

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

Efeito de inseticidas no controle das transmissões primária e secundária do *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) para tomateiro por *Bemisia tabaci* biótipo B

Marina Mengardo Gouvêa

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

**Piracicaba
2015**

Marina Mengardo Gouvêa
Engenheira agrônoma

**Efeito de inseticidas no controle das transmissões primária e secundária do
Tomato severe rugose virus (ToSRV) para tomateiro por *Bemisia tabaci* biótipo
B**

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
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Fitopatologia

Piracicaba
2015

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

Gouvêa, Marina Mengardo

Efeito de inseticidas no controle das transmissões primária e secundária do *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) para tomateiro por *Bemisia tabaci* biótipo B / Marina Mengardo Gouvêa. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2015.

62 p. : il.

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

1. Begomovirus 2. Aleyrodidae 3. Controle de fitoviroses 4. PCR I. Título

CDD 635.642
G719e

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

*Aos meus pais, Edna Maria Mengardo Gouvêa e Samuel Eduardo Gouvêa.
À minha irmã Flávia Mengardo Gouvêa.
À minha tia Edlaine Cecília Mengardo.
Aos meus avós Emília Maria Belato Mengardo e Waldo Mengardo (in
memoriam).
Com todo o amor e carinho,*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me proporcionado esta oportunidade de crescimento e evolução.

A toda minha família pelo amor incondicional, em especial aos meus pais Edna Maria Mengardo Gouvêa e Samuel Eduardo Gouvêa, minha irmã Flavia Mengardo Gouvêa, minha tia Edlaine Cecília Mengardo, minha avó Emília Maria Belato Mengardo e meu avô Waldo Mengardo (*in memoriam*).

Ao meu namorado Thomas Henrique Manochio, pela dedicação, estímulo e apoio. Ao Prof. Dr. Jorge Alberto Marques Rezende por todo conhecimento compartilhado, orientação e confiança dedicados nestes anos de convivência.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e ao Departamento de Fitopatologia, por toda a estrutura disponibilizada para a realização deste trabalho. A todos os professores do Departamento de Fitopatologia, por todo ensinamento transmitido.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pelo apoio financeiro.

Ao Luís Fernando Maranhão Watanabe, por seu valioso empenho e cooperação nas atividades deste projeto durante seu período de estágio de conclusão de curso, fundamentais para o desenvolvimento desta dissertação.

Ao Bruno De Marchi, pela amizade e auxílio em técnicas moleculares.

À Dra. Patrícia Leite Cruz do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de concentração: Proteção de Plantas), da UNESP – Campus Botucatu, pelo fornecimento de insetos adultos de *B. tabaci* biótipo B para estabelecimento da colônia de criação.

À Dra. Rosana Serikawa, pelo fornecimento de amostra dos inseticidas ciantraniliprole foliar e ciantraniliprole solo utilizados neste projeto.

Ao Victor Hugo Moura de Souza, à Bruna Arruda e à Greice Leal, por todo auxílio e inestimável amizade.

Aos amigos que nasceram e fizeram toda a diferença nessa fase da minha vida: Flávia Rogério, Aline Zavaglia e Victor Hugo Moura de Souza; por todo incentivo oferecido nos momentos de consternação e também pelo companheirismo nos ensejos de descontração.

Aos amigos que insurgiram durante a graduação, não obstante, continuaram a fazer parte da minha vida; por não pouparem esforços em apoiar-me e por estarem

sempre ao meu lado, sobretudo nesta fase: Juliana Jabur de Assis, Ana Carolina Correr, Tainara dos Santos e Aline Coelho Frasca.

Aos amigos construídos nos tempos de escola e que até hoje me acompanham, os quais me viram crescer de perto e corroboraram para este crescimento; por estarem sempre dispostos a me ajudar: Thalyta Neves, Carolina Olivati, Gustavo Vavassori, Pedro Baldoni.

Aos companheiros do laboratório de Virologia Vegetal: Viviana Camelo, Pedro Córdova, Michel Vargas, Rodrigo Toloy, Débora Freitas, Arnaldo Fariña, pelo suporte nos trabalhos, amizade e companheirismo.

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

“Para tudo há um tempo, para cada coisa há um momento debaixo dos céus: tempo para nascer, e tempo para morrer; tempo para plantar, e tempo para arrancar o que foi plantado.”

Eclesiastes 3, 1-2

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| RESUMO..... | 11 |
| ABSTRACT..... | 13 |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 15 |
| 2 DESENVOLVIMENTO..... | 17 |
| 2.1 Revisão bibliográfica..... | 17 |
| 2.1.1 O tomateiro..... | 17 |
| 2.1.2 <i>Tomato severe rugose virus</i> | 18 |
| 2.1.3 Epidemiologia e controle de begomoviroses | 21 |
| 2.2 Material e métodos..... | 25 |
| 2.2.1 Condução dos experimentos..... | 25 |
| 2.2.2 Fonte de inóculo do ToSRV..... | 25 |
| 2.2.3 Colônia de <i>B. tabaci</i> biótipo B | 26 |
| 2.2.4 Transmissão do ToSRV..... | 26 |
| 2.2.5 Detecção do ToSRV em tomateiros..... | 27 |
| 2.2.5.1 Extração de DNA total | 27 |
| 2.2.5.2 PCR..... | 27 |
| 2.2.6 Simulação das transmissões primária e secundária do ToSRV, por <i>B. tabaci</i> biótipo B, com os inseticidas ciantraniliprole foliar, ciantraniliprole solo, espiromesifeno e tiametoxam..... | 29 |
| 2.2.7 Avaliação dos inseticidas ciantraniliprole foliar, ciantraniliprole solo, espiromesifeno e tiametoxam na mortalidade de <i>B. tabaci</i> biótipo B..... | 32 |
| 2.3 Resultados..... | 33 |
| 2.3.1 Identidade do isolado viral..... | 33 |
| 2.3.2 Controle das transmissões primária e secundária do ToSRV, por <i>B. tabaci</i> biótipo B, com os inseticidas ciantraniliprole foliar, ciantraniliprole solo, espiromesifeno e tiametoxam..... | 34 |
| 2.3.3 Mortalidade de <i>B. tabaci</i> biótipo B em tomateiros pulverizados com os inseticidas ciantraniliprole foliar, ciantraniliprole solo, espiromesifeno e tiametoxam..... | 36 |
| 2.4 Discussão..... | 37 |
| 3 CONCLUSÕES..... | 42 |

REFERÊNCIAS.....43
APÊNDICES.....53

RESUMO

Efeito de inseticidas no controle das transmissões primária e secundária do *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) para tomateiro por *Bemisia tabaci* biótipo B

O mosaico rugoso, causado pelo begomovirus ToSRV, é uma das principais doenças do tomateiro. Neste trabalho avaliou-se a eficácia de quatro inseticidas, ciantraniliprole foliar, ciantraniliprole solo, espiromesifeno e tiametoxam no controle das infecções primária e secundária do ToSRV, em tomateiros, transmitido por *Bemisia tabaci* biótipo B. Os tratamentos, confinados separadamente em gaiolas a prova de insetos, foram: controle, representado por tomateiros sadios e infectados, pulverizados com água, mais insetos avirulíferos; infecção primária, simulada com tomateiros sadios pulverizados com inseticida, mais insetos virulíferos e infecção secundária, simulada com tomateiros sadios e infectados com o ToSRV, pulverizados com inseticida, mais insetos avirulíferos. Nenhum inseticida foi eficiente no controle da infecção primária. No caso da simulação da infecção secundária, 4% e 16% respectivamente, dos tomateiros tratados com os inseticidas ciantraniliprole solo e ciantraniliprole foliar foram infectados, contra 84% e 74% de tomateiros infectados nos respectivos controles. Para os tratamentos com os inseticidas tiametoxam e espiromesifeno, na simulação da infecção secundária, 58% e 62% dos tomateiros foram infectados, respectivamente, contra 66% e 74% de plantas infectadas nos respectivos controles. O uso racional de inseticidas que reduzem a infecção secundária associado com a eliminação de fontes externas de inóculo poderá contribuir para o manejo da doença.

Palavras-chave: Begomovírus; Aleyrodidae; Controle de fitoviroses; PCR

ABSTRACT

Effect of insecticides on controlling primary and secondary transmissions of *Tomato severe rugose virus (ToSRV)* to tomato by *Bemisia tabaci* biotype B

The severe mosaic, caused by ToSRV begomovirus, is a major disease of tomato. This study evaluated the efficacy of four insecticides, sprayed cyazypyr, drench cyazypyr, sprayed spiromesifen and thiamethoxam on controlling primary and secondary infections by ToSRV to tomato plants, transmitted by *Bemisia tabaci* biotype B. Treatments were confined separately in proof insects cages, which were: control, represented by healthy and infected tomato plants sprayed with water and aviruliferous insects releasing; primary infection, simulated by healthy tomato plants with insecticide spraying and viruliferous insects releasing, and secondary infection, simulated with healthy tomato plants and ToSRV infected tomato plants, sprayed with insecticide, and aviruliferous insects releasing. None of the insecticides was effective in controlling primary infection. In the case of secondary infection simulation, 4% and 16% of the tomato plants treated with soil and foliar cyazypyr insecticides, respectively, were infected; against 84% and 74% of infected tomato plants in their respective controls. For treatments with thiamethoxam and spiromesifen insecticides spraying, in secondary infection simulation, 58% and 62% of tomato plants were infected, respectively, versus 66% and 74% of infected plants in their respective controls. The rational use of insecticides to reduce secondary infection associated with elimination of external sources of inoculum may contribute to disease management.

Keywords: Begomovirus; Aleyrodidae; Plant virus diseases control; PCR

1 INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma hortaliça amplamente distribuída no mundo, sendo cultivada em regiões tropicais, bem como subtropicais, nas diferentes estações do ano. Em 2012, foram produzidas mundialmente cerca de 161,80 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2012). Os principais países produtores de tomate são a China, com quase 1/3 da produção mundial (31%), Índia (11%), os Estados Unidos (8%), a Turquia (7%) e o Egito (5%). O continente asiático soma aproximadamente 58% da produção mundial de tomate, seguido das Américas (16%) e Europa (14%) (FAOSTAT, 2012).

O Brasil é o nono país produtor dessa solanácea, tendo atingido em 2012 quase 2,5% da produção mundial, quando foram colhidas 3.873.985 toneladas em 63.859 ha de área cultivada (FAOSTAT, 2012). Entre os estados brasileiros, Goiás é o maior produtor desde 1999, seguido por São Paulo e Minas Gerais. Nesses três estados são colhidas mais que 60% da produção brasileira (Goiás 1.025.567 t, São Paulo 849.052 t e Minas Gerais 674.962 t) (IBGE, 2015).

O tomateiro, como qualquer outra espécie cultivada em sistema de monocultura, e com mais de uma época de cultivo durante o ano, está sujeito a diversos problemas fitossanitários de natureza biótica e abiótica. Entre os de natureza biótica estão aqueles associados às infecções com fungos, bactérias, vírus, entre outros agentes fitopatogênicos. Diversas espécies de vírus podem infectar o tomateiro, porém nos últimos anos, especial atenção tem sido dada ao begomovirus *Tomato severe rugose virus* (ToSRV), transmitido pelo aleirodídeo *Bemisia tabaci* biótipo B (FERNANDES et al., 2008), pela sua predominância e pelos prejuízos gerados aos produtores. Os prejuízos estão relacionados com danos diretos na produção, bem como gastos com inseticidas para o controle do inseto vetor no intuito de eliminar ou minimizar os danos ocasionados pela virose.

Apesar de a pulverização com inseticidas ser uma técnica de domínio da maioria dos produtores, de fácil aplicação e amplamente empregado para o controle de fitovirose, nem sempre o produto aplicado oferece o resultado desejado no controle da doença, podendo ainda ocasionar danos ao aplicador, aos consumidores e ao meio ambiente. Trabalhos de revisão de Broadbent (1957) e de Perring, Gruenhagen e Farrar (1999) corroboram essa afirmativa.

Diante do exposto, este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência de inseticidas constituídos pelos ingredientes ativos tiametoxam, espiromesifeno e ciantraniliprole no controle das disseminações primária e secundária do ToSRV por *B. tabaci* biótipo B para fornecer subsídios que tornem a sua aplicação mais econômica e eficaz para o produtor no controle da doença e menos onerosa para o meio ambiente e para os consumidores. Avaliou-se também o efeito de cada um dos inseticidas na mortalidade dos adultos de *B. tabaci* biótipo B.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão bibliográfica

2.1.1 O tomateiro

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) pertence à família *Solanaceae*, com centro de origem localizado em um território limitado ao norte pelo Equador, ao sul pelo Chile, ao oeste pelo Oceano Pacífico e ao leste pela Cordilheira dos Andes, abrangendo países como Equador, Peru, Bolívia, Colômbia e Chile (ESQUINAS-ALCÁZAR; NUEZ, 1995), tendo sido domesticado somente quando atingiu o México (JENKINS, 1948).

A partir do México, o tomateiro foi levado por expedicionários espanhóis do século XV para o continente europeu, inicialmente para a Espanha, espalhando-se posteriormente por toda a região mediterrânea (RODRÍGUEZ; RODRÍGUEZ; SAN JUAN, 1997), sendo descrito botanicamente na Itália, pela primeira vez, em 1554, por Andrea Mattioli (NUEZ, 2001).

Inicialmente, o tomateiro foi utilizado apenas como planta ornamental pelos europeus, pois acreditavam que seus frutos eram tóxicos. A partir do século XIX, espanhóis e italianos passaram a consumir tomates como alimento, sendo então difundido para os demais continentes (MINAMI; FONSECA, 1982; HEINE, 2012).

No Brasil, o cultivo do tomateiro foi introduzido no final do século XIX, acompanhado do processo de imigração italiana, sendo posteriormente adotado pelos imigrantes japoneses, que começaram a produzir intensivamente os frutos para consumo *in natura*. O cultivo para fins industriais, por sua vez, foi alavancado no país a partir da Segunda Guerra Mundial (MINAMI; FONSECA, 1982).

Atualmente, o fruto do tomateiro apresenta elevado consumo mundial, sobretudo devido às suas características nutricionais, pois é rico em vitaminas A, C e K (MARANCA, 1981), além da presença de licopeno, antioxidante associado à prevenção de doenças cardíacas e câncer (LEVI; SHARONI, 2004).

