

EDUARDO SILVA GORAYEB

**CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA, MOLECULAR E QUANTIFICAÇÃO DE DANOS
DE UM SOBEMOVÍRUS ASSOCIADO A *Physalis peruviana* NO ESTADO DE
SANTA CATARINA - BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Nascimento da Silva

LAGES

2018

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com
auxílio do programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC

Gorayeb, Eduardo Silva

Caracterização biológica, molecular e quantificação
de danos de um sobemovírus associado a *Physalis*
peruviana no estado de Santa Catarina, Brasil. /
Eduardo Silva Gorayeb. - Lages , 2018.
96 p.

Orientador: Fábio Nascimento da Silva
Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação , Lages,
2018.

1. Fisális. 2. Pequenas Frutas. 3. Diagnóstico.
4. Vírus. I. da Silva, Fábio Nascimento. II.
Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa
de Pós-Graduação. III. Título.

EDUARDO SILVA GORAYEB

**CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA, MOLECULAR E QUANTIFICAÇÃO DE DANOS
DE UM SOBEMOVÍRUS ASSOCIADO A *Physalis peruviana* NO ESTADO DE
SANTA CATARINA - BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Banca Examinadora

Orientador: Fábio Nascimento Silva

(Dr. Fábio Nascimento da Silva)

Orientador – UDESC/Lages - SC

Membro: _____

(Dr. Clenilso Sehnem Mota)

IFC/Rio do Sul - SC

Membro: _____

(PhD. Amauri Bogo)

UDESC/Lages - SC

Lages, 23 de Fevereiro de 2018.

AGRADECIMENTOS

A minha família e minha namorada por todo o apoio e incentivo para a realização desse trabalho, e nossos animais de estimação, pela alegria que sempre nos proporcionam.

Ao meu orientador, Fábio Nascimento da Silva, por me oferecer essa maravilhosa oportunidade de trabalhar na área de Virologia Vegetal, por todos os procedimentos ensinados, pela paciência, apoio e dedicação.

Ao professor Ricardo Trezzi Casa, por ter me aceitado no programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, e proporcionado a oportunidade de realizar esse trabalho, além de todo o apoio e dedicação.

Aos bolsistas Jaíne Naiara Bonin e Manoel Ytalo Porto, pela ajuda prestada durante a realização desse trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Fitopatologia e do DNA, pelas trocas de informações, experimentos planejados em conjunto e parceria.

Aos professores Amauri Bogo, Altamir Frederico Guidolin e Leo Rufato, pela ajuda com recursos e materiais que possibilitaram a realização dessa pesquisa.

Aos demais professores, técnicos e funcionários tercerizados da UDESC, indispensáveis para o funcionamento da Universidade.

Ao Centro de Ciências Agroveterinárias da UDESC – Lages, pela estrutura e pelo Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal.

Ao professor Clenilso Sehnen Mota, por ter se deslocado de Rio do Sul para Lages para ajudar com as análises dos parâmetros da fotossíntese.

A técnica Maristela Aparecida Sorato e a Embrapa Produtos e Mercado, pelo curso de sorologia e o auxílio com as análises sorológicas.

A FAPESC pela bolsa concedida e pelo apoio financeiro que possibilitou a realização desse trabalho.

RESUMO

GORAYEB, Eduardo Silva. **Caracterização biológica, molecular e quantificação de danos de um sobemovírus associado a *Physalis peruviana* no estado de Santa Catarina – Brasil.** 2018, 96 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal – Área de concentração: Proteção de Plantas e agroecologia) Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal. Lages, 2018.

A fisális (*Physalis peruviana* L.) destaca-se no grupo das pequenas frutas pela aparência e qualidade de frutos, sendo uma boa opção de cultivo para pequenos e médios produtores. Por ser uma cultura ainda emergente no Brasil, existem poucos estudos relacionados ao controle de doenças. Recentemente na região da serra catarinense, foram encontradas plantas de fisális apresentando sintomas de mosaico, mosaico reticulado, amarelecimento, bolhosidade e redução de área foliar, sendo possível observar também, a má formação da cápsula, bem como a deformação e redução do tamanho dos frutos. Ensaios preliminares, baseados na transmissão via extrato vegetal tamponado indicaram a presença de vírus nessas plantas. O objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização biológica e molecular do vírus associado às plantas sintomáticas de fisális, bem como quantificar os danos causados pela virose. Na caracterização biológica, foram utilizadas 23 espécies indicadoras pertencentes as famílias Chenopodiaceae, Cucurbitaceae, Fabaceae e Solanaceae. Cada espécie indicadora foi inoculada em triplicata, utilizando-se extrato vegetal tamponado, enquanto o controle negativo foi feito em duplicata consistindo de inoculações apenas com o tampão (sem inóculo). As plantas inoculadas foram mantidas em casa de vegetação com temperatura de 24°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) e os sintomas foram avaliados semanalmente. Para o teste sorológico com ELISA direto, foram utilizados antissoros contra *Potato leafroll virus* (PLRV, *Polerovirus*), *Potato virus X* (PVX, *Potexvirus*) e *Potato virus Y* (PVY, *Potyvirus*). Extrações de DNA e RNA total das amostras foram realizadas para caracterização molecular do vírus, utilizando iniciadores universais para os gêneros *Begomovirus*, *Potyvirus*, *Orthospovirus* e *Sobemovirus*. A quantificação dos danos foram avaliadas de forma comparativa aos tratamentos 1 e 2 [Tratamento 1 – plantas controle, inoculadas apenas com tampão (sem inóculo); e Tratamento 2 – plantas inoculadas utilizando extrato vegetal tamponado] com relação aos parâmetros de fotossíntese; altura de plantas; tamanho foliar; área foliar específica; índice SPAD nas folhas; massa de frutos por planta; massa média de frutos; teor de sólidos solúveis totais ($^\circ\text{Brix}$); acidez total titulável; e o pH dos frutos. Na caracterização biológica, apenas parte dos sintomas visualizados foram semelhantes aos relatados na literatura para os vírus já descritos em fisális, sugerindo a ocorrência de um vírus ainda não relatado nessa cultura. Testes sorológico e molecular confirmaram a presença de um *Sobemovirus* e a ausência de co-infecção por espécies pertencentes aos gêneros *Begomovirus*, *Potyvirus* e *Orthospovirus*, bem como as espécies PLRV e PVX. A infecção viral causou atraso no crescimento, redução na área foliar, área foliar específica e menor índice SPAD. Plantas inoculadas com extrato vegetal apresentaram redução de 70% na produção de frutos quando comparadas ao tratamento controle, bem como uma redução nos parâmetros de qualidade de frutos avaliados, com exceção dos valores de pH.

Palavras chave: Fisális, Pequenas Frutas, Diagnóstico, Vírus.

ABSTRACT

GORAYEB, Eduardo Silva. **Biological and molecular characterization, and damage quantification of a sobemovirus associated to *Physalis peruviana* in Santa Catarina state – Brazil.** 2018, 96p. Disserttation (Master in Plant production – Research area: Plant protection and agroecology) Santa Catarina State University. Post graduate program in Plant production. Lages, 2018.

Cape gooseberry (*Physalis peruviana*) stands out in the small fruits group, by the appearance and fruit quality, consisting in good cultivation option for small and medium producers, since it is found in the market at high prices, besides having high nutritional value. For still being an emerging crop in Brazil, there are few studies about this crop, especially those related to diseases control. Recently, cape gooseberry plants were found in the Santa Catarina Highlands, showing symptoms of mosaic, reticulated mosaic, yellowing, leaf crinkle and leaf area reduction, being possible to observe also, a poor formation and deformation of the capsule, as well as the fruit size reduction. Preliminary assays based on infected leaf extract, indicated the presence of a virus in these plants. The aims of this work were to perform the biological and molecular characterization of the virus associated with the *P. peruviana* symptomatic plants, as well as to quantify the damage caused by the virus. In biological tests, it was used 23 indicator plants, belonging to the families Chenopodiaceae, Cucurbitaceae, Fabaceae e Solanaceae. Each plant was inoculated in triplicate using buffered plant extract, while the negative control was performed in duplicate consisting of inoculations only with buffer (without inoculum). For the serological tests (DAS – ELISA), antisera against *Potato leafroll virus* (PLRV, *Poterovirus*), *Potato virus X* (PVX, *Potexvirus*) and *Potato virus Y* (PVY, *Potyvirus*) were used. Total DNA and RNA were extracted of the samples for virus molecular characterization using universal primers for the *Begomovirus*, *Potyvirus*, *Orthospovirus* and *Sobemovirus* genus. The damage quantification were evaluated comparatively between treatments 1 and 2 [Treatment 1 - control plants inoculated with buffer only (without inoculum); and Treatment 2 - plants inoculated using buffered plant extract] related to photosynthesis parameters; plant height; leaf size; specific leaf area; SPAD index; mass of fruits per plant; average fruit mass; total soluble solids content (° Brix); titratable total acidity; and the pH of the fruits. In biological characterization, only some developed symptoms were similar to those reported in the literature for the viruses already described infecting cape gooseberry, suggesting the occurrence of a not yet reported virus in that crop. Serological and molecular tests confirmed the presence of a *Sobemovirus*, and the absence of co-infection with species of *Begomovirus*, *Potyvirus* and *Orthospovirus* genus, as well as PLRV and PVX species. Viral infection caused a delay in growth, reduction in leaf area, specific leaf area, and smaller SPAD index. Plant extract inoculated plants showed a reduction of 70% in fruit production, as well in all parameters of fruit quality evaluated, except for pH, in which there was no significant difference.

Key Words: Cape gooseberry, Small Fruits, Diagnostics, Virus.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Sintomas causados por viroses em *Physalis peruviana* no Brasil e na Colômbia. Sintomas de enfezamento (1), Bolhosidade e mosaico (2), causados por *Tomato chlorotic spot virus*. Sintomas de mosaico, causados por PVX (3) e PVY (4)..... 29
- Figura 2 - Estádios de maturação dos frutos de *Physalis peruviana* L..... 48
- Figura 3 - Sintomas de bolhosidade, deformação foliar e mosaico em *Physalis peruviana* aos 24 (a) e aos 120 (b) dias após a inoculação utilizando extrato vegetal tamponado de plantas sintomáticas. c) senescência foliar prematura em plantas de *P. peruviana* inoculadas com o vírus. d) comparação de uma planta infectada (esquerda) e uma sadia (direita) de *P. peruviana*..... 52
- Figura 4 - Sintomas observados no teste de gama de hospedeiros. a) Bolhosidade e mosaico em *Nicotiana tabacum* 'Whitte Burley'. b) Reação de hipersensibilidade em *N. tabacum* 'Havana'. c) Bolhosidade, deformação foliar, clorose e necrose em *Nicotiana debneyi*. d) Mosaico em *Solanum lycopersicum* 'Santa Cruz'. e) Deformação foliar em *Physalis cordata*. f) Lesões necróticas locais em *Chenopodium amaranthicolor*..... 53
- Figura 5 - Teste sorológico ELISA (*Enzyme linked immonosorbent assay*) direto aplicado as diferentes amostras de *Physalis peruviana* utilizando antissoro contra *Potato leafroll virus* (PLRV), *Potato virus X* (PVX) e *Potato virus Y* (PVY)..... 55
- Figura 6 - Eletroforese em gel de agarose (1,0%) dos produtos da PCR para a detecção de espécies do gênero *Orthospovirus*, utilizando os oligonucleotídeos universais BR60 e BR65..... 57
- Figura 7 - Eletroforese em gel de agarose (1,0%) dos produtos da PCR para a detecção de espécies do gênero *Sobemovirus*, utilizando os oligonucleotídeos universais SOBDF2 e SOBDR2..... 58

Figura 8 - Eletroforese em gel de agarose (1,0%) dos produtos da PCR para a detecção da espécie <i>Velvet tobacco mottle virus</i> (VTMoV), utilizando oligonucleotídeos específicos para as regiões codificadoras da RNA polimerase dependente de RNA - ORF2b (ORF2bF e ORF2bR) e para a capa proteica - ORF3 (ORF3F e ORF3R).....	58
Figura 9 - Altura de plantas de <i>Physalis peruviana</i> nos tratamentos controle e infectadas com uma espécie do gênero <i>Sobemovirus</i> em diferentes dias após a inoculação (DAI).....	59
Figura 10 - Área foliar de <i>Physalis peruviana</i> (plantas controle e infectadas com o vírus desse estudo) nos diferentes dias após a inoculação (DAI)....	60
Figura 11 - Área foliar específica de <i>Physalis peruviana</i> (plantas controle e infectadas com o vírus desse estudo) em 125 dias após a inoculação.....	61
Figura 12 - Índice SPAD em folhas de <i>Physalis peruviana</i> (plantas controle e infectadas com o vírus desse estudo) nos diferentes dias após a inoculação (DAI).....	62
Figura 13 - Aparência visual de frutos colhidos de plantas infectadas e quantidade média produzida nas plantas controle e infectadas. a) Frutos deformados colhidos de plantas infectadas (Acima) e frutos colhidos de plantas sadias (Abaixo). b) Quantidade média de frutos colhidos durante o experimento de comparação de plantas controle e inoculadas. c) Comparação de quantidade de frutos colhidos aos 125 DAI.....	64
Figura 14 - Parâmetros qualitativos e quantitativos de frutos de <i>Physalis peruviana</i> obtidos de plantas controle e infectadas com o vírus desse estudo.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Lista de espécies virais pertencentes ao gênero <i>Sobemovirus</i>	37
Tabela 2 -	Relação de plantas de <i>Physalis peruviana</i> coletadas no estado de Santa Catarina.....	41
Tabela 3 -	Iniciadores utilizados e tamanho dos fragmentos obtidos para os diferentes gêneros ou espécie viral testados em <i>Physalis peruviana</i>	46
Tabela 4 -	Descrição dos sintomas induzidos pelo vírus descrito nesse estudo em diferentes plantas indicadoras.....	54
Tabela 5 -	Variáveis relativas a fotossíntese em <i>Physalis peruviana</i> (plantas controle e infectadas com o vírus desse estudo).....	63

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1	A CULTURA DA FISÁLIS	21
2.2	DOENÇAS DA FISÁLIS	26
2.3	CARACTERÍSTICAS DOS PRINCIPAIS GÊNEROS DE VÍRUS RELATADOS NA CULTURA DE <i>P. peruviana</i>	29
2.3.1	<i>Begomovirus</i>	29
2.3.2	<i>Orthotospovirus</i>	30
2.3.3	<i>Polerovirus</i>	31
2.3.4	<i>Potyvirus</i>	32
2.3.5	<i>Potexvirus</i>	33
2.3.6	<i>Tymovirus</i>	33
2.3.7	<i>Crinivirus</i>	34
2.3.8	<i>Tobravirus</i>	35
2.4	CARACTERÍSTICAS DO GÊNERO <i>Sobemovirus</i>	35
3	MATERIAL E MÉTODOS	41
3.1	COLETA DE PLANTAS	41
3.2	TESTE BIOLÓGICO - GAMA DE HOSPEDEIROS	41
3.3	TESTE SOROLÓGICO	42
3.4	CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR	43
3.4.1	Extração de ácidos nucleicos	43
3.4.2	Síntese do DNA complementar (cDNA)	44
3.4.3	Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	44
3.5	ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE PLANTAS SADIAS (CONTROLE) E PLANTAS DOENTES (INOCULADAS COM VÍRUS) - QUANTIFICAÇÃO DE DANOS CAUSADOS PELO VÍRUS	46
4	RESULTADOS	51
4.1	CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA	51
4.2	TESTE SOROLÓGICO	54
4.3	CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR	55
4.4	COMPARAÇÃO ENTRE PLANTAS CONTROLE E INFECTADAS PELO VÍRUS DESSE ESTUDO	59
5	DISCUSSÃO	67
6	CONCLUSÕES	77
	REFERÊNCIAS	79

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Physalis* ocupa lugar de destaque na família das Solanáceas devido a presença de compostos de importância nutracêutica (TOMASSINI et al., 2000). Atualmente, existe mais de 100 espécies relatadas nesse gênero, distribuídas principalmente no continente americano. A principal espécie cultivada é a *Physalis peruviana*, porém outras espécies são cultivadas, como a *Physalis angulata*, *Physalis alkekengi*, *Physalis innoxica* e a *Physalis pubescens* (RUFATO et al. 2008).

O cultivo de *P. peruviana* se popularizou nos anos 80 na Colômbia. Atualmente, esse país é o maior produtor de fisalis no mundo (CORPORACIÓN COLOMBIANA INTERNACIONAL, 2000). Além da Colômbia, cultivos comerciais de fisalis estão distribuídos mundialmente, no Quênia, Zimbábue, Austrália, Nova Zelândia, Índia e Equador (BELTRAN, 2009), com produções expressivas. Em outros países, como: Estados Unidos, Venezuela, Bolívia, Peru, Chile, México, Belize, Guatemala, El Salvador, Nicarágua, Costa Rica, Panamá, Jamaica, África do Sul, Gabão, Egito, China, Japão, Malásia, Indonésia, Filipinas, Samoa, Tonga, Nova Caledônia, Guam, Inglaterra e Israel, a cultura do fisalis ainda é emergente, contendo pequenas áreas de cultivo (ÖZDEMIR; GÜNAL, 2012). Segundo Muniz (2011), além da tecnificação da produção, as áreas de cultivo de menor latitude são favorecidas quanto a produtividade, devido a menor amplitude térmica e maior regularidade de fotoperíodo durante o ano, o que permite um maior período de colheita. Por esse fato, foram observadas produtividades médias de 20 t/ha e 12 t/ha na Colômbia e no Equador respectivamente (NEREMBERG, 2000; CORPORACIÓN COLOMBIA INTERNACIONAL, 1994), enquanto no Quênia, e no Chile, as produtividades permaneceram em torno de 6,1 t/ha e 6 t/ha respectivamente (FISCHER, 1995; OBRECTH, 1993).

No Brasil, os trabalhos com o fisalis se iniciaram no fim dos anos 90, no estado de São Paulo, com uma produção anual de 2 a 3 t por ano, e agora, o cultivo da fruta vem se popularizando principalmente nas regiões da serra Gaúcha e na serra Catarinense como uma excelente alternativa a pequenos e médios produtores rurais devido ao alto valor agregado dos frutos, onde é pago ao produtor valores entre R\$ 12 a 16/kg; à rusticidade e adaptabilidade da planta e a semelhança de manejo com a cultura do tomateiro (CHAVES, 2006; RUFATO et al., 2008).

Um dos fatores determinantes para o sucesso da produtividade e qualidade de

frutos de fisális está no manejo fitossanitário de doenças. No Brasil ainda há poucos estudos e pesquisas sobre a sanidade dessa espécie, porém existem relatos de doenças associadas a fisális em outros locais do mundo como, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora infestans*, *Cercospora* sp., *Phoma* sp., *Alternaria* sp., *Botrytis* sp., *Xanthomonas* sp., *Agrobacterium tumefaciens* e *Candidatus liberibacter* subsp. *Solanacearum*, (CARDENAS et al., 2011; LIEFTING et al., 2009; SETHI et al., 1988; URREA et al., 2011; ZAPATA et al., 2005), com destaque para os sintomas de murcha causados por *Fusarium oxysporum* (URREA et al., 2011), que atualmente se configura como a principal doença do fisális nas regiões produtoras da Colômbia.

Além dos fungos e bactérias citados, alguns vírus possuem importância para a cultura da fisális, sendo que atualmente, espécies dos gêneros *Begomovirus*, *Crinivirus*, *Polerovirus*, *Potexvirus*, *Potyvirus*, *Tobravirus*, *Orthotospovirus* e *Tymovirus*, já foram relatadas na cultura. Dentre as espécies destacam-se a ocorrência de *Potato virus Y* (PVY) relatada na Índia, Colômbia e África do Sul, causando sintomas de mosaico (AGUIRRE-RÁQUIRA et al., 2014; GUTIÉRREZ et al., 2015; KISTEN et al., 2016; PRAKASH et al., 1988;), o *Potato virus X* (PVX), gerando sintomas de mosaico, nanismo, clareamento de nervuras, clorose e malformação das folhas, considerada a virose de maior importância econômica para a fisális na Colômbia (ZAPATA et al., 2005). Os vírus *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) e *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) também destacam-se pela importância mundial em outras culturas e pela ampla gama de hospedeiros.

No Brasil, há apenas o relato do *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV, *Orthotospovirus*) apresentando sintomas de redução do crescimento, mosaico, necrose e distorção foliar (EIRAS et al., 2012). Com base nas espécies de vírus já descritas associadas com fisális e mesmo outras espécies vegetais da família das solanáceas, acredita-se que existam novos vírus no Brasil além do TCSV e, possivelmente, espécies virais ainda não caracterizadas.

Nesse sentido, plantas de fisális de jardins e áreas comerciais dos municípios de Lages e Otacílio Costa, apresentando sintomas de mosaico, mosaico reticulado, amarelecimento, bolhosidade, redução de área foliar e má formação da cápsula, bem como a deformação e redução do tamanho dos frutos; foram coletadas para ensaios preliminares da transmissão de vírus via extrato vegetal tamponado indicando a presença de vírus nessas plantas.

O objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização biológica e molecular de

vírus associado às plantas sintomáticas de fisális, bem como quantificar os danos causados pela virose através da comparação de caracteres agronômicos entre plantas infectadas e sadias.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A CULTURA DA FISÁLIS

No continente Americano o cultivo de fisális (*Physalis peruviana* L.) vem ganhando destaque nos últimos anos, especialmente em regiões de altitude em países tropicais e subtropicais (FISCHER; MIRANDA, 2012). Os principais países produtores de fisális no mundo são: Colômbia, África do Sul, Quênia, Zimbábue, Austrália, Nova Zelândia, Índia e Equador (BELTRAN, 2009). Com menor importância, em comparação com os países citados anteriormente, pode-se citar: Estados Unidos, Brasil, Venezuela, Bolívia, Peru, Chile, México, Belize, Guatemala, El Salvador, Nicarágua, Costa Rica, Panamá, Jamaica, Gabão, Egito, China, Japão, Malásia, Indonésia, Filipinas, Samoa, Tonga, Nova Caledônia, Guam, Inglaterra e Israel (ÖZDEMİR; GÜNAL, 2012). Os principais países importadores são: Holanda, Alemanha, França, Inglaterra, Espanha, Bélgica, Suíça, Canadá, Estados Unidos, Itália, Brasil, Japão, Turquia e Rússia (FISCHER et al., 2014).

Na América do Sul, os cultivos comerciais concentram-se na Colômbia, Equador, Chile, Peru e Brasil. A Colômbia se configura como o maior produtor e exportador mundial de fisális. O desenvolvimento da cultura ocorreu durante a década de 1980, baseando-se no conhecimento empírico dos agricultores e nas pesquisas realizadas em universidades e no CORPOICA (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria), que propiciaram o desenvolvimento de tecnologias que garantiram uma boa produtividade e qualidade de frutos de *P. peruviana* (FISHER et al. 2014). Em 2011, a área plantada foi de 743 ha, com uma produtividade média de 14,5 t/ha. Os Departamentos de Boyacá, Antioquia e Cundinamarca foram os que concentraram maiores áreas de produção, com 388 ha, 154 ha e 75 ha respectivamente (FISHER et al., 2014).

No Equador, a fisális começou a se popularizar durante os anos 80 em pequenas e médias propriedades. Aproximadamente 40% (350 ha) da área de cultivo do país concentra-se na região de Imbaburra, gerando produções de até 13,6 t/ha (ALTAMIRANO, 2010).

O Peru tem um importante papel para o cultivo de fisális, pois acredita-se que o centro de origem da espécie *P. peruviana* e muitas outras do gênero *Physalis* se encontra em seu território (LEGGE, 1974). Apesar disso os cultivos de fisális se

iniciaram recentemente no país, concentrados nas regiões de Cajamarca, Cuzco, Huancayo, La Libertad e Ancash. As taxas de produtividade alcançadas ainda são baixas, em torno de 7 t/ha, e a maioria dos frutos produzidos suprem o mercado interno, enquanto uma minoria é processada e exportada principalmente para os Estados Unidos (PDRS/GIZ, 2011).

A produção de fisális no Chile ainda é muito pequena. No ano de 2010, contava-se com apenas 5,5 ha plantados, concentrados nas regiões IV, V, VI e VII (PROCHILE, 2011). A produtividade é de 6 t/ha, com os frutos abastecendo principalmente demandas internas do país, com poucas exportações (OBRETCH, 1993).

No Brasil, o cultivo da fisális iniciou-se em 1999, na estação experimental de Santa Luzia, localizada no município de Guareí, São Paulo. O sucesso desse cultivo incentivou a realização de pesquisas na Universidade Federal de Pelotas, Universidade Estadual de Santa Catarina, Universidade Estadual Paulista e Universidade Federal de Lavras, resultando em informações interessantes e contribuindo no estabelecimento de recomendações para a cultura da fisális (BAGATIM, 2017; CHAVES et al., 2003; KRETZSCHMAR et al., 2014; MUNIZ et al., 2011; RODRIGUES et al., 2013).

