



GABRIELA RIBEIRO GONTIJO

**IDENTIFICAÇÃO, PADRÃO ESPACIAL DE VIROSES EM
ALHO E EFEITO DA PIRACLOSTROBINA EM PLANTAS
INFECTADAS**

LAVRAS-MG

2023

GABRIELA RIBEIRO GONTIJO

**IDENTIFICAÇÃO, PADRÃO ESPACIAL DE VIROSES EM ALHO E EFEITO DA
PIRACLOSTROBINA EM PLANTAS INFECTADAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Mestre.

Prof.^a Dr.^a Antonia dos Reis Figueira

Orientadora

LAVRAS-MG

2023

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Gontijo, Gabriela Ribeiro.

Identificação, padrão espacial de viroses em alho e efeito da
Piraclostrobina em plantas infectadas / Gabriela Ribeiro Gontijo. -
2023.

57 p.

Orientador(a): Antonia dos Reis Figueira.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Epidemiologia das viroses do alho. 2. Alto Paranaíba-MG. 3.
Estrobilurinas. I. Figueira, Antonia dos Reis. II. Título.

GABRIELA RIBEIRO GONTIJO

**IDENTIFICAÇÃO, PADRÃO ESPACIAL DE VIROSES EM ALHO E EFEITO DA
PIRACLOSTROBINA EM PLANTAS INFECTADAS**

**IDENTIFICATION, SPATIAL PATTERN OF VIROSES IN GARLIC AND EFFECT
OF PIRACLOSTROBIN ON INFECTED PLANTS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 17 de Janeiro de 2023

Dr. Edson Ampélio Pozza
Dr.^a. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa

UFLA
EMBRAPA CAFÉ

Prof.^a Dr.^a Antonia dos Reis Figueira
Orientadora

LAVRAS-MG

2023

À minha mãe Vânia pelo amor incondicional. Aos meus pais Lúcio e Wander (in memoriam) por me inspirarem. Aos meus irmãos Isabela, Ágatha e Matheus por me trazerem alegria. Ao meu noivo Mauro por todo o amor e companheirismo. Ao meu filho, João Gabriel, por ser a razão de todo meu esforço.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida e capacidade para superar os obstáculos.

À minha mãe Vânia e a meus pais Lúcio e Wander (*in memoriam*) por me apoiarem em todas as minhas decisões com todo o amor do mundo.

Aos meus avós Cleusa e Geraldo (*in memoriam*) que com tamanho amor me ensinaram o valor da simplicidade.

Ao Mauro, meu noivo, pelo companheirismo e singular torcida.

Ao João Gabriel, meu primeiro filho, por me mostrar o amor mais puro e genuíno.

À Profª Drª Antonia dos Reis Figueira pela orientação.

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Departamento de Fitopatologia, Laboratório de Virologia Molecular e Centro de Indexação de Vírus de Minas Gerais, por todos o treinamento técnico e de aperfeiçoamento proporcionado.

Aos funcionários e colegas do DFP, em especial a Thalyta, Sérgio, Marcos, Viviane e Carzinho.

À Thalita, minha prima, que me apoiou durante essa jornada.

À Associação Mineira dos Produtores de Alho (AMIPA) e Associação Nacional dos Produtores de Alho (ANAPA), em especial à Miriam Delgado pela cooperação com este trabalho.

À Cooperativa de Agronegócios do Cerrado Brasileiro (COOPACER), em especial ao Gustavo Freitas, por toda a ajuda nos experimentos de campo.

Ao grupo Seleta Agronegócios, em especial ao Carlos Inácio Garcia de Oliveira, Túlio Garcia de Oliveira e Otávio Resende Guimarães, pelo suporte em campo na região de São Gotardo - MG.

À BASF, em especial ao Maurício Pereira de Souza, por todo o suporte técnico e apoio operacional.

À minha grande amiga Maria Vitória, pelo acolhimento na região do Alto Paranaíba – MG.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) ou Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG).

Muito obrigada!

RESUMO GERAL

Devido ao modo de propagação vegetativa do alho (*Allium sativum* L.) os produtores brasileiros têm que superar uma série de limitações no seu cultivo como, por exemplo, a ocorrência de pragas e doenças que podem ser perpetuadas de uma geração para outra através dos bulbilhos empregados como sementes. Deste modo, apesar de o Brasil ser quinto maior consumidor per-capta de alho no mundo, boa parte desta commodity é importada para suprir a sua demanda interna. Dentre os patógenos que afetam a produção do alho, as espécies de vírus pertencentes aos gêneros *Potyvirus*, *Carlavirus* e *Allexivirus* são as mais frequentes nas lavouras, conhecidas por causar perdas que podem chegar a 100% da produção. Existe, portanto, uma demanda por alternativas que possibilitem controlar ou minimizar as perdas causadas pelo plantio de sementes infectadas, uma vez que a disponibilidade de sementes completamente livres de vírus é praticamente inexistente. Neste trabalho foi realizado um levantamento das principais espécies virais presentes em São Gotardo, região do Alto Paranaíba em Minas Gerais, bem como sua incidência e análise espacial em 10 campos comerciais de produção. Foi também avaliado o efeito de dois produtos comerciais contendo Piraclostrobina, conhecida por promover incremento de produção e indução de resistência a vírus em plantas, na produção de plantas de alho com infecções virais. A incidência de vírus em 4 das dez áreas avaliadas variou de 42,9% a 16,7%, enquanto que em duas outras foi maior, ou seja, 2,9% e 86,4%, respectivamente. As quatro demais áreas mostraram uma incidência de 100%. O padrão de distribuição espacial das plantas infectadas foi do tipo agregado em 90% dos blocos de acordo com o teste de *run* e 63,3% de distribuição ao acaso de acordo com o teste de *doublet*. Observou-se ainda um índice de dispersão de 63,3% dos blocos com padrão espacial regular. As amostras de plantas com e sem sintomas que foram coletadas, foram positivas para a presença de uma ou mais espécies de vírus pertencentes aos gêneros *Potyvirus*, *Carlavirus* e *Allexivirus*, indicando uma possível transmissão pelas sementes com posterior disseminação pelos vetores no campo. Embora não tenha sido observada diferença estatística no peso e diâmetro dos bulbos e no número de bulbilhos das plantas tratadas com diferentes doses de Piraclostrobina, dois dos tratamentos indicaram um aumento na produção acima de 4%. Esses tratamentos deverão ser repetidos em combinação com dosagens crescentes de adubação nitrogenada, para testar a possibilidade de ganho já observado em outros patossistemas.

Palavras-chave: Epidemiologia das viroses do alho, Alto Paranaíba – MG, estrobilurinas.

ABSTRACT

Due to the vegetative propagation mode of garlic (*Allium sativum* L.), Brazilian producers have to overcome several limitations in its crop management, such as the occurrence of pests and diseases that can be perpetuated from one generation to another through the bulbils used as seeds. Thus, despite Brazil being the fifth largest per capita consumer of garlic in the world, a large part of this commodity is imported to meet its domestic demand. Among the pathogens that affect garlic production, virus species belonging to the Potyvirus, Carlavirus and Alexivirus genera are the most frequent in crops, known to cause losses that can reach 100% of yields. Therefore, there is a demand for alternatives that make it possible to control or minimize the losses caused by the planting of infected seeds, since the availability of completely virus-free seeds is practically non-existent. In this work, a survey of the main viral species present in São Gotardo, Alto Paranaíba region in Minas Gerais, as well as their incidence and spatial analysis in ten commercial production fields was carried out. Considering that pyraclostrobin is known to promote increase in the yield and induction of virus resistance in host plants, in this work was also investigated the effect of two commercial products containing this molecule in the yield of virus-infected garlic plants. The incidence of virus in 4 of out of ten evaluated areas ranged from 2.9% to 16.7%, while in two others it was higher: 42.9% and 86.4%, respectively. The remaining four areas showed an incidence of 100%. The pattern of spatial distribution of infected plants was aggregated in 90% of the blocks according to the run test and 63.3% of random distribution according to the doublet test. There was also a dispersion index of 63.3% of the blocks with a regular spatial pattern. Samples of plants with and without symptoms that were collected were positive for the presence of one or more species of viruses belonging to the genera Potyvirus, Carlavirus and Alexivirus, indicating a possible transmission by seeds with subsequent dissemination by vectors in the field. Although no statistical difference was observed in the weight and diameter of the bulbs and in the number of bulbils of the plants treated with different doses of pyraclostrobin, two of the treatments indicated an increase in production above 4%. These treatments should be repeated in combination with increasing doses of nitrogen fertilization, to test the possibility of gains already observed in other pathosystems.