2.1.2 *Tomato severe rugose virus*

O ataque de fitopatógenos é considerado fator limitante da produção de frutos de tomateiro em todo o mundo, e está entre aqueles que mais afetam negativamente a produtividade obtida em seu cultivo (MACÊDO, 2011). Entre os principais problemas fitossanitários enfrentados no cultivo do tomateiro, que atingem diretamente a quantidade e qualidade do produto final, estão as viroses, entre as quais figuram as begomoviroses (FARIA et al., 2000; RIBEIRO et al., 2003; ROJAS et al., 2005). Como exemplo, Giordano et al. (2005) constataram que infecções precoces de begomovírus com genoma bipartido em tomateiro industrial ocasionaram redução aproximada de 60% na produtividade. Também foi verificada diferença na quantidade média de frutos por planta, onde plantas não infectadas produziram uma média de 66 frutos, enquanto naquelas infectadas a média foi de 38 frutos.

O primeiro relato no Brasil, do que hoje se sabe ser begomovírus, foi feito por Costa e Bennett (1950), no qual demonstraram a transmissão experimental do vírus causador de mosaico em *Euphorbia prunifolia*, atualmente sinônimo de *E. heterophylla*, pela mosca-branca. Já na cultura do tomateiro, por sua vez, a primeira constatação de um begomovírus ocorreu após uma década por Flores, Silberschmidit e Kramer (1960). O agente etiológico dessa doença foi posteriormente identificado e denominado *Tomato golden mosaic virus* (TGMV) (MATYIS et al., 1975).

Durante as décadas de 1970 e 1980 não foram verificadas grandes perdas econômicas provocadas por doenças de vírus transmitidos por *B. tabaci* na cultura do tomateiro, provavelmente porque havia predominância do biótipo A, o qual raramente colonizava o tomateiro (RIBEIRO et al., 2003). O biótipo B de *B. tabaci*, que é polífago, possui maior taxa de reprodução (GALLO et al., 2002) e capacidade de adaptação às condições brasileiras, além de ser altamente eficiente na transmissão de begomovírus (BEDFORD et al., 1994). Este biótipo foi constatado pela primeira vez no Brasil no início da década de 1990 (MELO, 1992; LOURENÇÃO; NAGAI, 1994). A partir de então, os problemas com begomoviroses em tomateiro passaram a ser recorrentes nas principais regiões produtoras de tomate no Brasil (RIBEIRO et al., 1994; FRANÇA; VILLAS BÔAS; BRANCO, 1996; BEZERRA et al., 1997; LIMA; HAJI, 1998; RIBEIRO et al., 1998; FERNANDES et al.,

2006;; RIBEIRO et al., 2007; FERNANDES et al., 2008). Atualmente, 11 espécies de begomovírus, apenas encontradas em território brasileiro, são conhecidas por infectar naturalmente tomateiros no campo: *Tomato golden mosaic virus* (TGMV), *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV), *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV), *Tomato yellow spot virus* (ToYSV), *Tomato severe rugose virus* (ToSRV), *Tomato common mosaic virus* (ToCmMV), *Tomato mild mosaic virus* (ToMIMV), *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV), *Tomato interveinal chlorosis virus* (ToICV), *Tomato mottle leaf curl virus* (TMoLCV), e *Tomato golden vein virus* (TGVV). Pelo menos sete outros begomovirus distintos têm sido associados com doenças de tomateiro, mas ainda não foram completamente caracterizados (ROCHA et al., 2013). Fernandes et al. (2008), em levantamento de begomovirose na região Centro-oeste do Brasil, de 2002 a 2004, constataram a prevalência do ToSRV. Entre as 2295 plantas sintomáticas de tomateiro indústria e mesa amostradas verificou-se que 31% delas estavam infectadas com begomovírus. Dentre estas, 61% estava infectada com o ToSRV. Em análise segundo as finalidades de cultivo, o ToSRV foi constatado em 94% das amostras de tomateiros cultivados para processamento industrial, originárias dos estados de GO e MG, e em 23% das amostras de tomateiros cultivados para consumo *in natura*, provenientes do DF, BA, PE, GO, MG e SP. Essa espécie já foi constatada nos estados de PE, RJ, GO, DF, SP e MG (CASTILLO-URQUIZA et al., 2008; CONTRIM et al., 2007; FERNANDES et al., 2008; LIMA et al., 2006; REZENDE et al., 1997

O ToSRV possui partículas geminadas, de morfologia icosaédrica, contendo duas moléculas de DNA de fita simples, circulares (KING et al., 2012): o DNA-A possui 2.592 nucleotídeos e 5 ORFs e o DNA-B possui 2.568 nucleotídeos e 2 ORFs (BARBOSA et al., 2011). O DNA-A codifica proteínas associadas ao desencadeamento dos processos de replicação, transcrição e patogenicidade do DNA viral e o DNA-B é responsável pela síntese protéica relacionada aos movimentos intra e intercelular (KING et al., 2012).

Além do tomateiro, o ToSRV já foi detectado em pimenta “dedo-de-moça” (*C. baccatum* var. *pendulum*), em Petrolina de Goiás (BEZERRA-AGASIE et al., 2006), pimentão (NOZAKI, 2006) e batata (SOUZA-DIAS et al., 2008) e tornou-se a espécie de begomovirus prevalecente nos cultivos de pimentão (ROCHA et al., 2010). O ToSRV já foi encontrado infectando naturalmente plantas de *Nicandra physaloides* e *Phaseolus vulgaris* próximas de plantas de tomateiro infectadas; também já foi

transmitido experimentalmente para diversas espécies de plantas de diferentes famílias botânicas: *Amaranthus spinosus*, *Emilia sonchifolia*, *Chenopodium album*, *C. ambrosioides*, *Euphorbia heterophylla*, *Phaseolus vulgaris*, *Capsicum annuum*, *Datura stramonium*, *Nicandra physaloides*, *Nicotiana clevelandii*, *N. benthamiana*, *N. tabacum* cvs. TNN, Havana, Xanthi, White Burley, *N. debney*, *N. glutinosa*, *N. rustica*, *Solanum americanum* e *S. tuberosum* (FERNANDES et al., 2006; BARBOSA; REZENDE, 2008; LIMA, 2008; Barbosa et al., 2008; 2011). Já o ToYVSV foi transmitido experimentalmente com sucesso para *C. annuum*, *C. amaranticolor*, *C. quinoa*, *D. stramonium*, *Gomphrena globosa*, *N. clevelandii* e *N. tabacum* cv. TNN, dentre 34 espécies testadas (FIRMINO, 2007).

No estudo da relação de *B. tabaci* biótipo B com o ToSRV, Marubayashi (2009) constatou que os períodos mínimos de acesso à aquisição (PAA) e à inoculação (PAI) do vírus foram de 15 minutos, exceto quando o vírus foi adquirido de plantas infectadas de pimentão e transmitido para plantas saudas de tomate, onde o PAI foi de 30 minutos. Freitas (2012), estudando as relações do ToSRV com esse aleirodídeo, encontrou períodos mínimos de acesso à aquisição e inoculação de 5 minutos. O inseto reteve esse vírus por até 25 dias. Não foi estudado o período de latência. A eficiência de transmissão aumenta à medida que se eleva o PAI e/ou o PAA. Santos, Ávila e Resende (2003), estudando a interação de um begomovírus de tomateiro, filogeneticamente relacionado com o ToSRV, com o vetor *B. tabaci* biótipo B, constataram que fixando o PAA em 72 horas, o percentual médio de transmissão aumentou com a extensão do PAI. Insetos virulíferos que tiveram PAI de 30 minutos infectaram 19% das plantas, enquanto aqueles que tiveram PAI de 24 horas infectaram 66,7% dos tomateiros. Embora não seja conhecido o período de latência do ToSRV em *B. tabaci* biótipo B, é possível que seja semelhante aos do *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV) e do *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV), dois outros begomovírus de tomateiro no Brasil, que foi de 16 h (SANTOS; ÁVILA; RESENDE, 2003; FIRMINO, 2007).

2.1.3 Epidemiologia e controle de begomoviroses

Segundo Kranz (1974), a epidemiologia é “o estudo de populações de patógenos em populações de hospedeiros e das doenças resultantes dessas interações, sob a influência do ambiente e a interferência humana”. Essa e outras definições de epidemiologia propostas por diferentes autores, no entanto, nunca levaram em conta as fitoviroses transmitidas por vetores. Para esses casos específicos, a definição original de Kranz (1974), pode ser expandida para “o estudo de populações de patógenos e de seus vetores em populações de hospedeiros primários e secundários e das doenças resultantes dessas interações, sob a influência do ambiente a interferência humana”. Entende-se por hospedeiro primário a espécie de interesse econômico e por hospedeiro secundário a espécie (ou espécies) que serve de reservatório (ou de refúgio) para os vírus e os vetores. Assim, as populações importantes para a epidemiologia de fitoviroses são aquelas dos hospedeiros primário e secundário, do patógeno e do vetor (DELLA VECCHIA, 2007).

Plantas infectadas por vírus raramente estão uniformemente distribuídas dentro da plantação. Geralmente há tendência para se concentrarem em algumas plantações ou em áreas onde há condições que favoreçam a disseminação a partir de fontes primárias de inóculo. O conhecimento da distribuição espacial da doença, portanto é crucial para a identificação das fontes de inóculo e para o posterior estabelecimento de estratégias de manejo da doença. É importante determinar se as infecções primárias provem de fora ou de dentro da plantação e se o influxo é seguido de disseminações secundárias para as plantas vizinhas na plantação (THRESH, 1978).

Os begomovírus são introduzidos na cultura do tomateiro (disseminação primária) por *B. tabaci* biótipo B a partir de fontes de vírus próximas (COSTA, 1976), uma vez que não são transmitidos por sementes e desde que as mudas transplantadas sejam livres de vírus. Na disseminação primária o patógeno é adquirido pelo vetor em hospedeiros secundários ou no próprio hospedeiro primário em cultura precoce ou tigueras de culturas anteriores. Na disseminação secundária, por sua vez, o patógeno é disseminado a partir de tomateiros infectados para plantas saudáveis localizadas no interior da mesma plantação.

Diante disso, o manejo de doenças causadas por begomovírus em tomateiros é um grande desafio. Geralmente recomenda-se a adoção simultânea de diferentes medidas visando à redução de fontes de inóculo inicial, bem como controle do vetor, sendo estas prerrogativas importantes do manejo integrado. As principais medidas recomendadas são: (i) a utilização de mudas sadias e de alta qualidade, produzidas em viveiros com pedilúvio na porta de entrada, antecâmaras e telados à prova de insetos, os quais devem estar distantes de plantações infectadas por begomovírus e infestadas por *B. tabaci* biótipo B; (ii) a eliminação de plantios escalonados, pois favorece o aumento da população de *B. tabaci* biótipo B e fontes de inóculo do vírus; (iii) a remoção de restos culturais até 10 dias após a colheita de cada talhão, com o objetivo de suprimir a população remanescente de tomateiros infectados e de *B. tabaci* biótipo B; (iv) a manutenção da lavoura no limpo, no interior e próximo às áreas cultivadas, visando à destruição de plantas invasoras hospedeiras do vírus e de *B. tabaci* biótipo B; (v) a realização de novos plantios em áreas que não estejam próximas às áreas produtoras de soja, feijoeiro e algodoeiro, por serem culturas tipicamente hospedeiras do aleirodídeo; (vi) a prática de adubação equilibrada para não favorecer o aumento da população do vetor e (vii) a utilização de controle químico racional de *B. tabaci* biótipo B (INOUE-NAGATA et al., 2007; VILLAS BÔAS; BRANCO, 2009).

Cohen et al. (1988) estabeleceram o ciclo epidemiológico do *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) no Vale do Rio Jordão, em Israel, com base em estudos da população virulífera do vetor *B. tabaci* e dos hospedeiros do vírus, para sugerir recomendações de controle. Constataram que *Cynanchum acutum* (Apocynaceae) é um hospedeiro perene do TYLCV naquela região, porém de pouca preferência para *B. tabaci*. Apesar disso, *C. acutum* parece ser a principal fonte de inóculo para a infecção primária do tomateiro, pois o ápice do seu desenvolvimento após a brotação de primavera coincide com o início da migração do vetor e com o transplante dos tomateiros no campo, quando então é observado um aumento de plantas doentes de tomate. Depois de introduzido na plantação, os tomateiros e plantas de *Malva parviflora* (Malvaceae), outra espécie hospedeira do TYLCV, servem de reservatório para novas disseminações do vírus. Assim sendo, a erradicação da espécie perene antes do plantio de tomateiros, segundo os autores pode minimizar a disseminação do vírus.

Na República Dominicana, onde esse vírus foi introduzido no início da década de 1990, a implementação de um período de três meses livre de hospedeiros do vírus (vazio sanitário), principalmente tomateiros, foi o responsável, em grande parte pela redução da incidência do TYLCV nas plantações (SALATI et al., 2002). Essa estratégia de manejo da doença causada por esse begomovirus também já havia sido adotada com sucesso na Ilha de Chipre, na região do Mediterrâneo (IOANNOU, 1987). O sucesso em ambos os casos baseou-se no fato de que tomateiros infectados são as principais fontes primárias de inóculo do patógeno. Em Goiás, maior estado produtor de tomate rasteiro no Brasil, o vazio sanitário foi implementado em 2007 em tomateiro rasteiro e para alguns municípios também para o tomateiro estaqueado. O período abrange dezembro a janeiro para reduzir a fonte de inóculo de espécies de begomovirus causadoras de mosaico dourado, entre as quais o ToSRV.

No caso do mosaico africano da mandioca, causado pelo *African cassava mosaic virus* (ACMV), constatou-se que a contaminação das plantações em áreas de floresta costeira na Costa do Marfim era devida principalmente à rápida disseminação a partir de fontes externas do vírus, principalmente mandioca infectada. Infecções secundárias eram limitadas. Nessa região, devido a esse fato, somente o uso de material propagativo livre de vírus, plantio adensado e subsequente erradicação de plantas doentes não foram efetivo para o controle da doença, havendo também necessidade de utilização de variedades com alta resistência à infecção (FAUQUET; FARGETTE, 1990)

Polston et al. (1996) estudaram a dinâmica espacial do *Tomato mottle virus* em plantações de tomate na Florida, onde há frequentes aplicações de inseticidas (2 a 3 vezes por semana) para o controle do vetor *B. tabaci* e constataram que a abundância de insetos virulíferos imigrantes, em vez da disseminação secundária dentro das plantações, era a força motriz das epidemias causadas por esse begomovirus. Com base nesse estudo propuseram que ênfase deveria ser dada na eliminação de fontes de inóculo antes do início de novas plantações, em vez do controle químico do vetor ou da erradicação de plantas doentes.