Bagatim (2017), mostrou que faixas de temperatura entre 20 e 30°C eram ideais para a germinação de sementes de *P. angulata* L., em diferentes tipos comerciais de substratos, com destaque para o substrato a base de casca de pinus, o qual foi o mais adequado para o desenvolvimento inicial das mudas.

Chaves et al. (2003) testou alternativas a propagação via sementes, utilizando estacas produzidas a partir de plantas adultas ou por micropropagação. Como resultado foi possível observar vantagens como precocidade e uniformidade de colheita, porém as plantas propagadas por estaca apresentaram enraizamento fraco e produziram frutos de menor qualidade. Kretzschmar et al. (2014) e Muniz et al. (2011) mostraram que as práticas de tutoramento, poda e espaçamento influenciam significativamente na qualidade de frutos de fisális, quando comparados com plantas sem tutoramento. Para a região da Serra Catarinense, frutos de melhor qualidade foram produzidos utilizando os sistemas de condução em “X” ou em “V”, com espaçamentos de 3 m entre plantas e 0,5m entre linhas; ou Espaldeira, com espaçamento de 3 m entre plantas e 1 m entre linhas (KRETZSCHMAR et al., 2014; MUNIZ et al., 2011).

Rodrigues et al. (2013), testou a viabilidade de produção de frutos de fisális em casa de vegetação, na região de Lavras – MG, com um intervalo de 100 dias entre o transplântio das mudas e colheita de frutos, obtendo uma produtividade final estimada de 955 kg/ha.

Apesar do avanço com os trabalhos científicos realizados nas instituições supracitadas, *P. peruviana* L. ainda não é produzida em larga escala no Brasil, sendo necessário um avanço ainda maior na busca de novas informações (tecnologias) com relação ao manejo dessa cultura.

Plantas do gênero *Physalis* são reconhecidas devido a morfologia característica, especialmente durante a frutificação, onde o cálice continua a crescer após a fecundação, envolvendo totalmente o fruto (RUFATO et al., 2012). Existem aproximadamente 100 espécies de fisális caracterizadas, sendo que algumas dessas apresentam maior relevância econômica como *P. peruviana*, *P. philadelphica*, *P. pubescens*, *P. pruinosa*, *P. ixocarpa*, *P. alkekengi* e *P. angulata* (RUFATO et al., 2013). As diferentes espécies do gênero *Physalis* estão distribuídas principalmente no continente americano (Estados Unidos, México, América do Sul e Antilhas), com algumas espécies sendo encontradas no velho mundo (FISCHER et al., 2014).

A espécie *P. peruviana* destaca-se pela aparência e qualidade de frutos e, embora seja uma solanácea, é incluída dentro do grupo das pequenas frutas. Essa espécie é arbustiva e perene, embora comercialmente seja considerada uma planta anual ou bianual, dependendo da região/clima (RUFATO et al., 2013). Condições de seca, de umidade em excesso, de frio ou calor excessivo afetam o desenvolvimento normal das plantas, a produção e a qualidade dos frutos (RUFATO et al., 2012; RUFATO et al., 2013). As plantas de fisális (*P. peruviana*) apresentam segmentos caulinares lenhosos e folhas maiores que aquelas observadas em espécies nativas. O talo principal é herbáceo (com 8-12 nós), o qual dá origem às ramificações produtivas por dicotomia. As folhas são aveludadas, pubescentes, triangulares e dispostas alternadamente e, as flores são solitárias, pedunculares e hermafroditas. A floração ocorre por até 3 dias, e há a prevalescência de alogamia, com o auxílio de da ação de insetos e do vento (LAGOS et al., 2008) Os frutos são arredondados com baga carnosa e apresentam coloração que varia do verde ao alaranjado (ÁVILA et al., 2006; CHAVES, 2006). O centro de origem de *P. peruviana* é a região andina peruana, mas atualmente, essa planta é cultivada em diversas partes do mundo (BELTRÁN, 2009; ÖZDEMIR e GÜNAL, 2012; LEGGE, 1974).

Há um grande interesse do mercado internacional pelo fruto de fisális devido as suas características nutricionais e propriedades medicinais. O fruto é composto majoritariamente de água (79,8%) e carboidratos (17,3%) e proteínas (1,9%). Cada 100 g de frutos de fisális podem conter 76 cal, e quantidades de ácido cítrico variando entre 1,9 a 2,10% (BOTERO, 2008; REPO DE CARRASCO e ZELADA, 2008; RESTREPO, 2008). A quantidade de minerais nos frutos pode variar de acordo com a qualidade do fruto produzido. Em 100 g de polpa de fisális, podem ser encontrados 6 mg de sódio, 467 mg de potássio, 23 mg de cálcio, 19 mg de magnésio, 27 mg de fósforo; macronutrientes essenciais para o desenvolvimento e manutenção de funções vitais do ser humano, como crescimento, fertilidade, formação de células, tecidos e órgãos (LETERME et al., 2006).

De acordo com Ramadán et al. (2003), podem ser encontrados sete tipos de fitoesteróis nos frutos de fisális, com destaque para o Campesterol, β -sitoesterol e o stigmasterol, presentes em maior quantidade. Segundo Puente et al. (2011), esses fitoesteróis podem estar relacionados a habilidade de frutos de fisális na redução de níveis de colesterol. Adicionalmente a esses compostos, cada 100 g de frutos, possuem 1,4 mg de vitamina A (β -carotenos), 0,1 mg de vitamina B1 (tiaminas), 0,03 mg de vitamina B2 (riboflavinas), 1,7 mg de vitamina B3 (niacina) e 43 mg de vitamina C (ácido ascórbico), essenciais para o crescimento, diferenciação celular e manutenção dos tecidos, síntese de hormônios e desenvolvimento do sistema imunológico e prevenção de doenças em seres humanos. Além disso, a presença de vitamina A é responsável pela coloração alaranjada dos frutos (PUENTE et al., 2011).

Além disso, a produção de fisális é uma excelente opção na diversificação de culturas para pequenos e médios produtores, devido a sua rusticidade e seu elevado valor de mercado, podendo ainda ser cultivada de forma orgânica, com reduzido impacto ambiental. No Brasil, nos Estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul existem cultivos de fisális, tanto em nível comercial quanto em pequenas propriedades rurais podendo se observar uma expansão na área de cultivo, principalmente as cidades de Vacaria, Roca Sales e Áurea (Rio Grande do Sul) e nas cidades de Fraiburgo, Lages e Urupema (Santa Catarina) (RUFATO et al., 2013; RUFATO et al., 2008; ANDRADE, 2008). O êxito dessa cultura emergente pode ter uma importante implicação socioeconômica nas pequenas propriedades com característica de agricultura familiar, pois pode garantir a manutenção das famílias no campo.

O cultivo de fisális é considerado simples e a maior parte do manejo é muito

similar as técnicas utilizadas na cultura do tomateiro (CHAVES, 2006). Para cada hectare, é necessário de 4 a 7 pessoas, para a realização das atividades desde o início do transplante até o final do ciclo, sendo que a maior demanda de mão-de-obra se dá durante a poda, condução e colheita de frutos (MUNIZ, 2011). Os custos estimados para a implantação de 1ha de *P. peruviana*, variam entre R\$ 9.460,00 e R\$ 28.617, 00, dependendo do tipo de sistema de condução a ser empregado. No segundo ano, com exceção para o sistema de condução livre, há uma redução de 45% nos custos, pois o sistema de condução pode ser reutilizado. Aplicando-se um preço médio de R\$ 12,00/kg, obtem-se um lucro líquido entre R\$ 13.767,00 à R\$ 42.542,00, com taxa de retorno média maior que 100% (MUNIZ, 2011).

A planta se desenvolve mais adequadamente em regiões altas, entre 800 e 3500 metros acima do nível do mar que proporcionam temperaturas mais amenas, com faixas ideais de temperatura entre 8 e 20°C durante o desenvolvimento da planta (ANGULO, 2003). A quantidade de luz relacionada com a temperatura, é muito importante para garantir um bom tamanho, cor, conteúdo nutricional, tempo de maturação e sabor de frutos, sendo necessário aproximadamente 1500 a 2000 horas de luz/ano para a obtenção de um fruto de qualidade. Apesar disso, ainda é possível produzir frutos em locais com temperatura mais elevada, como o estado americano do Havaí, onde as temperaturas diurnas variam entre 27 e 30°C (RUFATO et al., 2008).

O tipo de solo ideal para a cultura é do tipo areno argiloso, bem drenado com textura mais granulada, com conteúdos de matéria orgânica superiores a 4%, pH entre 5,5 e 6,8 e profundidade efetiva de 40 a 60 cm para proporcionar um crescimento adequado das raízes (FISCHER et al., 2005; MIRANDA, 2004). Deve-se evitar solos encharcados e que já tenham sido cultivados com outras solanáceas anteriormente. Segundo Muniz et al. (2010), locais com ausência de solanáceas nativas, ou que não tenham sido cultivadas plantas da mesma família, ajudam a evitar a contaminação das plantas com bactérias e fungos de solo. No Brasil, ainda não existem recomendações oficiais para a fisális, sendo assim, a adubação é desenvolvida a partir das recomendações da cultura do tomateiro (MUNIZ et al., 2010).

Para um bom crescimento, a precipitação pluvial deve oscilar entre 1000 e 1800 mm, bem distribuídos durante o ano, com umidade relativa de 70 à 75% (MIRANDA, 2004).

A planta de fisális é propagada comercialmente principalmente através de

sementes. Outros métodos, como o uso de estacas, cultivo *in vitro* podem ser utilizados e apresentam vantagens de reduzir a segregação genética, proporcionando uma maior uniformidade de colheita e dos frutos (ALMANZA, 2000). Apesar dessas vantagens, testando propagação assexuada de fisális, Chaves et al. (2003) obteve mudas com menores quantidades de raízes, o que encurtou o ciclo da cultura e reduziu a qualidade dos frutos produzidos. As sementes devem ser obtidas de uma planta sadia, a partir de frutos que já tenham atingido a maturação fisiológica (GORDILLO, 2003).

Nas condições climáticas do sul do Brasil, recomenda-se que o plantio seja feito entre os meses de Outubro e Novembro, e as mudas devem ter aproximadamente 20 cm e duas folhas verdadeiras completamente expandidas (ANGULO, 2005; MUNIZ et al., 2010). O cultivo pode ser feito em casa de vegetação ou no campo, sendo que no campo obtém-se maior produtividade (MUNIZ, 2011; RODRIGUES et al., 2013). Para o tutoramento, recomenda-se os sistemas de condução em “X” ou em “V”, com espaçamentos de 3 m entre plantas e 0,5m entre linhas; ou Espaldeira, com espaçamento de 3 m entre plantas e 1 m entre linhas (KRETZSCHMAR et al., 2014; MUNIZ et al., 2010) realizando três tipos de poda: (I) – poda de formação, que se dá no início do cultivo, retirando o excesso de ramificações, e deixando apenas alguns ramos principais para o desenvolvimento da cultura; (II) – poda de limpeza, que consiste na eliminação de ramos secos ou doentes, podendo ser realizada durante todo o cultivo, de acordo com a necessidade; e (III) – poda de renovação, que consiste na remoção de ramos que já produziram, sendo realizada a cada três meses após a produção de frutos (MIRANDA, 2005).

Além das práticas mencionadas anteriormente, fatores bióticos, como as pragas e doenças podem afetar diretamente a produtividade e qualidade da fisális. Dentre esses fatores, doenças causadas por fitopatógenos como fungos, bactérias, fitoplasmas, vírus e nematóides, podem casuar sintomas e desordens fisiológicas nas plantas, podendo determinar o sucesso ou o fracasso do setor produtivo (KRETZSCHMAR et al., 2014; RUFATO et al., 2008).

2.2 DOENÇAS DA FISÁLIS

São escassos os estudos referentes a doenças relacionadas a cultura da *Physalis peruviana* no Brasil devido ao estatus de “cultura emergente” (RUFATO et al,

2008). Apesar disso, em outros países onde a cultura tem maior importância, existem relatos e recomendações para o controle de diversas doenças (ZAPATA et al., 2005). Na Colômbia, as espécies fúngicas que geram maior prejuízo são *Fusarium oxysporum* F., gerando sintomas de murcha vascular; e *Phytophthora infestans*, causando sintomas de *Damping-off* em mudas (CARDENAS et al., 2011; URREA et al., 2011). Para o controle, recomenda-se o preparo adequado do substrato para a produção de mudas, utilizando a proporção de 1/3 de solo, 1/3 de matéria orgânica e 1/3 de areia, para garantir boa drenagem e qualidade nutricional para as plantas; bem como o uso do método físico da solarização, por períodos de 30 a 45 dias (ZAPATA et al., 2005). Outro método eficiente na prevenção e retardamento da infecção por estes fungos é o uso de microorganismos antagônicos, como as bactérias da espécie *Pseudomonas fluorescens* F., relatadas por Urrea et al. (2011), como eficientes na prevenção e controle de *F. oxysporum* quando associadas a raízes de *P. peruviana*.

Outros fungos podem causar danos a parte aérea, tais como: *Cercospora* sp., causando sintomas de pequenos pontos necróticos nas folhas; *Phoma* sp., gerando sintomas de manchas escuras que iniciam primeiramente nos frutos; *Alternaria* sp., causando lesões circulares acompanhadas por um halo clorótico; e *Botrytis* sp. causando manchas necróticas em flores e frutos (ZAPATA et al., 2005). Para o controle desses fungos são utilizados principalmente métodos culturais, que envolvem o uso de tutoramento em V ou em X, espaçamento adequado, manejo das plantas daninhas, podas de limpeza periódicas e coleta de frutos doentes; para garantir boa aeração, redução da umidade e da quantidade de inóculo presente nas plantas (ZAPATA et al., 2005). Além desses métodos destaca-se também o uso do controle químico, com fungicidas que contenham os princípios ativos Clorotalonil, Mancozebe, Carbendazim e Oxycloreto de Cobre, iniciando as aplicações com o aparecimento dos primeiros sintomas (ZAPATA et al., 2005).

Quanto a ocorrência de bactérias, destacam-se *Xanthomonas* sp., que atua depreciando o cálice dos frutos, reduzindo a qualidade pós colheita; *Agrobacterium tumefaciens* causando sintomas de galhas (SETHI et al., 1988) e *Candidatus liberibacter subsp. Solanacearum*, colonizando e danificando o floema (LIEFTING et al., 2009). O controle das bacterioses baseia-se principalmente na prevenção da introdução desses patógenos, pelo uso de mudas saudáveis, evitando o plantio em locais com possibilidade de acúmulo de água ou que já tenham sido cultivadas outras solanáceas, limpeza de implementos e maquinário agrícola, e remoção das plantas

doentes. Recomenda-se também a rotação de culturas, utilizando espécies não suscetíveis a essas bacterioses (ZAPATA et al., 2002).

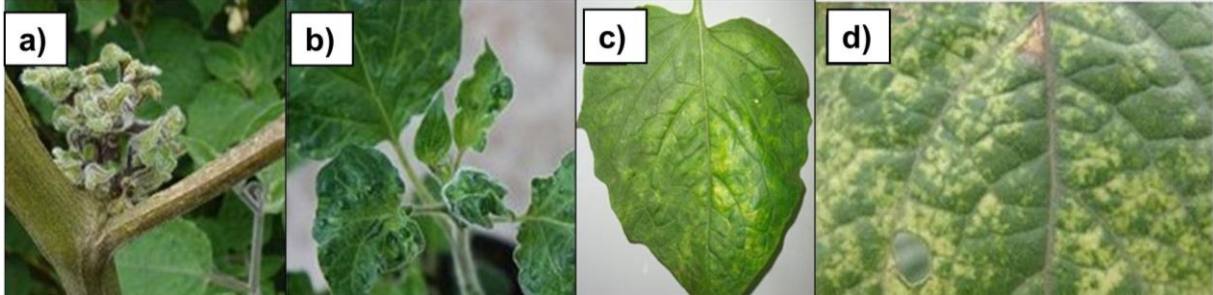
Além das doenças de etiologia fúngica e bacteriana destacam-se as viroses, sendo relatadas várias espécies pertencentes aos gêneros *Begomovirus*, *Crinivirus*, *Polerovirus*, *Potexvirus*, *Potyvirus*, *Tobravirus*, *Orthospovirus* e *Tymovirus*.

Os primeiros relatos de vírus em *P. peruviana* ocorreram na África do Sul com o *Tomato spotted wilt virus* (TSWV, *Orthospovirus*) causando sintomas de clorose, necrose, bolhosidade e defoliação marcada (DA GRAÇA et al., 1985) e na Índia com o *Potato virus Y* (PVY, *Potyvirus*) causando sintomas de mosaico (PRAKASH et al., 1988). Mais tarde, houveram relatos na Hungria, de um vírus de partícula flexuosa que apresenta alta identidade de sequência de nucleotídeos com *Colombian datura virus* (CDV, *Potyvirus*) (SALAMON & PALKOVICS, 2005) e em Portugal, onde foi relatada a ocorrência do *Tomato chlorosis virus* (TCV, *Crinivirus*), causando clorose internerval, manchas necróticas e bronzeamento foliar (TRENADO et al., 2007).

Na Colômbia, destacam-se duas doenças causadas por vírus em *P. peruviana*, a primeira mais importante, com sintomas de mosaico, nanismo, clareamento de nervuras, clorose e malformação das folhas, causada por *Potato virus X* (PVX, *Potexvirus*) e a segunda, causando sintomas de manchas cloróticas e mosaico causada por PVY, que recentemente foi encontrada na África do Sul (AGUIRRE-RÁQUIRA et al., 2014; GUTIÉRREZ et al., 2015; KISTEN et al., 2016). Outros relatos de vírus em espécies do gênero *Physalis* incluem: *Peru tomato virus* (PTV, *Potyvirus*), *Physalis mottle virus* (PhyMV, *Tymovirus*), *Physalis severe mottle virus* (PhySMV, *Orthospovirus*) *Potato acuba mosaic virus* (PAMV, *Potexvirus*), *Potato leaf roll virus* (PLRV, *Polerovirus*), *Tobacco rattle virus* (TRV, *Tobravirus*), *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV, *Begomovirus*) e *Turnip yellow mosaic virus* (TYMV, *Tymovirus*) (GÁMEZ-JIMÉNEZ et al., 2009; PEREA et al., 2010; THOMAS e HASSAN, 2002).

No Brasil, existe apenas o relato da espécie *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV, *Orthospovirus*), que foi detectada em uma área de 5 ha no município de Santa Maria, Rio Grande do Sul, causando sintomas de nanismo, mosaico, necrose e distorção foliar em plantas de fisális. Na caracterização biológica, sintomas típicos de *Orthospovirus* ocorreram nas plantas indicadoras, e a confirmação do diagnóstico veio com os resultados do teste sorológico e molecular (EIRAS et al, 2012).

Figura 1 – Sintomas causados por viroses em *Physalis peruviana* no Brasil e na Colômbia. Sintomas de enfezamento (a), Bolhosidade e mosaico (b), causados por *Tomato chlorotic spot virus*. Sintomas de mosaico, causados por PVX (c) e PVY (d).



Fonte: AGUIRRE-RÁQUIRA et al., 2014; EIRAS et al., 2012; GUTIERREZ et al., 2015.

A principal medida de controle de vírus em plantas baseia-se na prevenção, pela utilização de material propagativo livre de vírus. Outras práticas como o plantio de cultivares resistentes a vírus ou o controle do vetor, não são aplicáveis, uma vez que ainda não existem cultivares de fisális resistentes a vírus disponíveis para comercialização e que várias das espécies virais citadas possuem relações não persistentes com o vetor, além de ser possível sua transmissão de outra maneira, como por exemplo por ferramentas utilizadas na poda e outros tratos culturais.

O diagnóstico preciso é pre-requisito na produção de mudas com alta qualidade sanitária (HULL, 2013). Para que isso seja possível, é fundamental que se conheça a diversidade de espécies virais associadas a cultura da fisális, permitindo o desenvolvimento de ferramentas de diagnóstico. Com base nas espécies de vírus já descritas associadas com fisális (e mesmo outras espécies vegetais da família das solanáceas) e aos diferentes sintomas observados a campo, é de se esperar que no Brasil existam outras espécies além do TCSV e, possivelmente, espécies virais ainda não caracterizadas infectando *P. peruviana*.

2.3 CARACTERÍSTICAS DOS PRINCIPAIS GÊNEROS VIRAIS RELATADOS NA CULTURA DE *P. peruviana*

2.3.1 *Begomovirus*

Os vírus pertencentes ao gênero *Begomovirus* compreendem o maior gênero dentro da família *Geminiviridae*, apresentando partículas icosaédricas geminadas. As

espécies desse gênero são transmitidas de maneira persistente circulativa pela mosca branca (*Bemisia tabaci*) e podem possuir genoma bipartido em dois segmentos (DNA-A e DNA-B) com aproximadamente 2600 nt, ou monopartido, contendo apenas um segmento de aproximadamente 2900nt, podendo também, estar associados a uma outra molécula de aproximadamente 1300 nt, denominada de DNA satélite. Tanto os segmentos genômicos virais quanto os DNAs satélites apresentam o material genético de DNA de fita simples (ZHOU, 2013).

O a partir do DNA-A podem ser codificadas quatro ou cinco proteínas: uma associada à replicação (REP, “*replication associated protein*”); uma proteína transativadora (TrAP, “*trans-activating protein*”, fator transcricional que funciona *in trans* para ativar a transcrição dos genes CP e NSP. Também atua na supressão do silenciamento gênico); a proteína REN (“*replication-enhancer protein*”, fator acessório (não essencial) de amplificação da replicação viral); e a proteína capsidial (capa proteica) (ROJAS et al. 2005; BROWN et al., 2012).

O DNA-B codifica as proteínas MP (“*movement protein*”) associada ao movimento célula-a-célula do vírus por meio do aumento do limite de exclusão dos plasmodesmas, e a proteína NSP (“*nuclear shuttle protein*”) responsável pelo transporte do DNA entre o núcleo e o citoplasma da célula hospedeira (ROJAS et al. 2005; BROWN et al., 2012). Alguns begomovírus podem codificar a proteína AC4, que também está envolvida na supressão do silenciamento gênico.

Relatos de infecções causadas por *Begomovirus* passaram a ser mais frequentes após a introdução da *Bemisia tabaci* MEAM1 no início dos anos 90. Após essa introdução, 14 novas espécies de *Begomovirus* associadas a cultura do tomateiro foram caracterizadas, com destaque para o *Tomato severe rugose virus* e o *Tomato mottle leaf curl virus* (INOUE-NAGATA et al., 2016). No ano de 2014 foi relatada a introdução de outro biótipo, a *Bemisia Tabaci* MED, que possui uma maior eficiência na transmissão de *Begomovirus* e apresenta maior resistência a inseticidas, como os neonicotinoides e o piriproxifeno, podendo vir a ser um agravante na disseminação de espécies desse gênero viral.

2.3.2 Orthotospovirus

Os vírus pertencentes ao gênero *Orthotospovirus* (Família *Tospoviridae*) apresentam partículas esféricas com diâmetro de 80-120 nm, contendo três

segmentos genômicos de RNA de fita simples, sentido negativo (segmento L) ou positivo/negativo (segmentos M e S), com aproximadamente 8800 nt para o segmento L, 4900 nt para o segmento M e 2950 nt para o segmento S. A partícula viral é envolta por uma dupla camada lipídica (PLYUSNIN et al., 2012).

O RNA complementar do segmento L codifica a proteína associada a replicação viral. As glicoproteínas Gn e Gc são codificadas pelo RNA complementar do segmento M, fazem parte da estrutura da partícula viral e também são importantes na transmissão do vírus por tripes. A sequência de nucleotídeos do RNA viral (segmento M) codifica a proteína não estrutural NSm, a qual é importante para o movimento célula-a-célula e sistêmico do vírus. O segmento S codifica a partir do RNA complementar a proteína do nucleocapsídeo, a qual também faz parte da partícula viral. Esse mesmo segmento, a partir do RNA viral, codifica a proteína não estrutural NSs envolvida na supressão do silenciamento gênico (PLYUSNIN et al., 2012).

A transmissão e a disseminação de espécies virais pertencentes ao gênero *Orthospovirus* são mediadas por pelo menos 13 espécies de tripes, distribuídas nos gêneros *Frankliniella*, *Thrips*, *Scirtothrips* e *Ceratothripoides* (PLYUSNIN et al., 2012). Há apenas um relato de transmissão de *Soybean vein necrosis virus* via sementes e de maneira geral, é possível fazer a transmissão experimental via extrato vegetal tamponado (GROVES et al., 2016). A grande maioria das espécies virais pertencentes ao gênero *Orthospovirus* apresenta uma restrita gama de hospedeiros, exceto o *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) que apresenta ampla gama de hospedeiros (PLYUSNIN et al., 2012).

2.3.3 Polerovirus

Os vírus pertencentes ao gênero *Polerovirus* (Família *Luteoviridae*) possuem partículas isométricas de 25 a 30 nm em diâmetro. O genoma dos *Polerovirus* consiste em uma fita simples de RNA sentido positivo, com tamanho variando entre 5600 e 6000nt. Na extremidade 5' há a proteína VPg ligada covalentemente enquanto a extremidade 3' não é poliadenilada (HULL, 2013; TALIANSKY et al., 2003).