Keywords: Epidemiology of garlic viruses, Alto Paranaíba – MG, strobilurins.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1. Introdução Geral	9
1. INTRODUÇÃO	9
2. REFERENCIAL TEÓRICO	10
2.1 A produção de alho	10
2.2 Viroses do alho	11
2.2.1 Espécies do gênero <i>Allexivirus</i>	12
2.2.2 Espécies do gênero <i>Carlavirus</i>	13
2.2.3 Espécies do gênero <i>Potyvirus</i>	14
2.3 Métodos para identificação e detecção de vírus em alho	17
2.4. Controle de viroses em alho	18
2.5 Efeito da Piraclostrobina em plantas	18
REFERÊNCIAS	21
CAPÍTULO 2. Análise espacial das viroses do alho na região do Alto Paranaíba-MG. .	31
RESUMO	31
1. INTRODUÇÃO	32
2. MATERIAL E MÉTODOS	33
2.1 Determinação da incidência de vírus	33
2.2 Diagnose dos vírus por RT-PCR	34
3. RESULTADOS	36
4. DISCUSSÃO	39
5. CONCLUSÕES	42
REFERÊNCIAS	43
CAPÍTULO 3. Efeito da Piraclostrobina na produção de plantas de alho (<i>Allium sativum</i> L.) com infecções virais simples e mistas	46
RESUMO	46
1. INTRODUÇÃO	47
2. MATERIAL E MÉTODOS	48
3. RESULTADOS	52
4. DISCUSSÃO	53
5. CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS	55

CAPÍTULO 1. Introdução Geral

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior importador de alho, ocupando o décimo quinto lugar entre produtores mundiais desta commodity. Entretanto, é também um dos maiores consumidores per-capita, de modo que ainda não é autossuficiente para suprir a demanda interna, necessitando de importação de países como China, Argentina e Espanha. Os principais estados brasileiros produtores de alho são Minas Gerais, seguidos de Goiás e Santa Catarina, sendo que o primeiro produz cerca de 4.861 hectares, concentrados principalmente na região do Alto Paranaíba, incluindo o município de São Gotardo, que se destaca como um dos maiores produtores desta região (IBGE, 2021; AMIPA, 2022).

Os produtores nacionais de alho têm buscado um aumento contínuo da produção ao longo dos últimos anos, porém necessitam ainda vencer diversos desafios para conseguir não apenas o aumento da produção com o aumento da área plantada, mas também o incremento da produtividade por área. Dentre esses desafios as doenças causadas por patógenos diversos, notadamente os vírus, têm ocupado lugar de destaque.

Diversas espécies de vírus têm sido identificadas nos últimos tempos, em todos os lugares onde se cultiva o alho no mundo. As espécies pertencentes aos gêneros *Potyvirus*, *Carlavirus* e *Allexivirus* têm sido as mais comuns, causando perdas de até 100% da produção, dependendo da qualidade do material propagativo utilizado no plantio (LUNELLO et. al., 2007). Esse material é o bulbilho produzido no solo, também chamado por produtores de semente, embora não o seja. Devido ao alho ser propagado vegetativamente, por seus bulbilhos “semente”, também a sua reutilização proveniente de plantas infectadas durante várias gerações leva à perpetuação das viroses causando a sua degenerescência, com consequente diminuição progressiva da produtividade (FERNANDES et. al., 2013).

O maior gargalo no processo produtivo tem sido a disponibilidade de bulbilhos livres de vírus. A limpeza clonal elimina esses patógenos, mas estas necessitam ser multiplicadas no campo, onde a abundância de vetores e a fonte de inóculo próxima, geralmente presente na área, faz com que ocorra rápida reinfecção. Assim sendo, a maioria dos materiais disponíveis no mercado possui índices de incidência de vírus que podem mesmo chegar a 100%. Portanto, qualquer medida de controle que pudesse contribuir para aumentar o desempenho das plantas infectadas seria de grande importância para o produtor.

Uma das alternativas que têm sido investigadas por produtores de diversas culturas é o uso de produtos químicos contendo Piraclostrobina, um fungicida do grupo das estrobilurinas,

capaz de causar um efeito secundário denominado “efeito verde”, induzindo aumento no teor de clorofila e consequentemente no desempenho da planta no campo, além de conferir certa resistência a alguns vírus. Como exemplo pode-se citar o tratamento de sementes de feijão com Piraclostrobina, que conferiu 76% de proteção contra o *Bean common mosaic virus* (BCMV) (UDAYASHANKAR et. al., 2012), e indução de resistência ao *Tobacco mosaic virus* (TMV) em plantas de *Nicotiana tabacum* cv Xanthi (HERMES et al., 2002). Entretanto, até o momento não foi ainda relatado o efeito da Piraclostrobina na performance de plantas de alho infectadas e sadias.

A propagação das viroses via bulbilho infectado tem sido um problema relevante para os produtores, não apenas de Minas Gerais, mas de todo o Brasil. Entretanto, são poucos os estudos que abordam a epidemiologia dos vírus do alho nos campos produtores. Neste trabalho foi realizado um levantamento da ocorrência e da incidência dos vírus em lavouras comerciais de alho estabelecidas em plantios irrigados na região de São Gotardo-MG, visando avaliar a situação atual das lavouras de alho naquela região. Foi também investigado o efeito de diferentes tratamentos com fungicidas contendo a Piraclostrobina em plantas de alho já infectadas, em experimentos de campo, para investigar a possibilidade de diminuição dos efeitos das infecções viróticas na produção e produtividade das plantas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A produção de alho

O alho (*Allium sativum* L.) é a segunda principal espécie do gênero *Allium* mais consumida no mundo. Dezessete países são responsáveis por aproximadamente 95% da produção de alho, sendo os maiores produtores a China (76%), seguida por Índia (9,5%) e Bangladesh (1,5%) (FAO 2021).

Segundo dados do IBGE (2021) a produção brasileira de alho é liderada pelo estado de Minas Gerais (73.940 ton), seguido de Goiás (50.213 ton) e Santa Catarina (18.419 ton). Em Minas Gerais, a cultura ocupa cerca de 4.861 hectares, concentrados principalmente na região do Alto Parnaíba (IBGE, 2021). A produção nacional ainda não é o suficiente para atender a demanda interna e para suprir o déficit, o que torna o país o segundo maior importador de alho do mundo, atrás apenas da Indonésia, e adquiriu em 2019 165.446 toneladas, volume superior à sua produção, a qual foi de 131.523 toneladas no mesmo ano (FAO, 2021). O alho importado chega ao Brasil com preços muito competitivos, por isso com base nas regras de proteção

comercial da OMC o país cobra tarifa *antidumping* a fim de evitar a concorrência desleal com a produção nacional.

Embora ainda seja dependente de importação, o Brasil tem potencial agrônômico para elevar sua produção a ponto de suprir a sua demanda interna de alho e até mesmo tornar-se exportador do produto (RESENDE et. al., 2013). Uma das alternativas para alcançar tal êxito seria o desenvolvimento de novas tecnologias que proporcionem maior sanidade aos cultivos de alho, com a utilização de material propagativo livre de vírus, que pode aumentar em cerca de 30% a produtividade da área plantada (RESENDE et. al., 2022c). Entretanto, a maioria dos bulbilhos plantados, mesmo sendo certificados, geralmente apresenta incidências variáveis de vírus.

As cultivares disponíveis para cultivo no Brasil estão divididas em dois grupos: nobre e seminobre. O alho nobre necessita de vernalização para ser cultivado nas regiões do cerrado brasileiro e possui bulbos redondos e uniformes, com bulbilhos grandes, sem palitos e sensibilidade ao superbrotamento (MOTA et al., 2004, 2006). O grupo seminobre não necessita de vernalização para ser produzido em regiões tropicais e apresenta bulbos em formato irregular, com maior número de bulbilhos e com palitos, túnica branca e película branca a levemente arroxeadada (MOTA et al., 2004, 2006).

