584, 2017.
- Ruiz L.; Janssen D.; Martin G.; Segundo E.; Cuadrado I.M. Analysis of the temporal and spatial disease progress of *Bemisia tabaci*-transmitted *Cucurbit yellow stunting disorder virus* and *Cucumber vein yellowing virus* in cucumber. **Plant Pathology**, v. 55, p. 264-275, 2006.
- Simon-Delso, N.; Amaral-Rogers, V.; Belzunces, L.P. Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 5-34, 2015.

- Simone, G. W.; Hochmuth, R.C.; Wisler, G.C.; Duffus, J.E.; Liu, H.Y.; Li, R.H. A new whitefly-vectorred closterovirus of tomato in Florida. **Proceedings of the Florida Tomato Institute**, p. 71-74, 1996.
- Smith, H.A.; Giurcanu, M.C. New insecticides for management fo *Tomato Yellow Leaf Curl*, a virus vectored by the Silverleaf Whitefly, *Bemisia tabaci*. **Journal of Insect Science**, Oxford, v.14, p.1-4, 2014.
- Souza, T.A. **Tomato chlorosis virus, hospedeiras alternativas e interação com tospovírus em tomateiro**. Tese (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília. 92p. 2016.
- Stewart, L.R.; Medina, V.; Tian, T.; Turina, M.; Falk, B.W. A mutation in the *Lettuce infectious yellows virus* minor coat protein disrupts whitefly transmission but not in planta systemic movement. **Virology Journal**. v.84, p. 12165-12173, 2010.
- Tang, X.; Shi, X.; Zhang, D.; Li, F.; Yan, F.; Zhang, Y.; Liu, Y.; Zhou, X. Detection and epidemic dynamic of ToCV and CCYV with *Bemisia tabaci* and weed in Hainan of China. **Virology Journal**, v. 14, p.169-176, 2017.
- Toloy, R. S.; Mituti, T.; Freitas, D.M.S.; Maluta, N.K.P.; Silva, T.N.Z.; Lopes, J.R.S.; Fereres, A.; Rezende, J.A.M. Features of the relationship between *Tomato severe rugose begomovirus* and *Bemisa tabaci* MEAM1 reveal that the virus is acquired during a probe lasting only one minute. **European Journal of Plant Pathology**, p. 1-7, 2017.
- Tzanetakis, I.E.; Martin, R.R.; Wintermantel, W.M. Epidemiology of criniviruses: an emerging problem in world agriculture. **Frontiers in Microbiology**. v. 4, Article 119, p. 1-15, 2013.
- Vanderplank, J.E. Plant Diseases: Epidemics and Control. **Academic Press**, New York, 1963.
- Villas Bôas, G.L.; Branco, M.C. **Manejo integrado da mosca-branca (*Bemisia tabaci* biotipo B) em sistema de produção integrada de tomate (PITI)**. Brasília: Embrapa CNPH, 2009. 16p. (circular técnica 70). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/782604/4/ct70.pdf> . Acesso em: 18 de Dez. 2017.
- Wintermantel, W.M.; Polston, J.E.; Escudero, J.; Paoli, E.R. First report of *Tomato chlorosis virus* in Puerto Rico. **Plant Disease**. v. 85, p. 228, 2001.
- Wintermantel, W.M.; Wisler, G.C.; Anchieta, A.G.; Liu, H.-Y.; Karasev, A.V.; Tzanetakis, I.E. The complete nucleotide sequence and genome organization of *Tomato chlorosis virus*. **Archives of Virology**, v. 150, p. 2287-2298, 2005.
- Wintermantel, W.M.; Wisler, G.C. Vector specificity, host range, and genetic diversity of *Tomato chlorosis virus*. **Plant Disease**, Saint, Paul. v. 90, p. 814-819, 2006.

Wisler G.C.; Duffus J.E.; Liu, H.Y.; Li, R.H.; Lowry, D.S. *Tomato chlorosis virus: a new whitefly-transmitted, phloem-limited, bipartite closterovirus of tomato. Phytopathology*, Saint Paul, v. 88, p.402-409. 1998.