O RNA genômico dos *Polerovirus* contém sete ORF's, das quais a ORF 0 codifica uma proteína relacionada com a supressão do silenciamento gênico; a ORF1 codifica proteína VPG e proteases e quando combinada com a ORF 2 codifica a proteína Polymerase (RdRp). As ORF's 3, 4 e 5, são expressas a partir de RNA's

subgenômicos. A ORF 3 codifica a capa protéica maior e em associação com a ORF 5 codificam a capa protéica menor, que está associada a transmissão do vírus pelo vetor. A partir da ORF 4 é codificada a proteína de movimento ainda não se sabe a função da proteína codificada pela ORF 6 (DOMIER, 2012).

As espécies desse gênero são transmitidas por espécies de afídeos de maneira persistente circulativa (TALIANSKY et al., 2003), e por serem restritas ao floema, podem ser transmitidas mecanicamente apenas com o bombardeamento de micro-projéteis através da técnica de biobalística (HOFFMANN et al., 2001).

2.3.4 *Potyvirus*

Os vírus pertencentes ao gênero *Potyvirus* (Família *Potyviridae*) apresentam partículas flexuosas alongadas de 680-900 nm de comprimento e 11-13 nm de diâmetro, contendo um único segmento genômico de RNA de fita simples, sentido positivo, com aproximadamente 10000 nucleotídeos (nt). O genoma apresenta a proteína VPg (“*Viral Protein genome-linked*”) ligada covalentemente na extremidade 5’ e na extremidade 3’ é poliadenilado. O RNA genômico codifica uma poliproteína, a qual é processada em dez produtos gênicos individuais (ADAMS et al., 2012).

As proteínas codificadas pelo genoma viral são: (i) P1 – tem papel importante na replicação viral; (ii) HC-Pro (“*Helper Component-Protease*”) – importante na supressão do silenciamento gênico (mecanismo envolvido na resposta antiviral) e na transmissão pelo vetor; (iii) P3 – importante para replicação do genoma viral, gama de hospedeiros e desenvolvimento de sintomas; (iv) 6K1 – função ainda não conhecida; (v) CI (“*Cylindrical Inclusion protein*”) – apresenta atividade de helicase e acumula no citoplasma de células infectadas formando corpos de inclusão; (vi) 6K2 – é uma proteína transmembrana que conecta o complexo de replicação ao retículo endoplasmático da célula hospedeira; (vii) VPg – ligada covalentemente a região 5’ do genoma viral, sendo importante nos processos de replicação, tradução e supressão do silenciamento gênico; (viii) NIa-Pro – apresenta função de protease; (ix) NIb – polimerase de RNA dependente de RNA; (x) CP – capa protéica viral também envolvida no movimento viral, amplificação do genoma e transmissão pelo vetor. Adicionalmente, uma pequena região codificadora (ORF – *Open Reading Frame*) adicional tem sido reportada. Essa ORF é denominada de PIPO (“*pretty interesting*

potyvirus ORF') e é importante para o movimento intercelular do vírus (ADAMS et al., 2012).

De maneira geral, os potivírus são transmitidos de maneira não persistente por afídeos a várias espécies de hospedeiros, incluindo as pertencentes a família das solanáceas. Também podem ser transmitidos experimentalmente por meio de inoculação mecânica e, algumas espécies virais, podem ser transmitidas naturalmente por sementes ou material propagativo infectado (ADAMS et al., 2012).

2.3.5 Potexvirus

Os vírus pertencentes ao gênero *Potexvirus* (Família *Alphaflexiviridae*) apresentam partículas flexuosas alongadas de 470-580 nm de comprimento e 13 nm de diâmetro, contendo um único segmento genômico de RNA de fita simples, sentido positivo, com 5900 a 7000 nt. A região 5' do genoma é capeada (apresenta CAP – m7G, assim como os RNAs mensageiros das células eucarióticas) e a região 3' é poliadenilada (ADAMS et al., 2012).

O RNA genômico dos potexvírus apresenta cinco ORFs. Essas ORFs codificam as seguintes proteínas: (i) ORF1 – proteína polimerase (associada a replicação viral); (ii) ORFs 2,3 e 4 – proteínas TGB ("*Triple Gene Block*") envolvidas no movimento célula-a-célula do RNA viral. O produto codificado pela ORF 2 também está associado a supressão do silenciamento gênico; e (iii) ORF 5 – proteína capsidial (capa proteica) também está associada ao movimento viral (ADAMS et al., 2012).

Os potexvírus são transmitidos naturalmente por contato, material propagativo infectado e não apresentam vetores. Embora existam relatos de transmissão de *Strawberry mild yellow edge virus* (SMYEV) e *Potato aucuba mosaic virus* (PAMV) por afídeos. Possivelmente, a transmissão por vetores desses dois potexvírus é mediada por um vírus auxiliar. Os potexvírus infectam espécies de mono e dicotiledôneas (ADAMS et al., 2012).

2.3.6 Tymovirus

Os vírus pertencentes ao gênero *Tymovirus* (Família *Tymoviridae*) apresentam partículas isométricas com aproximadamente 30 nm de diâmetro, contendo um único segmento genômico de RNA de fita simples, sentido positivo, com 6000-6700 (nt). O

RNA genômico apresenta três ORFs. A ORF 1 codifica uma poliproteína associada a replicação do genoma viral. A ORF 2 codifica uma proteína rica em prolina envolvida no movimento célula-a-célula, e a ORF 3 codifica a proteína capsidial (capa proteica) (DREHER et al., 2012).

Os vírus pertencentes a esse gênero apresentam uma gama de hospedeiros restrita, o que facilita a distinção entre espécies com a utilização de hospedeiros suscetíveis. Besouros das famílias *Chrysomelidae* e *Curculionidae* atuam como vetores (relacionamento semi-persistente) a curtas distâncias. Todos os membros desse gênero são transmitidos mecanicamente e alguns, como por exemplo o *Turnip yellow mosaic virus* (TYMV), *Eggplant mosaic virus* (EMV) e *Dulcamara mottle virus* (DuMV), são transmitidos por sementes (DREHER et al., 2012).

2.3.7 Crinivirus

Os vírus pertencentes ao gênero *Crinivirus* (Família *Closteroviridae*) apresentam partículas alongadas e flexuosas com simetria helicoidal de 650- 900 nm de comprimento, contendo dois segmentos genômicos de RNA de fita simples, sentido positivo, com 7801-9127 nt para o RNA-1 e 7903-8530 nt para o RNA-2. Existe uma exceção nesse gênero que é o *Potato yellow vein virus* (PYVV), o qual apresenta três segmentos genômicos (RNA-1 com 8035 nt; RNA-2 com 5339 nt; e RNA-3 com 3892 nt) (TRENADO et al., 2007; MARTELLI et al., 2012).

Esses vírus podem apresentar de 9 a 13 ORFs dependendo da espécie viral e do número de segmentos genômicos. No RNA-1 são codificadas as proteínas associadas a replicação do genoma viral e no RNA-2 as proteínas associadas ao movimento, encapsidação e transmissão pela mosca branca (MARTELLI et al., 2012). Estudos adicionais são necessários para confirmação da função das proteínas codificadas pelos crinivirus, uma vez que a maioria das funções foram preditas com base na comparação de sequências que apresentam domínios funcionais já caracterizados.

Os crinivirus são transmitidos de maneira semi-persistente por mosca branca dos gêneros *Trialeurodes* e *Bemisia* (principalmente *T. vaporariorum* e *B. tabaci*). Não existem relatos de transmissão mecânica e transmissão por sementes (TRENADO et al., 2007, MARTELLI et al., 2012).

2.3.8 *Tobravirus*

Os vírus pertencentes ao gênero *Tobravirus* (Família *Virgaviridae*) apresentam partículas tubulares com dois tamanhos distintos, de 180-215 nm para a maior e 46-115 para a menor. O genoma desses vírus é dividido em dois segmentos de RNA de fita simples, sentido positivo, com 6800 nt para o RNA-1 e 1800-4500 nt para o RNA-2 (KING et al., 2012). O RNA-1 tem a capacidade de se replicar e se movimentar sistemicamente independente do RNA-2. O RNA-1 codifica as proteínas associadas a replicação, além das proteínas P1a e P1b. O RNA-2 codifica a proteína capsidial (capa proteica) e apresenta 2 ORFs adicionais denominadas P2b e P2c (KING et al., 2012).

Espécies virais pertencentes ao gênero *Tobravirus* estão amplamente distribuídas no mundo e apresentam uma ampla gama de hospedeiros, incluindo cerca de 50 famílias botânicas de mono e dicotiledôneas. Apresentam como vetores os nematoides dos gêneros *Trichodorus* and *Paratrichodorus*, com especificidade de espécie de nematoide e estirpe viral. Esses vírus também podem ser transmitidos por sementes (KING et al., 2012).

2.4 CARACTERÍSTICAS DO GÊNERO *Sobemovirus*

O gênero *Sobemovirus* abrange 19 espécies reconhecidas pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (*International Committee on Taxonomy of Virus - ICTV*) (Tabela 1), e até o momento não possui uma família designada (ICTV, 2016). Outras espécies, como o *Cynosurus mottle virus*, *Ginger chlorotic fleck virus* e *Snake melon asteroid mosaic virus*, tem características semelhantes com o gênero, mas ainda não são membros reconhecidos pelo ICTV (SÔMERA et al., 2015).

Esses vírus possuem partículas isométricas com 25 a 33nm de diâmetro (MEDEIROS et al., 2015), geralmente muito estáveis, contendo ponto de inativação térmica entre 80 e 90°C (HULL, 1977). O genoma varia entre 4 e 4,5kb, contendo 5 regiões codificadoras denominadas de *Open reading frame* -ORF's (ORF1, ORFX, ORF2a, ORF2b e ORF3) (LING et al., 2013). Na extremidade 5' não traduzida há a proteína VPg ligada covalentemente, enquanto a extremidade 3' não traduzida não é poliadenilada, ao invés disso, acredita-se que haja uma estrutura semelhante a um RNA transportador denominada TLS (*tNRA-like structure*) (MEDEIROS et al., 2015;

RYABOV et al., 1996). Várias espécies desse gênero podem estar associadas com RNA's satélites circulares (TRUVE; FARGETTE, 2012).

A ORF 1 possui uma baixa taxa de tradução quando comparada a outras ORF's, e produz a proteína P1, que pode variar de 11,7 a 24,3 kd, com a função de auxiliar no movimento viral e na supressão do silenciamento gênico (ARTHUR et al., 2010). A ORFX, foi recentemente relatada por Ling et al. (2013), cuja a tradução é favorecida pela quantidade de ribossomos presentes, sem a necessidade de um códon AUG para a iniciação. Esse processo ocorre um pouco antes do final da ORF1, e termina entre os nucleotídeos das posições 66 a 80 após o códon de iniciação da ORF2a (SÔMERA et al., 2015). Essa ORF codifica a proteína Px, a qual possui um papel determinante na patogenicidade dos *Sobemovirus* (LING et al., 2013). A ORF2a produz uma poliproteína (P2a), contendo uma serina protease, responsável pela clivagem da poliproteína P2a; a proteína VPG, que se liga na extremidade 5' do RNA, intermediando o processo de reconhecimento do RNA pelos fatores de iniciação da tradução; a proteína P10, que interage com P1, para o complexo de movimentação viral ou com a RdRp (*RNA dependent RNA polymerase*) para auxiliar na replicação viral; e a proteína P8, também atuante no processo de ligação entre o RNA e os fatores de tradução da planta hospedeira (SÔMERA et al., 2015).

A tradução da ORF2b se dá por mudança de fase (*frameshift*), com eficiência entre 10 e 20%, e codifica a RdRp, responsável pela replicação viral (LUCCHESI et al., 2000). Finalmente, a ORF3, utilizando a estratégia de tradução de um RNA subgenômico, codifica a capa proteica, que além de envolver o genoma, auxilia no movimento célula a célula e a longa distância dentro da planta hospedeira (TRUVE; FARGETTE, 2012).

Tabela 1 – Lista de espécies virais pertencentes ao gênero *Sobemovirus*.

Espécie	Acrônimo
<i>Artemisia virus A</i>	ArtVA
<i>Blueberry shoestring virus</i>	BSSV
<i>Cocksfoot mottle virus</i>	CfMV
<i>Cymbidium chlorotic mosaic virus</i>	CyMV
<i>Imperata yellow mottle virus</i>	IYMV
<i>Lucerne transient streak virus</i>	LTSV
<i>Papaya lethal yellowing virus</i>	PLYV
<i>Rice yellow mottle virus</i>	RYMV
<i>Rottboellia yellow mottle virus</i>	RoMoV
<i>Ryegrass mottle virus</i>	RGMoV
<i>Sesbania mosaic virus</i>	SeMV
<i>Solanum nodiflorum mottle virus</i>	SNMoV
<i>Southern bean mosaic virus</i>	SBMV
<i>Southern cowpea mosaic virus</i>	SCPMV
<i>Sowbane mosaic virus</i>	SoMV
<i>Soybean yellow common mosaic virus</i>	SYCMV
<i>Subterranean clover mottle virus</i>	SCMoV
<i>Turnip rosette virus</i>	TRoV
<i>Velvet tobacco mottle virus</i>	VTMoV

Fonte: ICTV, 2016.

A partícula viral pode ser encontrada em 3 formas que se distinguem a partir de sua estabilidade: (I) – uma forma inchada e mais instável, dependente de um pH básico; (II) – uma forma intermediária, mais compacta, dependente de um pH ácido; e (III) – uma forma com maior grau de compactação, na qual a partícula está associada a átomos de Ca^{2+} , não dependendo mais do pH do meio (BRUGIDOU et al., 2002). Estudando a localização de partículas de RYMV em plantas de arroz, Brugidou et al. (2002) observou que a maioria das partículas virais eram encontradas nos vasos e células parenquimáticas adjacentes do xilema, sugerindo que o movimento a longa distância se dá preferencialmente nesse vaso condutor. Para que isso ocorra, a partícula viral interage com os átomos de cálcio presentes nas pontuações dos vasos do xilema, uma vez que a partícula deve estar altamente estável, para resistir a ação das proteases durante a morte programada dos elementos de vaso (BRUGIDOU et al., 2002). Entretanto, outras espécies de *Sobemovirus* utilizam tanto o floema quanto o xilema para o transporte a longa distância (SÔMERA et al., 2015), sendo que as espécies *Cocksfoot mottle virus* (CfMV), SBMV e *Southern cowpea mosaic virus*

(SCPMV) utilizam, principalmente, os tecidos do floema (MORALES et al., 1995; OTSUS et al., 2012; WEINTRAUB e RAGETLI, 1970).

A espécie tipo dos *Sobemovirus* é o SBMV, descrito pela primeira vez por Zaumeyer e Harter, em 1943. Várias espécies ocorrem de forma regionalizada ou até de forma endêmica, porém, pode-se observar uma crescente expansão da distribuição desses vírus, como é o caso dos relatos de CfMV na Nova Zelândia em 2001 (CAMPBELL; GUY, 2001), do SBMV na Espanha em 2003 (VERHOEVEN et al., 2003) e mais recentemente o SoMV, disseminado da Holanda para a Grécia em 2012 (GRATSIA et al., 2012). Segundo Sömera et al. (2015), a principal forma de transmissão se dá por micro ferimentos em plantas hospedeiras causados pelo contato entre plantas, porém, existem vários relatos de vetores capazes de transmitir espécies de *Sobemovirus*. A maioria é transmitida por coleopteros fitófagos, como é o caso do CfMV, transmitida pela espécie *Lema melanopa* (SERJEANT, 1967); RYMV, transmitido pelas espécies *Sesselia pusilla*, *Dicladispa viridicyanea*, *Trichispa sericea*, *Chaetocnema pulla*, *Chaetocnema abyssinica*, *Chaetocnema kenyensis*, *Chaetocnema pallidipes*, *Aulacophora foveicollis*, *Dicladispa gestroi*, *Chnootriba similis*, *Dactylispa lenta*, *Xanthadalia effusa* e *Cheilomenes lunata* (KOUNDAMILORO et al., 2015); SNMoV, transmitido por *Epilachna vigintioctopunctata*, *E. vigintisexpunctata* e *E. guttatopustulata* (GREBER, 1981); e o SBMV, transmitido no Brasil principalmente pelas espécies *Diabrotica speciosa* e *Ceratoma arcuata* (MEYER et al., 1992; SILVEIRA JR. et al., 1983); enquanto outros relatos mostraram a transmissão de SoMV por cigarrinhas, afídeos e tripes (HARDY; TEAKLE, 1992); e do VTMoV, através do Hemiptera *Cyrtopeltis nicotianae* (ARTHUR et al., 2010). Adicionalmente, há relatos de transmissão via sementes infectadas para as espécies SBMV, SCPMV, SoMV, SCMoV (MOHAMED e MOSSOP, 1981; ZAUMEYER e HARTER, 1943).

Das espécies contidas no gênero, destaca-se o RYMV, a qual, recentemente foi considerada uma das 10 espécies virais de maior importância econômica no mundo, devido aos danos causados nas produções de arroz na África (RYBICKI, 2015). Este vírus ocorre exclusivamente em espécies do gênero *Oriza* e foi relatada pela primeira vez em 1966 no Kenya. Atualmente é encontrado em mais de 13 países em todas as regiões do continente africano (FARGETTE et al., 2008), com destaque para Uganda, onde recentemente houve o aparecimento de uma nova estirpe, causando danos de até 100% na produção (OCHOLA et al., 2015; TRAORE et al.,

2009). Além desta, pode-se destacar outras espécies de importância econômica, tais como, o *Subterranean clover mottle virus* (SCMoV), gerando danos consideráveis na produção de pastagens na Austrália, e o *Papaya lethal yellowing virus* (PLYV) causando sintomas de intensa clorose em produções comerciais de mamão papaia do nordeste brasileiro (JONES, 2004; NASCIMENTO et al., 2010). Além do PLYV, também houveram relatos de SBMV no Distrito Federal, bem como nos estados de São Paulo e Paraná (CUPERTINO et al., 1987; MOREIRA e GASPAR, 2002; GASPARIN et al., 2005).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETA DE PLANTAS

Amostras de plantas em diferentes estádios fenológicos de *Physalis peruviana* foram coletadas e transplantadas em vasos de 25 litros para o presente trabalho. Das sete amostras coletadas cinco foram coletadas em áreas de produção, casa-de-vegetação e jardins no município de Lages-SC, uma amostra no município de Otacílio Costa e uma no município de Rancho Queimado (assintomática). Para facilitar a identificação, as amostras foram nomeadas de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2 – Relação de plantas de *Physalis peruviana* coletadas no estado de Santa Catarina.

Local de coleta	Código
Lages 1 – SC	L1
Lages 2 – SC	L2
Lages 3 – SC	L3
Lages 4 – SC	L4
Lages 5 – SC	L5
Otacílio Costa – SC	OC
Racho Queimado – SC	RQ

Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

As plantas coletadas foram mantidas em casa de vegetação sob condições de temperatura controlada ($24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) para posteriores análises. As plantas foram acondicionadas em vasos de 2 L contendo mistura de substrato e solo, com as seguintes características: pH H_2O , 6,3; M.O.: 10,6%; P: 119 mg/dm^3 ; Ca: 10,3 cmolc/dm^3 ; Mg: 4,9 cmolc/dm^3 ; K: $>400 \text{ mg}/\text{dm}^3$ e Al: 0,0 cmolc/dm^3 .

3.2 TESTE BIOLÓGICO - GAMA DE HOSPEDEIROS

Para a realização do teste de gama de hospedeiros utilizou-se o extrato vegetal tamponado de plantas infectadas da amostra L1, pois os sintomas apresentados pelas diferentes amostras eram similares.

Foram realizados testes de gama de hospedeiros contendo as seguintes espécies vegetais: *Capsicum annuum* (cv. 'Ikeda'), *Chenopodium quinoa*, *Chenopodium amaranticolor*, *Cucurbita pepo* (cv. 'Caserta Italian'), *Glycine Max*, *Nicotiana debneyi*, *Nicotiana silvestris*, *Nicotiana tabacum* (cvs. 'Havana'; 'Samsun' 'TNN'; 'Xanthi' e 'White Burley'), *Nicotiana turkish*, *Physalis cordata*, *Physalis peruviana*, *Solanum lycopersicum* (cvs. 'Santa Clara' e 'Santa Cruz'), *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*, *Solanum aethiopicum* ('Gilo Group'), *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum* e *Vigna unguiculata*.

Cada espécie indicadora foi inoculada em triplicata, após a expansão completa de quatro folhas verdadeiras, por meio de inoculação via extrato vegetal tamponado [tampão fosfato de sódio 0,02 M (pH 7,0), acrescido de sulfito de sódio 0,02 M]. O controle negativo foi feito em duplicata para cada hospedeiro testado, consistindo de inoculações apenas com o tampão (sem inoculo). As plantas do teste de gama de hospedeiros foram mantidas em casa de vegetação com temperatura de 24°C ($\pm 7^\circ\text{C}$) e avaliadas a cada semana durante dois meses. A mesma mistura de solo e substrato citada anteriormente foi utilizada para o teste. Para algumas espécies o teste de gama de hospedeiros foi repetido para confirmação dos resultados.

3.3 TESTE SOROLÓGICO

Os testes sorológicos foram realizados no Laboratório de Fitossanidade da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA unidade de Canoinhas – SC). Antissoros comerciais (Agdia, Inc.) contra *Potato leafroll virus* (PLRV, gênero *Polerovirus*), *Potato virus X* (PVX, gênero *Potexvirus*) e *Potato virus Y* (PVY, gênero *Potyvirus*) foram utilizados no teste ELISA - direto (*Enzyme linked immunosorbent assay* - direto). Para realização do teste foram preparadas soluções contendo tampão de cobertura (0,015 mol/L Na_2CO_3 , 0,02738 mol/L Na_2HCO_3) com os respectivos antissoros comerciais descritos previamente na concentração de 1:300. Foram adicionados 100 μl das soluções nas respectivas cavidades da placa de poliestireno, que posteriormente foram incubadas a 37°C por quatro horas e lavadas 3 vezes com PBS-T (137 mM de NaCl, 2,7 mM KCl, 8,1 mM Na_2HPO_4 , 1,5 mM KH_2PO_4 e 0,05% de Tween 20).

Após isso, os extratos vegetais (contendo proteínas totais) foram homogeneizados em tampão de extração (0,5 g de Leite em pó em 1L de PBS-T) na

proporção de 1g de tecido de fisális para 10 mL de tampão. Obtido os extratos vegetais, esses foram adicionados nas cavidades correspondentes. As placas foram submetidas a temperatura de 4°C por 12 horas e posteriormente lavadas 3 vezes com PBS-T. Após a lavagem foram adicionados 100µl a cavidade das placas do conjugado (antissoro universal fusionado a da enzima fosfatase alcalina) (Agdia, Inc.) diluído na proporção de 1:200 em tampão de extração. As placas foram submetidas a 37°C por duas horas. As placas foram lavadas 3 vezes com PBS-T e foi acrescido 100µl de tampão do substrato (9,7% de dietanolamina, ajustar o pH para 9,8) a acrescido do substrato a base de fosfato (p-nitrofenilfosfato). Para cada amostra com respectivo antissoro foram realizadas 6 repetições. Os controles positivos consistiram de extrato vegetal de plantas de batata sabidamente infectadas por PLRV, PVY, PVX. O controle negativo consistiu de extrato vegetal obtido de planta de batata sabidamente sadia. As placas foram colocadas em ambiente escuro e a leitura dos valores de absorbância foi realizada em espectrofotômetro modelo ELX-808 (Biotek) (405 nm) após 45 minutos. Foram considerados positivos valores de absorbância maiores que duas vezes a média do controle negativo.

3.4 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR

3.4.1 Extração de ácidos nucleicos

Os testes moleculares foram realizados no Laboratório de Genética, do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade Estadual de Santa Catarina (UDESC).

Para a caracterização de vírus com genoma de RNA, aproximadamente 100 mg de folhas das plantas coletadas (Tabela 1) foram homogeneizadas em nitrogênio líquido e submetidas à extração de RNA total utilizando o reagente TRi (Sigma Aldrich), de acordo com as especificações do fabricante. Para a caracterização de possíveis espécies de *Begomovirus* (genoma de DNA), discos foliares (aproximadamente 50 mg) foram retirados de plantas sintomáticas e submetidos à extração de DNA conforme Doyle & Doyle (1987). A integridade e a quantidade dos ácidos nucleicos extraídos foi verificada por eletroforese em gel de agarose 1% e em quantificador de ácidos nucleicos Nanodrop 2000 (Thermo Fisher).

3.4.2 Síntese do DNA complementar (cDNA)

Aos microtubos foram inicialmente adicionados 2 µg de RNA, 0,1µM do oligonucleotideo reverso e água livre de RNase suficiente para completar o volume de 15µl. Os tubos foram incubados a 70°C por 5 min e a 2°C por 2 minutos. Após isso foram adicionados em cada tubo 3µl de água livre de RNase, 5µl de tampão 5x MMLV, 1µl de dNTP's (10µM) e 1µl da enzima RT-MMLV (200u/µL) (Promega). Finalmente, os tubos foram incubados a 42°C por 1h.