2.2 Viroses do alho

Como o alho é propagado de forma vegetativa, os patógenos de etiologia viral são perpetuados através dos bulbilhos, produzidos pela planta mãe, para as gerações subsequentes. Assim sendo, além de provocar perdas crescentes nas próximas gerações, também causam a degenerescência das sementes, que perdem o vigor e a produtividade (VIEIRA et. al., 2015). Trabalhos realizados em todo o mundo têm indicado que as principais espécies virais que já foram detectadas em alho pertencem aos gêneros *Allexivirus*, *Carlavirus* e *Potyvirus*, podendo estas ocorrer em infecções simples e mistas (MITUTI, 2015).

Outros vírus, porém, já foram detectados infectando plantas de alho, como o *Iris yellow spot virus* (IYSV), pertencente ao gênero *Tospovirus*, e transmitido pelo *Thrips tabaci* (KRITZMAN et al., 2001; MUMFORD et al., 1996; NAGATA et al., 1999) detectado pela primeira vez no Egito em 2012 (HAFEZ et al., 2012). Trata-se de um importante vírus que impacta a produção de sementes e bulbos de cebola (*Allium cepa*), e está presente em países como Alemanha (LEINHOS et al., 2007), Áustria (PLENK e GRAUSGRUBER-GRÖGER, 2011), EUA (SCHWARTZ et al., 2002; MULLIS et al., 2004), Brasil (POZZER et al., 1999),

Índia (RAVI et al., 2006), Austrália (COUTTS et al., 2003), África do Sul (DU TOIT et al., 2007), Peru (MULLIS et al., 2006), México (CREAMER et al., 2004) e Chile (ROSALES et al., 2005).

Outro *Tospovirus*, o *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), foi identificado infectando alho pela primeira vez em 2011 na Sérvia, com incidência de plantas infectadas estimada em 40%, entretanto parece ser de ocorrência local. As plantas apresentavam manchas e estrias cloróticas e o cultivo estava associado a uma alta população de *Thrips tabaci* (STANKOVIĆ et al., 2012). O *Garlic dwarf virus* (GDV), um vírus pertencente ao gênero *Fijivirus* (família *Reoviridae*), foi relatado em alho no sul da França em 1994 (LOT et al., 1994). Recentemente duas espécies do gênero *Polerovirus*, *Phasey bean mild yellows virus* (PBMV) e *Turnip yellows virus* (TuYV), foram identificadas em alho na Austrália e sua transmissão está relacionada principalmente a afídeos (NURULITA, et al. 2022).

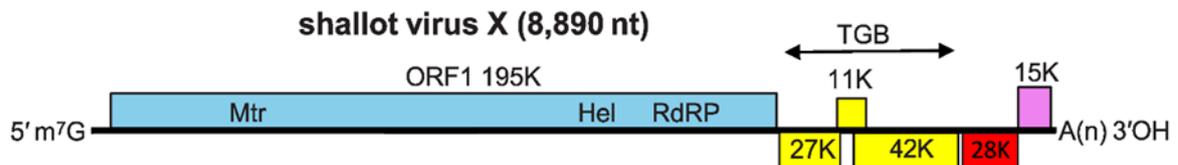
A identificação dos vírus com base na sintomatologia é praticamente impossível, pois a infecção das plantas por vírus de diferentes espécies induz sintomas foliares semelhantes, e são mais evidentes em folhas jovens. Os sintomas podem ser: mosaico estriado, amarelecimento, clorose, necroses leves, subdesenvolvimento e deformação das folhas, sendo estes mais intensos quando há a infecção mista entre potyvírus e carlavírus (FERNANDES et al., 2013). Além disso, infecções latentes são comuns, gerando plantas assintomáticas. Diversas espécies virais pertencentes a gêneros distintos também foram relatados em alho nos últimos tempos, o que alerta para a importância da realização de monitoramento no campo, bem como otimização e desenvolvimento das tecnologias de diagnóstico viral (MOURA et al., 2013).

2.2.1 Espécies do gênero *Allexivirus*

Oito espécies de *Allexivirus* são reconhecidas pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV), todas associadas à cultura do alho: *Garlic virus A* (GarV-A), *Garlic virus B* (GarV-B), *Garlic virus C* (GarV-C), *Garlic virus D* (GarV-D), *Garlic virus E* (GarV-E), *Garlic virus X* (GarV-X), *Garlic mite-borne filamentous virus* (GarMbFV) e *Shallot virus X* (SVX) (KING et al., 2012). As infecções por alexivírus podem causar graves perdas nos campos de produção de alho, tais como – diminuição do peso dos bulbos (14–32%) e redução do seu diâmetro (6–11%) (BEREDA e PADUCH-CICHAL, 2016). A disseminação acontece a partir de bulbilhos infectados e pelo ácaro vetor *Aceria tulipae* (KING et al., 2012). No Brasil há relatos das espécies GarV-A, GarV-B, GarV-C, GarV-D, GarMbFV (NASCIMENTO et al., 2008) e GarVX (OLIVEIRA et al., 2014).

Os allexivirus possuem partículas alongadas, flexíveis, medindo de 610 a 700nm x 12-15 nm, contendo ssRNA+ com aproximadamente 9.0 Kb (KREUZE et. al., 2020). O seu genoma é composto por 6 ORFs (“open reading frame”), e regiões curtas não traduzíveis na região 5’ e 3’ (Figura 1). Considerando-se o sentido 5’→3’, o genoma viral codifica as seguintes proteínas: ORF 1: proteína com 195 kDa: associada à replicação viral (Rep); ORFs 2 e 3: as proteínas com 26 e 11 kDa são semelhantes às duas primeiras proteínas codificadas pelo TGB (triple gene block) de outros vírus relacionados e provavelmente estão envolvidas no movimento célula a célula do vírus; ORF 4: proteína com 42 kDa, que não possui homologia significativa com nenhuma proteína conhecida. Em plantas infectadas com um isolado da espécie tipo dos allexivirus, a proteína de 42 kDa foi expressa em quantidades relativamente grandes e mostrou estar envolvida na montagem do virion; ORF 5: proteína com 28 kDa, que é a proteína do capsídeo (CP); ORF 6: proteína com 15 kDa, que possui um sítio de ligação ao zinco e uma capacidade de se ligar a ácidos nucleicos (KREUZE et. al., 2020).

Figura 1. Organização dos genomas dos allexivirus, mostrando as posições relativas das ORFs e seus produtos de expressão.



Fonte: KREUZE et. al., 2020.

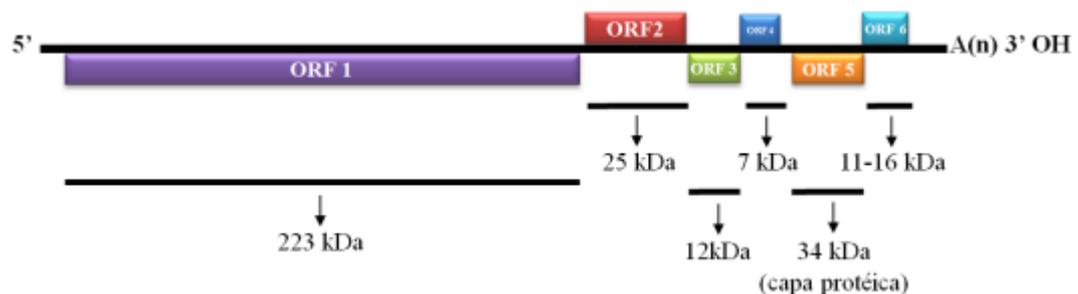
2.2.2 Espécies do gênero *Carlavirus*

Duas são as espécies virais pertencentes ao gênero *Carlavirus*, reconhecidas pelo ICTV: *Garlic common latent virus* (GCLV) e *Shallot latent virus* (SLV). O carlavírus mais comumente encontrado em alho é o GarCLV, descrito originalmente na França (DELECOLLE e LOT, 1981) e posteriormente na Ásia, Europa, América do Norte, América do Sul (BELLARDI et al., 1995; TSUNEYOSHI et al., 1998). Nas últimas duas décadas ambas as espécies foram detectadas no Brasil (FAJARDO et al., 2001; MITUTI et al., 2011). Um novo vírus, *garlic yellow mosaic-associated virus* (GYMaV) foi relatado em alho e sua análise filogenética revelou estreita relação com os vírus da família *Betaflexiviridae* (DA SILVA et. al., 2019). Assim como as espécies do gênero *Potyvirus*, a disseminação ocorre a partir de bulbilhos infectados e por afídeos (VAN DIJK, 1993).