No Brasil, há poucos estudos de caracterização de padrões temporal e espacial de begomovirus em tomateiros com o intuito de auxiliar no estabelecimento de estratégias de manejo. Della Vecchia et al. (2007) caracterizaram esses padrões para o ToYVSV em tomateiros cv. Alambra no campo e em estufas plásticas, onde

havia um controle químico intensivo do vetor *B. tabaci*. No ensaio em condições naturais de epidemia no campo a incidência da doença evoluiu lentamente, de 0,2% até um máximo de 4,97%. Mesmo assim, constatou-se um efeito de borda, pois a incidência média de plantas doentes nos blocos situados nas bordas da área foi 2,1 vezes maior do que naqueles internos. Além disso, nesses blocos, as plantas sintomáticas apresentaram padrão espacial levemente agregado, ao contrário dos blocos internos, que apresentaram padrão ao acaso. O progresso da incidência da doença foi linear, o que indica que novas infecções foram devidas principalmente a um influxo constante de vetores virulíferos de fora para dentro da área avaliada. Nos plantios em estufas os níveis finais da doença foram fortemente dependentes da época de plantio, com médias variando de 4,8% a 69,3%. A distribuição espacial de plantas sintomáticas nesses plantios foi fortemente agregada. Essa agregação não foi atribuída pelos autores às infecções secundárias dentro das estufas, mas sim à concentração de plantas sintomáticas nas bordas das estufas, consequência da migração de vetores virulíferos a partir de áreas externas. A conclusão ligeiramente diferente chegou Barbosa (2007) para o patossistema tomateiro-ToSRV em condições naturais de epidemia no campo e incidências mais altas da doença (35,0%). Mesmo reconhecendo a prevalência e a importância da infecção primária de fora para dentro da plantação, o autor apontou que infecções secundárias ocorreram no final do ciclo da cultura, mesmo com aplicações frequentes de inseticidas para controlar a *B. tabaci*.

2.2 Material e métodos

2.2.1 Condução dos experimentos

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 estádio das primeiras folhas verdadeiras para vasos esterilizados, com composto de solo mais matéria orgânica. Foram transplantadas duas plantas-testes por vaso. A adubação das plantas foi realizada uma vez por semana com fórmula NPK (diluída na água de irrigação) e foi realizada irrigação diariamente.

2.2.2 Fonte de inóculo do ToSRV

A fonte de inóculo inicial para este trabalho foi obtida através de uma planta de pimenteira, infectada com um isolado de ToSRV de São Paulo, enxertada em tomateiro cv. Kada. Com o auxílio de um escalpelo, cortou-se transversalmente a haste principal do porta-enxerto a cerca de 8 cm de altura, onde posteriormente foi feito um corte longitudinal de cerca de 1,5 cm de profundidade no seu topo. Para o preparo do enxerto, cortou-se transversalmente um pedaço de ramo da pimenteira infectada e fez-se um corte em bisel duplo na extremidade. O enxerto foi introduzido na fenda do porta-enxerto e sustentado com auxílio de presilha plástica, garantindo o contato íntimo entre os tecidos envolvidos, caracterizando a metodologia de enxertia do tipo fenda simples (LOPES; MENDONÇA, 2014). As plantas enxertadas foram mantidas em casas-de-vegetação cobertas com sacos plásticos, favorecendo a manutenção de maior umidade relativa, diminuindo o efeito de murcha do enxerto devido ao rompimento dos vasos vasculares. No sétimo dia, as presilhas foram retiradas e as mudas foram mantidas em ambiente claro e seco. Posteriormente, o inóculo foi mantido em plantas de tomateiro através da transmissão com o vetor *B. tabaci* biótipo B. A identidade da espécie viral foi confirmada por sequenciamento parcial de nucleotídeos.

2.2.3 Colônia de *B. tabaci* biótipo B

Colônia do aleirodídeo *B. tabaci* biótipo B livre de vírus foi iniciada com planta de couve (*Brassica oleraceae* L.) infestada de insetos, cedida pela doutoranda Patrícia Leite Cruz do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Proteção de Plantas, da UNESP – Campus Botucatu, proveniente de colônia caracterizada molecularmente, e mantida em plantas de couve, em telado à prova de insetos, no Departamento de Fitopatologia e Nematologia da ESALQ/USP.

2.2.4 Transmissão do ToSRV

A transmissão do vírus foi feita por meio do vetor *B. tabaci* biótipo B. Os insetos livres de vírus foram inicialmente colocados sobre folhas destacadas de tomateiro comprovadamente infectadas por ToSRV, acondicionadas em tubos de polipropileno de 50 mL (do tipo Falcon). Para manter a aeração no ambiente de aquisição do vírus os tubos foram recobertos por tecido *voil*. Os aleirodídeos foram mantidos nas folhas durante 24 horas para a aquisição do vírus (PAA). Após esse período eles foram transferidos para as plantas-testes de tomateiro, acondicionadas em gaiolas recobertas por tecido *voil*, de acordo com a finalidade do experimento descrito mais adiante.

2.2.5 Detecção do ToSRV em tomateiros

2.2.5.1 Extração de DNA total

O DNA total das folhas coletadas das plantas-teste foi extraído em tubos de micro centrífuga (do tipo *Eppendorf*) de 1,5 mL, seguindo protocolo adaptado de Dellaporta, Wood e Hicks (1983). Discos foliares foram macerados com o auxílio de pistilos plásticos, juntamente com 500 µL de tampão de extração de DNA (NaCl 0,5 M; EDTA 0,05 M; Tris-HCl 0,1M pH 8,0; β-mercaptoetanol 0,2%) e 33 µL de uma solução de SDS 20%. A mistura foi agitada por 30 segundos e incubada a 65°C por 10 minutos. Em seguida, foram adicionados 160 µL de acetato de potássio 5 M e a mistura foi submetida a uma centrifugação a 18400 g por 12 minutos. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo, onde 500 µL de isopropanol foram adicionados e a mistura foi suavemente homogeneizada. Logo após a mistura foi novamente centrifugada a 18400 g por 12 minutos. O sobrenadante foi removido e o precipitado lavado com 500 µL de etanol 70% pela centrifugação a 7000g por 5 minutos, com posterior descarte do sobrenadante. O precipitado foi seco à temperatura ambiente e ressuscitado em 50 µL de água Milli-Q. Como controle positivo da reação foi utilizado DNA total extraído de folhas de tomateiro sabidamente infectado com o ToSRV e, como controle negativo, DNA total extraído de folhas de tomateiro sadio.

2.2.5.2 PCR

A detecção do ToSRV foi realizada através de PCR a partir do DNA total extraído de folhas de tomateiros dos diferentes ensaios. Foram utilizados 3 µL de DNA total de cada amostra, 9,0 µL de água Milli-Q, 12,5 µL de Master Mix 2X (Promega), 0,25 µL do oligonucleotídeo iniciador específico (senso) ToSRV1F (AAG GCG ACG TCT TTG GAA GG) 10 µM e 0,25 µL do oligonucleotídeo iniciador específico (anti-senso) ToSRV2r (CTC AGC GGC CTT GTT ATA TTT) 10 µM (FERNANDES et al., 2010). Esses iniciadores amplificam um fragmento de aproximadamente 820 pb. O regime do termociclador para essa reação foi de 94°C

por 3 minutos e 30 ciclos de amplificação de 1 minuto a 94°C, 1 minuto a 62°C e 4 minutos a 72°C, com uma etapa final de 5 minutos a 72°C. O produto desta amplificação foi corado com SYBR[®] Safe DNA gel Stain (1:10000, Invitrogen) e visualizado em um transiluminador de luz UV, comparando-o com marcador de 1 Kb (1 Kb Plus DNA Ladder, Invitrogen) em gel de agarose a 1%.

Alguns fragmentos de DNA amplificados na PCR foram aleatoriamente purificados pela utilização do de kit de purificação Wizard[®] SV Gel e PCR Clean-up System (Promega) ou PureLink[™]PCR Purification Kit (Invitrogen), segundo o protocolo de cada fabricante e, em seguida, quantificados com a concentração mínima de 50ng de DNA/μL. Esses amplicons foram enviados à Macrogen Korea, localizada em Seoul, juntamente com os respectivos oligonucleotídeos iniciadores específicos, onde foi obtido o sequenciamento direto de nucleotídeos. As sequências de nucleotídeos obtidas foram analisadas pelo Electropherogram Quality Analysis da Embrapa disponível em <http://bioinformatica.cenargen.embrapa.br/phph/>, onde foi verificada a qualidade e obtidas as sequências consensos. Essas foram comparadas com sequências correspondentes do ToSRV disponíveis no Genbank, usando o programa BLASTn, disponível em <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.

2.2.6 Simulação das transmissões primária e secundária do ToSRV, por *B. tabaci* biótipo B, em tomateiros pulverizados com os inseticidas ciantranilliprole foliar, ciantraniliprole solo, espiromesifeno e tiametoxam

Dois ensaios foram realizados para avaliar a eficiência dos inseticidas constituídos pelos ingredientes ativos ciantranilliprole foliar, ciantraniliprole solo, espiromesifeno e tiametoxam no controle das transmissões primária e secundária do ToSRV por *B. tabaci* biótipo B. Vinte e cinco plantas de tomate Kada sadias foram acondicionadas separadamente em três gaiolas. Cada gaiola foi confeccionada em madeira, nas dimensões 1,2 x 0,6 x 0,6 m, revestida com *voil*. Em cada ensaio foram instituídos três tratamentos, um em cada gaiola. O primeiro tratamento simulou a infecção primária (gaiola P), a qual ocorre em um campo de tomateiro pulverizado com o inseticida, adjacente a outras plantas com o vírus, não pulverizadas, nas quais os insetos adquirem o ToSRV e o levam para a plantação. Desta forma, adultos de *B. tabaci* biótipo B sadios foram inicialmente mantidos por 24 horas em tomateiro Kada infectado com o ToSRV para a aquisição do vírus. Em seguida, os insetos foram liberados no interior dessa gaiola contendo plantas de tomate previamente pulverizadas com cada um dos inseticidas separadamente (60 ml/100L, 300 mL/ha, 800 ml/ha e 20g/100L de produto comercial, respectivamente). Foram liberados aproximadamente 200 aleirodídeos. A pulverização e posterior liberação foram repetidas mais duas vezes nessa gaiola, com o intervalo de uma semana após a liberação anterior (Figura 1A).

O segundo tratamento simulou a infecção secundária (Gaiola S), a qual ocorre no interior de um campo de tomateiro pulverizado com o inseticida e que contém em seu interior tomateiros infectados com o vírus. Dentro desta gaiola foram colocadas vinte e cinco plantas de tomate sadias e três plantas infectadas com o ToSRV distribuídas aleatoriamente. A mesma solução de cada ingrediente ativo na dose recomendada foi aplicada às plantas sadias e infectadas. Após 36 horas, foram liberados cerca de 200 aleirodídeos livres de vírus nesta gaiola. Estes procedimentos também foram repetidos mais duas vezes, concomitantemente às repetições nos demais tratamentos (Figura 1B).

O terceiro tratamento foi o controle (Gaiola C), onde as plantas não receberam a aplicação de inseticida. Dentro dessa gaiola foram colocadas vinte e cinco plantas de tomate sadias e três plantas infectadas com o ToSRV dispostas de

maneira aleatória. Conjuntamente aos outros dois tratamentos, foram liberados nesta gaiola aproximadamente 200 adultos de *B. tabaci* biótipo B livres de vírus. Essa liberação foi repetida mais duas vezes, em conjunto com a liberação de aleirodídeos dos demais tratamentos (Figura 1C).

Após cerca de 15 dias da última liberação de insetos, as plantas foram avaliadas por meio de PCR para detecção do ToSRV. Os dados foram convertidos em porcentagens e analisados estatisticamente. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey 5% de probabilidade.



Figura 1 – Plantas de tomate no interior de gaiolas de voil representando simulações das infecções primária (A), secundária (B) e controle (C)

2.2.7. Avaliação dos inseticidas ciantraniliprole foliar, ciantraniliprole solo, espiromesifeno e tiametoxam na mortalidade de adultos de *B. tabaci* biótipo B

Plantas de tomate cv. Kada, cultivadas em ambiente protegido, foram inicialmente pulverizadas com os diferentes produtos, nas dosagens recomendadas. O ciantraniliprole também foi avaliado através de aplicação no solo, seguindo o mesmo procedimento. Plantas pulverizadas com água foram usadas como controle. Em seguida, as plantas foram mantidas na sombra até a secagem da calda aplicada nas folhas.

Trinta e seis horas após a aplicação dos inseticidas as plantas foram individualmente protegidas por copos plásticos de 700 mL. O lado do copo que ficou em contato com o solo foi fechado com a própria tampa, que continha um pequeno orifício central, de dimensão semelhante ao diâmetro da haste do tomateiro. Dessa forma, os insetos ficaram confinados no interior do copo, em contato com a planta. Na superfície interna da tampa plástica foi colocado um disco de plástico preto do mesmo diâmetro da tampa, para facilitar a visualização de insetos caídos (Figura 2).

Cinquenta adultos de *B. tabaci* biótipo B foram liberados no interior de cada copo plástico contendo uma planta. Foram utilizados 5 tratamentos com 5 repetições cada, totalizando 25 unidades experimentais. Nos intervalos de tempo de 1, 3, 6, 12, 24 e 48 h foram contados os insetos mortos sobre o plástico preto e também os insetos mortos aderidos nas folhas das plantas. Ao final de cada contagem foram retirados os insetos mortos, com auxílio de pincel nº 2. Para permitir a retirada dos insetos, na lateral do copo plástico, foi confeccionada uma abertura em forma de quadrado, de 4 cm de lado, fechada com tecido *voil* e colado por fita adesiva, possibilitando também a circulação de ar e evitando a condensação de umidade em seu interior. O experimento foi repetido mais uma vez. Os dados foram transformados em porcentagens e analisados estatisticamente e as médias comparadas pelo teste de Tukey 5% de probabilidade.