3.4.3 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A PCR foi realizada utilizando a enzima goTaq Flexi DNA polymerase (Promega) de acordo com as recomendações do fabricante, com exceção da detecção do gênero *Sobemovirus* e da espécie *Velvet tobacco mottle virus* (VTMoV), onde foi utilizada a enzima TaKaRa Taq DNA Polymerase (TaKaRa, Bio Inc.), de acordo com as recomendações do fabricante. Os oligonucleotídeos utilizados para cada espécie viral estão descritos na Tabela 3 (ZHENG et al., 2010; EIRAS, et al., 2001; ROJAS et al., 1993).

Para detecção de espécies do gênero *Begomovirus* utilizou-se diretamente o DNA total extraído para a reação de PCR; já para a detecção de espécies dos gêneros *Potyvirus*, *Sobemovirus* e *Orthospovirus* foi utilizado o cDNA.

Para a amplificação de *Begomovirus* a programação do termociclador (Applied Biosystems) consistiu em um pré-aquecimento até 94 °C por um minuto, seguido de 30 ciclos de um minuto a 94 °C (desnaturação), um minuto a 52 °C (anelamento) e um minuto e meio a 72 °C (extensão), finalizando com 10 minutos a 72 °C para a extensão final dos fragmentos amplificados (ROJAS et al., 1993).

Para o fragmento S de *Orthospovirus* foi feita uma “nested” PCR que consiste na repetição do processo, utilizando 5µL do produto da primeira reação de PCR. Para a amplificação de *Orthospovirus* foi utilizada a seguinte programação: Pré-aquecimento a 94 °C por 5 minutos, seguido de 30 ciclos de 1,5 minutos a 94 °C (desnaturação), um minuto a 55 °C (anelamento) e um minuto a 72 °C (extensão), finalizando com 7 minutos a 72 °C para a extensão final (EIRAS, et al., 2001).

A programação utilizada para *Potyvirus* consistiu em um pré-aquecimento até 94 °C por dois minutos, seguido de 35 ciclos de 45 segundos a 94 °C (desnaturação),

45 segundos a 52 °C (anelamento) e 45 segundos a 72 °C (extensão), realizando a extensão final a 72 °C por cinco minutos.

Para a detecção de espécies do gênero *Sobemovirus* foi feita uma primeira triagem utilizando os oligonucleotídeos universais SOBDF2 e SOBDR2 (Tabela 3), com a seguinte programação: Pré- aquecimento a 94 °C por 5 minutos, seguido de 30 ciclos de 1 minuto a 94 °C (desnaturação), um minuto a 52 °C (anelamento) e um minuto a 72 °C (extensão), seguido de 7 minutos a 72 °C para a extensão final. Para verificar a presença da espécie *Velvet tobacco mottle virus* (VTMoV, *Sobemovirus*), foram desenhados 4 pares de iniciadores (Tabela 3), a partir do isolado k1 (HM754263) (ARTHUR et al., 2010), para a amplificação das ORF's 1, 2a, 2b e 3. A programação do termociclador foi a mesma para os quatro oligonucleotídeos, assemelhando-se a utilizada para o gênero *Sobemovirus*, alterando apenas a temperatura de anelamento para 50°C.

Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose (1,0 %), corados com GelRed (Biotium), visualizados sobre luz UV e fotografados. Os fragmentos de DNA com o tamanho esperado que amplificaram foram purificados utilizando o kit Gene Jet (Fermentas) de acordo com as recomendações do fabricante. Os fragmentos de DNA purificados foram enviados para sequenciamento (Helixxa), utilizando os iniciadores correspondentes para cada fragmento amplificado, conforme tabela 1. As sequências obtidas foram comparadas com sequências disponíveis no GenBank para determinação da identidade de nucleotídeos.

Tabela 3 - Iniciadores utilizados e tamanho dos fragmentos obtidos para os diferentes gêneros ou espécie viral testados em fisális.

Oligonucleotídeos	Gene	Sequência	Fragmento esperado (pb)
Begomovirus			
496	ORF AL1 e ORF AR1 do gene A	5' AATACTGCAGGGCTTYCTRTACATRGG 3'	1100
1978		5' GCATCTGCAGGCCACATYGTCTTYCCNGT 3'	
Potyvirus			
NIB2F	NIB	5' GTITGYGTIGAYGAYTTYAAAYAA 3'	350
NIB3R		5' TCIACIACIGTIGAIGGYTGNCC 3'	
Orthotospovirus			
BR60	N do frgmento S	5' CCCGGATCCTGCAGAG CAATTGTGTCA 3'	453
BR65		5' ATCAAGCCTTCTGAAAGTCAT 3'	
BR035	G1/G2 do fragmento M	5' GAATATATGACACCATTG 3'	514
PDH006		5' CCCAGAGCAATCAGTGCA 3'	
Sobemovirus			
SOBDF2	Gene da RDRP	5' GAYATHTCNNGHTTYGA YTGGTC 3'	302
SOBDR2		5' CCYTCVACVGARTCRTCDCCCAT 3'	
ORF1F	ORF1 VTMoV	5'CCCATTATATTTTGATATGCCCAGC3'	481
ORF1R		5'CGAGTCCTAGTTAGTCTG 3'	
ORF2aF	ORF2a VTMoV	5'GATGTTGAGCGAGTTAGTCCAG 3'	1752
ORF2aR		5'AAGCAATAAAACTCGCCTC 3'	
ORF2bF	ORF2b VTMoV	5'AGAGCTATTCAAACCGGC 3'	1694
ORF2bR		5' CGAGAGTAACAGAAGTGG 3'	
ORF3F	ORF3 VTMoV	5' CCTGCTGACTATGTGCGAA 3'	871
ORF3R		5' CGTTATATCGCTTGCCTA 3'	

H = A+C+T, , I=deoxyinosine, N=A+C+G+T, R= A+G, V= A+C+G, Y=C+T.

Fonte: ZHENG et al., 2009; EIRAS, et al., 2001; ROJAS et al., 1993; ARTHUR et al., 2010; elaborada pelo autor, 2017.

3.5 ANÁLISE COMPARATIVA E QUANTIFICAÇÃO DE DANOS CAUSADOS PELO VÍRUS.

Mudas sadias de *P. peruviana* de 35 dias de idade, obtidas a partir de sementes, contendo dois pares de folhas permanentes foram transplantadas em 18 vasos de 25L, e mantidas em casa de vegetação com temperatura de 24°C (\pm 2°C), contendo a mesma mistura de substrato e solo utilizada para a manutenção das plantas coletadas do campo. As plantas foram divididas em dois tratamentos: Tratamento 1 – plantas controle, inoculadas apenas com tampão (sem inoculo); e

Tratamento 2 – plantas inoculadas utilizando extrato vegetal tamponado [tampão fosfato de sódio 0,02 M (pH 7,0), acrescido de sulfito de sódio 0,02 M]. Para o tutoramento das plantas foram instaladas cordas para a realização do sistema de condução em V (RUFATO et al., 2013). A ausência e presença do vírus foi confirmada nos tratamentos 1 e 2 por RT-PCR, conforme descrito anteriormente para a detecção de espécie do gênero *Sobemovirus*.

Os parâmetros morfológicos e fisiológicos avaliados foram: Altura de plantas, área foliar, área foliar específica, índice SPAD e parâmetros relacionados a fotossíntese. As medições dos parâmetros vegetativos foram iniciadas 24 dias após a inoculação (DAI) (completa expansão das folhas após a infecção viral), sendo repetidas cada 14 dias (expansão completa de novas folhas), totalizando 9 avaliações (38DAI, 52DAI, 66DAI, 80DAI, 94DAI, 108DAI, 122DAI, 136DAI, 152DAI), sendo que os parâmetros relacionados a fotossíntese que foram avaliados em dois momentos – 80 e 111 DAI). A altura de planta foi estimada com o auxílio de uma fita métrica.

Para a estimativa da área foliar, foram mensurados a largura e o comprimento de duas folhas aleatórias mais jovens e completamente expandidas para cada planta em cada avaliação. Esses valores foram inseridos na seguinte equação: $Y = 0,58763 \cdot (LC) + 2,575$; no qual Y é a área foliar estimada e LC é o comprimento e a largura multiplicados. Para o desenvolvimento da equação, foram realizados estudos de regressão linear comparando valores reais da área foliar de 30 folhas de plantas de fisális sadias (obtidos com integrador de área foliar LI-3100C - LI-COR Biosciences) e seus valores de largura e comprimento mensurados com o auxílio de uma fita métrica (BIANCO et al., 1983).

A quantificação de clorofila foi realizada ao longo de seis leituras aleatórias (uma leitura por folha), utilizando o aparelho SPAD 502 (Konica-Minolta).

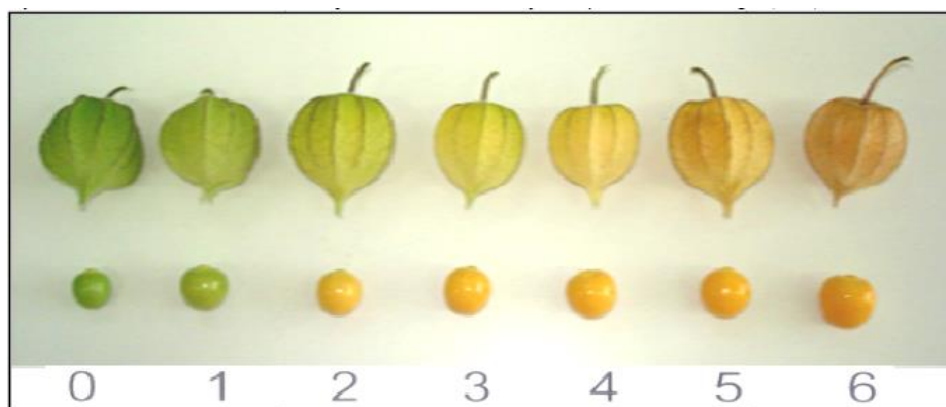
Os parâmetros de fotossíntese foram mensurados com um medidor portátil de fotossíntese modelo LI-6400XT (LI-COR Biosciences, Nebraska), equipado com uma câmara de fluorescência integrada (LI-6400-40), realizando-se 5 leituras aleatórias para cada tratamento. Para as medições, a luz actínica utilizada foi de $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ com 10% de luz azul; as concentrações de CO_2 variaram entre 410 a $440 \mu\text{mol mol}^{-1}$. A taxa de transporte de elétrons e o rendimento quântico de conversão de energia fotoquímica do PSII, foram mensurados ao final dos registros de trocas gasosas, portanto em condições estáveis, sobre luz actínica.

A área foliar específica foi obtida a partir de 30 folhas de fisális coletadas

aleatoriamente dos tratamentos 1 e 2, com integrador de área foliar LI-3100C (LI-COR Biosciences). Posteriormente, as folhas foram colocadas em estufa por 72h a 65°C até que apresentassem massa constante. Cada folha foi então pesada e o valor da massa de cada folha foi dividido pela sua área correspondente.

Os parâmetros relacionados aos frutos foram obtidos a partir da colheita manual, realizada duas vezes por semana, geralmente pela manhã, iniciando-se aos 98DAI até os 152DAI. O ponto de colheita foi determinado de acordo com a Norma Técnica Colombiana n° 4.580 de 1999 do Instituto Colombiano de Normas Técnicas. Os frutos foram colhidos contendo pedúnculo e coloração do cálice amarelo esverdeado e coloração da epiderme da fruta alaranjada (estádio 4 de maturação) (Figura 2).

Figura 2 – Estádios de maturação dos frutos de *Physalis peruviana* L.



Fonte: Muniz, 2011

As análises foram realizadas no Núcleo de Tecnologia de Alimentos (NUTA 3) do Centro de Ciências Agroveterinárias da UDESC. Os frutos foram separados em dois tratamentos (1 e 2), com cada repetição contendo seis frutos. As variáveis analisadas foram: Número médio de frutos produzidos por planta, massa média da baga (g), diâmetro médio da baga (mm), potencial Hidrogeniônico (pH), teor de sólidos solúveis (°Brix) e acidez titulável (% de ácido cítrico). A massa de bagas (g) foi obtida com o uso de balança digital de bancada (Bel Engineering Mark s3102) de precisão de 0,05g, onde se pesou as bagas para cada repetição e calculou-se a média. O diâmetro da baga (mm) foi determinado com o auxílio de um paquímetro digital 6" da marca ZaaS Precision (0 a 150mm), medindo-se cada fruto no sentido horizontal e fazendo uma média dos valores dos seis frutos contidos nas repetições. Para a

realização das análises físico-químicas, os frutos foram amassados em cadinhos, e tiveram seu suco extraído. O pH foi determinado com o auxílio de um pHmetro digital de bancada ION pHB 500, calibrado em solução padrão 7,0, utilizando o suco extraído dos seis frutos de cada repetição. O teor de sólidos solúveis (°Brix) foi obtido por refratometria, com refratômetro portátil digital de bancada RTD-45, com correção para a temperatura de 20°C, pingando-se duas gotas do suco de frutos sobre o refratômetro de bancada. As análises dos teores de acidez titulável (expressa em % de ácido cítrico) foram realizadas empregando-se uma amostra de 5ml do suco do fruto, diluída em 5 ml de água destilada, sendo em seguida realizada a titulação com NaOH a 0,1N.

Os conjuntos de dados foram submetidos ao teste F-snedecor utilizando o software Action Stat (Estatcamp) para a determinação da homogeneidade de variâncias e o teste de Shapiro-Wilk para avaliar a normalidade. Foram utilizados o teste T para comparações de conjuntos de dados paramétricos e o teste de Wilcoxon-Mann-Withney, para comparação de dados não paramétricos.

4 RESULTADOS

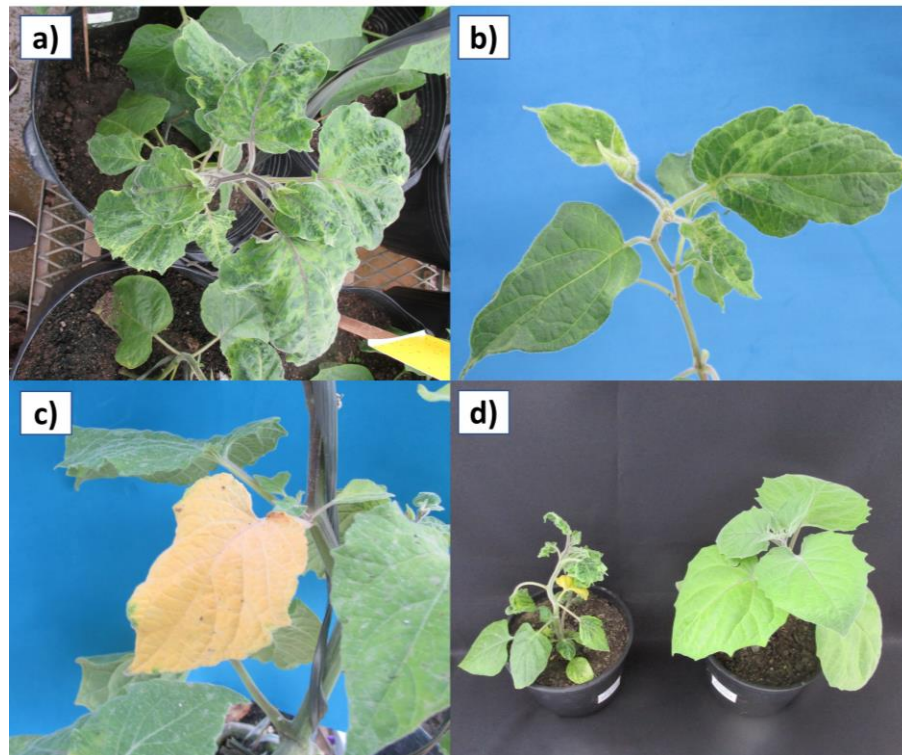
4.1 CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA

As plantas de fisális coletadas nas diferentes localidades e regiões apresentavam sintomas similares, como bolhosidade, deformação foliar, nanismo e mosaico (Figura 3). Todas as inoculações realizadas com extrato vegetal tamponado produziram os mesmos sintomas aos 14±2 dias após a inoculação (DAI).

Sintomas sistêmicos foram visualizados em 10 das 23 espécies indicadoras testadas, (*Nicotiana debneyi*, *N. tabacum* ‘Samsun’, *N. tabacum* ‘TNN’, *N. tabacum* ‘White Burley’, *N. turkish*, *Physalis cordata*, *P. peruviana*, *Solanum lycopersicum* ‘Santa Clara’, *S. lycopersicum* ‘Santa cruz’ e *Capsicum annuum* ‘Ikeda’) sendo todas pertencentes a família *Solanaceae*, enquanto que as espécies *Chenopodium amaranthicolor*, *C. quinoa*, *Phaseolus vulgaris* e *C. annuum* ‘Amarelo’, desenvolveram apenas sintomas locais. Adicionalmente, as espécies *Glycine max*, *Pisum sativum*, *Vigna unguiculata*, *Cucurbita pepo* ‘italiana’, *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* e *Solanum aethiopicum* ‘gilo group’, não apresentaram sintomas (Tabela 4).

As duas cultivares de *C. annuum* testadas (Ikeda e Amarelo), apresentaram lesões cloróticas na folha inoculada, porém apenas a cultivar ‘Ikeda’ desenvolveu sintomas sistêmicos de mosqueado. A maioria das plantas indicadoras pertencentes ao gênero *Nicotiana* apresentaram sintomas semelhantes de mosaico e leve bolhosidade (Figura 4A), com exceção de *N. silvestris*, *N. tabacum* ‘Havana’ e *N. tabacum* ‘Xanthi’ que desenvolveram respostas de hipersensibilidade na folha inoculada (Figura 4B), mostrando que essas plantas indicadoras apresentam resistência ao vírus. A espécie *N. debneyi* apresentou os sintomas mais severos, desenvolvendo intensa deformação foliar e clorose sistêmica que ao longo do tempo, evoluiu para necrose (Figura 4C). Para as cultivares de *S. lycopersicum* testadas, ‘Santa Clara’ foi a que apresentou sintomas mais severos, desenvolvendo necrose, epinastia, mosaico e mosqueado, enquanto a cultivar ‘Santa Cruz’ apresentou sintomas de mosaico e clorose internerval (Figura 4D). Além destas, as plantas da variedade *Cerasiforme* (tomate cereja) não desenvolveram sintomas.

Figura 3 – Sintomas de bolhosidade, deformação foliar e mosaico em *Physalis peruviana* aos 24 (a) e aos 120 (b) dias após a inoculação utilizando extrato vegetal tamponado de plantas sintomáticas. c) senescência foliar prematura em plantas de *P. peruviana* inoculadas com o vírus. d) comparação de uma planta infectada (esquerda) e uma sadia (direita) de *P. peruviana*.

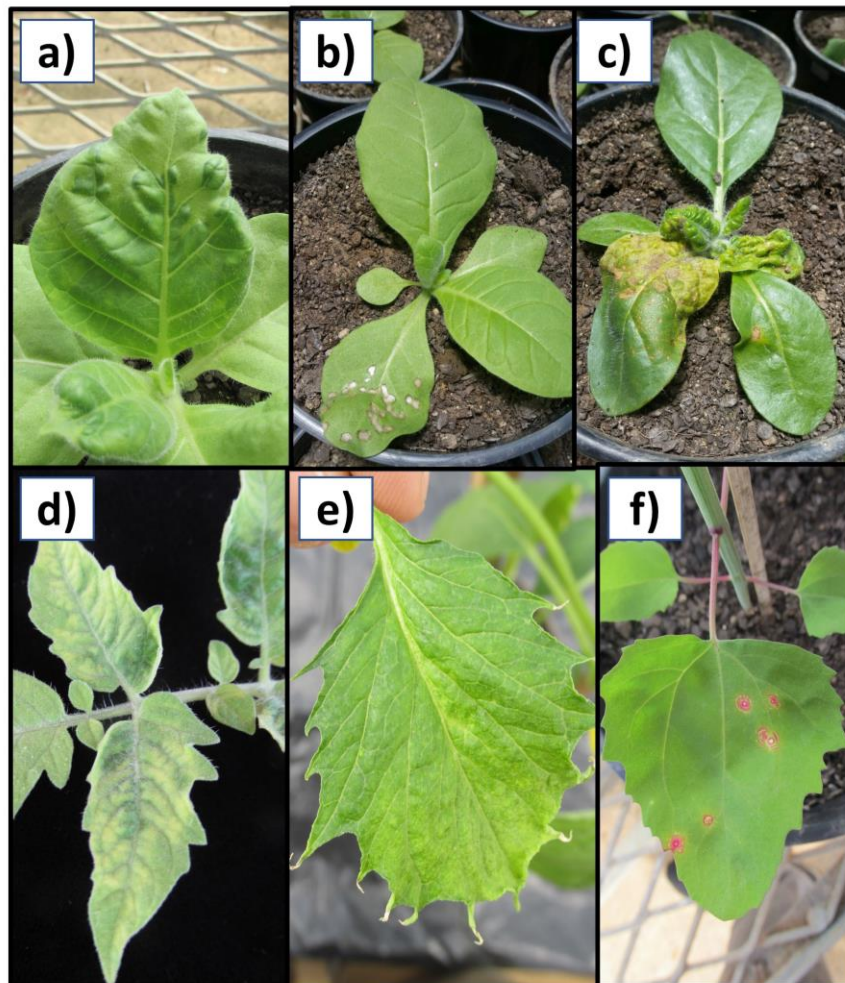


Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

As duas cultivares de *C. annuum* testadas (Ikeda e Amarelo), apresentaram lesões cloróticas na folha inoculada, porém apenas a cultivar 'Ikeda' desenvolveu sintomas sistêmicos de mosqueado. A maioria das plantas indicadoras pertencentes ao gênero *Nicotiana* apresentaram sintomas semelhantes de mosaico e leve bolhosidade (Figura 4A), com exceção de *N. silvestris*, *N. tabacum* 'Havana' e *N. tabacum* 'Xanthi' que desenvolveram respostas de hipersensibilidade na folha inoculada (Figura 4B), mostrando que essas plantas indicadoras apresentam resistência ao vírus. A espécie *N. debneyi* apresentou os sintomas mais severos, desenvolvendo intensa deformação foliar e clorose sistêmica que ao longo do tempo, evoluiu para necrose (Figura 4C). Para as cultivares de *S. lycopersicum* testadas, 'Santa Clara' foi a que apresentou sintomas mais severos, desenvolvendo necrose, epinastia, mosaico e mosqueado, enquanto a cultivar 'Santa Cruz' apresentou

sintomas de mosaico e clorose internerval (Figura 4D). Além destas, as plantas da variedade *Cerasiforme* (tomate cereja) não desenvolveram sintomas.

Figura 4 – Sintomas observados no teste de gama de hospedeiros. a) Bolhosidade e mosaico em *Nicotiana tabacum* 'Whitte Burley'. b) Reação de hipersensibilidade em *N. tabacum* 'Havana'. c) Bolhosidade, deformação foliar, clorose e necrose em *Nicotiana debneyi*. d) Mosaico em *Solanum lycopersicum* 'Santa Cruz'. e) Deformação foliar em *Physalis cordata*. f) Lesões necróticas locais em *Chenopodium amaranticolor*.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Tabela 4 – Descrição dos sintomas induzidos pelo vírus descrito nesse estudo em diferentes plantas indicadoras.