Os carlavirus pertencem à família e *Betaflexiviridae* e são constituídos por partículas alongadas, flexíveis, medindo aproximadamente 610x700nm, contendo ssRNA+ com aproximadamente 8.3 a 8.7 kb. Algumas espécies possuem dois RNAs subgenômicos (sgRNA), com tamanho aproximado de 2 a 3 kb, e possivelmente encapsidados em partículas menores (KING et al., 2012).

O genoma é composto por 6 ORFs conforme o esquema apresentado na Figura 2. A ORF1 codifica uma proteína de 223 kDa correspondente à replicase, as ORFs 2, 3 e 4 formam o TGB, que corresponde a uma região conservada de genes, envolvidas no movimento do vírus célula-a-célula e a longa distância. A ORF5 corresponde à capa proteica. A ORF6 codifica uma proteína de 11-16 kDa, com função ainda não determinada, embora a sua capacidade de se ligar a ácidos nucleicos indique que possa atuar na transmissão por afídeos, silenciamento gênico ou replicação do RNA viral (ZERBINI et al., 2006; KING et al., 2012).

Figura 2. Organização genômica de *Carlavirus*. As ORFs estão demonstradas pelos retângulos, e as proteínas traduzidas, pelas linhas sólidas, com suas respectivas massas moleculares (kDa)



Fonte: KING et al., 2012.

2.2.3 Espécies do gênero *Potyvirus*

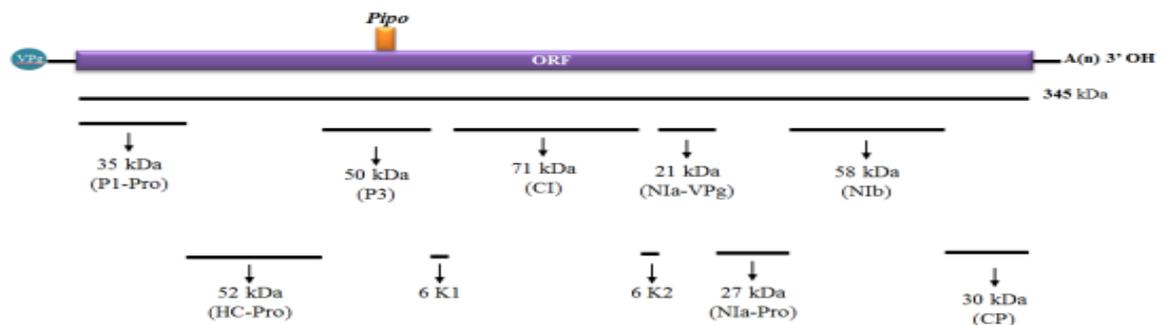
São aceitas três espécies virais pertencentes ao gênero *Potyvirus* pelo ICTV associadas à cultura do alho: *Onion yellow dwarf virus* (OYDV), *Leek yellow stripe virus* (LYSV) e *Shallot yellow stripe virus* (SYSV) (ADAMS et al., 2012). Estas espécies já foram identificadas no sul e sudeste da Ásia (BARG et al., 1994), Itália (BELLARDI et al., 1995), Venezuela (MARYS et al., 1994), França (MESSIAEN et al., 1994), Japão (TAKAICHI et al., 1998) e no Brasil (DUSI et al., 1994; DANIELS, 1999; FAJARDO et al., 2001).

Os potyvirus pertencem à família *Potyviridae* e são constituídos por partículas alongadas, flexíveis, medindo de 680-900 nm x 11-13 nm de diâmetro, contendo ssRNA+ com cerca de 9,7 Kb. Esse genoma exibe uma única ORF, que posteriormente é clivada em 11 proteínas

funcionais: P1, HC-Pro, P3, 6KI, CI, 6K2, VPg, NIa, Nib, CP e PIPO (ADAMS et al., 2011) (Figura 3). Possui a proteína VPg ligada covalentemente ao terminal 5' e uma cauda poli (A) no terminal 3' (ADAMS et. al., 2011).

A proteína P1 exerce diversas funções: atua na replicação, na supressão do silenciamento gênico e também como protease de serina, responsável pela clivagem no C terminal da HCPro. Está envolvida também no processo de infecção, na transmissão pelo vetor e no silenciamento gênico (URCUQUI-INCHIMA et al., 2001). A proteína HCPro (*Helper Component Proteinase*) tem sido intensamente estudada, sendo que diversos papéis já lhe foram atribuídos: cisteína-proteinase, que se auto-cliva na sua região C terminal, e auxiliar na transmissão pelo vetor e supressão do silenciamento gênico, além de outros envolvimento no processo de infecção viral (GOVIER et al., 1977, CARRINGTON et al., 1989; MALLORY et al., 2002; KASSCHAU et al., 2003; GONZALEZ-JARA et al., 2005; SYLLER et al., 2005; JAY et al., 2011; SOITAMO et al., 2011; IVANOV et al., 2016; DEL TORO et al., 2017).

Figura 3. Organização do genoma dos potyvirus indicando a posição das proteínas com seus respectivos pesos moleculares (kDa)



Fonte: ADAMS et al., 2012.

A proteína P3 tem sido encontrada associada às inclusões citoplasmáticas (CI), nucleares formadas pelas proteínas NIa e Nib e também formando inclusões associadas ao complexo de Golgi, que se deslocam ao longo dos filamentos de actina, ficando localizadas junto com vesículas de replicação (RODRÍGUEZ-CEREZO et al., 1993, LANGENBERG et al., 1997, GUO et al., 2001, EIAMTANASATE., 2007, LIN et al., 2009, CUI et al., 2010, ZILIAN et al., 2011). A proteína K1 parece ter um papel relevante na infecção viral, principalmente no estágio inicial da infecção (MERITS et al., 2002, WALTERMANN & MAISS, 2006, CUI & WANG, 2016).

A proteína PIPO, por sua vez, é uma proteína totalmente inserida na região codificadora da proteína P3 e é envolvida na translocação viral, em conjunto com a CI e com o fator PCAP1

(*plasma membrane-associated cation-binding protein*) do hospedeiro (VIJAYAPALANI et al., 2012, CUI et al., 2017). A proteína CI (*Cytoplasmatic Inclusion*), conforme sugerido pelo seu nome, é a responsável pela formação das inclusões na forma de catavento que constitui uma característica típica de espécies da família *Potyviridae* (EDWARDSON et al., 1996). É também uma proteína multifuncional, estando envolvida em: atividades de ATPase e RNA helicase, importantes para a replicação viral (DENG et al., 2015), translocação do vírus na planta (ZHANG et al., 2009), montagem e desmontagem das partículas (MOVAHED et al. 2017) e fator de virulência para diferentes genes (SOREL et al., 2014).

A proteína NIa forma uma inclusão cristalina, principalmente no núcleo, apesar de aparecerem também no citoplasma (KNUHTSEN et al., 1974, MARTÍN et al., 1992). Ela tem um domínio de protease que cliva as regiões central e C terminal da poliproteína dos potyvirus (ADAMS et al., 2005). Além da sua atividade de protease tem também a atividade de DNase, possivelmente exercendo um papel regulador no gene do hospedeiro, supostamente importante para a infecção viral (ANINDYA et al., 2004). Portanto, ela teria um papel relevante no controle da infecção viral (SUN et al., 2010).

A VPg é uma proteína que é acoplada ao terminal 5' do genoma viral, durante a montagem das partículas. Contém um sítio de ligação a nucleotídeos, podendo ter atividade de NTPase, dependendo da sua associação com outras proteínas (MATHUR et al., 2012). Desempenha um papel importante na replicação viral e na supressão do silenciamento gênico (COTTON et al., 2009; RAJAMAKI et al., 2009, BEAUCHEMIN et al., 2007, ORUETXEBARRIA et al., 2001, MATHUR et al., 2012, RAJAMAKI et al., 2014; CHENG et al., 2017).

A NIb (*Nuclear Inclusion b*), em conjunto com a NIa, compõem as inclusões nucleares cristalinas acima citadas e atua também como RNA polimerase (HONG et al., 1996), sendo, portanto, fundamental para a replicação viral. Finalmente, a CP é a proteína que forma o capsídeo viral.