Figura 2 – Ilustração do teste de mortalidade acumulada de adultos de *B. tabaci* biótipo B confinados em tomateiros pulverizados com água (A), ciantranilprole solo (B), espiromesifeno (C), ciantranilprole foliar (D) e tiametoxam (E), espiromesifeno, ciantranilprole foliar, ciantranilprole solo e água, após diferentes intervalos de tempo.

2.3 Resultados

2.3.1 Identidade do isolado viral

As sequências de nucleotídeos de amplicons obtidos a partir do DNA total extraído de tomateiros enxertados com ramos da pimenteira supostamente infectada por ToSRV mostraram identidades de 98% a 99% com a sequência correspondente do DNA-A do isolado de Sumaré do ToSRV (GenBank: EU086591.2). Esses tomateiros foram utilizados como fonte inicial de inóculo. As sequências de nucleotídeos de alguns amplicons obtidos a partir do DNA total extraído de tomateiros infectados nos ensaios de efeito de inseticidas nas transmissões primária e secundária também confirmaram a identidade do isolado viral do ToSRV.

2.3.2. Controle das transmissões primária e secundária do ToSRV, por *B. tabaci* biótipo B, com os inseticidas ciantraniliprole foliar, ciantraniliprole solo, espiromesifeno e tiametoxam

Os resultados de dois experimentos independentes sobre o efeito dos ingredientes ativos ciantraniliprole foliar, ciantraniliprole solo, espiromesifeno e tiametoxam na transmissão do ToSRV por *B. tabaci* biótipo B em tomateiros estão na tabela 1 e Apêndices 1 a 8. De maneira geral, as médias de infecção dos tomateiros pulverizados com água (controle) variaram de 66% a 84%. Já as médias das infecções das plantas representando a simulação da transmissão primária variaram de 44% a 82%, enquanto daquelas representando a transmissão secundária variaram de 4% a 62%.

Quando as plantas foram previamente pulverizadas com ciantraniliprole foliar e receberam insetos virulíferos, simulando a transmissão primária, a porcentagem média de infecção foi de 48%. Entretanto, quando plantas saudáveis e infectadas pulverizadas com o inseticida receberam insetos avirulíferos, simulando a transmissão secundária, a porcentagem de infecção média foi de 16%. Em média 84% das plantas controle foram infectadas com o ToSRV. Quando se utilizou o ciantraniliprole via solo, nos mesmos tratamentos, as porcentagens médias de infecção dos tomateiros foram 44%, 4% e 74%, respectivamente.

Nos casos do espiromesifeno e do tiametoxam os efeitos na redução das transmissões primária e secundária foram menos acentuados, quando comparados aos respectivos controles. Na simulação da transmissão primária, tomateiros pulverizados com espiromesifeno e tiametoxam tiveram 64% e 82% de plantas infectadas. Na simulação da transmissão secundária, 62% e 58% das plantas foram infectadas, respectivamente. Para os controles as infecções foram de 74% e 66%, respectivamente.

Tabela 1 - Transmissão do ToSRV por *B. tabaci* biótipo B para tomateiros cv. Kada pulverizados com o inseticida ciantraniliprole foliar, ciantraniliprole solo, tiametoxam e espiromesifeno, simulando as transmissões primária (P) e secundária (S). Controle (C) pulverizado com água

| Número de plantas infectadas/número de plantas-teste | | | | | |
|---|----------------------|----------|-----------------------|----------|-----------------|
| | Experimento I | % | Experimento II | % | % média* |
| Ciantraniliprole foliar | | | | | |
| P | 9/25 | 36% | 15/25 | 64% | 50%ab |
| S | 6/25 | 24% | 2/25 | 8% | 16%b |
| C | 19/25 | 76% | 23/25 | 92% | 84%a |
| Ciantraniliprole solo | | | | | |
| P | 16/25 | 64% | 6/25 | 24% | 44%a |
| S | 1/25 | 4% | 1/25 | 4% | 4%b |
| C | 24/25 | 96% | 13/25 | 52% | 74%a |
| Espiromesifeno | | | | | |
| P | 9/25 | 36% | 23/25 | 92% | 64%a |
| S | 18/25 | 72% | 13/25 | 52% | 62%a |
| C | 17/25 | 68% | 20/25 | 80% | 74%a |
| Tiametoxam | | | | | |
| P | 23/25 | 92% | 18/25 | 72% | 82%a |
| S | 22/25 | 88% | 7/25 | 28% | 58%a |
| C | 19/25 | 76% | 14/25 | 56% | 66%a |

* Médias nas colunas seguidas por letras iguais não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.3.3 Mortalidade de *B. tabaci* biótipo B em tomateiros pulverizados com os inseticidas ciantraniliprole foliar, ciantraniliprole solo, espiromesifeno e tiametoxam

Os resultados de dois experimentos independentes para avaliar o efeito dos diferentes inseticidas na mortalidade de *B. tabaci* biótipo B estão na tabela 2. Nota-se que a mortalidade de insetos nas primeiras três horas, em tomateiros tratados e não tratados foi muito baixa. Após 48 horas de confinamento dos insetos nos diferentes tratamentos com os inseticidas, a mortalidade variou de 16,8% a 52,4% no primeiro ensaio e de 22,8% a 55,6% no segundo ensaio. Nas plantas controles, as mortalidades nesse mesmo período foram de 11,2% e 9,6%, respectivamente.

Tabela 2 – Mortalidade acumulada de adultos de *B. tabaci* biótipo B confinados em tomateiros pulverizados com ciantraniliprole foliar, ciantraniliprole solo, espiromesifeno, tiametoxam e água, após diferentes intervalos de tempo

| Ensaio I | | | | | | | | |
|-------------------------|------------------------------------|----|----|----|-----|-----|-----|------------------|
| Tratamento | Número acumulado de insetos mortos | | | | | | | % insetos mortos |
| | 1h | 3h | 6h | 9h | 12h | 24h | 48h | |
| Ciantraniliprole foliar | 5 | 17 | 28 | 36 | 52 | 74 | 131 | 52,4%a |
| Ciantraniliprole solo | 6 | 12 | 28 | 36 | 49 | 65 | 116 | 46,4%a |
| Espiromesifeno | 3 | 6 | 14 | 15 | 16 | 23 | 42 | 16,8%bc |
| Tiametoxam | 11 | 19 | 29 | 45 | 49 | 63 | 86 | 34,4%ab |
| Água | 6 | 7 | 11 | 13 | 15 | 18 | 28 | 11,2%c |
| Ensaio II | | | | | | | | |
| Ciantraniliprole foliar | 3 | 8 | 13 | 32 | 49 | 77 | 139 | 55,6%a |
| Ciantraniliprole solo | 5 | 24 | 27 | 51 | 65 | 90 | 136 | 54,4%a |
| Espiromesifeno | 7 | 10 | 18 | 22 | 25 | 36 | 57 | 22,8%c |
| Tiametoxam | 3 | 20 | 30 | 49 | 60 | 77 | 102 | 40,8%b |
| Água | 2 | 4 | 5 | 8 | 10 | 13 | 24 | 9,6%d* |

Médias nas colunas seguidas por letras iguais não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.4 Discussão

A cultura do tomateiro, quando iniciada a partir de mudas certificadas livres de vírus, entre os quais o ToSRV, deveria em teoria permanecer saudável até o final do ciclo, a menos que o patógeno seja introduzido a partir de fontes de inóculo externas, como normalmente ocorre. A partir do momento em que o ToSRV é introduzido na nova plantação, há duas maneiras de aumentar o número de plantas infectadas: a) constantes influxos de insetos virulíferos na plantação, ou seja, permanentes infecções primárias b) disseminações secundárias a partir dos tomateiros já infectados na plantação. Em Israel, Cohen et al. (1988) apontaram que as maiores incidências do TYLCV no Vale do Rio Jordão ocorreram no início da migração da *B. tabaci*, que coincidia com o desenvolvimento de *Cynanchum acutum*, hospedeiro perene do vírus naquela região, isto é influxo de insetos virulíferos. No caso do mosaico africano da mandioca, na Costa do Marfim, verificou-se que a contaminação das plantações estava associada principalmente à rápida disseminação primária do vírus a partir de fontes externas de inóculo, representadas principalmente por plantas de mandioca infectadas. Infecções secundárias eram limitadas. Na Florida, E.U.A., Polston et al. (1996) relataram que a alta população de insetos virulíferos imigrantes, em vez da disseminação secundária dentro das plantações de tomates, foi a principal responsável por epidemias causadas pelo begomovirus *Tomato mottle virus*, mesmo com 2 a 3 aplicações de inseticidas por semana. No Brasil, Della Vecchia et al. (2007) caracterizaram o padrão espacial da begomovirose causada pelo ToYVSV em tomateiros no campo e em estufas plásticas e constataram um efeito de borda, pois a incidência média de plantas doentes nos blocos situados nas bordas da área foi 2,1 vezes maior do que naqueles internos, indicando que novas infecções foram devidas principalmente a um influxo constante de vetores virulíferos de fora para dentro da área avaliada. Barbosa (2007), mesmo reconhecendo a prevalência e a importância da infecção primária de fora para dentro da plantação para o patossistema tomateiro - ToSRV em condições de campo, não descartou a ocorrência de infecções secundárias no final do ciclo da cultura, mesmo com aplicações frequentes de inseticidas para controlar a *B. tabaci*.

Diante desses fatos, fica evidente que o controle da doença por meio do controle químico do vetor deverá ser eficiente para prevenir tanto a infecção

primária, que muitas vezes parece ser a prevalente, mas também a infecção secundária. Obviamente, o tratamento que previne um tipo de disseminação pode não ser efetivo contra o outro tipo, conforme apontou Broadbent (1957), pois está intimamente relacionado com o tipo de relação vírus-vetor. No caso do ToSRV, transmitido por *B. tabaci* biótipo B, sabe-se que essa relação é do tipo persistente circulativa. O vírus pode ser adquirido e transmitido após períodos de 5 minutos de alimentação do inseto, porém a eficiência de transmissão aumenta à medida que os tempos para aquisição e transmissão do vírus pelo vetor aumentam. Após a aquisição do vírus, este passa por um período de latência no vetor, de aproximadamente 15 h, para só depois ser transmitido para plantas saudas. Essa transmissão pode ocorrer durante quase toda a vida do inseto (FREITAS, 2012).

Os resultados do presente trabalho, onde se avaliou a eficiência dos inseticidas tiametoxam, espiromesifeno e ciantraniliprole (foliar e solo) no controle das disseminações primária e secundária do ToSRV pela *B. tabaci* biótipo B, simuladas em gaiolas com plantas de tomate, indicaram que somente o inseticida ciantraniliprole foi eficiente no controle da disseminação secundária, proporcionando reduções da ordem de 81% (foliar) e 94,5% (solo) de plantas infectadas em relação aos respectivos controles. Também proporcionou reduções de 42,8% (foliar) e 40% (solo) na disseminação primária, em relação aos respectivos controles. Os inseticidas tiametoxam e espiromesifeno não tiveram qualquer efeito na redução das disseminações primária e secundária (Tabela 1). Estes resultados corroboram parcialmente aqueles obtidos por Freitas (2012), onde o inseticida cloridrato de cartape reduziu significativamente a transmissão secundária de ToSRV por *B. tabaci* biótipo B, quando comparado ao controle, mas não teve efeito no controle da infecção primária.

Seal et al. (2012), ao estudarem a resposta de populações de *B. argentifoli* (sinonímia de *B. tabaci* biótipo B) a seis inseticidas seletivos para o controle do ToYLCV em tomateiro, constataram que o tratamento com ciantraniliprole reduziu significativamente o número de plantas infectadas em relação aos outros ingredientes ativos testados.

Smith e Giurcanu (2014) avaliaram o efeito dos ingredientes ativos ciantraniliprole, flupiradifurone, pyrifluquinazon, sulfoxaflor, pimetrozina e uma combinação de zeta-cipermetrina com bifentrina na transmissão do TYLCV por *B. tabaci* biótipo B, aos 3, 7, e 14 dias após o tratamento (DAT), em três experimentos

independentes. A menor porcentagem de plantas infectadas com esse begomovirus foi encontrada naquelas tratadas com flupyradifurone, isto é 0% aos 3 e 7 DAT e 0 a 5 % aos 14 DAT. No caso do tratamento com ciantraniliprole também foi observada redução na infecção das plantas, quando comparada com as plantas controles, porém a porcentagem de plantas infectadas foi maior do que naquelas tratadas com o flupyradifurone, isto é 13 a 18% quando a inoculação foi aos 3 DAT, 10 a 28% aos 7 DAT e 30 a 42% aos 14 DAT.

O ingrediente ativo ciantraniliprole, pertence ao grupo das diamidas antranílicas, é capaz de modular receptores de rianodina em células dos músculos dos insetos, atuando como um agonista do receptor de rianodina (CAMERON et al., 2011; SOUZA et al., 2013). O ciantraniliprole ativa os receptores de rianodina, estimulando a liberação de reservas de cálcio do retículo sarcoplasmático de células musculares, resultando no comprometimento da função muscular dos insetos, pela liberação descontrolada e posterior esgotamento de Ca^{2+} . Isso resulta na rápida interrupção da alimentação da *B. tabaci* biótipo B (TANIGOSHI et al, 2009). Civolani et al. (2014) estudaram o efeito da formulação foliar de ciantraniliprole no comportamento alimentar de *B. tabaci* biótipo Q2, em tomateiros, por meio do monitoramento através do *Electrical penetration graph* (EPG) e constataram que os adultos não foram capazes de atingir os elementos crivados do floema. Conseqüentemente, os insetos não efetuaram as atividades associadas as ondas E1 e E2 que representam, respectivamente a salivação no floema (durante a qual o begomovirus é inoculado) e a ingestão de elaborados da fotossíntese no floema (durante a qual o begomovirus é adquirido pelo inseto). Embora os autores tenham sugerido que esse produto pode reduzir a infecção de tomateiros com o begomovirus TYLCV, experimentos nesse sentido não foram realizados. Os resultados do presente trabalho apontam que essa interrupção na alimentação pode ser a causa da redução parcial da disseminação primária, mas principalmente da acentuada redução da disseminação secundária, uma vez que os dados de mortalidade indicaram que mesmo depois de 48 horas de confinamento dos insetos em tomateiros tratados com esse inseticida, pouco mais da metade deles estava morta (Tabela 2).