Família, Espécie e cultivar	Sintomas Observados	Plantas sintomáticas/Plantas inoculadas
Chenopodiaceae		
<i>Chenopodium amaranthicolor</i>	LCL	2/6
<i>C. quinoa</i>	LCL, EFI	6/6, 3/6
Curcubitaceae		
<i>Curcubita pepo</i> 'italiana'	-	0/6
Fabaceae		
<i>Glycine max</i> 'codetec RR'	-	0/3
<i>Phaseolus vulgaris</i>	LCL	1/3
<i>Pisum sativum</i>	-	0/3
<i>Vigna unguiculata</i>	-	0/3
Solanaceae		
<i>Capsicum annuum</i> 'Amarelo'	LCL	3/3
<i>C. annuum</i> 'Ikeda'	LCL, MO	6/6, 3/6
<i>Nicotiana debneyi</i>	BO, MC, NEC	1/3, 1/3, 1/3
<i>Nicotiana tabacum</i> 'Havana'	HR	3/6
<i>N. tabacum</i> 'Samsun'	MO, MSQ	3/3, 3/3
<i>N. tabacum</i> 'TNN'	BO, MO	3/6, 3/6
<i>N. tabacum</i> 'White Burley'	BO, MO	3/3, 3/3
<i>N. tabacum</i> 'Xanthi'	HR	3/3
<i>Nicotiana turkish</i>	BO, MO	3/3, 3/3
<i>Nicotiana silvestris</i>	HR	3/3
<i>Physalis cordata</i>	MO, DF, BO	6/6, 6/6, 6/6
<i>Physalis peruviana</i>	CLR, MO, AM, DF, NAN	3/6, 6/6, 6/6, 6/6, 6/6
<i>Solanum lycopersicum</i> 'Santa Clara'	NEC, EP, MSQ, MO	3/9, 3/9, 3/9, 6/9
<i>S. lycopersicum</i> 'Santa Cruz'	MO, CI	3/3, 3/3
<i>S. lycopersicum</i> var.	-	0/3
<i>Cerasiforme</i>	-	0/3
<i>Solanum aethiopicum</i> 'Gilo Group'	-	0/3

AM: Amarelecimento; BO: Bolhosidade; CI: Clorose internerval CLR: Clareamento de nervura; DF: Deformação foliar; EFI: Epinastia na folha de inoculação; EP: Epinastia; HR: Reação de hipersensibilidade; LCL: Lesões cloróticas Locais; MC: Manchas cloróticas; MSQ: Mosqueado; MO: Mosaico; NAN: Nanismo; NEC: Necrose; - :Ausência de sintomas.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

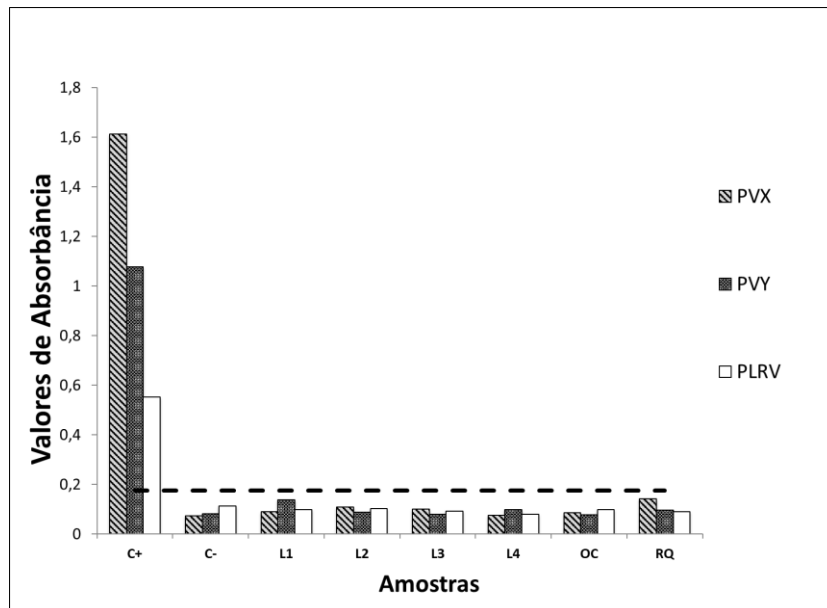
4.2 TESTE SOROLÓGICO

No teste sorológico, o valor de absorvância limítrofe entre resultados positivos e negativos foi de 0,0175, calculado a partir do dobro da média dos valores negativos. Para controles positivos foram usados extratos vegetais de plantas sabidamente infectadas.

Não foram constatados valores de absorvância acima do valor limítrofe nas amostras testadas, com exceção dos controles positivos, indicando a ausência das

espécies *Potato leafroll virus* (PLRV), *Potato virus X* (PVX) e *Potato virus Y* (PVY) nas plantas de fisális infectadas (Figura 5).

Figura 5 - Teste sorológico ELISA (*Enzyme linked immunosorbent assay*) direto aplicado as diferentes amostras de *Physalis peruviana* utilizando antissoro contra *Potato leafroll virus* (PLRV), *Potato virus X* (PVX) e *Potato virus Y* (PVY).



C+: Controle positivo; C-: controle negativo; L1, L2, L3 e L4: Amostras de Lages; OC: Amostra de Otacílio Costa RQ: Amostra de Rancho queimado. Linha pontilhada indica Cut off: dobro da média dos valores do controle negativo. Amostras positivas devem ultrapassar a linha pontilhada (equivalente ao dobro da média dos valores dos controles negativos).

Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

4.3 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR

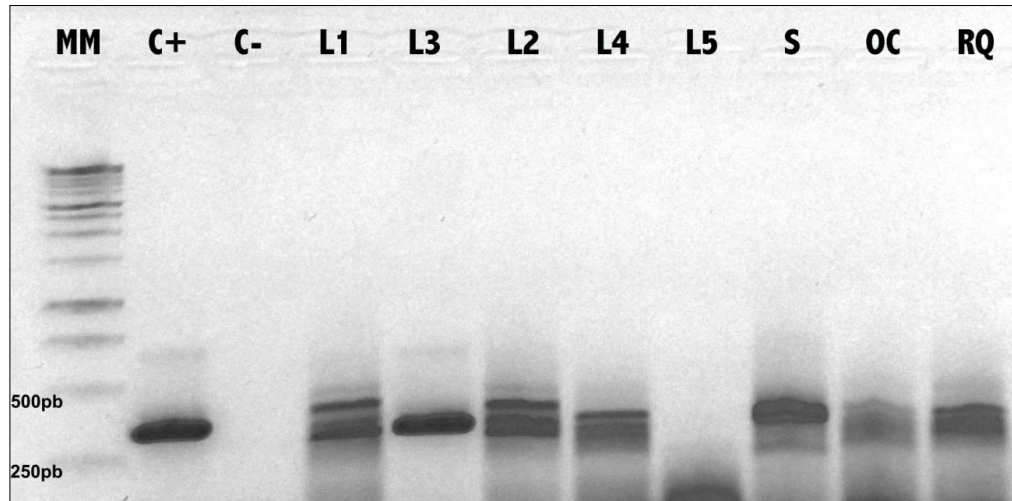
Para a detecção de possíveis espécies de begomovírus e potyvírus em fisális foram realizadas reações de PCR utilizando oligonucleotídeos universais. Não foram observadas amplificações nos testes moleculares de PCR realizados para todas as amostras testadas, indicando a ausência de patógenos virais pertencentes aos gêneros *Begomovirus* e *Potyvirus* (dados não mostrados).

Descartada a possibilidade de infecção por *Begomovirus*, *Potyvirus*, *Potato virus X* (PVX) e *Potato leafroll virus* (PLRV) nos testes sorológico e molecular, nova tentativa de caracterização molecular foi realizada utilizando oligonucleotídeos universais para o gênero *Orthotospovirus*. Conforme observado na Figura 6, houve a ocorrência de amplificação de fragmentos de tamanho próximo ao esperado (453 pb).

Também foi observado para maioria das amostras (exceto L3 e L5) a amplificação de fragmentos de tamanho inespecíficos. Na amostra L5 não foram visualizadas amplificações e, na amostra L3 ocorreu a amplificação apenas do fragmento de tamanho esperado (440pb). Para confirmar os resultados, os produtos de RT-PCR das amostras L1, L3, e S, foram purificados, sequenciados e submetidos ao algoritmo BLAST (NCBI), mas não apresentaram identidade parcial com nenhuma sequência de *Orthospovirus* contida no GenBank (exceto a amostra L3), sugerindo que todas as bandas purificadas eram resultado de amplificação inespecífica. A sequência parcial (306 pb) obtida no sequenciamento da amostra L3 apresentou identidade de nucleotídeos de 96% (com cobertura de 95%, E-value: $1e^{-60}$) com a espécie viral *Groundnut ringspot virus* (GRSV, n° de acesso: KY400110), pertencente ao gênero *Orthospovirus*.

Utilizando o par de oligonucleotídeos BR035 e PDH006 apenas para a amostra L1 (a qual foi utilizada na caracterização biológica e nos testes de comparação de plantas), obteve-se um fragmento de aproximadamente 500pb (dados não mostrados). Este fragmento de DNA foi purificado e enviado para sequenciamento. A sequência parcial (190pb) obtida no sequenciamento apresentou identidade de nucleotídeos de 77% (com cobertura de 35%, E-value: 0,27) com a espécie viral *Soybean yellow common mosaic virus* (SYCMV, n° de acesso: KX096577), pertencente ao gênero *Sobemovirus*. Apesar da identidade de nucleotídeos ser relativamente alta, outros parâmetros como a cobertura e a probabilidade da sequência obtida alinhar com o SYCMV foram baixos (cobertura de 35%, E-value: 0,27). Este resultado indica que o par de oligonucleotídeos utilizado para detecção de espécies de *Orthospovirus* amplificou um fragmento de uma espécie viral de outro gênero, o que não é comum.

Figura 6 - Eletroforese em gel de agarose (1,0%) dos produtos da PCR para a detecção de espécies do gênero *Orthotospovirus*, utilizando os oligonucleotídeos universais BR60 e BR65.

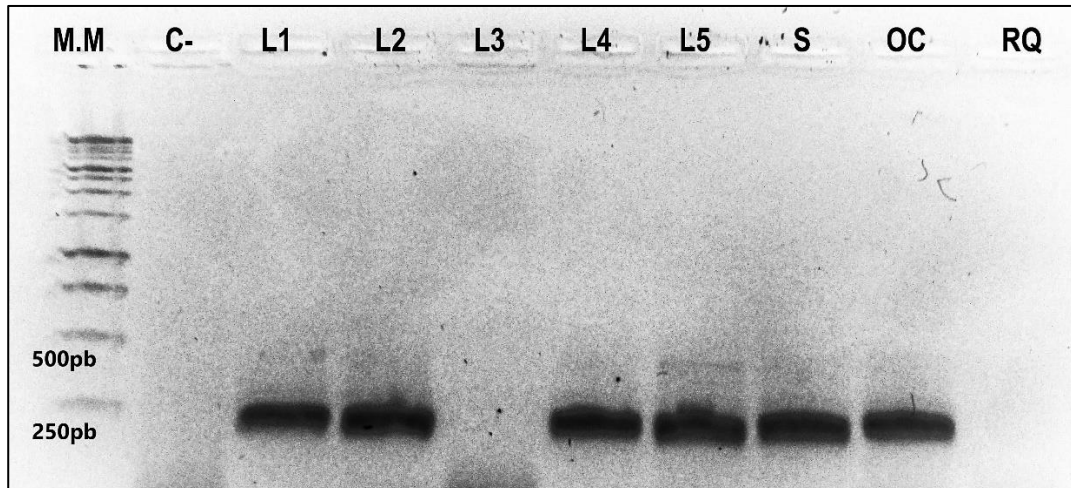


MM: marcador molecular 1kb (Promega); C+: controle positivo (cDNA obtido a partir de RNA total de planta de *Physalis* sabidamente infectada por um tospovírus, gentilmente cedido pelo Dr. Marcelo Eiras); C-: controle negativo (planta sadia, sem sintomas); L1 a L5: amostras de Lages; S: sementes da amostra Lages 1 (L1); OC: amostra de Otacilio Costa e RQ: amostra de Rancho Queimado.
Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Diante do resultado do sequenciamento, utilizou-se os oligonucleotídeos universais para detecção de espécies pertencentes ao gênero *Sobemovirus*. A reação de RT-PCR resultou em amplificações de fragmentos de aproximadamente 300 pb na maioria das amostras, com exceção apenas para L3 e RQ (planta assintomática), nas quais, não foram visualizadas amplificações (Figura 7). As amostras L1 e S foram selecionadas para sequenciamento. As sequências consenso obtidas apresentaram identidade de nucleotídeos de 74% (com cobertura de 99%, E-value: $2e^{-37}$) com a espécie viral *Velvet tobacco mottle virus* (VTMoV, nº de acesso: HQ680387), pertencente ao gênero *Sobemovirus*. Este resultado direcionou o desenho de iniciadores específicos para a espécie VTMoV.

Utilizando os iniciadores ORF2b e ORF 3 foram obtidos fragmentos de 1694 pb e 871pb, compatível com o tamanho esperado (Figura 8). Em contrapartida, não houveram amplificações com os iniciadores desenhados para as ORF1 e ORF2a. O sequenciamento dos fragmentos obtidos das ORF's 2b e 3, foram inconsistentes, não resultando em sequências de qualidade. Tais resultados sugerem a presença do VTMoV como agente causal dos sintomas em *Physalis* no estado de Santa Catarina, porém é necessária uma análise mais detalhada para confirmação da espécie viral.

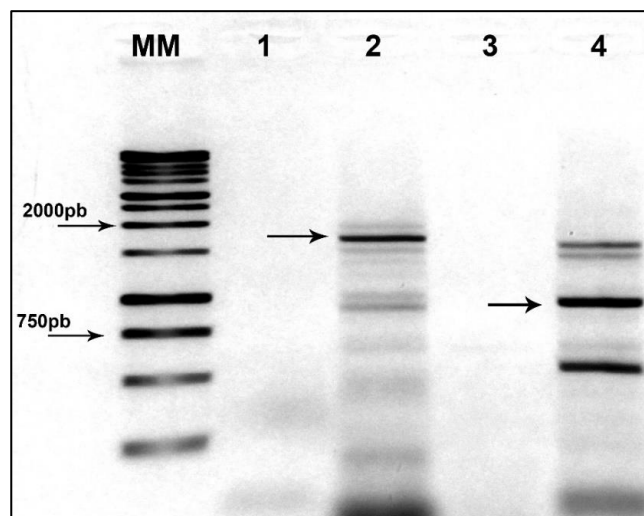
Figura 7 - Eletroforese em gel de agarose (1,0%) dos produtos da PCR para a detecção de espécies do gênero *Sobemovirus*, utilizando os oligonucleotídeos universais SOBDF2 e SOBDR2.



MM: marcador molecular 1kb (Promega); C+: controle positivo; C-: controle negativo; L1 a L5: amostras de Lages; S: sementes da amostra Lages 1; OC: amostra de Otacilio Costa e RQ: amostra de Rancho Queimado.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Figura 8 - Eletroforese em gel de agarose (1,0%) dos produtos da PCR para a detecção da espécie *Velvet tobacco mottle virus* (VTMoV), utilizando oligonucleotídeos específicos para as regiões codificadoras da RNA polimerase dependente de RNA - ORF2b (ORF2bF e ORF2bR) e para a capa proteica - ORF3 (ORF3F e ORF3R).



MM, marcador molecular 1kb (Promega); 1, controle negativo com o iniciador ORF2b (Branco); 2, Amostra L1 com o iniciador ORF2b; 3, controle negativo com o iniciador ORF3 (Branco); 4, Amostra L1 com o iniciador ORF3. Fragmentos positivos estão indicados com as setas.

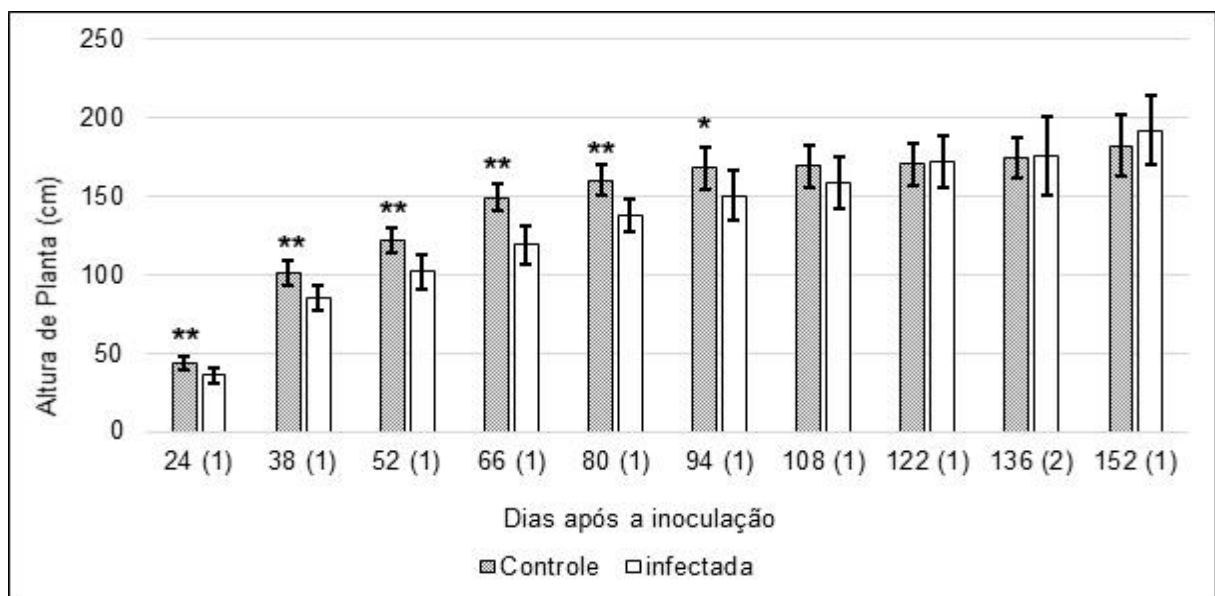
Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

4.4 COMPARAÇÃO ENTRE PLANTAS CONTROLE E INFECTADAS PELO VÍRUS DESSE ESTUDO

Para quantificar os danos causados pelo sobemovírus, foram realizadas uma série de avaliações de parâmetros morfológicos e fisiológicos em plantas controle (plantas inoculadas apenas com o tampão, porém sem inoculo) e plantas inoculadas com extrato vegetal tamponado obtido a partir de plantas sintomáticas de *Physalis peruviana*. O vírus mostrou causar interferência no desenvolvimento das plantas, tanto na fase vegetativa quanto na fase reprodutiva, com exceção aos índices de fotossíntese, onde não foram observadas diferenças significativas.

Houve diferença significativa na altura de plantas até os 94 DAI, sendo que a partir desta data não houve diferença estatística entre os dois tratamentos (Figura 9). Adicionalmente, observou-se redução significativa na área foliar das plantas inoculadas, durante todos os períodos avaliados (Figura 10).

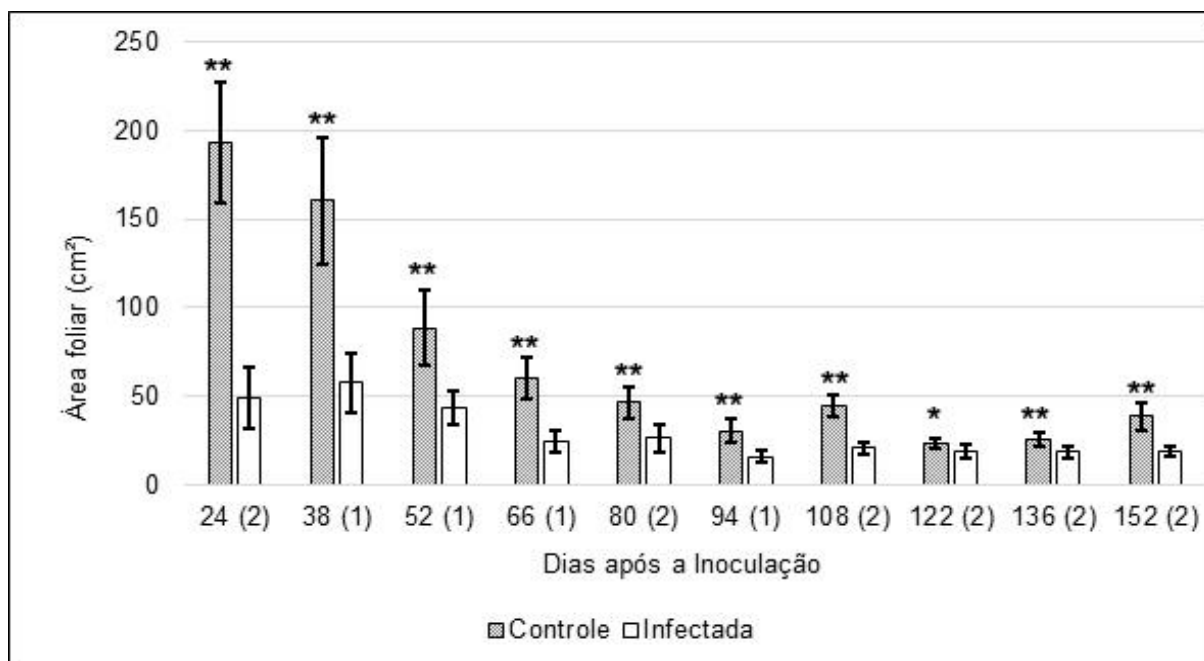
Figura 9 - Altura de plantas de *Physalis peruviana* nos tratamentos controle e infectadas com uma espécie do gênero *Sobemovirus* em diferentes dias após a inoculação (DAI).



⁽¹⁾Teste t Bilateral para as diferenças entre as médias amostrais. ⁽²⁾Teste Wilcoxon-Mann-Whitney, para as diferenças entre medianas amostrais. ns, Não significativo. * e **Significativo a 5% e a 1% de probabilidade, respectivamente.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

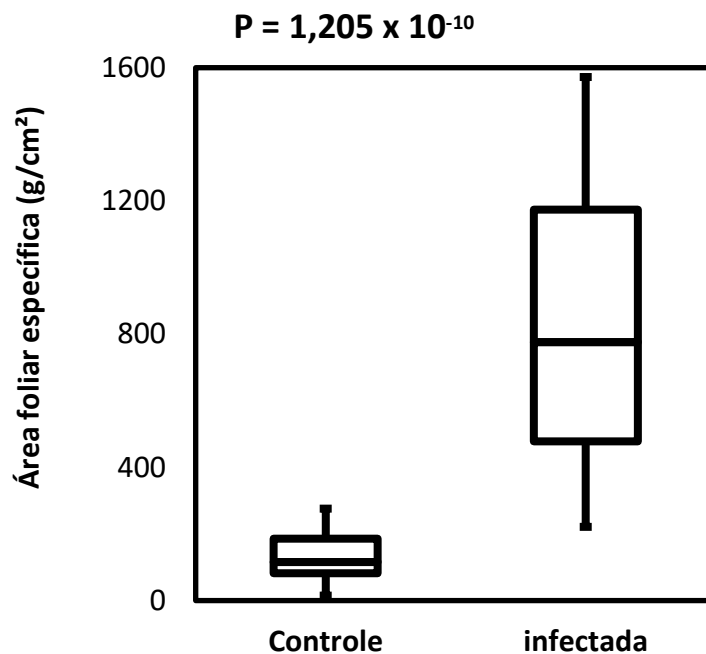
Figura 10 - Área foliar de *Physalis peruviana* (plantas controle e infectadas com o vírus desse estudo) nos diferentes dias após a inoculação (DAI).



(¹)Teste t Bilateral para as diferenças entre as médias amostrais. (²)Teste Wilcoxon-Mann-Whitney, para as diferenças entre medianas amostrais. ns Não significativo. * Significativo a 5% de probabilidade ** Significativo a 1% de probabilidade.
Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Na comparação entre as áreas foliares específicas, as plantas inoculadas apresentaram valores variando entre 221 até 1570,2 cm²/g, enquanto os valores máximos observados nas plantas controle foram de 276,64 cm²/g, mostrando um acúmulo de massa seca significativamente menor em folhas de plantas inoculadas (Figura 11).

Figura 11 - Área foliar específica de *Physalis peruviana* (plantas controle e infectadas com o vírus desse estudo) em 125 dias após a inoculação.



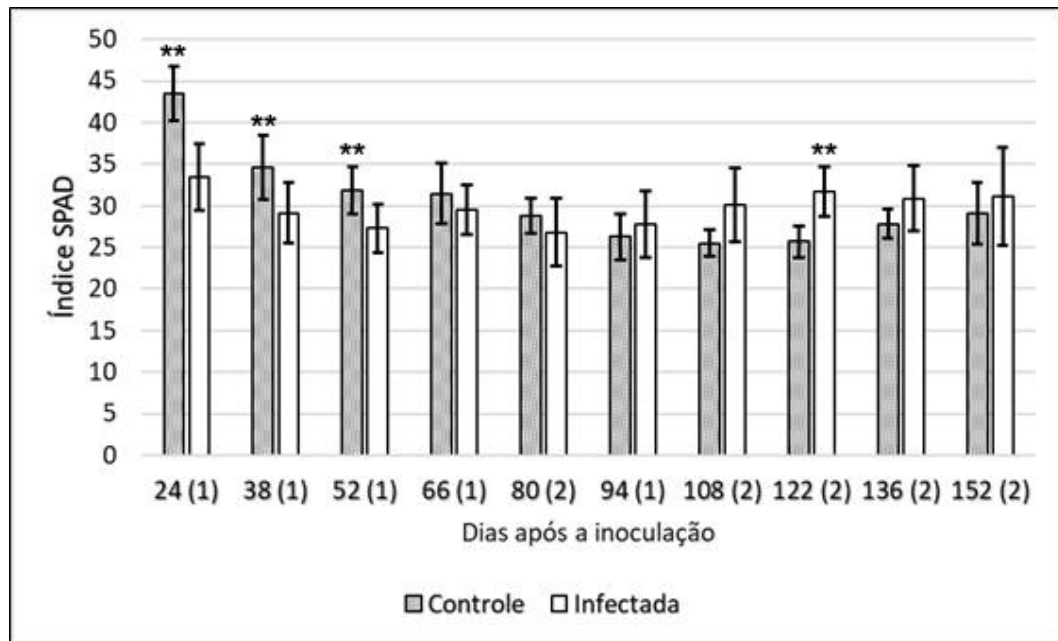
⁽¹⁾ Teste Wilcoxon-Mann-Whitney, para a diferença entre medianas amostrais. $P < 0,05$: Significativo a 95% de significância; $P < 0,01$: significativo a 1% de significância.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

O índice SPAD nas folhas foram os que mais variaram. Nas três primeiras avaliações, foram observados maiores índices em plantas controle, após isso, não houveram diferenças significativas até 122 DAI, quando observou-se maiores índices nas plantas infectadas. Durante as avaliações seguintes (136 e 152 DAI), não foram observadas diferenças significativas entre os dois tratamentos (Figura 12).