O *Leek yellow stripe virus* (LYSV) causa estrias amarelas ao longo do limbo foliar e nanismo da planta, sendo facilmente transmitido por afídeos e ferramentas contaminadas, tais como tesouras. O *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) também pode causar nanismo, leve clorose e não induzem estrias nas folhas das plantas infectadas (BAI et al., 2010). Os maiores danos à produção em alho têm sido atribuídos às infecções causadas por OYDV e LYSV. A redução na massa e diâmetro dos bulbos pode ser acentuada quando estes potyvirus ocorrem associados a outras espécies virais na mesma planta (TAKAICHI et al., 1998). A estimativa é de que, em casos de infecção isolada somente com a espécie OYDV, as perdas na produção de bulbos sejam de

até 50%, e em casos de infecção mista de OYDV e LYSV a redução seja de até 78% na produção (WALKEY e ANTILL, 1989; FIDAN et al., 2009).

As espécies virais pertencentes a este gênero são transmitidas por nove afídeos de maneira não-persistente. A espécie mais eficiente foi o *Myzus persicae*, com taxa de transmissão de 66,7% para OYDV, e 63,6% para LYSV, seguido de *Aphis craccivora*, com 60% para OYDV, e 40% para LYSV. Outras sete espécies transmitiram o vírus, porém com menor eficiência (*A. gossypii*, *Acyrtosiphon pisum*, *Dactynotus sonchi*, *Aphis nerii*, *Rhopalosiphum padi*, *Rhopalosiphum miadis*, *Schizaphis graminum*). Em todas as espécies testadas, os afídeos alados foram menos eficientes do que os afídeos ápteros na transmissão dos vírus (EL-WAHAB, 2009).

2.3 Métodos para identificação e detecção de vírus em alho

A identificação das espécies virais com base na sintomatologia é praticamente inviável, devido ao fato destas induzirem sintomas semelhantes em plantas de alho, além de poderem ocorrer como infecção latente em plantas assintomáticas. O uso de plantas indicadoras é algo restrito, uma vez que as plantas hospedeiras dos vírus que infectam o alho são da família *Alliaceae*, consideradas ineficientes para detecção, já que não induzem sintomas específicos para cada espécie (FERNANDES et. al., 2013).

Os testes sorológicos têm sido bastante utilizados para a diagnose de vírus em alho, com vários antissoros disponíveis comercialmente. O principal método empregado para teste de rotina em larga escala é o DAS-ELISA (ANDRÉ, 2011). Entretanto, os métodos moleculares, como o RT-PCR e qRT-PCR, têm sido os mais empregados, devido à sua especificidade e sensibilidade, além de possibilitar a análise da sequência do genoma, importante para confirmação da espécie e estudo de variabilidade do genoma dos vírus (FERNANDES et. al., 2013).

Utilizando os métodos moleculares, RT-PCR e RT-qPCR pode-se empregar oligonucleotídeos degenerados para a detecção dos gêneros *Potyvirus*, *Carlavirus* e *Allexivirus*, bem como primers específicos para a detecção das espécies destes e de outros gêneros presentes no material analisado (GIBBS e MACKENZIE, 1997; TAKAICHI et al., 1998; MOTA et al, 2004; MITUTI, 2009; OLIVEIRA, 2013). O RT-qPCR é um método quantitativo e mais sensível que o RT-PCR, entretanto é mais oneroso, de modo que nem sempre é viável como método de rotina. Trabalhos realizados com este método indicaram que ele apresentou uma eficiência até 70% maior que os métodos sorológicos, quando foi utilizado na detecção do LYSV, OYDV, SLV e GarMbFV (LUNELLO et al., 2004; LEISOVA-SVOBODOVA et al., 2011; TASKUN et al., 2013).

2.4. Controle de viroses em alho

As medidas de controle para as viroses do alho, como acontece com todas as demais doenças viróticas devem ser principalmente preventivas. Métodos de limpeza clonal, pela associação de termoterapia com micropropagação e indexação para os principais vírus, assim como a propagação controlada para obtenção de material básico sadio para multiplicação são as medidas consideradas mais efetivas e têm sido empregadas em larga escala, pois proporciona desempenho agrônômico notadamente superior quando comparadas com as plantas infectadas (FERNANDES et al. 2013; MELO FILHO et al., 2005; RESENDE et.al., 2013).

Algumas medidas simples podem ser adotadas para diminuir a incidência dos vírus, como o uso de cultivar resistente e plantio em altitudes elevadas (1.800 metros acima do nível do mar) (BAI et al., 2010); evitar plantios sucessivos e estabelecimento de culturas novas próximo às velhas, que provavelmente possuem alto potencial de inóculo, e eliminar as plantas daninhas hospedeiras de afídeos (MOURA et. al., 2013). Para os *Potyvirus* e *Carlavirus*, o controle do afídeo vetor não é eficiente para evitar a introdução do vírus na cultura, já que a transmissão ocorre em poucos segundos e pode ocorrer antes que haja efeito do controle químico (SATURNINO e CRUZ FILHO, 1980), entretanto pode evitar a disseminação de uma planta para outra dentro da cultura. No caso dos *Allexivirus*, a transmissão ocorre pela presença de ácaros, principalmente nos bulbos armazenados (CAFRUNE et al, 2006), sendo recomendada a aplicação de acaricida controle.

Mesmo empregando bulbilhos sadios, a reinfecção acontece devido às sucessivas multiplicações e varia conforme a tolerância da cultivar, nível populacional dos vetores e do isolamento de cultivos infectados (FERNANDES et al. 2013), tornando necessária uma constante reposição de material propagativo livres de vírus.

2.5 Efeito da Piraclostrobina em plantas

No início da década de 80, foi isolada, a partir do fungo *Strobilurus tenacellus* encontrado em cones de *Pinus*, uma substância denominada estrobilurina A. Observou-se que essa substância inibia o crescimento de outros fungos, e pertencia ao grupo β - methoxyacrilatos (KOLE et al., 1994; BARLETT et al., 2001). Com o lançamento das estrobilurinas, os fungicidas deixaram de visar apenas a redução do inóculo e passaram a ganhar novas perspectivas, devido ao efeito fisiológico provocado pela molécula gerar consequências positivas para a produtividade.

As plantas são constantemente atacadas por patógenos e apresentam mecanismos de defesa pré e pós-formados cuja função é restringir a infecção/colonização. Em ambas as

categorias, os fatores envolvidos na resistência podem ser subdivididos em estruturais ou bioquímicos. Os estruturais atuam como barreiras físicas, enquanto os bioquímicos atuam através da produção de substâncias tóxicas ou repelentes ao patógeno ou criando condições adversas a colonização (PASCHOLATI, 2008).

A resistência da planta está ligada a ativação de vários mecanismos de defesa. A resposta envolve ativação da transcrição de genes, abertura de canais de íons, modificações do status de fosforilação das proteínas e ativação de enzimas pré-formadas para modificar os metabolismos primários e secundários (PASCHOLATI, 2008). Além disso, há a geração de moléculas sinalizadoras que coordenam a resposta de defesa tanto temporalmente quanto espacialmente, resultando na contenção do patógeno (HAMMOND-KOSACK e JONES, 2000). Estudos sugerem que os genes responsáveis pela resistência têm ligação com o incremento do ácido salicílico (AS), ácido jasmônico (AJ) e etileno (ET) (BOSTOCK, 2005; JALALI et al., 2006).

Nos fungos, a Piraclostrobina, um fungicida do grupo das estrobilurinas atua inibindo a respiração mitocondrial por bloquear a transferência de elétrons no citocromo BC₁ do complexo III na respiração mitocondrial (AMMERMANN et al., 2000; VENANCIO et al., 2003; BARLETT et al., 2003). A respiração mitocondrial oferece energia necessária para o crescimento e o desenvolvimento de fungos fitopatogênicos. A Piraclostrobina atua reduzindo a produção de energia e conseqüentemente o crescimento do fungo (FAGAN, 2007).