Os inseticidas do grupo dos neonicotinóides, por sua vez atuam em receptores de acetilcolina, não sendo degradados pela acetilcolinesterase. Sendo assim, mimetizam a ação do neurotransmissor acetilcolina na membrana das células

pós-sinápticas, mas permanecem ligados aos receptores pós-sinápticos da acetilcolina, abrindo canais de Na⁺. Consequentemente, levam à exagerada excitação do sistema nervoso do inseto, seguida de colapso. Constituem este grupo os ingredientes ativos tiametoxam, acetamiprid, clotianidina, imidacloprid e thiacloprid (VILLAS BÔAS; BRANCO, 2009).

Mason, Racanti e Bosco (2000), ao avaliarem o efeito de tiametoxam na prevenção da transmissão do TYLCV por *B. tabaci* biótipo B em tomateiros em casa de vegetação, constataram que a aplicação via solo proporcionou proteção contra infecções até 22 dias após a pulverização; a aplicação foliar, por sua vez, resultou em uma proteção por período inferior a 8 dias. Plantas pulverizadas não serviram como fonte de inóculo para a aquisição e posterior transmissão do vírus (disseminação secundária) porque os insetos morreram. De acordo com os autores, a prevenção na transmissão do vírus foi devido às propriedades inseticidas do tiametoxam, e não por efeito repelente ou de impedimento de alimentação do inseto. Esse resultado difere do obtido no presente trabalho, pois não se constatou controle significativo da disseminação secundária do ToSRV em tomateiros (Tabela 1). Isso se deve provavelmente ao fato de que esse inseticida não é suficientemente rápido para matar os insetos, conforme resultados do ensaio de mortalidade, nem para alterar o processo de alimentação. Na média de dois experimentos, 62,40% dos insetos ainda estavam vivos mesmo após 48 h de confinamento em tomateiros pulverizados com esse inseticida (Tabela 2). Resultado de mortalidade semelhante foi obtido por Dias (2013) ao avaliar a eficiência de seis inseticidas no controle de *B. tabaci* biótipo B. Para o tiametoxam, 37,9% dos insetos permaneceram vivos após 48 horas de confinamento em plantas pulverizadas com o inseticida.

A ineficiência do tiametoxam no controle da transmissão primária do ToSRV por *B. tabaci* biótipo B em plantas de tomateiro também foi constatada por Rodrigues et al. (2013). Após 21 dias da inoculação, 100% das plantas tratadas com tiametoxam estavam infectadas com o vírus. Resultados parecidos foram obtidos nos tratamentos com pimeprozina (100%), acefato (96,6%), clotianidina (100%) e diafenturotom (96,66%), os quais não diferiram estatisticamente da testemunha (100%), demonstrando o insucesso desta medida utilizada isoladamente no controle da infecção primária do ToSRV.

Produtos do grupo químico cetoenol, como o ingrediente ativo espiromesifeno utilizado neste trabalho, agem como inibidores da biossíntese de lipídeos, interferindo na atividade hormonal (CZEPAK et al., 2009). Esse efeito causa a deformação e infertilidade dos ovos no interior de *B. tabaci* biótipo B, impossibilitando a oviposição e cessando a reprodução (VILLAS BÔAS; BRANCO, 2009). De acordo com Palumbo (2006), espiromesifeno e buprofezin agem como reguladores de crescimento, ambos prevenindo a ecdise de insetos em fase de ninfa, com pouco efeito sobre adultos.

Os resultados do presente trabalho mostraram que as porcentagens médias de transmissão primária e secundária do ToSRV por *B. tabaci* biótipo B em tomateiros pulverizados com espiromesifeno não diferiram estatisticamente entre si e nem da testemunha. Mais uma vez, essa ineficiência de prevenção na transmissão do vírus se deve provavelmente ao fato de que esse inseticida não é suficientemente rápido para matar os insetos, conforme resultados do ensaio de mortalidade, e também não parece afetar a alimentação. Em média, 80,2% dos insetos ainda estavam vivos mesmo após 48 h de confinamento em tomateiros pulverizados com esse inseticida (Tabela 2). Kontsedalov et al. (2009), avaliando a toxicidade de espiromesifeno aos estádios de desenvolvimento de *B. tabaci* biótipo B, obtiveram taxa de mortalidade de apenas 40% de adultos 7 dias após aplicação do produto.

Em conjunto, os resultados dos experimentos realizados neste trabalho corroboram aqueles de outros autores em que o controle de fitovirose foi avaliado por meio do controle químico do vetor, porém sem o sucesso esperado. Isso não é novidade, uma vez que essa alternativa de controle, que vem sendo intensivamente investigada experimentalmente e aplicada pelos agricultores do mundo todo há várias décadas, tem apresentado resultados de sucessos e insucessos bastante variáveis, os quais estão muito bem documentado e discutidos nas revisões de Broadbent (1957), Perring et al. (1999) e Sharaf (1986). No caso da begomovirose causada pelo ToSRV, o uso racional de inseticidas que afetam o processo de alimentação do vetor, como o ciantranilprole, que reduziu significativamente a disseminação secundária, poderá ser eficiente quando combinado com a eliminação de fontes externas de inóculo do vírus, que geram vetores virulíferos responsáveis por infecções primárias permanentes.

3. CONCLUSÕES

- Somente o inseticida ciantraniliprole foi eficiente no controle da disseminação secundária;
- Os inseticidas tiametoxam e espiromesifeno não tiveram qualquer efeito na redução das disseminações primária e secundária.

REFERÊNCIAS

AHMED, N.E.; KANAN, H.O.; SUGIMOTO, Y.; MA, Y.Q.; INANAGA, S. Effect of imidacloprid on incidence of *Tomato yellow leaf curl virus*. **Plant Disease**, Saint Paul, v.85, n. 1, p. 84–87, 2001.

BARBOSA, J.C. **Epidemiologia de begomoviroses em tomateiro sob condições de cultivo em campo e cultivo protegido**. 2007. 109p. Dissertação (Mestre em Agronomia – Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

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**, Saint Paul, v. 92, n. 12, p. 1709, 2008.

BARBOSA, J.C.; REZENDE, J.A.M. Algumas espécies vegetais suscetíveis ao *Tomato severe rugose virus*. **Tropical Plant Pathology**, Lavras, v. 33, p. 286, 2008.

BARBOSA, J.C.; BARRETO, S.S.; INOUE-NAGATA, A.K.; REZENDE, J.A.M. Characterization and experimental host range of a Brazilian tomato isolate of *Tomato severe rugose virus*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.159, n.9, p. 644-646, 2011.

BEDFORD, I.D.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J.K.; ROSELL, R.C.; MARKHAM, P.G. Geminivirus transmission and biological characterization of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographic regions. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v.125, n. 2, p.311-325, 1994.

BEZERRA, I.C.; LIMA, M.F.; RIBEIRO, S.G.; GIORDANO, L.B.; ZERBINI, F.M.; ÁVILA, A.C. Occurrence of geminivirus in tomato-producing areas in Submédio São Francisco. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, p.331, 1997. Resumo.

BEZERRA-AGASIE, I.C; FERREIRA, G.B.; ÁVILA, A.C; INOUE-NAGATA, A.K. First report of *Tomato severe rugose virus* in chili pepper in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 90, n. 1, p.114, 2006.

BROADBENT, L. Insecticidal Control of the Spread of Plant Viruses. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 2, p. 339-354, 1957.

CAMERON, R.; ANNAN, I.B.; ALVAREZ, J.M.; PORTILLO, H.E.; TAMAYO, D.M.; PALUMBO, J.C.; HAMMES, G.G.; RILEY, D.G.; ROYAL, S.S.; SCHUSTER, D.; CABALLERO, R. Role of DuPont Cyazypyr™ insecticide in the management of whiteflies in multiple crops. In: ESA 59th Annual Meeting, 59,. 2011. Nevada. **Anais...** Nevada: Entomological Society of America, 2011. 1v.

CASTILLO-URQUIZA, G.P.; BESERRA JUNIOR, J.E.A.; BRUCKNER, F.P.; LIMA, A.T.M.; VARSANI, A.; ALFENAS-ZERBINI, P.; ZERBINI, F.M. Six novel begomoviruses infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. **Archives of Virology**, New York, v. 153, n. 10, p. 1985-1989, 2008.

CIVOLANI, S.; CASSANELLI, S.; CHICCA, M.; RISON, J.L.; BASSI, A.; ALVAREZ, J.M.; ANNAN, I.B.; PARRELLA, G.; GIORGINI, M.; FANO, E.A. An EPG study of the probing behavior of adult *Bemisia tabaci* biotype Q (Hemiptera: Aleyrodidae) following exposure to ciantraniliprole. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 107, n. 3, p. 910-919, 2014.

COHEN, S.; KERN, J.; HARPAZ, I.; BEN-JOSEPH, R. Epidemiological studies on the *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) in the Jordan Valley, Israel. **Phytoparasitica**, Israel, v. 16, n. 3, p. 259-270, 1988.

CONTRIM, M.A.A.; KRAUSE-SAKATE, R.; NARITA, N.; ZERBINI, F.M.; PAVAN, M.A. Diversidade genética de begomovirus em cultivos de tomateiro no Centro-Oeste Paulista. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 3, p. 300-303, 2007.

COSTA, A.S.; BENNETT; C.W. Whitefly-transmitted mosaic of *Euphorbia prunifolia*. **Phytopatology**, Saint Paul, v. 40, p. 266-283, 1950.

COSTA, A.S. Whitefly-transmitted plant diseases. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 14, p. 429-449, 1976.

CZEPAK, C.; BORGES, J.D.; SANTOS, J.B.; SANTANA, H.G. Praga dos séculos: mosca-branca em tomate. **Revista Cultivar**, Pelotas, n. 55, p. 22-27, 2009.

DELLAPORTA, S.L.; WOOD, J.; HICKS, J.B. A plant DNA minipreparation: version II. **Plant Molecular Biology Reporter**, Norwell, v. 1, p. 19-21, 1983.

DELLA VECCHIA, M.G.S.; ROSA, D.D.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; RIBEIRO, A. Dinâmica temporal e espacial da begomovirose

causada por *Tomato yellow vein streak virus* em tomateiro na região de Campinas – SP. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 4, p. 388-396, 2007.

DIAS, A.M. **Manejo de mosca-branca com e sem begomovírus em plantas de tomate tratadas com inseticidas**. 2013. 16p. Monografia (Graduação em Engenharia agrônômica) - Universidade de Brasília (UnB), Brasília, 2013.

ESQUINAS-ALCÁZAR, J.; NUEZ, V.F. Situación taxonômica, domesticación y difusión del tomate. In: NUEZ, F. **El cultivo del tomate**. Madrid: Ediciones Minidiprensa, 2005, cap. 1, p. 13-42.

FAOSTAT (2012). Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 01 abr. 2015.

FARIA, J.C.; BEZERRA, I.C.; ZERBINI, F.M.; RIBEIRO, S.G.; LIMA, M.F. Situação atual das geminiviroses no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 125-137, 2000.

FAUQUET, C.; FARGETTE, D. *African Cassava Mosaic Virus*: Etiology, Epidemiology and Control. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 74, n. 6, p. 404-411, 1990.

FERNANDES, J.J.; CARVALHO, M.G.; ANDRADE, E.C.; BROMMONSCHENKEL, S.H.; FONTES, E.P.B.; ZERBINI, F.M. Biological and molecular properties of *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV), a new tomato-infecting begomovirus from Brazil. **Plant Pathology**, Oxford, v. 55, n. 4, p. 513-522, 2006.

FERNANDES, F.R.; ALBUQUERQUE, L.C.; GIORDANO, L.B.; BOITEUX, L.S.; ÁVILA, A.C.; INOUE-NAGATA, A.K. Diversity and prevalence of Brazilian bipartite begomovirus species associated to tomatoes. **Virus Genes**, Amsterdam, v. 36, p. 241-258, 2008.

FERNANDES, F.R.; ALBUQUERQUE, L.C.; INOUE-NAGATA, A.K. Development of a species-specific detection method for three Brazilian tomato begomoviruses. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, n. 1, p. 43-47, 2010.

FIRMINO, A.C. **Estudo da interação do *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV) e seu vetor *Bemisia tabaci* biótipo B e identificação de hospedeiras alternativas do vírus**. 2007. 59p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

FLORES, E.; SILBERSCHMIDT, K.; KRAMER, M. Observações de “clorose infecciosa” das malváceas em tomateiros do campo. **O Biológico**, Campinas, v. 26, p. 65-69, 1960.

FRANÇA, F.H.; VILLAS BÔAS, G.L.; BRANCO, M.C. Ocorrência de *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (*Homoptera: Aleyrodidae*) no Distrito Federal. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.25, n. 2, p.369-372, 1996.

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**. 2012. 74p. Tese (Doutorado em Ciências – Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz,” Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba:FEALQ, 2002. 920p.

GIORDANO, L.B.; FONSECA, M.E.N.; SILVA, J.B.C.; INOUE-NAGATA, A.K.; BOITEUX, L.S. Efeito da infecção precoce por *Begomovirus* com genoma bipartido em características de frutos de tomate industrial. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 815-818, 2005.

HEINE, A.J.M. **Produção e qualidade do tomateiro híbrido Lumi sob adensamento e condução de hastes**. 2012. 82p. Tese (Mestrado em Agronomia – Fitotecnia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista. 2012.

IBGE (2015) Indicadores IBGE. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola 2015. Disponível em:
<[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Fasciculo/lspa_201501.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/lspa_201501.pdf)> Acesso em: 01 jul. 2015.

IOANNOU, N. Cultural management of *Tomato yellow leaf curl* disease in Cyprus. **Plant Pathology**, Saint Paul, v. 36, n. 3, p. 367-373, 1987.

INOUE-NAGATA, A.K.; NAGATA, T.; AVILA, A.C.; GIORDANO, L.B. A reliable begomovirus inoculation method for screening *Lycopersicon esculentum* lines. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 3, p..447-450, 2007 .

JENKINS, J.A. The origin of the cultivated tomato. **Journal Economic Botany**, New York, v. 2, n. 4, p.379-392, 1948.