No início da infecção houve uma redução no índice SPAD em plantas infectadas comparadas as plantas controle. Em estágios mais avançados da infecção, de maneira geral, não houveram diferenças significativas nesse parâmetro, com exceção para os 122DAI, quando ocorreram diferenças significativas com as plantas infectadas apresentando maior índice SPAD.

Figura 12 – Índice SPAD em folhas de *Physalis peruviana* (plantas controle e infectadas com o vírus desse estudo) nos diferentes dias após a inoculação (DAI).



(¹)Teste t Bilateral para as diferenças entre as médias amostrais. (²)Teste Wilcoxon-Mann-Whitney, para as diferenças entre medianas amostrais. ^{ns} Não significativo. **Significativo a 1% de probabilidade.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Para verificar se a quantidade de clorofila em plantas infectadas estaria relacionada a maior taxa fotossintética, foram realizadas duas avaliações de parâmetros relacionados a trocas gasosas e fluorescência da clorofila a (aos 80 e 111 DAI) nas plantas controle e inoculadas com o vírus. Tanto os parâmetros de trocas gasosas quanto os parâmetros de fluorescência da clorofila a não diferiram entre os dois tratamentos (Tabela 5), indicando que a atividade fotossintética não foi alterada em plantas inoculadas com o vírus em 80 e 111 DAI.

Tabela 5 - Variáveis relativas a fotossíntese em *Physalis peruviana* (plantas controle e infectadas com o vírus desse estudo).

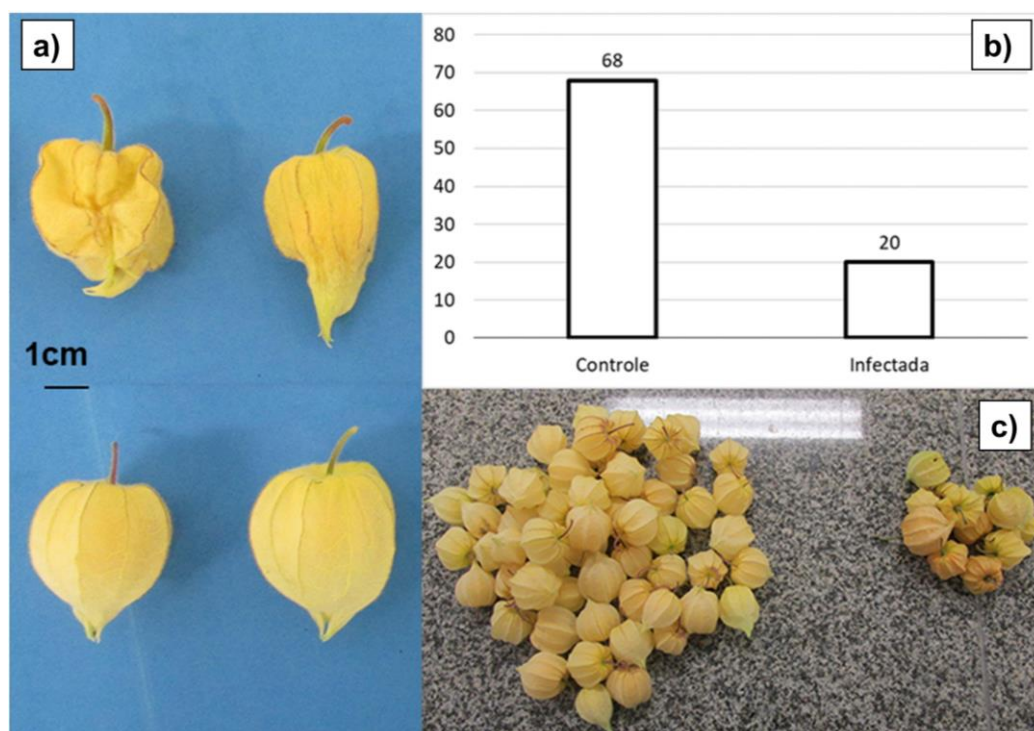
Variáveis	80DAI		CV	Significância	111DAI		CV	Significância
	Controle	Infectadas			Controle	Infectadas		
A	8,80±0,75	10,54±2,50	20,4	ns	7,85±2,58	6,08±2,71	36,3	Ns
Gs	0,18±0,03	0,17±0,06	25,8	ns	0,16±0,05	0,13±0,05	34,6	Ns
E	3,06±0,40	2,91±0,95	23,2	ns	2,49±1,00	2,14±0,91	37,8	Ns
ETR	101,75±2,70	121,48±18,21	14,4	ns	87,74±24,26	84,40±16,85	21,8	Ns
ΦPSII	0,29±0,01	0,35±0,05	14,6	ns	0,25±0,07	0,24±0,05	21,7	ns

A = Assimilação líquida de CO₂ (Fotossíntese); Gs = Condutância estomática; E = Transpiração; ETR = Taxa de transporte de elétrons; ΦPSII = Rendimento quântico de conversão de energia fotoquímica do PSII. Foi utilizado o Teste t Bilateral comparando diferenças entre as médias amostrais.
^{ns} Não significativo. CV, coeficiente de variação.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Além dos parâmetros vegetativos e fisiológicos descritos anteriormente, também foram avaliados os danos aos frutos. A infecção viral influenciou significativamente na quantidade e na qualidade dos frutos colhidos. Pode-se observar em plantas infectadas um atraso de 10 dias para o início da colheita de frutos, sendo que todos frutos apresentaram deformações (Figura 13A). As parcelas infectadas produziram em média 20 frutos em comparação aos 68 das parcelas controle, tendo uma redução na produção por parcela de 70% (Figuras 13B e 13C).

Figura 13 – Aparência visual de frutos colhidos de plantas infectadas e quantidade média produzida nas plantas controle e infectadas. a) Frutos deformados colhidos de plantas infectadas (Acima) e frutos colhidos de plantas sadias (Abaixo). b) Quantidade média de frutos colhidos durante o experimento de comparação de plantas controle e inoculadas. c) Comparação de quantidade de frutos colhidos aos 125 DAI.

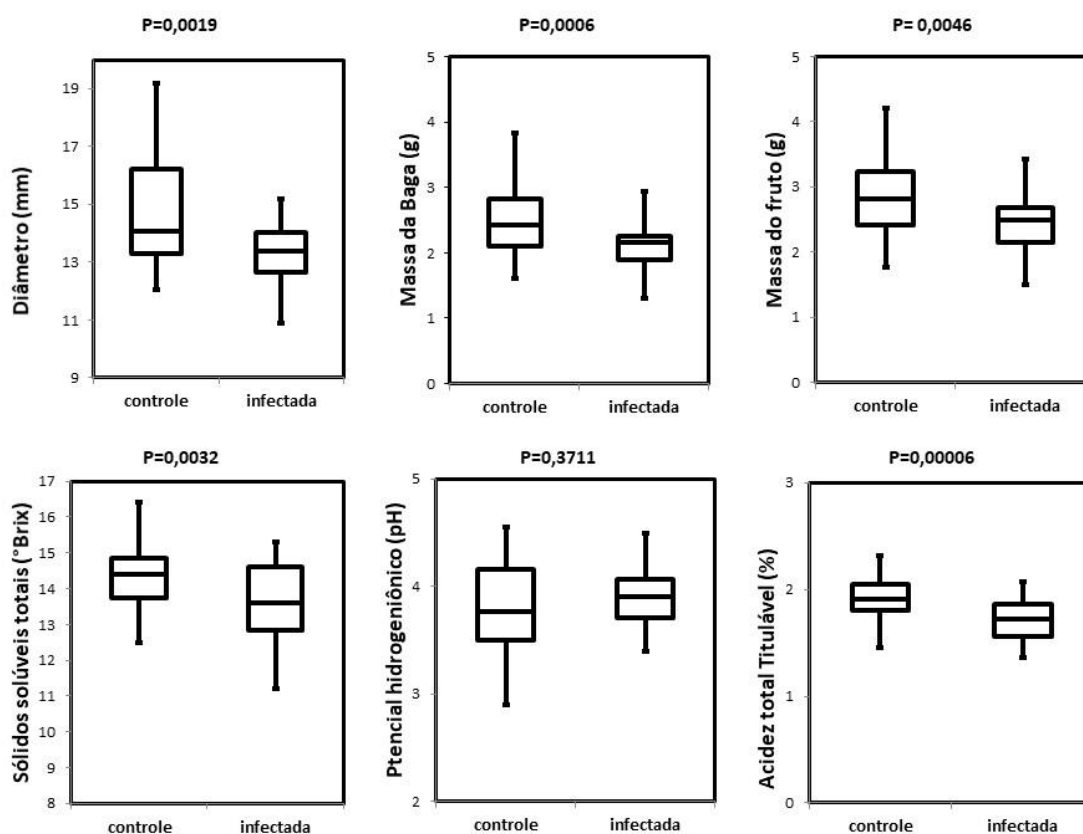


Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Na avaliação da qualidade de frutos, foram observadas reduções de 8% no diâmetro da baga frutos, de 5% na quantidade de sólidos solúveis totais e de 9,4% na acidez. Porém, as maiores diferenças ocorreram na massa de frutos

(pendão, cálice e baga), com plantas controle apresentando uma média de 2,85g, contra 2,45g das plantas inoculadas, com uma redução de 14%. Considerando-se apenas a baga, o percentual de redução se manteve em torno de 16%, mostrando as diferenças de massa estão concentradas principalmente na baga. Apenas para a variável pH não foram visualizadas diferenças significativas (Figura 14).

Figura 14 - Parâmetros qualitativos e quantitativos de frutos de *Physalis peruviana* obtidos de plantas controle e infectadas com o vírus desse estudo.



As variáveis: diâmetro da baga, massa da baga, massa do fruto (baga+cálice+pendão) e pH foram submetidas ao teste Wilcoxon-Mann-Whitney, para a diferença entre medianas amostrais; enquanto as variáveis sólidos solúveis totais e Acidez total titulável foram submetidas ao teste t bilateral para a diferença entre médias amostrais. P<0,05: Significativo a 95% de significância; P<0,01: significativo a 1% de significância.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

5 DISCUSSÃO

Os dados apresentados neste trabalho demonstraram a presença de uma espécie pertencente ao gênero *Sobemovirus* ainda não relatada no Brasil e não relatada em *P. peruviana* no mundo, fornecendo informações de extrema relevância na caracterização biológica e molecular desse vírus. Além disso, as comparações de aspectos vegetativos, fisiológicos, de quantidade e qualidade de frutos de *P. peruviana* trazem mais subsídios ao impacto de infecções virais em espécies vegetais cultivadas.

A cultura da fisális (*P. peruviana*) é emergente no Brasil no que diz respeito ao seu cultivo e comercialização de frutos. Essa característica está intimamente relacionada à falta de estudos científicos tanto no aspecto fitotécnico quanto sanitário para atingir seu potencial produtivo pleno, especialmente relativos a doenças de etiologia viral, as quais devem ser diagnosticadas em estágios iniciais (no viveiro), pois não existem medidas curativas a serem aplicadas em larga escala. Por isso, é fundamental a caracterização de espécies virais associadas a essa cultura, propiciando ao setor produtivo o uso de ferramentas adequadas de diagnóstico, bem como material propagativo de maior qualidade fitossanitária.

A identificação sintomatológica de viroses é difícil, pois diferentes espécies podem produzir sintomas semelhantes, ou expressar sintomas diferentes de acordo com variações ambientais. Por este motivo, nos testes preliminares de identificação, como a gama de hospedeiros, é necessário um número amplo de espécies indicadoras para uma melhor caracterização biológica da espécie viral em questão. A caracterização biológica, baseada no teste de gama de hospedeiros, deve ser realizada em conjunto com outras técnicas, como a sorologia (teste ELISA) e caracterização molecular (RT-PCR). No presente trabalho, não foi possível determinar com clareza o gênero do patógeno viral utilizando a indexação biológica, pois em todas as espécies indicadoras testadas, somente parte dos sintomas foram semelhantes aos relatados para a maioria das espécies virais já descritas na fisális (ANTIGNUS et al., 1997; ARTHUR et al., 2010; BARBOSA et al., 2011; BERNIAK, 2016; D'AQUINO et al., 1995; EIRAS et al., 2002; MANSOUR et al., 1992; MACDONALD e SINGH, 1996; MOURA, 2013; PURCIFULL e EDWARDSON, 1981; SANTOS et al., 2004;

SALOMONE e ROGGERO, 2002; SHORT e DAVIS, 1987; TRUTA et al., 2003; WEBSTER et al., 2015). No entanto, o teste de gama de hospedeiros auxiliou no direcionamento de alvos para a investigação no teste molecular de RT-PCR.

Barbosa et al. (2011) e Mansour et al. (1992), não visualizaram sintomas nas cultivares de fumo 'TNN', 'Samsun' e 'White burley', quando inoculadas com espécies do gênero *Begomovirus*. Diferentemente destes, Santos et al. (2004) relatou sintomas de clareamento de nervura e mosqueado nas cultivares 'TNN' e 'Xanthi' respectivamente, quando inoculadas com espécies do mesmo gênero viral. D'Aquino et al. (1995); Macdonald e Singh (1996) e Truta et al. (2003), relataram a ocorrência de mosaico em plantas nas cultivares 'Samsun', 'TNN' e 'White burley', quando inoculadas com PVY, convergendo com o visualizado no teste de gama de hospedeiros deste trabalho (Tabela 4). Porém, os mesmos autores relatam a ocorrência de clareamento de nervura, sintoma que não foi visualizado em nenhuma das espécies e cultivares de *Nicotiana* testadas (Tabela 4). Outra divergência está nos sintomas de mosaico e clareamento de nervura, observados por D'Aquino et al. (1995) em *N. tabacum* 'Xanthi' e *Nicotiana silvestris*, diferindo do observado no teste de gama de hospedeiros deste trabalho, no qual, estas espécies desenvolveram uma reação de hipersensibilidade (Figura 4 e Tabela 4).

Para o gênero *Orthospovirus*, parte dos sintomas relatados em espécies de *Nicotiana* diferiram do observado. Antignus et al. (1997) e Berniak (2016) relataram o desenvolvimento de sintomas de necrose e distorção foliar na cultivar de fumo 'Samsun', inoculadas com *Tomato spotted wilt virus* (TSWV). Além deste caso, Berniak (2016), observou os mesmos sintomas em *N. tabacum* 'Xanthi', *N. glutinosa* e *N. clevelandii*. Webster et al. (2015) relataram o desenvolvimento de clorose e mancha anelar em plantas indicadoras de *Nicotiana tabacum* 'Xanthi' inoculadas com *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV). Segundo Eiras et al. (2002), os sintomas típicos de *Orthospovirus* em *Nicotiana* spp. são mosaico e necrose, sendo o primeiro observado em todas as espécies que desenvolveram sintomas sistêmicos, com exceção da espécie *N. debneyi*, a qual foi a única em que foi observada necrose. Sintomas de mosaico foram relatados também para PVX em *Nicotiana tabacum* (PURCIFULL e EDWARDSON, 1981; SHORT e DAVIS, 1987) e para as espécies *N. clevelandii*

e *N. glutinosa* inoculadas com o *Sobemovirus Velvet tobacco mosaic virus* (ARTHUR et al., 2010).

A ocorrência de mosqueado associado a mosaico, visualizado na cultivar de tomate 'Santa Clara', assemelhou-se com os relatos de sintomatologia dos *Potyvirus* (MACDONALD e SINGH, 1996; MOURA, 2013; TRUTA et al., 2003), porém os sintomas de mosaico e clorose internerval em tomate 'Santa Cruz' (Figura 4 e Tabela 4), convergem apenas com o observado para os gêneros *Begomovirus*, *Orthotospovirus* e *Potexvirus*. Outros sintomas típicos relatados para os gêneros virais citados, como deformação foliar, nanismo, mosaico rugoso e mancha anelar, não foram visualizados em nenhuma das plantas de tomate testadas (ANTIGNUS et al., 1997; D'AQUINO et al., 1995; SALOMONE e ROGGERO, 2002; SANTOS et al., 2004; WEBSTER et al., 2015).

As divergências descritas acima, sugerem que o vírus caracterizado neste trabalho pertence a um gênero diferente dos que já foram relatados na cultura do fisális. A caracterização biológica demonstrou novas informações de um grupo importante de vírus, os sobemovírus, os quais carecem de informações nesse sentido. Relatos de hospedeiros alternativos para espécies do gênero *Sobemovirus* são compostos de poucas espécies indicadoras, ou estão restritos a espécies do mesmo gênero do hospedeiro principal (ARTHUR et al., 2010; NAM et al., 2012; NASCIMENTO et al., 2010; SÔMERA et al., 2015).

Os resultados obtidos no teste sorológico ELISA direto, corroboram com o observado no teste de gama de hospedeiros, confirmando a ausência dos vírus *Potato virus X* (PVX, gênero *Potexvirus*), *Potato virus Y* (PVY, gênero *Potyvirus*) e *Potato leafroll virus* (PLRV, gênero *Polerovirus*) em todas as amostras testadas. Nos casos de PVX e PVY, apenas parte dos sintomas típicos relatados na literatura foram reproduzidos nas plantas indicadoras. Adicionalmente, a máxima eficiência de transmissão via extrato vegetal tamponado observada, sugere a ausência de PLRV, uma vez que essa espécie viral é restrita ao floema, sendo transmitida através de outras técnicas, como o uso do vetor *Myzus persicae* (THOMAS; HASSAN, 2002).

Na caracterização molecular foram utilizados iniciadores universais para detecção de espécies de *Begomovirus*, *Orthotospovirus*, *Potyvirus* e *Sobemovirus*. Espécies virais dos três primeiros gêneros descritos acima já foram relatadas em associação com fisális no mundo. De fato, o diagnóstico

molecular foi direcionado para estes três gêneros, porém, o resultado atípico de sequências obtidas a partir da utilização de oligonucleotídeos universais para espécies do gênero *Orthospovirus*, conduziu para a caracterização molecular para o gênero *Sobemovirus*.

Não se observaram amplificações de fragmentos de DNA de tamanho esperado quando foram utilizados oligonucleotídeos para espécies dos gêneros *Begomovirus* e *Potyvirus*, descartando a possibilidade de infecção por esses vírus das plantas de fisális analisadas neste trabalho. Quanto ao gênero *Orthospovirus*, apesar da amplificação de fragmentos de DNA com tamanho esperado (Figura 7), o sequenciamento dos fragmentos amplificados confirmou a ausência de espécies de *Orthospovirus* nas amostras testadas. Estes resultados estão em desacordo aos observados por Eiras et. al (2012), os quais relataram a ocorrência de TCSV (*Orthospovirus*) em amostras de *P. peruviana* coletadas no Rio Grande do Sul. As divergências observadas na caracterização molecular também foram observadas no teste de gama de hospedeiros, indicando que as plantas de fisális analisadas neste trabalho não estão infectadas por espécies do gênero *Orthospovirus*.

Além do resultado positivo obtido na caracterização molecular para *Sobemovirus* em plantas infectadas, foi possível observar também a presença do vírus na amostra S, composta por sementes de fisális obtidas da amostra L1. Esse resultado traz um forte indício de que a espécie viral estudada pode ser transmitida pela semente, uma vez que as espécies de *Sobemovirus* SBMV, SCPMV, SoMV e SCMoV são transmitidas por sementes, com as partículas virais presentes mais no tegumento do que no embrião (BOS e HUIJBERTS, 1996; JONES, 2013; SHEPERD e FULTON, 1962; UYEMOTO e GROGAN, 1977). Estudos adicionais são necessários para confirmar a localização do vírus desse estudo na semente, além da taxa de transmissão.

Os resultados observados no teste molecular utilizando iniciadores específicos para VTMoV resultaram em amplificações do tamanho esperado apenas para as ORF's 2B e 3 (Figura 8), porém, o sequenciamento de ambos os fragmentos foram inconsistentes. Segundo Truve e Fargette (2012), para identificar uma espécie de *Sobemovirus*, é necessário o genoma completo do vírus em questão, portanto, a obtenção do genoma utilizando técnicas mais

modernas, como o sequenciamento de nova geração, são necessárias para a confirmação da espécie viral em questão.

Infecções virais em plantas afetam negativamente os processos da célula vegetal, uma vez que os vírus dependem completamente da maquinaria celular do hospedeiro para completarem seu ciclo (HULL, 2013). Durante o processo infeccioso uma série de interações entre proteínas virais e da planta hospedeira conduzem a alterações celulares e morfológicas, resultando nos sintomas e conduzindo a ocorrência de danos. Nesse sentido, parâmetros vegetativos e reprodutivos foram avaliados em plantas controle (sadias) e plantas inoculadas com o vírus deste estudo.

As plantas infectadas apresentaram alterações na altura das plantas (Figura 9), na área foliar média (Figura 10), na área foliar específica média (Figura 11) e oscilação no índice SPAD (relacionado com a clorofila) (Figura 12), que acarretaram no decréscimo da produção (Figura 13) e da qualidade de frutos (Figura 14). Segundo Sampol et al. (2003) e Zhao et al. (2016), tais alterações podem estar associadas com desordens causadas pela infecção viral, afetando a regulação de atividades enzimáticas, o balanço hormonal, a fotossíntese, a respiração e o transporte de fotoassimilados, resultando em uma diversidade de sintomas.

As maiores diferenças na quantificação de clorofila ocorreram durante as 3 primeiras avaliações (até 52 DAI) (Tabela 7). Neste mesmo período, foram observados os sintomas mais severos e as maiores diferenças nas variáveis altura de plantas e área foliar (Figuras 9 e 10). A partir desses dados, pode-se afirmar que o vírus utilizado neste trabalho de alguma forma interfere na produção de clorofila das células do mesófilo foliar .

Sintomas de desvios de cor são comuns em infecções virais, e desde os anos 40 são relatados em diversos trabalhos como resultado de distúrbios na estrutura e funções de componentes dos cloroplastos (ZHAO et al. 2016). Várias mudanças na fisiologia da planta podem levar ao aparecimento de sintomas visíveis, como: (I) - redução da eficiência dos fotossistemas; (II) – redução da quantidade de clorofila; (III) – maior acúmulo de fotoassimilados nas folhas; (IV) – alterações morfológicas nos cloroplastos e (V) – alteração na expressão de genes relacionados com a fotossíntese (ALMON et al., 1997; BALACHANDRAN et al., 1994; BHAT et al, 2013; LEHTO et al., 2003; MOCHIZUKI et al., 2014;

OUTLAK et al., 2015). De fato, uma redução na quantidade de clorofila foi observada nos estádios iniciais da infecção viral, porém para averiguar as possíveis causas dessa redução, deve-se avaliar os parâmetros relacionados a fotossíntese nos estádios iniciais da infecção viral, observar possíveis diferenças morfológicas através de microscopia eletrônica, bem como mensurar quantidades de açúcares em folhas de plantas infectadas.

Raramente espécies de *Sobemovirus* foram encontradas em interação com cloroplastos, com exceção de dois relatos das espécies *Southern bean mosaic virus* (SBMV) e *Rice yellow mottle virus* (RYMV), resultando em mudanças degenerativas, dependendo da quantidade de partículas virais presentes no citoplasma (BRUGIDOU et al., 2002; OPALKA et al., 1998; WEINTRAUB e RAGETLI, 1970).

Outra possível causa das diferenças observadas em parâmetros vegetativos, reprodutivos e quantidade de clorofila (estádios iniciais da infecção), pode estar relacionada a um desbalanço hormonal induzido pela infecção viral. Padmanabhan et al. (2006), relatou o agravamento de sintomas causados por *Tobacco mosaic virus* (TMV) em plantas de *Arabidopsis thaliana*, devido a interação da replicase viral com auxinas da planta hospedeira. A interação com auxina impediu que esse hormônio atuasse na ativação da transcrição de genes relacionados a defesa das planta. Além deste exemplo, há também o da interação de *Rice dwarf virus* (RDV) com plantas de arroz, no qual o vírus inibe a expressão de genes envolvidos na síntese do ácido indol acético (AIA), resultando em sintomas de nanismo (MEDEIROS et al., 2015).

Estudos em fumo mostraram um incremento na produção de citocinina em resposta a infecções por TMV, juntamente com o incremento de componentes de defesa vegetal, como o ácido salicílico (KAMADA et al., 1992). Mais recentemente, Choi et al. (2010) relatou que as citocininas produzidas pela planta possuem um papel importante na resposta de defesa a infecções por patógenos, por estarem envolvidas na sinalização para a via catabólica de ácido salicílico em *A. thaliana*, mostrando que as citocininas desempenham um papel importante na defesa vegetal. Este hormônio atua nos processos de divisão celular, formação de cloroplastos, estabelecimento das relações fonte e dreno, e na quebra de dominância apical, quando relacionadas com as auxinas (TAIZ; ZIEGER, 2013), gerando sintomas de perda de dominância apical, retardamento

de senescência foliar e atraso na floração (IGARI et al., 2008). Tais relatos podem ser uma possível explicação para o incremento na quantidade de clorofila observado aos 122 dias, embora não tenha sido realizada a quantificação de hormônios nas plantas dos tratamentos avaliados.