Outro efeito que tem sido atribuído às estrobilurinas é o chamado efeito verde. As plantas tratadas com esse princípio ativo tendem a apresentar um aumento na fotossíntese líquida, além de uma melhoria na eficiência na assimilação do nitrogênio e um ganho significativo na produção, devido a uma melhoria no desempenho da planta (DIAZ-ESPEJO ET AL., 2012; BARROS, 2016; DAL CORTIVO et al., 2017; LIANG et al., 2018) Na cultura de soja, por exemplo, a aplicação de Piraclostrobina promoveu a redução da respiração, incremento da fotossíntese e da atividade da enzima nitrato redutase, aumento da massa de grãos e produtividade final (FAGAN et al., 2010). Verificou-se também que as estrobilurinas aumentam tolerância a estresses abióticos, pois podem retardar a senescência da área foliar fotossintética, interferem no balanço de fitohormônios e aumentam a assimilação de CO₂ no trigo (WU VON TIEDEMANN, 2001; KÖHLE et al., 2002). Em plantas de milho que receberam o produto apresentaram aumento da área foliar e raízes, bem como incremento de biomassa (LAZO E ASCENCIO, 2014).

Diversos fatores podem atuar induzindo a produção de respostas da planta tratada com estrobilurinas, provocando reações que podem resultar na proteção contra fitopatógenos (SOBRINHO et al., 2005). Estudos realizados por Udayashankar et. al (2012) mostraram 76% de proteção contra o BCMV (*Bean common mosaic virus*) quando as sementes de feijão foram

tratadas com 10 µg/ml de Piraclostrobina. Hermes et al. (2002) demonstraram a capacidade da Piraclostrobina de induzir resistência ao *Tobacco mosaic virus* (TMV) através da indução da expressão do gene PR1 TMV, que codifica a proteína responsável pelo desenvolvimento das lesões necróticas na resposta de hipersensibilidade (HR). Resultados semelhantes foram observados para a bactéria *Pseudomonas syringae* pv *tabaci* em plantas de fumo (*Nicotiana tabacum* cv Xanthi nc). Terumi Itako et al. (2012) observaram que para a bactéria *Xanthomonas perforans* houve um incremento da atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidases após aplicação de Piraclostrobina juntamente com acibenzolar-S-metil (ASM). Estas enzimas estão envolvidas nos mecanismos de defesa, cicatrização de ferimentos, estresses abióticos e senescência (LEE et al., 2001; AGRIOS, 2005).

Atualmente três produtos contendo a Piraclostrobina como ingrediente ativo estão registrados no MAPA para a cultura do alho (Tabela 1). Comercialmente a Piraclostrobina é encontrada como Comet® (Piraclostrobina – 250 g L-1) e de forma conjugada como CabrioTop® (Piraclostrobina 50 g/kg e Metiram 550 g/kg) e Orkestra® (Piraclostrobina – 333 g L-1 e Fluxaproxade – 167 g L-1), todos registrado para o controle de Mancha-púrpura (*Alternaria porri*) e Ferrugem (*Puccinia allii*) na cultura do alho (BASF, 2022).

Tabela 1. Relação de produtos com Piraclostrobina como ingrediente ativo registrados para uso na cultura do alho no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

PRODUTO COMERCIAL	INGREDIENTE ATIVO	FORMULAÇÃO
Cabrio® Top	metiram (alquilenobis(ditiocarbamato)) + Piraclostrobina (estrobilurina)	WG - Grânulos Dispersíveis em Água
Comet®	Piraclostrobina (estrobilurina)	EC - Concentrado Emulsionável
Orkestra® SC	fluxaproxade (carboxamida) + Piraclostrobina (estrobilurina)	SC - Suspensão Concentrada

Fonte: Agrofit (2022).

A possibilidade de esta molécula promover a ativação de mecanismos de defesa, que podem provocar a diminuição ou paralisação da replicação e/ou movimentação viral, constitui uma alternativa de manejo interessante e promissora, uma vez que a molécula é capaz de controlar diversas doenças (FAGAN, 2007). Além disso, uma melhora no desempenho da planta poderia diminuir as perdas ocasionadas pela infecção viral, tornando o uso desse produto um benefício extra para a cultura e para o produtor.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, M. J.; KING, A. M.; LEFKOWITZ, E.; CARSTENS, E.B. Part II: The viruses - Family *Potyviridae*. In: **Virus Taxonomy - Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. pp 1069-1090, 2011.
- ADAMS, M.J.; ANTONIW, J.F.; FAUQUET, C.M. Molecular criteria for genus and species discrimination within the family *Potyviridae*. **Archives of Virology**, v.150, p.459- 479, 2005.
- FAOSTAT**. Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/>>. Acesso em: 16 dez 2022.
- AGRIOS, G. N. Plant pathology. 5th. ed. San Diego: **Elsevier**, p. 948, 2005.
- AMMERMANN, E.; LORENZ, G.; SCHELBERGER, K.; MUELLER, B.; KIRSTGEN, R.; SAUTER, H. BAS 500 F – the new broad-spectrum strobilurin fungicide. In: **Brighton Crop Protection Conference**, Pests and Diseases, 2, Brighton. Proceedings, Brighton-UK: BCPC, 2000, p.541– 548, 2000.
- ANDRÉ, M. S. F.; DUSI, A.N.; RESENDE, R.O. Spread of viruses in garlic fields cultivated under different agricultural production systems in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v.36, p.341-349, 2011.
- ANINDYA, R., & SAVITHRI, H. S. Potyviral NIa proteinase, a proteinase with novel deoxyribonuclease activity. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, p. 32159-32169, 2004.
- BAI, Y.; ZHANG, W.; LI, X.; SHEN, Y.; GAO, Y.; FAN, G.; GENG, H.; MENG, X.. Advances in research of garlic virus diseases. **Journal of Northeast Agricultural University** 17(2):85- 92, 2010.
- BARG, E; LESEMAN, DE.; VETTEN, HJ. Identification, partial characterization, and distribution of viruses infecting allium crops in South an Southeast Asia. **Acta Horticulturae** 358:251-258. 1994.
- BARLETT, D. W. et al. Understanding the strobirulin fungicides. **Pesticide Outlook**, Cambridge, v. 12, n. 4, p. 143-146, 2001.
- BARROS, A. V. de. P Photosynthetic performance in soybean leaves caused by Epoxiconazole + Pyraclostrobin and Acibenzolar-S-Methyl and Phakopsora pachyrhizi infection. 2016. 33 f. **Dissertação** (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2016.
- BEAUCHEMIN, C.; BOUTET, N.; & LALIBERTE, J. F. Visualization of the interaction between the precursors of VPg, the viral protein linked to the genome of *Turnip mosaic virus*, and the translation eukaryotic initiation factor iso 4E in planta. **Journal of Virology**, v. 81, p. 775-782, 2007.
- BELLARDI, M.G.; MARANI, F.; BETTI, L.; RABITI, A.L. Detection of *Garlic common latent virus* (GCLV) in *Allium sativum* L. in Italy. **Phytopathology**, v. 34, p.58-61, 1995.
- BEREDA, M.; PADUCH-CICHAL, E. Allexiviruses – pathogens of garlic plants. **Progress in Plant Protection**, v.56, p.302-311, 2016.
- BOSTOCK, R. M. Signal crosstalk and induced resistance: straddling the line between cost and benefit. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 43, p. 545-580, 2005.