KING, A.M.Q.; ADAMS, M.J., CARSTENS, E.B.; LEFKOWITZ, E.J. **Virus Taxonomy**: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego: Elsevier, 2012. 1338p.

KONTSEDALOV, S.; GOTTLIEB, Y.; ISHAAYA, I.; NAUEN,R.; HOROWITZ, R.; GHANIM, M. Toxicity of spiromesifen to the developmental stages of *Bemisia tabaci* biotype B. **Pest Management Science**, Chichester, v. 65, n. 1, p. 5-13, 2009.

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

LEVI, J.; SHARONI, Y. The functions of tomato lycopene and its role in human health. **HerbalGram**, Austin, v. 62, p. 49-56, 2004.

LIMA, A.T.M. **Caracterização de dois begomovirus (*Tomato severe rugose virus* e *Tomato yellow vein strak virus*) que infectam tomateiro e obtenção de clones infecciosos**. 2008. 86p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Fitopatologia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

LIMA, M.F.; HAJI, F.N.P. Mosca-branca x geminivírus em tomate no Submédio do Vale do Rio São Francisco. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.16, n. 1, 1998. Nota informativa, contracapa.

LIMA, A.T.; PEREIRA, C.O.; ALFENAS-ZERBINI, P.; PAULA, M.B.; MELLO, R.N.; ZERBINI, F.M. Primeiro relato de infecção pelo vírus *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) em tomateiro no estado de Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, p. 224-224, 2006.

LOPES, C.A.; MENDONÇA, J.L. **Enxertia em tomateiro para o controle da murcha-bacteriana**. Brasília: EMPRABA CNPH, 2014. 8p. (Circular Técnica 131).

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

MACÊDO, M.A.D. **Estudo dos fatores que influenciam a predominância do begomovírus *Tomato severe rugose virus* no Brasil**. 2011. 92p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

MASON, G.; RACANTI, M.; BOSCO, D. The effect of thiamethoxam, a second generation neonicotinoid insecticide, in preventing transmission of *Tomato yellow leaf curl geminivirus* (TYLCV) by the whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius). **Crop protection**, Guildford, v. 19, p. 473-479, 2000.

MARANCA, G. **Tomate: variedades, cultivo, pragas e doenças, comercialização**. São Paulo: Livraria Nobel, 1981. 158p.

MARUBAYASHI, J.M. **Interação de *Tomato severe rugose virus* com *Bemisia tabaci* biótipo B, a acessos de *Capsicum spp.* e ocorrência de espécies de mosca-branca no estado de São Paulo**. 2009. 93p. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2009.

MATYIS, J.C.; SILVA, D.M.; OLIVEIRA, A.R.; COSTA, A.S. Purificação e morfologia do vírus do mosaico dourado do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.1, p. 267-274, 1975.

MELO, P.C.T. **Mosca-branca ameaça produção de hortaliças**. Campinas, 1992. 2p. (Circular Técnico).

MINAMI, K.; FONSECA, H. **Tomate - Produção, Pré-Processamento e Transformação Agroindustrial**. Piracicaba:FEALQ, 1982. 92p.

NUEZ, F.; RINCÓN, A.R.; TELLO, J.; CUARTERO, J.; SEGURA, B. **El cultivo del tomate**. Madrid: Mundi-Prensa, 2001, p. 1-793.

PALUMBO, J.C. Optimal Spray Timing of Oberon and Courier for Managing Bemisia Whiteflies in Spring Cantaloupes. Vegetable Report, University of Arizona, College of Agriculture and Life Sciences, Tucson, AZ 2006. Disponível em: <http://cals.arizona.edu/pubs/crops/az1419/5_WEB.PDF>. **Acesso em: 13 mar. 2015.**

PERRING, T.M.; GRUENHAGEN, N.M.; FARRAR, C.A. Management of plant viral diseases through chemical control of insect vectors. **Annual Review of Entomology**, Stanford, 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**. Saint Paul, v. 80, n. 9, p. 1022-1028, 1996.

REZENDE, W.L.; MILITÃO NETO, V.; GOULART, L.R.; GIOVANINI, M.P.; JULIATTI, F.C.; FERNANDES, J.J. Mixed infection by geminiviruses in tomato plants, detected by LIS-SSCP-PCR. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, p. 338-339, 1997.

RIBEIRO, S.G.; MELLO, L.V.; BOITEUX, L.S.; KITAJIMA, E.W.; FARIA, J.C. Tomato infection by geminivirus in the Federal District, Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.19, p.330, 1994.

RIBEIRO, S.G.; ÁVILA, A.C.; BEZERRA, I.C.; FERNANDES, J.J.; FARIA, J.C.; LIMA, M.F.; GILBERTSON, R.L.; MACIEL-ZAMBOLIM, E.; ZERBINI, F.M. Widespread occurrence of tomato geminiviruses in Brazil, associated with the new biotype of the whitefly vector. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 82, n. 7, p. 830, 1998.

RIBEIRO, S.G.; AMBROZEVICIUS, L.P.; ÁVILA, A.C.; BEZERRA, I.C.; CALEGARIO, R.F.; FERNANDES, J.J.; LIMA, M.F.; MELLO, R.N.; ROCHA, H.; ZERBINI, F.M. Distribution and genetic diversity of tomato-infecting begomovirus in Brazil. **Archives of Virology**, New York, v. 148, n. 2, p. 281-295, 2003.

RIBEIRO, S.G.; MARTIN, D.P.; LACORTE, C.; SIMÕES, I.C.; ORLANDINI, D.R.; 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**, Saint Paul, 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**, Washington, v. 87, n. 10, p. 5784-5799, 2013.

ROCHA, K.C.G.; MARUBAYASHI, J.M.; NAVAS-CASTILLO, J.; PAVAN, M.A.; KRAUSE-SAKATE, R. Ocorrência e variabilidade genética do *Tomato severe rugose virus* em tomateiro e pimentão no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 3, p. 222-227, 2010.

RODRÍGUEZ, R.R.; RODRÍGUEZ, J.M.T.; SAN JUAN, J.A.M. **Cultivo moderno del tomate**. Madrid: Mundi-Prensa, 1997. 255p.

RODRIGUES, T.G. ; ESASHIKA, D.A.S. ; MICHEREFF FILHO, M.; NUNES, J.S.; SILVA, P.S. Inseticidas para controle da mosca-branca (*Bemisia tabaci*, biótipo B) e redução da transmissão de begomovírus ao tomateiro. In: JORNADA CIENTÍFICA DA EMBRAPA HORTALIÇAS, 3., 2013, Brasília. **Anais...** Brasília: Embrapa Hortaliças, 2013, 4 p, CD-Rom.

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

SALATI, R.; NAHKLA, M. K.; ROJAS, M. R.; GUZMAN, P. JAQUEZ, J.; MAXWELL, D. P.; GILBERTSON, R. L. *Tomato yellow leaf curl virus* in the Dominican Republic: Characterization of an infectious clone, virus monitoring in whiteflies, and identification of reservoir hosts. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 92, n. 5, p. 487-496, 2002.

SANTOS, C.D.G.; ÁVILA, A.C.; RESENDE, R.O. Estudo da interação de um begomovírus isolado de tomateiro com a mosca branca. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 6, p. 664-673, 2003.

SEAL, D.R.; ZHANG, S.; LAMBERTS, M.; WADDILL, C. Response of 2 populations of Silverleaf whitefly, *B. argentifoli* (Homoptera: Aleyrodidae) to 6 select insecticides and control of *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* (ToYLCV) on tomato. In: Florida Tomato Institute Program, 2012, Naples. **Anais...**, Naples: University of Florida IFAS Extension, 2012. p. 22 - 25.

SHARAF, N. Chemical control of *Bemisia tabaci*. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 17, n. 1/2, p. 111-127, 1986.

SMITH, H.A.; GIURCANO, M.C. New Insecticides for Management of 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, J.C.; REIS, P.R.; SILVA, R.A.; CARVALHO, T.A.F.; PEREIRA, A.B. Controle químico de broca-do-café com Cyantraniliprole. **Coffee Science**, Lavras, v. 8, n.4, p. 404-410, 2013.

SOUZA-DIAS, J. A. C.; SAWAZAKI, H. E.; PERNAMBUCO-FO, P.C.A.; ELIAS, L.M.; MALUF, H. *Tomato severe rugose virus* (ToSRV): another begomovirus causing leaf deformation and mosaic symptoms on potato in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v.92, n.3, p.487-488, 2008.

TANIGOSHI, L.K.; SPITLER, G.H.; GERDEMAN, B.S. Evaluation of Novel Mode of Action Insecticides to Control Winter Moth in Blueberry. In: 68th annual pacific northwest insect management conference, 68., 2009. Oregon. **Anais...** Oregon: Oregon Department of Agriculture, 2009. p. 56 -57.

VILLAS BÔAS, G.L.; BRANCO, M.C. **Manejo Integrado da mosca- branca (*Bemisia tabaci* biótipo B) em sistema de produção de produção integrada de tomate indústria (PITI)**. Brasília: Embrapa CNPH, 2009. 16p. (Circular Técnica 70).

APÊNDICES

APÊNDICE A

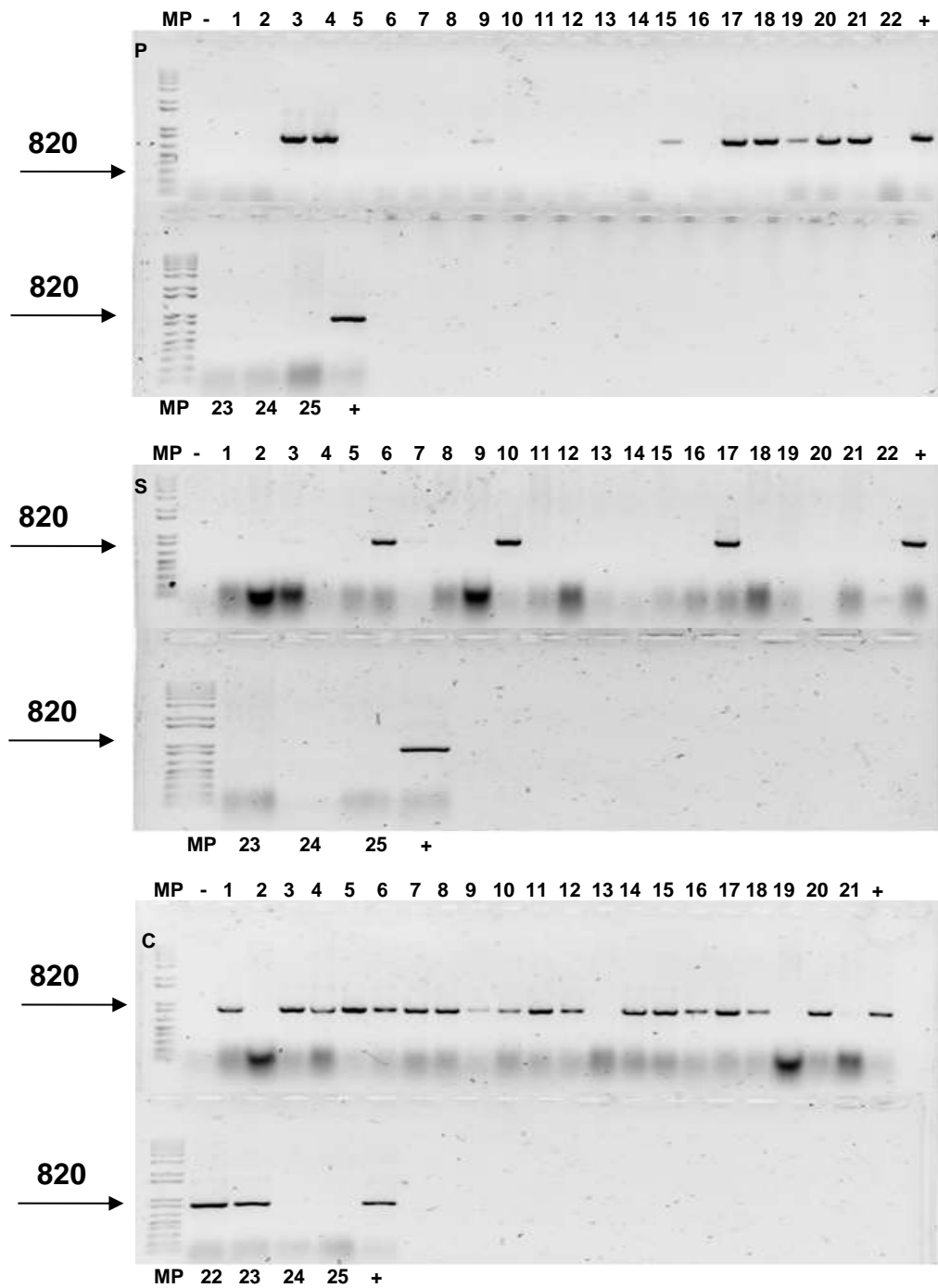


Figura 1 - Análise dos produtos da PCR, em gel de agarose a 1%, para a detecção do ToSRV em tomateiros cv. Kada pulverizados com o inseticida ciantraniliprole foliar, simulando as transmissões primária (P) e secundária (S) do primeiro ensaio. Controle (C) pulverizado com água. MP: marcador de peso molecular 1 Kb plus DNA. (+) controle ToSRV. (-) planta sadia