Não existem relatos envolvendo desbalanços hormonais a partir de infecções causadas por *Sobemovirus*, porém, é sabido que esses vírus tem a capacidade de interagir com proteínas envolvidas no metabolismo e na rota de compostos relacionados a defesa celular, podendo acarretar em uma alteração do estado hormonal na célula infectada (BRIZARD et al., 2006).

As quantidades de clorofila observadas em plantas infectadas apresentaram pouca variação, enquanto os valores referentes as plantas controle sofreram redução ao longo das avaliações (Figura 12). As plantas controle foram mais vigorosas, produziram uma maior quantidade de frutos e, tendo portanto uma maior quantidade de drenos. Segundo Taiz e Zieger (2013), a força de um dreno é determinada pela quantidade de alocação de nutrientes para ele, pela sua massa total, e pelo suprimento de carboidratos na planta; com a distribuição variando de acordo com o número e tipos de dreno. Tal fator pode ter minimizado as diferenças entre os tratamentos, pois ao longo do tempo, as plantas controle apresentaram uma maior quantidade de drenos, requerendo uma maior quantidade de nutrientes e espaço para crescimento de raízes.

Com o objetivo de avaliar a eficiência e funcionalidade da fotossíntese para os dois tratamentos após não terem sido mais observadas diferenças significativas nos dados de clorofila, os parâmetros relacionados as trocas gasosas e a fluorescência da clorofila foram quantificados aos 80 e 111 DAI. Apesar da ausência de diferenças significativas entre os tratamentos, não pode-se afirmar a ausência de interferência do vírus na fotossíntese, pois as diferenças podem ter sido atenuadas devido a uma recuperação das plantas inoculadas ou o decréscimo no vigor das plantas controle. Avaliações dos parâmetros supracitados em estágios iniciais da infecção (até 52 DAI) devem ser realizados, uma vez que nesse período os sintomas foram mais severos.

Apesar da ausência de diferenças significativas nos parâmetros relacionados as trocas gasosas e a fluorescência da clorofila a (Tabela 5) e, das oscilações na quantidade de clorofila (Figura 12), a infecção viral causou uma

redução de 83,5% na área foliar específica (Figura 11) e de 70% na produção de frutos (Figura 13), afetando também a sua qualidade (Figura 14).

Utilizando a redução da produção observada nesse trabalho, foi realizado um cálculo de estimativa de danos e perdas por hectare, ressaltando que os dados obtidos aqui são de casa de vegetação. Utilizando-se uma densidade de plantio de 6666 plantas/ha a produção total estimada de frutos nas plantas sadias seria de 1,29 t/ha, contra apenas 0,33 t/ha de frutos produzidos de plantas infectadas (redução de 74%). O valor estimado de produção por hectare foi inferior ao observado por Muniz et al. (2011), pois o experimento foi conduzido em vasos e dentro de casa de vegetação, o que confere uma certa limitação de luminosidade e espaço para o crescimento das plantas. Em contrapartida, os valores foram semelhantes ao observado por Rodrigues et al. (2013), que obteve uma estimativa de 955 kg/ha.

Aplicando-se um preço de R\$ 12/kg de frutos, o valor bruto obtido por frutos produzidos de plantas sadias seria em torno de R\$15.438,00/ha, enquanto as plantas infectadas gerariam uma renda de 3.919,00/ha (redução de R\$ 11.518,84).

Apesar do mecanismo de movimento célula-a-célula de espécies de *Sobemovirus* ainda não ser conhecido (CHOWDHURY; SAVITHRI, 2010), este pode estar relacionado com a drástica redução na área foliar específica e produção de frutos, uma vez que, em outros gêneros virais, o movimento viral célula-a-célula se dá através da interação de proteínas com os plasmodesmas, resultando em interferências na translocação de fotoassimilados através desses canais de uma célula para a outra (LALONDE et al., 2003).

Este fato, aliado à replicação e à concentração dos vírus nos tecidos do floema (movimento viral a longa distância), poderia resultar em desorganização e alterações de células e tecidos. As alterações resultariam em efeitos negativos sobre a translocação de fotoassimilados, levando ao acúmulo de amido nas folhas (BASSO et al., 2010; GONÇALVES et al., 2005; LALONDE et al., 2003) e causando um efeito de retro inibição através do produto final, o que também pode causar sintomas de desvios de cor (TAIZ; ZIEGER, 2013).

As espécies de *Sobemovirus* podem utilizar ambos os tecidos do floema e xilema para o transporte a longa distância (SÔMERA et al., 2015), porém para *Cocksfoot mottle virus* (CfMV), SBMV e *Southern cowpea mosaic virus*

(SCPMV), os tecidos do floema são os mais utilizados (MORALES et al., 1995; OTSUS et al., 2012; WEINTRAUB e RAGETLI,1970). A hipótese que o movimento do vírus na planta poderia estar influenciando no transporte de fotoassimilados e no acúmulo de amido, poderia ser testada com a quantificação de amido nas folhas de plantas controle e plantas infectadas com o sobemovírus desse estudo.

Por ser uma cultura emergente, não existem estudos de avaliação de danos de infecções virais em *P. peruviana* e, para *Sobemovirus*, estudos foram feitos apenas para as espécies RYMV, com reduções de produtividade variando de 10 a 100% na cultura do arroz (*Oryza sativa*) em diversos países da África; e *Subterranean clover mottle virus* (SCMoV), com decréscimos variando entre 10 e 44% na produção de trevo subterrâneo (*Trifolium subterraneum*) na Austrália (JONES, 2013). Em outros patossistemas envolvendo solanáceas, pode-se observar resultados semelhantes, como a redução de 60% de frutos produzidos em plantas de tomate infectadas com *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV, *Begomovirus*) (GIORDANO et al., 2005); de 36,7%, 44,6% e 54% da produção de frutos para cultivares 'Magda', 'Amanda' e 'Rubia R' respectivamente, de pimentão, infectadas com *Tomato severe rugose virus* (ToSRV, *Begomovirus*) (ROCHA et al., 2012) e de até 100% em plantas de jiló infectadas com TCSV (EIRAS et al., 2002). Em frutíferas, observou-se a redução entre 10 a 20% na produção de frutos, em macieiras infectadas com *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV, *Trichovirus*) e de 28 a 63% em plantas de morangueiro infectadas com *Strawberry mild yellow edge virus* (SMYEV, *Potexvirus*) (LÉMOINE, 1990; TORRICO et al., 2017).

Além dos efeitos negativos sobre a produtividade, a infecção viral pode acarretar na redução da qualidade de frutos. Em fisális, as maiores reduções observadas foram de 14% na massa de frutos, o que resulta em perdas econômicas diretas ao produtor, uma vez que os frutos são vendidos por peso. Essa redução foi semelhante ao relatado por Nascimento et al. (2015). Esses autores verificaram diferenças significativas de 13% na massa média da baga de para plantas de videira assintomáticas e sintomáticas, da cultivar Cabernet Sauvignon, infectadas com os vírus *Grapevine virus A* (GVA, *Vitivirus*), *Grapevine virus B* (GVB, *Vitivirus*), *Grapevine rupestris stem pitting-associated virus* (GRSPaV, *Foveavirus*) e *Grapevine leafroll associated virus* (GLRaV,

Closterovirus). Basso et al. (2010), avaliando danos em cultivares de videira infectadas com GRSPaV e GLRaV, verificaram reduções de 14% e 16% em sólidos solúveis totais nas cultivares 'Cabernet Franc' e 'Cabernet Sauvignon', respectivamente. Diferente do observado para o sobemovírus infectando fisális, nenhum dos autores verificou alterações na acidez total titulável (BASSO et al., 2010; NASCIMENTO et al., 2015).

Apesar de atualmente a fisális ser cultivada em pequenas áreas, não se pode descartar o impacto econômico nas áreas de produção. O teste de gama de hospedeiros mostrou que o vírus é capaz de infectar espécies vegetais de importância econômica no Brasil, como *S. lycopersicum* e *C. annum*, e possivelmente outras solanáceas cultivadas, o que poderia gerar impactos ainda maiores no agronegócio do Brasil.

Aspectos relacionados a transmissão do vírus devem ser estudados nas condições do Brasil, para que seja possível determinar a participação de vetores e a possível transmissão por sementes da espécie de *Sobemovirus* em questão. De posse desses dados será possível estabelecer medidas preventivas no controle e na disseminação dessa virose.

6 CONCLUSÕES

Os sintomas observados na maioria das plantas de *Physalis peruviana* coletadas na região da Serra Catarinense são causados por um vírus do gênero *Sobemovirus* e não há a ocorrência de infecção mista com as espécies PLRV, PVX, PVY e espécies dos gêneros *Begomovirus*, *Orthospovirus*, e *Potyvirus*.

A infecção viral causou uma redução significativa na altura de plantas até os 94 DAI, na quantidade de clorofila até os 52 DAI, e na área foliar durante todo o período de avaliação de 152 dias.

A presença viral acarretou em uma redução de até 83,5% na área foliar específica mostrando que plantas infectadas acumulam menos matéria seca nas folhas.

As plantas infectadas produziram 70% menos frutos do que as plantas controle, e os frutos produzidos apresentaram aparência deformada.

A qualidade de frutos nas plantas infectadas foi significativamente menor em todos os parâmetros fisiológicos e produtivos testados, com exceção do pH, o qual não foram observadas diferenças significativas.

REFERÊNCIAS

ADAMS, M.J.; CANDRESSE, T.; HAMMOND, J.; KREUZE, J.F.; MARTELLI, G.P.; NAMBA, S.; PEARSON, M.N.; RYU, K.H.; VAIRA, A.M. Family Alphaflexviridae. In: 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**. London, UK: Elsevier Academic Press; 2012, p. 904 – 919.

ADAMS, M.J.; ZERBINI, F.M.; FRENCH, R.; RABENSTEIN, F.; STENGER, D.C.; VALKONEN, J.P.T. Family Potyviridae. In: KING, A.M.Q.; ADAMS, M.J.; CARSTENS, E.B.; LEFKOWITZ, E.J. **Virus Taxonomy: Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. London, UK: Elsevier Academic Press; 2012, p. 1069 – 1089.

AGUIRRE-RÁQUIRA, W.; BORDA, D.; HOYOS-CARVAJAL, L. Potyvirus affecting Uchuva (*Physalis peruviana* L.) in Centro Agropecuario Marengo, Colombia. **Agricultural Sciences**, Wuhan, v. 5, 2014, p.897–905.

ALMANZA, P.J. Propagación. In: FLORÉZ, V.J.; FISCHER, G.; SORA, A.D. **Producción, poscosecha y exportación de la uchuva (*Physalis peruviana* L.)**. 1 ed. Bogotá: Unibiblos, Universidad Nacional de Colombia, 2000, p. 27 – 40.

ALMON E.; HOROWITZ, M.; WANG, H. L.; LUCAS, W.J.; ZAMSKI, E.; WOLF, S. Phloem-specific expression of the tobacco mosaic virus movement protein alters carbon metabolism and partitioning in transgenic potato plants. **Plant Physiology**, Washington, v. 115, p. 1599 – 1607, 1997.

ALTAMIRANO, M. **Estudio de la cadena productiva de uvilla (*Physalis peruviana* L.) en la sierra norte del Ecuador**. 2010. 96 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação) - Universidad San Francisco de Quito, colegio de agricultura, alimentos y nutrición, Quito, 2010.

ANDRADE, I. *Physalis* ou uchuva – fruta da colômbia chega ao Brasil. **Revista Rural**. São Paulo, v.38, 2008, p.11-12.

ANGULO, R. **Frutales exóticos de clima frío**. Bogotá: Curso Bayer Cropscience S.A. p. 24-47, 2003.

ANGULO, R. **Uchuva el cultivo**. Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Bogotá: Colciencias, Centro de Investigaciones y Asesorías Agroindustriales. 2005. 78 p.

ANTIGNUS, Y.; LAPIDOT, M.; GANAIM, N.; COHEN, J.; LACHMAN, O.; PEARLSMAN, M.; RACCAH, B.; GERA, A. Biological and Molecular characterization of *Tomato spotted wilt virus* in Israel. **Phytoparasitica**, v. 25, p. 319-330, 1997.

ARTHUR, K.; DOGRA, S.; RANGLES, J.W. Complete nucleotide sequence of *Velvet tobacco mottle virus* isolate K1. **Archives of Virology**, Nashville, v. 155, p. 1893-1896, 2010.

ÁVILA, A.J.; MORENO, P.; FISCHER, G.; MIRANDA, D. Influencia de la madurez del fruto y del secado del cáliz en uchuva (*Physalis peruviana* L.), almacenada a 18°C. **Acta Agronómica Colombiana**, Palmira, n. 4, p. 29-38, 2006.

BACHALANDRAN, S.; OSMOND, C.B.; DALEY, P.F. Diagnosis of the earliest strain-specific interactions between *Tobacco mosaic virus* and chloroplasts of tobacco leaves *in vivo* by means of chlorophyll fluorescence imaging. **Plant Physiology**, Washington, v. 104, p. 1059 – 1065, 1994.

BAGATIM, A.M. **Temperatura e Substrato na germinação de *Physalis angulata* L.** 2017. 24f. Faculdade de Ciências agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2017.

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**, Göttingen, v. 159, p. 644-646, 2011.

BASSO, M.F.; FAJARDO, T.V.M.; SANTOS, H.P.; GUERRA, C.C.; AYUB, R.A.; NICKEL, O. Fisiologia foliar e qualidade enológica da uva em videiras infectadas por vírus. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, p. 321-329, 2010.

BELTRÁN, A.P. **Producción y Exportación de Uvilla (*Physalis peruviana* L.) al mercado de Alemania**. 2009. 129f. MSc. Thesis, Universidad Tecnológica Equinoccial, Quito (Ecuador), 2009.

BERNIAK, H. Characterization of a new Tomato spotted wilt virus isolates found in *Hippeastrum hybridum* (Hort.) plants in Poland. **Journal of Horticultural Research**, Skierniewice, v. 24, p. 5 – 12, 2016.

BHAT, S.; FOLIMONOVA, S. Y.; COLE, A. B.; BALLARD, K. D.; LEI, Z.; WATSON, B. S.; SUMNER L.W.; NELSON, R.S. Influence of host chloroplast proteins on Tobacco mosaic virus accumulation and intercellular movement. **Plant Physiology**, Washington, v. 161, p. 134 – 147, 2013.

BIANCO, S.; PITELLI, R.A.; PERECIN, D. Métodos para estimativa da Área foliar de Plantas Daninhas. 2: *Wissadula subpeltata* (Kuntze) Fries. **Planta daninha**, Viçosa, v. 6, p. 21-24, 1983.

BOS, L.; HUIJBERTS, N. Occurrence and transmission of *Sowbane mosaic virus* in seed from naturally infected plants of spinach (*Spinacia oleracea*). **European Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v. 102, p. 707 – 711, 1996.

BOTERO, A. **Aplicación de la Ingeniería de Matrices en el desarrollo de la uchuva mínimamente procesada fortificada con calcio y vitaminas C y E**. 2008. 185f. Dissertação (Mestrado) - Facultad de química farmacéutica, Universidad de Antioquía, Medellín, 2008.

BROWN J.K.; FAUQUET C.M.; BRIDDON R.W.; ZERBINI F.M.; MORIONES E.; NAVAS-CASTILHO J. Family Geminiviridae. In: 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**. London, UK: Elsevier Academic Press; 2012, p. 351–373.

BRIZARD, J.P.; CARAPITO, C.; DELALANDE, F.; VAN DORSSELAER, A.; BRUGIDOU, C. Proteome analysis of a plant virus interactome: Comprehensive data for virus multiplication inside their hosts. **Molecular & Cellular Proteomics**, Rockville, v. 5, p. 2279 – 2297, 2006.

BRUGIDOU, C.; OPALKA, N.; YEAGER, M.; BEACHY, R.N.; FAUQUET, C. Stability of Rice yellow mottle virus and cellular compartmentalization during the infection process in *Oryza sativa* (L.). **Virology**, Washington, v. 297, p. 98–108.

CAMPBELL, A.W.; GUY, P.L. Cocksfoot mottle virus spreads to the South Island of New Zealand. **Australasian Plant Pathology**, Murdoch, v. 30, p.217–220, 2001.

CARDENAS, M.; GRAJALES, A.; SIERRA, R.; ROJAS, A.; GONZÁLEZ-ALMARIO, A.; VARGAS, A.; MARÍN, M.; FERMÍN, G.; LAGOS, L.E.; GRÜNWARD, N.J.; BERNAL, A.; SALAZAR, C.; RESTREPO, S. Genetic diversity of *Phytophthora infestans* in the Northern Andean region. **BMC Genetics**. Londres, v. 12, 23p., 2011.

CHAVES A.C.; SCHUCH, M.W.; ERIG, A.C; PINHO, D.S.; Avaliação de diferentes substratos na aclimação de plântulas de *Physalis peruviana* L. In: Congresso de iniciação científica e V Encontro de Pós-Graduação. **Resumos**. Pelotas. CD-ROM, 2003.

CHAVES, A.C. **Propagação e avaliação fenológica de *Physalis* sp., na região de Pelotas, RS**. 2006. 65f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2006.

CHOI, J.; HUH S.U.; KOJIMA, M.; SAKAKIBARA, H.; PAEK, K.H.; HWANG, I. The cytokinin-activated transcription factor ARR2 promotes plant immunity via TGA3/NPR1-dependent salicylic acid signaling in Arabidopsis. **Developmental Cell**, Cambridge, v. 19, p. 284 – 295, 2010.

CHOWDHURY, S.R.; SAVITHRI, H.S. Interaction of *Sesbania* mosaic virus movement protein with the coat protein – Implications for viral spread. **The FEBS Journal**, Cambridge, v. 278, p. 257-272, 2010.

CORPORACION COLOMBIA INTERNACIONAL. Analisis de los componentes del precio internacional de la uchuva. **Boletin precios Internacionales**. Bogotá, v. 23, 2000.

CORPORACIÓN COLOMBIA INTERNACIONAL, UNIVERSIDADE DE LOS ANDES Y DEPARTAMENTO DE PLANEACIÓN NACIONAL. **Análisis Internacional del Sector Hortofrutícola para Colombia**. Editorial El Diseño, Bogotá, p. 165, 1994.

CUPERTINO, F. P.; COSTA, C. L; LIN, M. T.; KITAJIMA, E.W. Infecções simples e mistas dos vírus do mosaico-do-sul e do mosaico-em-desenho em feijão-vagem no Brasil central. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.7, p. 269-274, 1982.

D'AQUINO, L.; DALMAY, T.; BURGYÁN, J.; RAGOZZINO, A.; SCALA, F. Host range and sequence analysis of an isolate of *Potato virus Y* inducing vein necrosis in pepper. **Plant Disease**, St. Paul, v. 10, p. 1046 – 1050, 1995.

DA GRAÇA, J.V.; TRENCH, T.N.; MARTIN, M.M. *Tomato spotted wilt virus* in comercial Cape gooseberry (*Physalis peruviana*) in Transkei. **Plant Pathology**, Londres, v.34, p. 451-453, 1985.

DOMIER, L.L. Family Luteoviridae. In: 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**. London, UK: Elsevier Academic Press; 2012, p. 729-737.

DOYLE, J.J. & DOYLE J.L. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. **Phytochemical bulletin**. Irvine, v.19, p.11–15, 1987.

DREHER, T.W.; EDWARDS, M.C.; GIBBS, A.J.; HAENNI, A.-L.; HAMMOND, R.W.; JUPIN, I.; KOENIG, R.; SABANADZOVIC, S.; MARTELLI, G.P. Family Tymoviridae. In: 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**. London, UK: Elsevier Academic Press; 2012,p. 944 – 952.

EIRAS, M.; CHAVES, A. L. R.; COLARICCIO, A.; HARAKAVA, R.; DE ARAUJO, J.; CHAGAS, C.M. Caracterização do *Tomato chlorotic spot virus* Isolado de Jiló no Vale do Paraíba, Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 285-291, 2002.

EIRAS, M.; COSTA, I.F.D.; CHAVES, A.L.R.; COLARICCIO, A. First report of a *Tospovirus* in a commercial crops of Cape gooseberry in Brazil. **New Disease Reports**, Londres, v. 25, p.25, 2012.

EIRAS, M.; RESENDE, R. O.; MISSIAGGIA, A. A.; DE ÁVILA, A.C. RT-PCR and dot clob hybridization methods for a universal detection of tospoviruses. *Fitopatologia Brasileira*. Brasília, v. 26, p. 170-175, 2001.

FARGETTE, D.; PINEL-GALZI, A.; SÉRÉMÉ, D.; LACOMBE, S.; HÉBRARD, E.; TRAORÉ, O. KONATÉ, G. Diversification of *Rice Yellow Mottle Virus* and Related Viruses Spans the History of Agriculture from the Neolithic to the Present. **Plos Pathology**, San Francisco, v. 4, p. 1-8, 2008.

FISCHER, G.; ALMANZA-MERCHÁN, P.J.; MIRANDA, D. Importancia y cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n. 1,p. 01-015, 2014.

FISCHER, G. **Effect of root zone temperature and tropical altitude on the growth, development and fruit quality of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.)**. 1995. 171 f. Tese (Doutorado) – Universidade de Humboldt, Ber n, 1995.

FISCHER, G.; MIRANDA, D. PIEDRAHÍTA, W. ROMERO, J. **Avances em cultivo poscolheita e exporta o de la uchuva *Physalis peruviana* L. em Colômbia**. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Faculdade de Agronomia, 2005. 222p.

FISCHER, G.; MIRANDA, D. Uchuva (*Physalis peruviana* L.). in: Fischer, G. (ed.). **Manual para el cultivo de frutales en el trópico**. Bogotá: Produmedios, 2012. p.851-873.

G MEZ-JIMÉNEZ, C.; ROMERO-ROMERO, J.L.; SANTOS-CERVANTES, M.E.; LEYVA-LÓPEZ, N.E.; MÉNDEZ-LOZANO, J. Tomatillo (*Physalis ixocarpa*) as a natural new host for Tomato yellow leaf curl virus in Sinaloa, Mexico. **Plant Disease**, St. Paul, v.93, 2009, p. 545.

GASPARIN, M.D.G.; BIANCHINI, A.; SOUTO, E.R.; GASPAR, J.O.; ALMEIDA, A.M.R.; KITAJIMA, E.W. Detec o do *Southern bean mosaic virus* no Paraná, e separa o do *Bean rugose mosaic virus* em feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30; p. 75-78, 2002.

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

GONÇALVES, M.C.; VEGA, J.; OLIVEIRA, J.G.; GOMES, M.M.A. *Sugarcane yellow leaf virus* leads to alterations in photosynthetic efficiency and carbohydrate accumulation in sugarcane leaves. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, p. 10 – 16, 2005.

GORDILLO, O.P. **Producción de plântulas de uchuva (*Physalis peruviana* L.)** 1 ed. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, 4p. 2003.

GRATSIA, M.E.; KYRIAKOPOULOU, P.E.; VOLOUDAKIS, A.E.; FASSEAS, C.; TZANETAKIS, I.E. First report of Olive mild mosaic virus and Sowbane mosaic virus in spinach in Greece. **Plant Disease**, St. Paul, v. 96, p. 1230–1230, 2012.

GREBER, R.S. Some characteristics of *Solanum nodiflorum* mottle virus—A beetle-transmitted isometric virus from Australia. **Australian Journal of Biological Sciences**, Canberra, v. 34, p. 369–378, 1981.

GROVES, C.; GERMAN, T.; DASGUPTA, R.; MUELLER, D.; SMITH, D.L. Seed Transmission of *Soybean vein necrosis virus*: The First *Tospovirus* Implicated in Seed Transmission. **Plos One**, São Francisco, v.11, p. 1, 2016.

GUTIERREZ, P.A.; ALZATE, J.F.; MONTOYA, M.M. Complete genome sequence of an isolate of Potato virus X (PVX) infecting Cape gooseberry (*Physalis peruviana*) in Colombia. **Virus genes**, Londres, v. 50, p.518-522, 2015.

HARDY, V. G.; TEAKLE, D. S. Transmission of Sowbane mosaic virus by thrips-tabaci in the presence and absence of virus-carrying pollen. **Ann. Appl. Biol.**, London, v. 121, p. 315–320, 1992.

HOFFMANN, K.; VERBEEK, M.; ROMANO, A.; DULLEMANS, A.M.; VAN DEN HEUVEL, J.F.J.M., VAN DER WILK, F. Mechanical Transmission of poleroviruses. **Journal of Virological Methods**, Amsterdã, v. 91, p. 197 – 201, 2001.

HULL, R. **Plant Virology**. 5 ed. San Diego: Academic Press Inc, 2013.

HULL, R. The stabilization of the particles of Turnip rosette virus and of other members of the southern bean mosaic virus group. **Virology**, Washington, v. 79, p. 58–66, 1977.