- CAFRUNE, E.E.; BALZARINI, M; CONCI, V. Changes in the concentration of an *Allexivirus* during the crop cycle of two garlic cultivars. **Plant Disease**, v.90, p.1293-1296, 2006.
- CARRINGTON, J. C.; FREED, D. D.; & SANDERS, T. C. Autocatalytic processing of the Potyvirus helper component proteinase in *Escherichia coli* and in vitro. *Journal of Virology*, v. 63, p. 4459-4463, 1989.
- CHENG, X.; & WANG, A. The *Potyvirus* silencing suppressor protein VPg mediates degradation of SGS3 via ubiquitination and autophagy pathways. **Journal of Virology**, v. 91, e01478-16, 2017.
- COTTON, S., GRANGEON, R., THIVIERGE, K., MATHIEU, I., IDE, C., WEI, T., et al. *Turnip mosaic virus* RNA replication complex vesicles are mobile, align with microfilaments, and are each derived from a single viral genome. **Journal of Virology**, v. 83, p. 10460-10471, 2009.
- COUTTS, B. A.; MCMICHAEL, L. A.; TESORIERO, L.; RODONI, B. C.; WILSON, C. R.; WILSON, A. J.; PERSLEY, D. M.; AND JONES, R. A. C. Iris yellow spot virus found infecting onions in three Australian states. *Australas. Plant Pathol.* 32:355–357, 2003.
- CREAMER, R.; SANOGO, S.; MOYA, A.; ROMERO, J.; MOLINA-BRAVO, R.; CRAMER, C. Iris yellow spot virus on onion in New Mexico. **Plant Dis.** 88:1049, 2004.
- CUI, X.; WEI, T.; CHOWDA-REDDY, R. V.; SUN, G.; WANG, A. The *Tobacco etch virus* P3 protein forms mobile inclusions via the early secretory pathway and traffics along actin microfilaments. **Virology**, v. 397, p. 56-63, 2010.
- CUI, X. & WANG, A. *Plum pox virus* 6K1 protein is required for viral replication and targets the viral replication complex at the early stage of infection. **Journal of Virology**, v. 90, p. 5119-5131, 2016.
- CUI, X.; YAGHMAIEAN, H.; WU, G.; WU, X.; CHEN, X.; THORN, G.; WANG, A. The C-terminal region of the *Turnip mosaic virus* P3 protein is essential for viral infection via targeting P3 to the viral replication complex. **Virology**, v. 510, p. 147-155, 2017.
- DA SILVA, L. A.; OLIVEIRA, A. S.; MELO, F. L.; ARDISSON-ARAÚJO, D.; RESENDE, F. V.; RESENDE, R. O.; RIBEIRO, B. M. A new virus found in garlic virus complex is a member of possible novel genus of the family *Betaflexiviridae* (order *Tymovirales*). **PeerJ**, 7, e6285, 2019.
- DAL CORTIVO, C., CONSELVAN, G. B., CARLETTI, P., BARION, G., SELLA, L., & VAMERALI, T. Biostimulant effects of seed-applied sedaxane fungicide: morphological and physiological changes in maize seedlings. *Frontiers in plant science*, v. 8, p. 2072, 2017.
- DANIELS, J. Occurrence of virus in garlic in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, n 24, p. 91, 1999.
- DELECOLLE, B.; LOT, H. Viroses de l'ail: mise en évidence et essais de caractérisation par immunoélectromicroscopie d'un complexe de trois virus chez différentes populations d'ail atteints de mosaïque, 1981. In: VAN DIJK, P. Carlavirus isolates from cultivated *Allium* species represent three viruses. **Journal of Plant Pathology**, Netherlands, v. 99, p. 233-257, 1993.

- DEL TORO, F. J.; DONAIRE, L.; AGUILAR, E.; CHUNG, B.; TENLLADO, F.; CANTO, T. Potato virus Y HCPro suppression of antiviral silencing in *Nicotiana benthamiana* plants correlates with its ability to bind in vivo to 21- and 22-nucleotide small RNAs of viral sequence. **Journal of Virology**, v.91, e00367-17, 2017.
- DENG, P.; WU, Z.; WANG, A. The multifunctional protein CI of Potyvirus es plays interlinked and distinct roles in viral genome replication and intercellular movement. **Virology Journal**, v. 12, p. 141, 2015.
- DIAZ-ESPEJO, A., CUEVAS, M. V., RIBAS-CARBO, M., FLEXAS, J., MARTORELL, S., & FERNÁNDEZ, J. E. The effect of strobilurins on leaf gas exchange, water use efficiency and ABA content in grapevine under field conditions. *Journal of plant physiology*, v. 169, n. 4, p. 379-386, 2012.
- DUSI A. N.; FAJARDO, T. V. M.; CUPERTINO, F. P. Serological identification of garlic (*Allium sativum* L.) viruses in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, p. 298, 1994. Suplemento. Resumo.
- DU TOIT, L. J., BURGER, J. T., MCLEOD, A., ENGELBRECHT, M., AND VILJOEN, A. *Iris yellow spot virus* in onion seed crops in South Africa. **Plant Dis.** 91:1203, 2007.
- EDWARDSON, J. R., & CHRISTIE, R. G. Cylindrical inclusions. Gainesville, FL, USA: University of Florida, Agricultural Experiment Station, **Bulletin 894**, 1996.
- EIAMTANASATE, S., JURICEK, M., & YAP, Y. C-terminal hydrophobic region leads PRSV P3 protein to endoplasmic reticulum. **Virus Genes**, v. 35, p. 611-617, 2007.
- EL-WAHAB, A.S.A. Aphid-transmission efficiency of two main viruses on garlic in Egypt, *Onion yellow dwarf virus* (OYDV-G) and *Leek yellow stripe virus* (LYSV-G). **Academic Journal of Entomology**, v.2, n.1, p.40-42, 2009.
- FAGAN, E.B. A cultura da soja: modelo de crescimento e aplicação da estrobilurina Piraclostrobina. 84p. **Tese (Doutorado)** – ESALQ, Piracicaba, 2007.
- FAJARDO, T. V. M.; NISHIJIMA, M.; BUSO, J. A.; TORRES, A. C.; AVILA, A. C.; RESENDE, R. O. Garlic viral complex: identification of potyviruses and carlaviruses in Central Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 619-626, set. 2001.
- FERNANDES, F. R.; DUSI, A. N.; RESENDE, F. V. Viroses do alho no Brasil: importância e principais medidas de controle. Brasília-DF: EMBRAPA. **Circular técnica 122** p. 9, 2013.
- FIDAN., H.; BALAGLU, S.; KOÇ, G.; BIRISIK, N. New virus diseases for Turkey detected in onion and garlic: *Onion yellow dwarf virus* and *Shallot latent virus*. In **Turkey's National 3rd Plant Protection Congress**, p.131, Van, Turkey, July 2009.
- GIBBS, A.; MACKENZIE, A. A primer pair for amplifying part of the genome of all potyvirids by RT-PCR. **Journal of Virological Methods**, v.63, p.9-16, 1997.
- GONZALEZ-JARA, P.; ATENCIO, F. A.; MARTINEZ-GARCIA, B.; BARAJAS, D.; TENLLADO, F.; DIAZ-RUIZ, J.R. A single amino acid mutation in the plum pox virus helper component-proteinase gene abolishes both synergistic and RNA silencing suppression activities. **Phytopathology**, v. 95, p. 894-901, 2005.

GOVIER, D. A.; KASSANIS, B.; PIRONE, T.P. Partial purification and characterization of the *Potato Virus Y* helper component. **Virology**, v. 78, p. 306-314, 1977.

GUO, D, Y.; RAJAMAKI, M. L.; SAARNA, M.; & VALKONEN, J. P. T. Towards a protein interaction map of Potyvirus es: Protein interaction matrixes of two Potyvirus es based on the yeast two-hybrid system. **Journal of General Virology**, v. 82, p. 935-939, 2001.

HAFEZ, E. E.; ABDELKHALEK, A. A.; EL-MORSI, A. A.; EL-SHAHABY, O. A. EL-SHAHABY. First Report of *Iris yellow spot virus* Infection of Garlic and Egyptian Leek in Egypt. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 96, p. 592-594, 2012.

HAMMOND-KOSACK, K. E.; JONES, J. D. G. Resistance gene-dependent plant defense responses. **Plant Cell**, Baltimore, v. 8, p. 1773-1791, 1996.

HERMES, S.; SEEHAUS, K.; KOEHLE, H. A Strobirulin fungicide enhances the resistance of tobacco against *Tobacco mosaic virus* and *Pseudomonas syringae* pv. *Tabaci*. **Journal Plant Physiology**, Jena, v. 130, p. 120-127, 2002.

HONG, Y. e HUNT, A. G. RNA polymerase activity catalyzed by a Potyvirus -encoded RNA-dependent RNA polymerase. **Virology**, v. 226, p. 146-151, 1996.

IBGE. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/alho/mg>>. Acesso em: 16 dez 2022.

IVANOV, K. I.; ESKELIN, K.; BASIC, M.; DE, S.; LOHMUS, A.; VARJOSALO, M.; MAKINEN, K. Molecular insights into the function of the viral RNA silencing suppressor HCPro. **The Plant Journal**, v. 85, p. 30-45, 2016.

JALALI, B. L.; BHARGAVA S.; KAMBLE, A. Signal transduction and transcriptional regulation of plant defense responses. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.154, p. 65-74, 2006.