APÊNDICE B

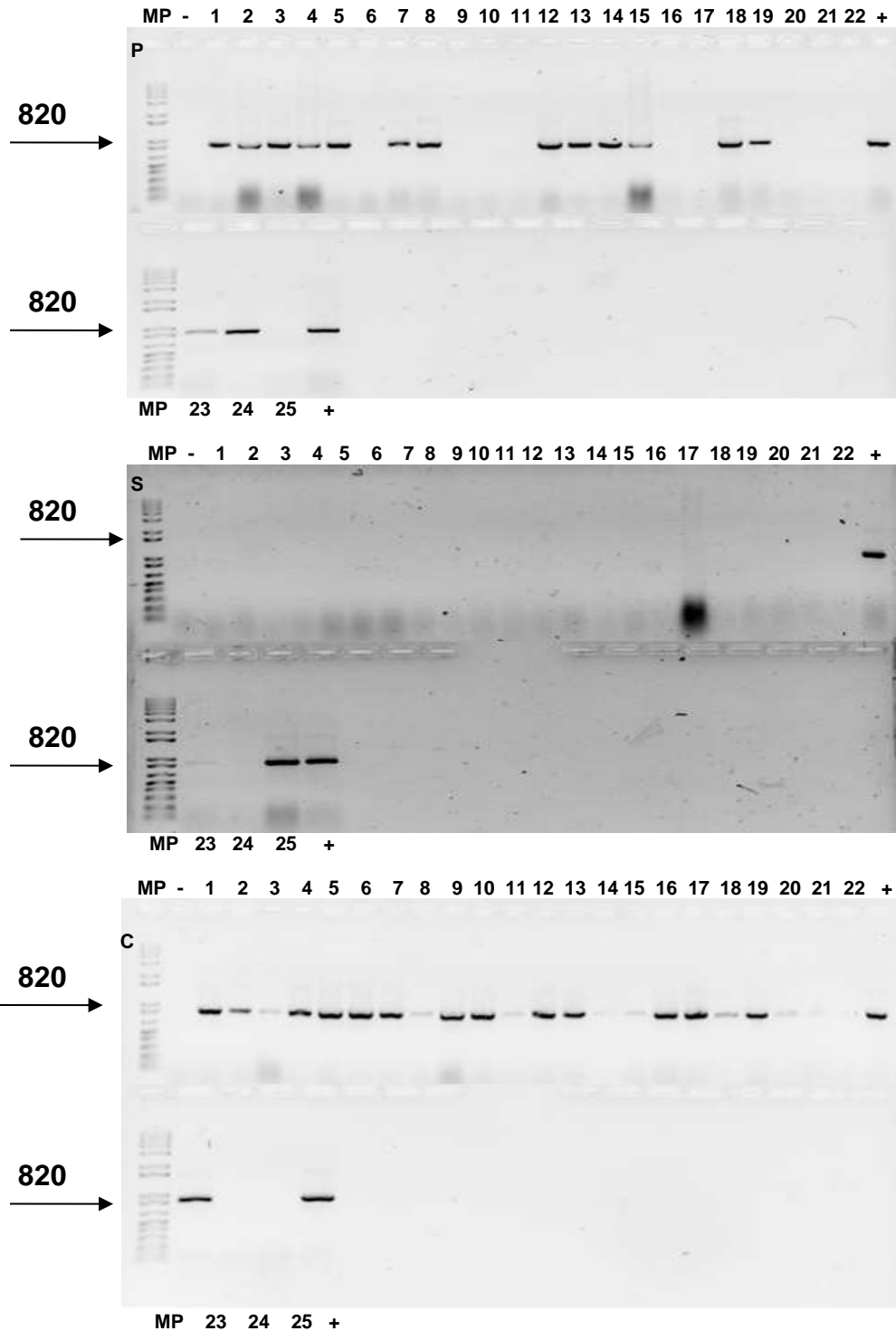


Figura 2 - Análise dos produtos da PCR, em gel de agarose a 1%, para a detecção do ToSRV em tomateiros cv. Kada pulverizados com o inseticida ciantraniliprole foliar, simulando as transmissões primária (P) e secundária (S) do segundo ensaio. Controle (C) pulverizado com água. MP: marcador de peso molecular 1 Kb plus DNA. (+) controle ToSRV. (-) planta sadia

APÊNDICE C

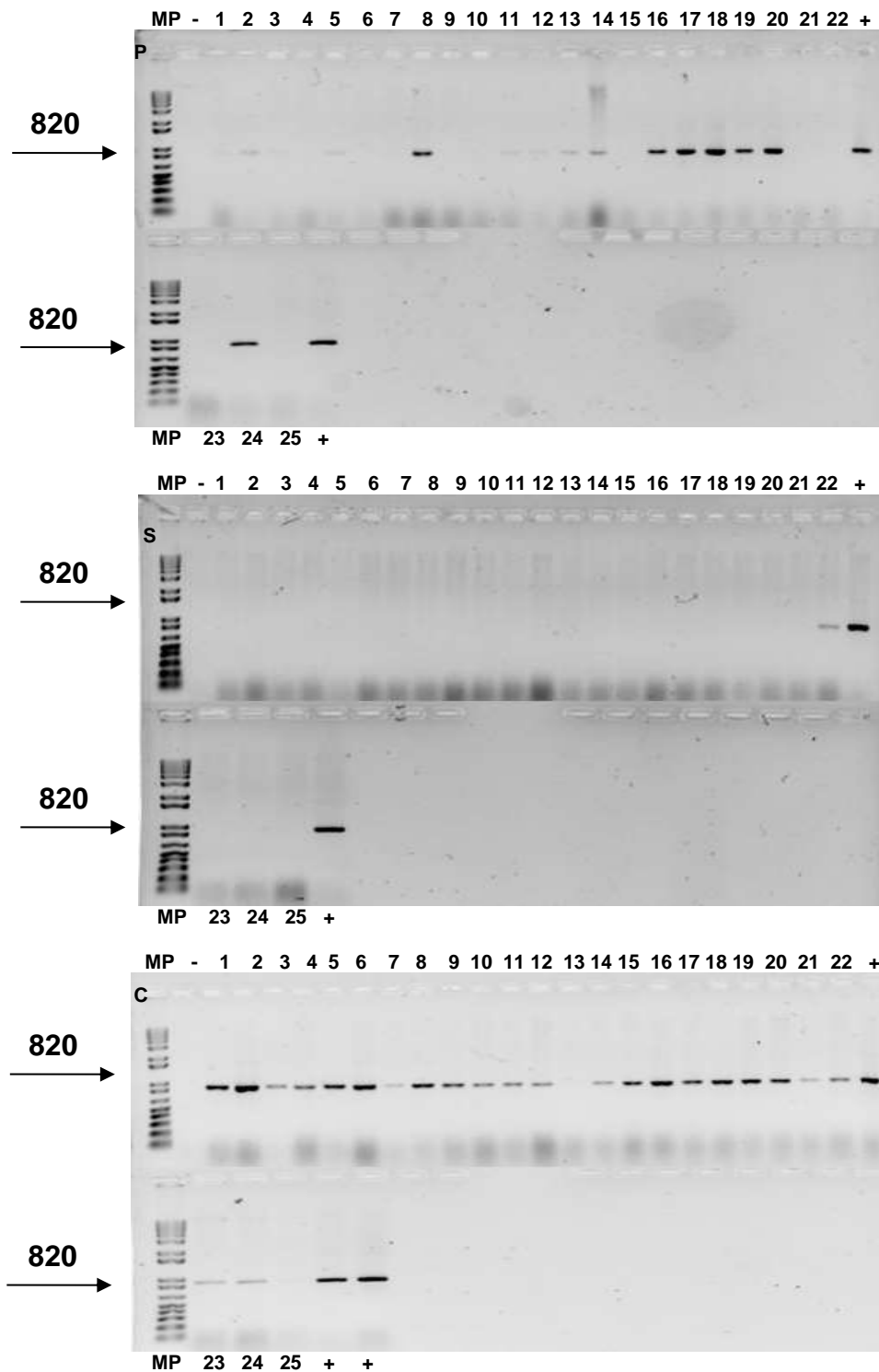


Figura 3 - Análise dos produtos da PCR, em gel de agarose a 1%, para a detecção do ToSRV em tomateiros cv. Kada pulverizados com o inseticida ciantraniliprole solo, simulando as transmissões primária (P) e secundária (S) do primeiro ensaio. Controle (C) pulverizado com água. MP: marcador de peso molecular 1 Kb plus DNA. (+) controle ToSRV. (-) planta sadia

APÊNDICE D

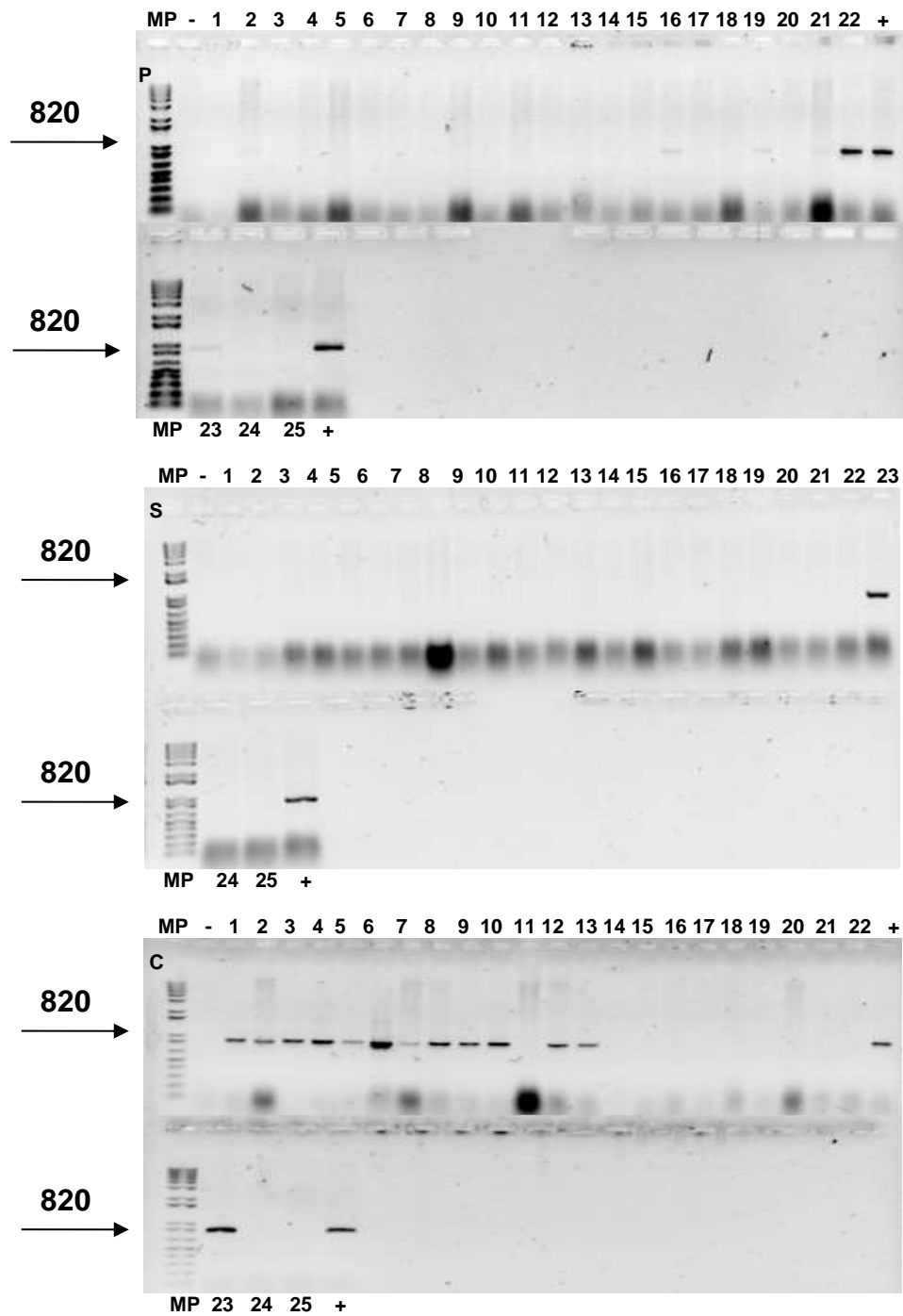


Figura 4 - Análise dos produtos da PCR, em gel de agarose a 1%, para a detecção do ToSRV em tomates cv. Kada pulverizados com o inseticida ciantraniliprole solo, simulando as transmissões primária (P) e secundária (S) do segundo ensaio. Controle (C) pulverizado com água. MP: marcador de peso molecular 1 Kb plus DNA. (+) controle ToSRV. (-) planta sadia

APÊNDICE E

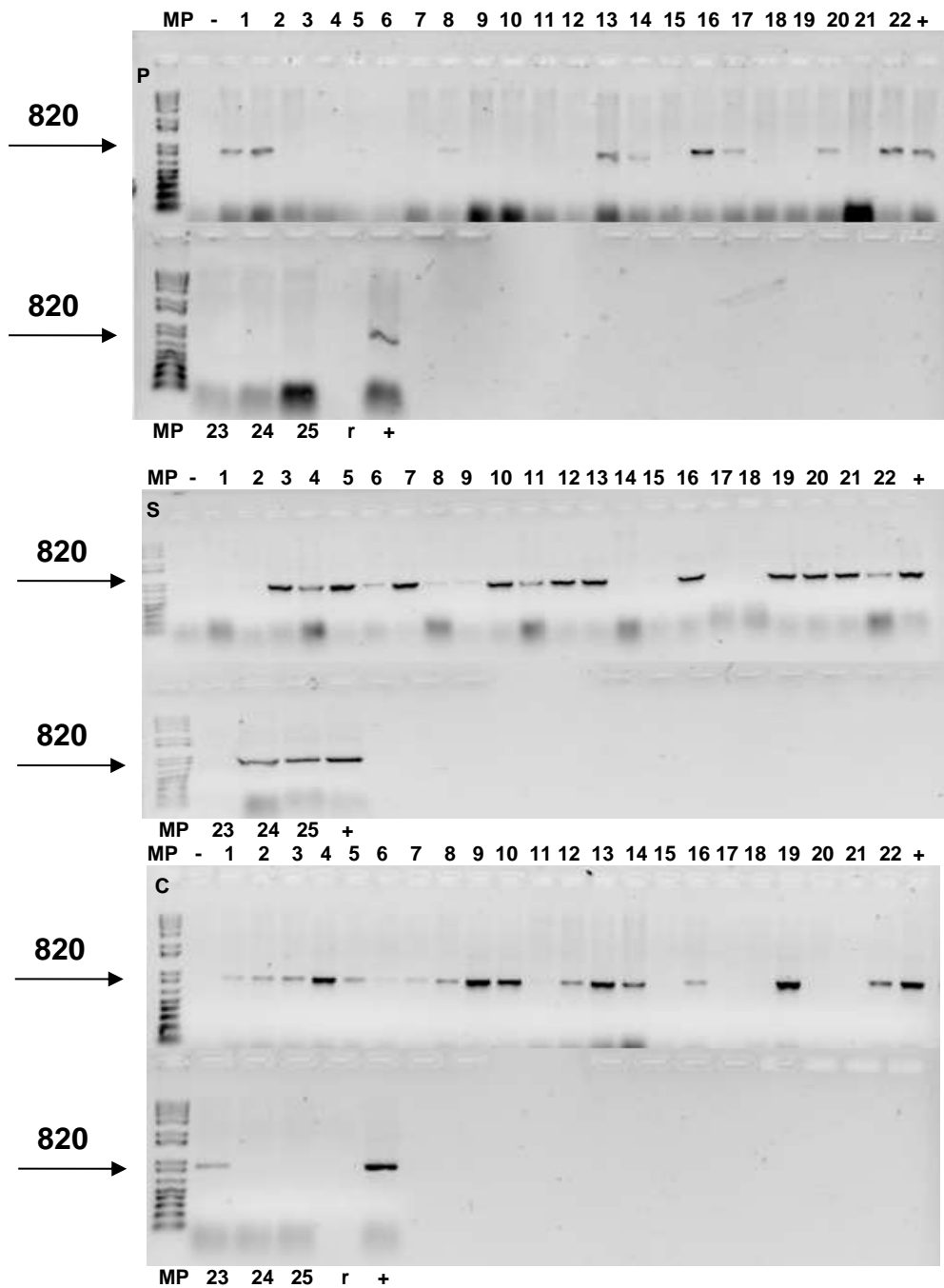


Figura 5 - Análise dos produtos da PCR, em gel de agarose a 1%, para a detecção do ToSRV em tomates cv. Kada pulverizados com o inseticida espiromesifeno, simulando as transmissões primária (P) e secundária (S) do primeiro ensaio. Controle (C) pulverizado com água. MP: marcador de peso molecular 1 Kb plus DNA. (+) controle ToSRV. (-) planta sadia. (r) controle negativo de reagentes