IGARI, K.; ENDO, S.; HIBARA, K.; AIDA, M.; SAKAKIBARA, H.; KAWASAKI, T.; TASAKA, M. Constitutive activation of a CC-NB-LRR protein alters morphogenesis through the cytokinin pathway in *Arabidopsis*. **Plant Journal**, v.55, p. 14 – 27, 2008.

INOUE-NAGATA AK; LIMA MF; GILBERTSON RL. 2016. A review of Geminivirus (*begomovirus*) diseases in vegetables and other crops in Brazil: current status and approaches for management. **Horticultura Brasileira**, Vitória da conquista, v. 34, p. 008-018, 2016.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. **Virus Taxonomy: 2016 Release**. Acesso em: <<https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>>, no dia 5/12/2017.

JONES, R. A. C. Using epidemiological information to develop effective integrated virus disease management strategies. **Virus Research**, Amsterdã, v. 100, p. 5–30, 2004.

JONES, R.A.C. Virus diseases of perennial pasture legumes in Australia: incidences, losses, epidemiology, and management. **Crop and Pasture Science**, Melbourne, v. 64, p. 199 – 215, 2013.

KAMADA, I., YAMAGUCHI, S., YOUSSEFIAN, S., SANO, H. Transgenic tobacco plants expressing rpg1, a gene encoding a ras-related GTP-binding protein from rice, show distinct morphological characteristics. **Plant Journal**, Londres, v. 2, p. 799–807, 1992.

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**. London, UK: Elsevier Academic Press; 2012. 1272p.

KISTEN, L.; MOODLEY, V.; GUBBA, A. First report of *Potato virus Y* (PVY) on *Physalis peruviana* in South Africa. **Plant Disease**, St. Paul, v. 100, p. 1511, 2016.

KOUDAMILORO, A.; NWILENE, F.E.; TOGOLA, A.; AKOGBETO, M. Insect Vectors of *Rice yellow mottle virus*. **Journal of Insects**, Londres, v. 2015, p. 1-12, 2015.

KRETZSCHMAR, A. A.; MUNIZ, J.; MUNIZ, J.N.; PELIZZA, T.R.; MARCHI, T.; RUFATO, L. The effects of harvest date, training system and spacing on physical and chemical characteristics of physalis fruit. **Acta Horticulturae**, Lueven, v. 1, p. 165- 173 , 2014.

LAGOS, T.C.B.; VALEJO, F.A.C.; CRIOLLO, H.E.; MUÑOZ, J.E.F. Biología reproductiva de la uchuva. **Acta Agronómica Colombiana**, Palmira, v. 57, p.81-87, 2008.

LALONDE, S.; TEGEDER, M.; THRONE-HOLST, M.; FROMMER, W.B.; PATRICK, J.W. Phloem loading and unloading of sugars and amino acids. **Plant Cell & Environment**, Medford, v.26, p.37 – 56, 2003.

LEGGÉ, A.P. Notes on the history, cultivation and uses of *Physalis peruviana* L. **Journal of the Royal Horticultural Society**, Londres, v.99, p.310-314 , 1974.

LEHTO, K.; TIKKANEM, M.; HIRIART, J. B.; PAAKKARINEN, V.; ARO, E. M. Depletion of the photosystem II core complex in mature tobacco leaves infected by the flavum strain of *Tobacco mosaic virus*. **Molecular Plant-microbe Interactions**, St. Paul, v. 16, 1135 – 1144, 2003.

LÉMOINE, J. **Les maladies de dégénérescence**. L' Arboriculture fruitière 434: 38-47. 1990.

LETERME, P.; BULDGEN, A.; ESTRADA, F.; LONDOÑO, A.M. Mineral content of tropical fruits and unconventional foods of the Andes and the rain forest of Colombia. **Food chemistry**, Amsterdã v. 95, p. 644 – 652, 2006.

LIEFTING, L.W.; WEIR, B.S.; PENNYCOOK, S.R.; CLOVER, G.R.G.; 2009. 'Candidatus Liberibacter solanacearum', associated with plants in the family Solanaceae. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Londres, v.59, p. 2274-2276, 2009.

LING, R.; PATE, A. E.; CARR, J. P.; FIRTH, A. E. An essential fifth coding ORF in the sobemoviruses. **Virology**, Washington, v. 446, p. 397–408, 2013.

LUCCHESI, J.; MÄKELÄINEN, K.; MERITS, A.; TAMM, T.; MÄKINEN, K. Regulation of -1 ribosomal frameshifting directed by cocksfoot mottle sobemovirus genome. **European Journal of Biochemistry**, Cambridge, v. 267, p. 3523–3529, 2000.

MACDONALD, J. G.; SINGH, R. P. Host range, symptomology, and serology of isolates of *Potato virus Y* (PVY) that share properties with both the PVYⁿ and PVY^o strain groups. **American Potato Journal**, Boise, v. 73, p. 309 – 314, 1996.

MANSOUR, A.; AL-MUSA, A. *Tomato yellow leaf curl virus*: host range and virus-vector relationships. **Plant Pathology**, Londres, v. 41, p. 122-125.

MARTELLI, G.P.; AGRANOVSKY, A.A.; BAR-JOSEPH, M.; BOSCIA, D., CANDRESSE, T.; COUTTS, R.H.A., DOLJA, V.V.; HU, J.S.; JELKMANN, W.; KARASEV, A.V., MARTIN, R.R., MINAFRA, A., NAMBA, S.; VETTEN, H.J. Family Closteroviridae In: 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**. London, UK: Elsevier Academic Press; 2012, p. 991–996.

MEDEIROS, R.B.; RESENDE, R.O.; CARVALHO, R.P.; DIANESE, E.; COSTA, C.L.; SRGO, J.Y. **Virologia Vegetal: Conceitos, fundamentos, classificação e controle**. 1 ed. Brasília: Editora Universidade de Brasília, 2015.

MEYER, M. C.; COSTA, C. L.; SANTOS, O. R. Inter-relações de *Ceratoma arcuata* (Coleoptera: Chysomelidae) com quatro vírus de leguminosas. **Fitopatol. bras.**, Brasília, v. 17, p. 314-320, 1992.

MIRANDA, D. Buenas prácticas agrícolas en el cultivo de la uchuva. In: FISCHER, G.; MIRANDA, D.; PIEDRAHÍTA, W.; ROMERO, J. **Avances en cultivo, poscosecha y exportación de la uchuva *Physalis peruviana* en Colombia**. 1 ed. Bogotá: Unibiblos, p. 97-110, 2005.

MIRANDA, D. **Informes de visitas de asesoría técnica a fincas productoras de uchuva (*Physalis peruviana* L.) en la Sabana de Bogotá y Antioquia**. Bogotá: Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colômbia, 2004, 35p.

MOCHIZUKI, T.; OGATA, Y.; HIRATA, Y.; OHKI, S.T. Quantitative transcriptional changes associated with chlorosis severity in mosaic leaves of tobacco plants infected with *Cucumber mosaic virus*. **Molecular plant pathology**, Londres, v. 15, p. 242 – 254, 2014.

MOHAMED, N.A.; MOSSOP, D.W. Cynosurus and cocksfoot mottle viruses: A comparison. **Journal General Virology**, London, v. 55, p. 63–74, 1981.

MORALES, F.J.; CASTAÑO, M.; AAROYAVE, J.A.; OSPINA, M.D.; CALVERT, L.A. A sobemovirus hindering the utilization of *Calopogonium mucunoides* as a forage legume in the lowland tropics. *Plant Disease*, St. Paul, v.79, p. 1220 – 1224, 1995.

MOREIRA, A.; GASPAR, J. O. Propriedades moleculares de um isolado brasileiro do *Southern bean mosaic virus*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27; p. 292-297, 2002.

MOURA, M. F. **Potyvirus: Caracterização parcial de espécies em plantas daninhas associadas a cultura do pimentão, avaliação de genótipos de alface e análise subcelular do eIF4E e de proteínas do *Lettuce mosaic virus***. 2013. 84 f. Tese (Doutorado em proteção de plantas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, SP, 2013.

MUNIZ, J. **Sistemas de condução e espaçamentos para o cultivo de physalis (*Physalis peruviana* L.) no planalto catarinense**. 2011. 137 f. Dissertação (mestrado) – Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, 2011.

MUNIZ, J.; KRETZSCHMAR, A.A.; RUFATO, L. **Como produzir *Physalis peruviana* L.?** Toda fruta Notícias, 2010. Disponível em: <<http://estagiositiodosherdeiros.blogspot.com.br/2010/07/como-produzir-physalis-peruviana-l.html>>. Acesso em: 2 Jan 2017.

MUNIZ, J.; KRETZSCHMAR, A.A.; RUFATO, L.; PELIZZA, T.R.; MARCHI, T.; DUARTE, A.E.; LIMA, A.P.F; GARANHANI, F. Sistemas de condução para o cultivo de physalis no planalto catarinense. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, p. 830-838, 2011.

NAM, M.; KIM, J.S.; PARK, S.J.; PARK, C.Y.; LEE, J.S.; CHOI, H.S.; KIM, J.S.; KIM, H.G.; LIM, S.; MOON, J.S.; LEE, S.H. Biological and molecular characterization of soybean yellow common mosaic virus, a new species in the genus *Sobemovirus*. **Virus Research**, Amsterdã, v. 163, p. 363-367, 2012.

NASCIMENTO, A. K. Q.; LIMA, J. A. A.; NASCIMENTO, A. L. L.; BESERRA, E. A.; PURCIFULL, D. E. Biological, physical, and molecular properties of a papaya lethal yellowing virus isolate. **Plant Disease**, St. Paul, v. 94, p. 1206–1212, 2010.

NASCIMENTO, M.B.; FAJARDO, T.V.M.; EIRAS, M.; CZERMAINSKI, A.B.C.; NICKEL, O.; PIO-RIBEIRO, G. Desempenho agrônômico de videiras com e sem sintomas de viroses, e comparação molecular de isolados virais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.50, p. 541 – 550, 2015.

NEREMBERG, F.A. **Comportamiento agronomico de *Physalis peruviana* L. proveniente de semillas y establecida em distintas conduccion**. 2000.112f Tese (Doutorado) – Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Central Del Ecuador, Quito, 2000.

OCHOLA, D.; ISSAKA, S.; RAKOTOMALALA, M.; PINEL-GALZI, A.; NDIKUMANA, I.; HUBERT, J.; HÉBRARD, E.; SÉRÉ, Y.; TUSIIME, G.; FARGETTE, D. Emergence of rice yellow mottle virus in eastern Uganda: Recent and singular interplay between strains in East Africa and in Madagascar. **Virus Research**, Amsterdã, v. 195, p. 64–72, 2015.

OBRECTH, A.S. **Estudio fenológico de uvilla (*Physalis peruviana* L.)**.1993. 71f. Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Florestales, Universidade de Chile, Santiago, 1993.

OPALKA, N.; BRUGIDOU, C.; BONNEAU, C.; NICOLE, M.; BEACHY, R.N.; YEAGER, M.; FAUQUET, C. Movement of Rice yellow mottle virus between xylem cells through pit membranes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America**, Washington, v. 95, p. 3323 – 3328, 1998.

OTSUS, M.; UFFERT, G.; SÖMERA, M.; PAVES, H.; OLSPERT, A.; ISLAMOV, B.; TRUVE, E. Cocksfoot mottle sobemovirus establishes infection through the phloem. **Virus Research**, Amsterdã, v.166, 125 – 129, 2012.

OUTLAK, K.; CHOUDA, M.; BUJARSKIJ.; GARBACZEWSKA, G. The evidence of *Tobacco rattle virus* impact on host plant organelles ultrastructure. **Micron**, Basel, v. 70, p. 7-20, 2014.

ÖZDEMİR, Y.; GÜNAL, N. Söke ovasında (Aydın) yeni bir kültür bitkisi: yer kirazı/altın çilek (*Physalis peruviana*). a new culture plant in söke plain (aydın): cape gooseberry/golden strawberry (*Physalis peruviana*). **Türk Coğrafya Dergisi**, Istanbul, v. 58, p.35-42, 2012.

PADMANABHAN, M.S.; SHIFERAW, H.; CULVER, J. N. The *Tobacco mosaic virus* protein disrupts the localization and function of interacting Aux/IAA proteins. **Molecular Plant Microbe Interactions**, St. Paul, v. 19, p. 480 – 494, 2006.

PDRS/GIZ – PROYECTO DE DESARROLLO RURAL SOSTENIBLE/GIZ CAJAMARCA. **El aguaymanto. Cultivo promisorio de la Región Cajamarca. Diagnóstico de la cadena de valor del aguaymanto en la Región de cajamarca**. Cajamarca, 96 p., 2011.

PEREA, M.; RODRIGUEZ, N.C.; FISCHER, G.; VELASQUEZ, M.; MICÁN, Y. Uchuva. In: PEREA, M.; L.P.; MATA LLANA L.P.R.; TIRADO A.P. (eds.). **Biotecnología aplicada al mejoramiento de los cultivos de frutas**

tropicales. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 2010. p.466-490.

PLYUSNIN, A.; BEATY, B.J.; ELLIOTT, R.M.; GOLDBACH, R.; KORMELINK, R., LUNDKVIST, Å.; SCHMALJOHN, C.S.; TESH, R.B. Family Bunyaviridae. In: 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.** London, UK: Elsevier Academic Press; 2012, p. 729-737.

PRAKASH, O.; MISRA, A.K.; SINGH, S.J.; SRIVASTAVA, K.M. Isolation, purification and electron microscopy of mosaic virus of cape gooseberry. **International Journal of Tropical Plant Diseases**, Nova Delhi, v. 6, 1988, p. 85-87.

PROCHILE. **Cultivo de Goldenberry (*Physalis peruviana* L.) en la zona central de Chile.** 2011. disponível em: < http://bibliotecadigital.fia.cl/bitstream/handle/20.500.11944/145587/90_Ficha_Physalis.pdf?sequence=2&isAllowed=y >. Acesso em: 06/01/2017.

PUENTE, L.A.; PINTO-MUÑOZ, C.A.; CASTRO, E. S.; CORTÉS, M. *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. **Food Research International**, Burlington, v. 44, p. 1733 – 1740.

PURCIFULL, D. E.; EDWARDSON, J. R. Potexviruses, in: THRESH, J.M. **Handbook of Plant Virus Infections and Comparative Diagnosis.** 1ed. Amsterdam – NE: Elsevier, 1981, p.627–693.

RAMADAN, M.; MORSEL, J. Oil Goldenberry (*Physalis peruviana* L.) **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Munique, v. 51, p. 969 – 974, 2003.

REPO DE CARRASCO, R.; ZELADA, C. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. **Revista de la Sociedade Química Perú**, Lima, v. 74; p. 108-124, 2008.

RESTREPO, A. Nuevas perspectivas de consumo de frutas: Uchuva (*Physalis peruviana* L.) y Fresa (*Fragaria vesca* L.) minimamente processadas fortificadas com vitamina E. 2008. 107f. Dissertação (Mestrado) - Facultad de Ciencias Agropecuárias, Universidade Nacional de Colombia, Medellín, 2008.

ROCHA, K.C.; SAKATE, R.K.; PAVAN, M.A.; KOBORI, R.F.; GIORIA, R.; YUKI, V.A. Avaliação de danos causados pelo *Tomato severe rugose virus* (ToSRV)

em cultivares de pimentão. **Summa phytopatologica**, Botucatu, v. 38, p. 87 – 89, 2012.

RODRIGUES, F.P.; PENONI, E.S.; SOARES, J.D.R.; SILVA, R.A.L.; PASQUAL, M. Caracterização Fenológica e Produtividade de *Physalis peruviana* Cultivada em Casa de Vegetação. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.29, p. 1771 – 1777, 2013.

ROJAS M.R.; GILBERTSON R.L.; RUSSELL D.R.; MAXWELL D.P. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. **Plant Disease**. St. Paul, v. 77, p.340-347, 1993.

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

RUFATO, A.R.; RUFATO, L.; LIMA, C.S.M.; MUNIZ, J. A cultura da physalis. In: KRETZSCHMAR, A.A.; RUFATO, L.; PELIZZA, T.R. (Org.). **Pequenas Frutas**. 1ed. Florianópolis - SC: DIOESC, 2013, p. 143-194.

RUFATO, L.; MUNIZ, J.; KRETZSCHMAR, A.A.; RUFATO, A.R.; GATIBONI, L.C. **Características gerais da cultura da *Physalis peruviana* L.** Boletim técnico nº1 – CAV/UDESC. 2012. 22p.

RUFATO, L.; RUFATO, A.R.; SCHLEMPER, C.; LIMA, C.S.M.; KRETZSCHMAR, A.A. **Aspectos técnicos da cultura da physalis**. Lages: CAV/UDESC; Pelotas: UFPel, 2008. 101p.

RYABOV, E.V.; KRUTOV, A.A.; NOVIKOV, V.K.; ZHELEZNIKOVA, O.V.; MOROZOV, S.Y.; ZAVRIEV, S.K. Nucleotide sequence of RNA from the sobemovirus found in infected cocksfoot shows a luteovirus-like arrangement of the putative replicase and protease genes. **Phytopathology**, St. Paul, v. 86, p. 391–397, 1996.

RYBICKI, E.P. A top ten list for economically importante plant viruses. **Archives of Virology**, Nashville, v. 160, p. 17-20, 2015.

SALAMON, P. & PALKOVICS, L. Occurrence of Colombian datura virus in *Brugmansia* hybrids, *Physalis peruviana* L. and *Solanum muricatum* Ait. in Hungary. **Acta Virologica**, Bratislava, v. 49, p. 117–122, 2005.

SALOMONE, A.; ROGGERO, P. Host range, seed transmission and detection by ELISA and lateral flow of an Italian isolate of *Pepino mosaic virus*. *Journal of Plant Pathology*, Pisa, v. 84, p. 65-68, 2002.

SAMPOL, T.; BOTA, J.; MEDRANO, H.; FLEXAS, J. Analysis of the virus induced inhibition of photosynthesis in malmsey grapevines. ***New Phytologist***, Lancaster, v. 160, p. 403 - 412, 2003.

SANTOS, C. D. G.; D'ÁVILA, A. C.; INOUE-NAGATA, A.K.; RESENDE, R.O. Espécies Vegetais Hospedeiras de Begomovírus Isolados de Tomateiro em Goiás e no Distrito Federal. ***Fitopatologia Brasileira***, Brasília, v.29, p. 450-455, 2004.

SETHI, C.L.; GAUR, H.S.; KAUSHAL, K.K.; SRIVASTAVA, A.N.; KHAN, E.; Occurrence of root-knot nematodes on fruit plants in association with *Agrobacterium tumefaciens*. ***International Nematology Network Newsletter***, Raleigh, v.5, p.12-13, 1988.

SERJEANT, E.P. Some properties of *Cocksfoot mottle virus*. ***Annals of Applied Biology***, Medford, v. 59, p. 31-38, 1967.

SHEPHERD, R.J.; FULTON, R.W. Identity of a seed-born virus of cowpea. ***Phytopathology***, St. Paul, v. 52, p. 489-493, 1962.

SHORT, M. N.; DAVIES, J.W. Host ranges, symptoms and amino acid compositions of eight potexviruses. ***Annals of Applied Biology***, Warwick, v.110; p. 213-219, 1986.

SILVEIRA JR, W. G.; COSTA, C. L.; COSTA, A. F.; LIN, M. T. Diabrotica speciosa e Cerotoma arcuata, vetores do vírus do mosaico do feijoeiro no Distrito Federal. ***Fitopatol. bras.***, Brasília, v. 8, p. 625, 1983.

SÔMERA, M.; SARMIENTO, C.; TRUVE, E. Overview on Sobemoviruses and Proposal for the Creation of the Family *Sobemoviridae*. ***Viruses***, Basel, v. 7, p. 3076-3115, 2015.

TAIZ, L.; ZIEGER, E. ***Fisiologia Vegetal***. 5ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

TALIANSKY, M.; MAYO, M.A.; BARKER, H. *Potato leafroll virus*: a classic pathogen shows some new tricks. **Molecular Plant Pathology**, Londres, v. 4, p. 81-89, 2003.

THOMAS, P.E.; HASSAN, S. First report of twenty-two new hosts of *Potato leafroll virus*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 86, p. 561, 2002.

TOMASSINI, T.C.B.; BARBI, N.S.; RIBEIRO, I.M.; XAVIER, D.C.D. Gênero *Physalis* – Uma revisão sobre viraesteróides. *Química Nova*. Rio de Janeiro, v. 23, p. 47-57, 2000.

TORRICO, A.K.; SALAZAR, S.M.; KIRSCHBAUM, D.S.; CONCI, V.C. Yield losses of asymptomatic strawberry plants infected with *Strawberry mild yellow edge virus*. **European Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v. __, p. 1 – 8, 2017.

TRAORÉ, O.; PINEL-GALZI, A.; SORHOC, F.; SARRA, D.; RAKOTOMALALA, M.; SANGUF, E.; KANYEKAF, Z.; SÉRÉ, Y.; KONATÉA, G.; FARGETTE, D. A reassessment of the epidemiology of Rice yellow mottle virus following recent advances in field and molecular studies. **Virus Research**, Amsterdã, v. 141, p. 258–267, 2009.

TRENADO, H.P.; FORTESS, I.M.; LOURO, D.; NAVAS-CASTILLO, J. *Physalis ixocarpa* and *P. peruviana*, new natural hosts of Tomato chlorosis virus. **European Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v. 118, p.193–196, 2007.

TRUTA, A. A. C.; SOUZA, A. R. R.; NASCIMENTO, A. V. S.; PEREIRA, R. C.; PINTO, C. M. F.; BROMMONSCHENKEL, S. H.; CARVALHO, M.G.; ZERBINI, F.M. Identidade e Propriedades de Isolados de Potyvirus Provenientes de *Capsicum* spp. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 29, p. 160-168, 2004.

TRUVE, E.; FARGETTE, D. Genus *Sobemovirus*. In: 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**. Londres, UK: Elsevier Academic Press; 2012, p. 1185 – 1189.

URREA, R; CABEZAS, L.; SIERRA, R.; CÁRDENAS, M.; RESTREPO, S. JIMÉNEZ, P. Selection of antagonistic bacteria isolated from the *Physalis peruviana* rhizosphere against *Fusarium oxysporum*. **Journal of Applied Microbiology**. Londres, v.111, p 707-716, 2011.

UYEMOTO, J. K.; GROGAN, R. G. Southern bean mosaic virus: Evidence for seed transmission in bean embryos. **Phytopathology**, St. Paul, v. 67, p. 1190–1196, 1977.

VERHOEVEN, J.T.J.; ROENHORST, J.W.; LESEMANN, D.E.; SEGUNDO, E.; VELASCO, L.; RUIZ, L.; JANSSEN, D.; CUADRADO, I.M. Southern bean mosaic virus the causal agent of a new disease of *Phaseolus vulgaris* beans in Spain. **European Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v. 109, p. 935–941, 2003.

WEBSTER C. G.; FRANTZ, G.; STUART R.; REITZ, S.R.; JOSEPH E. FUNDERBURK, J. E.; H. CHARLES MELLINGER, H. C.; MCAVOY, E.; TURECHEK, W. W.; MARSHALL, S.H.; TANTIWANICH, Y.; MCGRATH, M.T.; DAUGHTREY, M. L.; ADKINS, S. Emergence of *Groundnut ringspot virus* and *Tomato chlorotic spot virus* in Vegetables in Florida and the Southeastern United States. **Virology**, Washington, v. 105, p. 388-398, 2015

WEINTRAUB, M.; RAGETLI, H.W. Identification of the constituents of Southern bean mosaic virus in crystals of infected cells, and their distribution within the virion. **Virology**, Washington, v. 41, p. 729-739, 1970.

ZAPATA, J.; SALDARRIAGA, A.; LONDOÑO, M.; DÍAZ, C. Las enfermedades limitantes en cultivo y poscosecha de la uchuva y su control. In: FISCHER, G.; MIRANDA, D.; PIEDRAHÍTA, W.; ROMERO, J. **Avances en cultivo, poscosecha y exportación de la uchuva *Physalis peruviana* en Colombia**. 1 ed. Bogotá: Unibiblos, p. 97-110, 2005.

ZAPATA, J.; SALDARRIAGA, A.; LONDOÑO, M.; DÍAZ, C. **Manejo del cultivo de la uchuva en Colombia**. Boletín Técnico 14. Centro de Investigación La Selva, Corpoica. Rionegro, Antioquia, 2002, 41p.

ZAUMEYER, W.J.; HARTER, L.L. Inheritance of symptom expression of bean mosaic virus 4. **J. Agric. Res.**, Punjab, v. 67, p. 295–300, 1943.

ZHAO, J.; ZHANG, X.; HONG, Y.; LIU, Y. Chloroplast in Plant-Virus Interaction. **Frontiers in Microbiology**, Washington, v. 7, p. 1- 20, 2016.

ZHENG, L.; RODONI, B.C.; GIBBS, M.J.; GIBBS, A.J. A novel pair of universal primers for the detection of potyviruses. **Plant pathology**, Londres, v.59, p.211-220, 2009.

ZHOU, X. Advances in understanding begomovirus satellites. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 51, p. 357-81, 2013.