APÊNDICE F

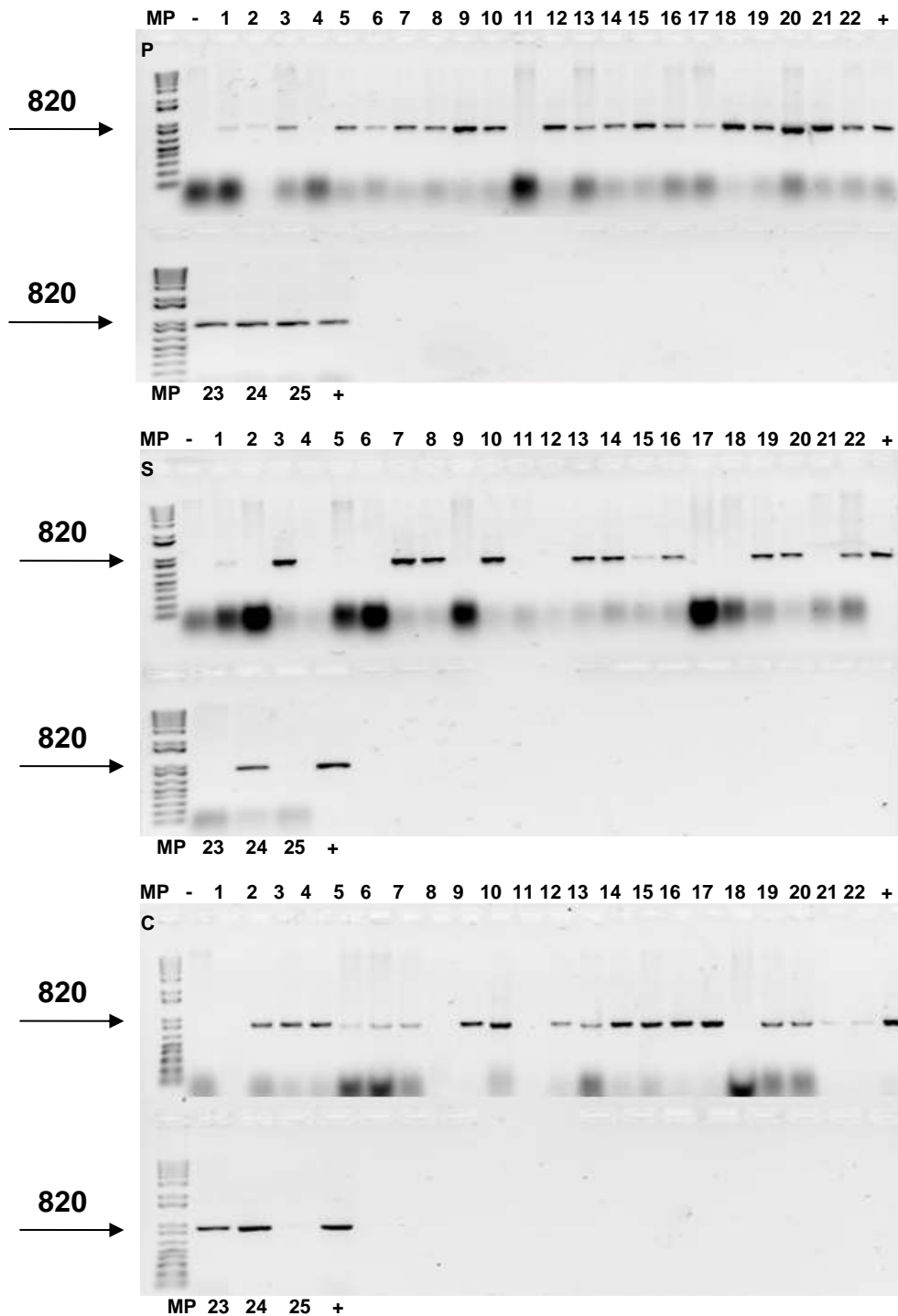


Figura 6 - Análise dos produtos da PCR, em gel de agarose a 1%, para a detecção do ToSRV em tomateiros cv. Kada pulverizados com o inseticida espiromesifeno, simulando as transmissões primária (P) e secundária (S) do segundo ensaio. Controle (C) pulverizado com água. MP: marcador de peso molecular 1 Kb plus DNA. (+) controle ToSRV. (-) planta sadia

APÊNDICE G

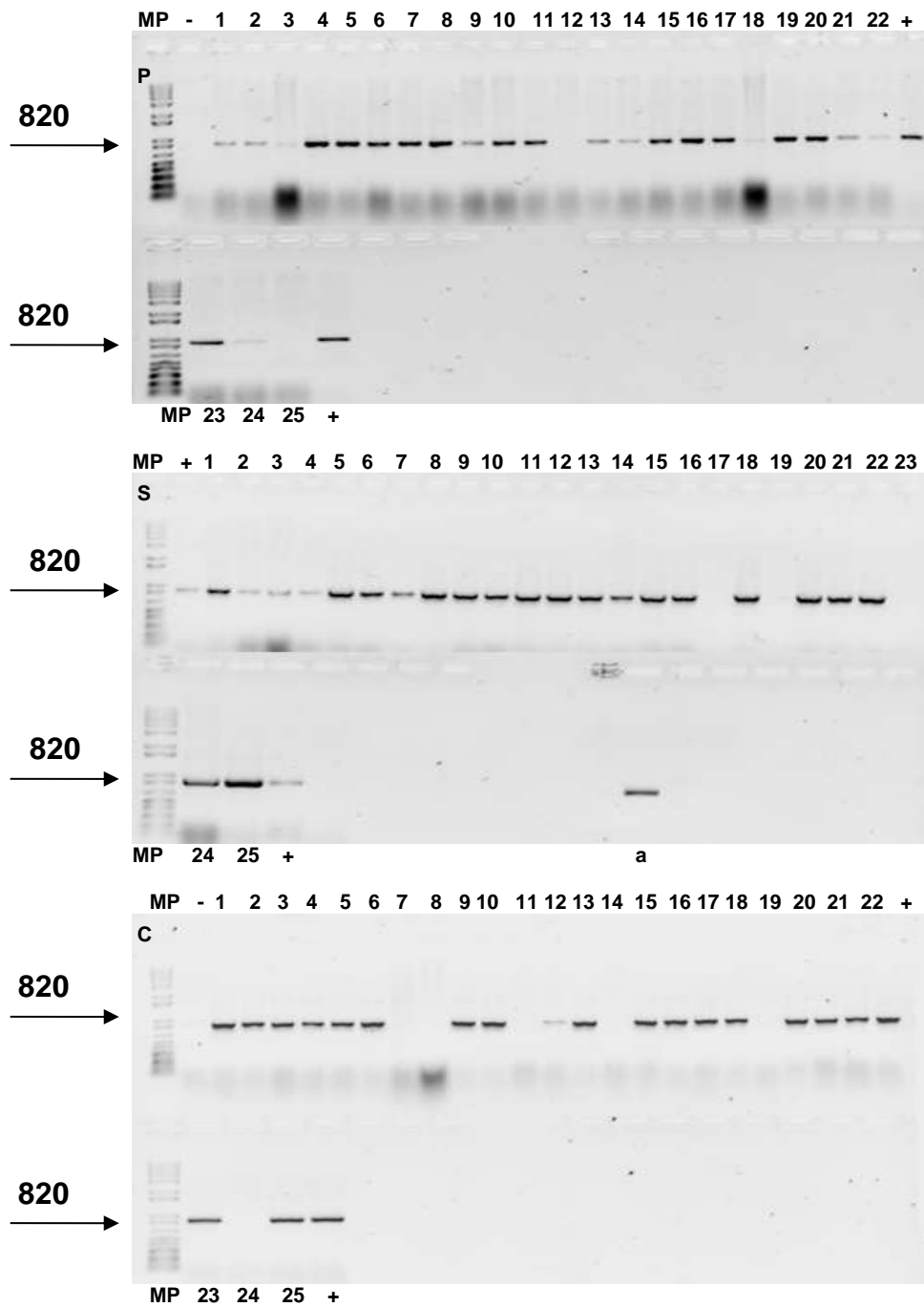


Figura 7 - Análise dos produtos da PCR, em gel de agarose a 1%, para a detecção do ToSRV em tomates cv. Kada pulverizados com o inseticida tiametoxam, simulando as transmissões primária (P) e secundária (S) do primeiro ensaio. Controle (C) pulverizado com água. MP: marcador de peso molecular 1 Kb plus DNA. (+) controle ToSRV. (-) planta sadia. (a) amostra aleatória recebida no laboratório

APÊNDICE H

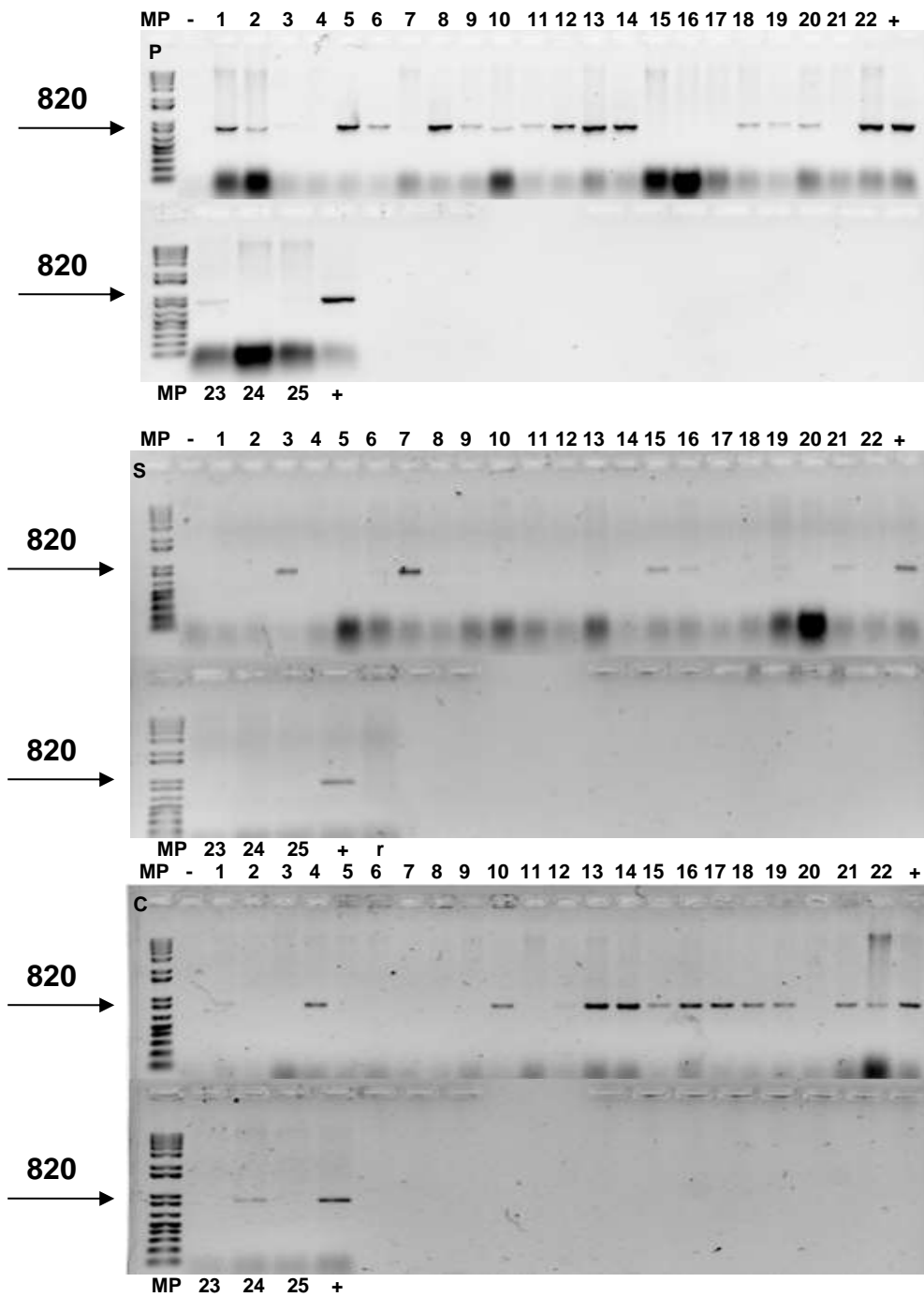


Figura 8 - Análise dos produtos da PCR, em gel de agarose a 1%, para a detecção do ToSRV em tomates cv. Kada pulverizados com o inseticida tiametoxam, simulando as transmissões primária (P) e secundária (S) do segundo ensaio. Controle (C) pulverizado com água. MP: marcador de peso molecular 1 Kb plus DNA. (+) controle ToSRV. (-) planta sadia. (r) controle negativo de reagentes