JAY, F., WANG, Y., YU, A., TACONNAT, L., PELLETIER, S., COLOT, V., et al. Misregulation of Auxin Response Factor 8 underlies the developmental abnormalities caused by three distinct viral silencing suppressors in arabidopsis. **PLoS Pathogens**, v. 7, e1002035, 2011.

KASSCHAU, K. D., XIE, Z. X., ALLEN, E., LLAVE, C., CHAPMAN, E. J., KRIZAN, K. A., et al. P1-HCPro, a viral suppressor of RNA silencing, interferes with Arabidopsis development and miRNA function. *Developmental Cell*, v. 4, p. 205-217, 2003.

KING, A.M.Q., LEFKOWITZ, E., ADAMS, J.M., CARSTENS, E.B. *Virus Taxonomy*, **Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses** 1327, p. 2012.

KNUHTSEN, H., HIEBERT, E., & PURCIFULL, D. E. Partial purification and some properties of tobacco etch virus induced intranuclear inclusions. **Virology**, v. 61, p. 200-209, 1974.

KÖHLE, H., GROSSMANN, K., JABS, T., GERHARD, M., KAISER, W., GLAAB, J., et al. (2002). "Physiological effects of the strobilurin fungicide F 500 on plants," in *Modern Fungicides and Antifungal Compounds III*, eds W. H. Dehne, H. B. Deising, U. Gisi, K. H. Kuck, P. E. Russell, and H. Lyr (**Bonn: Agroconcept**), 61–74.

- KOLE, H. et al. Physiologische einflüsse desneuen getreidefungizidez juwel auf die ertragsbildung. **Gesunde Pflanzen**, Berlin, v. 49, p. 267-271, 1997.
- KREUZE, J. F.; VAIRA, A. M.; MENZEL, W.; CANDRESSE, T.; ZAVRIEV, S. K.; HAMMOND, J.; RYU, K. H. ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Alphaflexiviridae*, **Journal of General Virology**, 101, 699–700, 2020
- KRITZMAN, A.; LAMPEL, M.; RACCAH, B.; *et al.* Distribution and Transmission of *Iris yellow spot virus*. **Plant Disease**, v. 85, n. 8, p. 838–842, 2001.
- LANGENBERG, W. G., & ZHANG, L. Y. Immunocytology shows the presence of tobacco etch virus P3 protein in nuclear inclusions. **Journal of Structural Biology**, v. 118, p. 188-195, 1997.
- LAZO, J. V., and ASCENCIO, J. (2014). Some morphometric and physiological responses induced by fungicide Opera (R) (Pyraclostrobin plus Epoxiconazole) in corn (*Zea mays* L.). **Rev. Fac. Agron.** 31, 39–59.
- LEE, S. H.; KIM, E. S.; LEE, M. Y. Purification and characterization of a cationic isoperoxidase from scented-geranium. **Phytochemistry**, Stuttgart, v. 58, p. 859-864, 2001.
- LEINHOS, G.; MULLER, J.; HEUPEL, M.; KRAUTHAUSEN, H. J. *Iris Yellow Spot Virus* An Bund- und Speisezwiebeln-erster Nachweis In Deutschland. **Nachrichtenbl. DEUT. PFLANZENSCHUTTZD** 59:310–312, 2007.
- LEISOVA-SVOBODOVA, L.; KARLOVA-SMEKALOVA, K. Detection of garlic using SYBR green real-time reverse transcription-Polymerase chain reaction. **Journal of Phytopathology** , v.159, p.429-434, 2011.
- LIN, L.; SHI, Y.; LUO, Z.; LU, Y.; ZHENG, H.; YAN, F., et al. Protein-protein interactions in two potyviroses using the yeast two-hybrid system. **Virus Research**, v. 142, p. 36-40, 2009.
- LUNELLO, P.; MANSILLA, C.; CONCI, V.; PONZ, F. Ultra-sensitive detection of two garlic potyvirus using real-time fluorescent (Taqman®) RT-PCR assay. **Journal of Virological Methods**, v.118, p.15-21, 2004.
- LUNELLO, P.; DI RIENZO, J.; CONCI, V. C. Yield loss in garlic caused by *leek yellow stripevirus* Argentinean isolate. **Plant Disease** 91(2):153–158 DOI 10.1094/PDIS-91-2-0153, 2007.
- MALLORY, A. C.; REINHART, B. J.; BARTEL, D.; VANCE, V. B.; & BOWMAN, L. H. A viral suppressor of RNA silencing differentially regulates the accumulation of short interfering RNAs and micro-RNAs in tobacco. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, p. 15228-15233, 2002.
- MARTIN, M. T.; GARCIA, J. A.; CERVERA, M. T.; GOLDBACH, R. W.; & VAN LENT, J. W. M. Intracellular localization of three non-structural plum pox Potyvirus proteins by immunogold labelling. **Virus Research**, v. 25, p. 201-211, 1992.
- MARYS, E.; CARBALLO, O.; IZAGUIRRE-MAYORAL, M. L. Isolation and characterization of viruses present in four clones of garlic (*Allium sativum*) in Venezuela. **Journal of Phytopathology**, v. 142, n. 4, p. 227-234, 1994.

- MATHUR, C.; JIMSHEENA, V. K.; BANERJEE, S.; MAKINEN, K.; GOWDA, L. R.; SAVITHRI, H. S. Functional regulation of PVBV Nuclear Inclusion protein-a protease activity upon interaction with Viral Protein genome-linked and phosphorylation. **Virology**, v. 422, p. 254-264, 2012.
- MATHUR, C.; SAVITHRI, H. S. Novel ATPase activity of the polyprotein intermediate, viral protein genome-linked-nuclear inclusion-a protease, of *Pepper vein banding Potyvirus*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 427, p. 113-118, 2012.
- MELO FILHO, P.A.; DUSI, A.N.; COSTA, C.L.; RESENDE, R.O. Colonização de plantas de alho por *Neotoxoptera formosana* no DF. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.4, p.929-930, 2005.
- MERITS, A.; RAJAMAKI, M. L.; LINDHOLM, P.; RUNEBERG-ROOS, P.; KEKARAINEN, T.; PUUSTINEN, P., et al. Proteolytic processing of potyviral proteins and polyprotein processing intermediates in insect and plant cells. **Journal of General Virology**, v. 83, p. 1211-1221, 2002.
- MESSIAEN, Charles-Marie; LOT, Hervé; DELECOLLE, Brigitte. Thirty years of France's experience in the production of disease-free garlic and shallot mother bulbs. In: **International Symposium on Alliums for the Tropics 358**. 1993. p. 275-280.
- MITUTI, T. Levantamento das principais viroses na cultura do alho (*Allium sativum* L.) e caracterização de carlavirus em algumas regiões produtoras do Brasil. 2009, 61f. **Dissertação (Mestrado)**—Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2009.
- MITUTI, T.; MARUBAYASHI, J.M.; MOURA, M.F.; KRAUSE-SAKATE, R.; PAVAN, M.A. First Report of Shallot latent virus in Garlic in Brazil. **Plant Disease**, v.95, n.2, p.227, 2011.
- MITUTI, T.; MOURA, M. F.; MARUBAYASHI, J. M.; OLIVEIRA, M. L.; IMAIZUMI, V. M.; SAKATE, R. K.; PAVAN, M. A. Survey of viruses belonging to different genera and species in noble garlic in Brazil. **Scientia Agricola**, v. 72, n. 3, p. 278-281, 2015.
- MOTA JH; YURI JE; RESENDE GM; SOUZA RJD. Similaridade genética de cultivares de alho pela comparação de caracteres morfológicos, físico-químicos, produtivos e moleculares. **Horticultura Brasileira** 24: 156-160, 2006.
- MOTA JHN; SOUZA RJD; YURI JE; RESENDE GMD; PAIVA LV. Diversidade genética de cultivares de alho (*Allium sativum* L.) por meio de marcador molecular RAPD. **Ciência e Agrotecnologia** 28: 764-770, 2004.
- MOURA, A. P.; GUIMARÃES, J. A.; FERNANDES, F. R.; MICHEREFF FILHO, M.. Recomendações técnicas para o manejo integrado de pragas do alho. Brasília-DF: EMBRAPA-Hortaliças. **Circular técnica 118**,13, 2013.
- MOVAHED, N.; PATARROYO, C.; SUN, J.; VALI, H.; LALIBERTE, J.F.; ZHENG, H. Cylindrical inclusion protein of *Turnip mosaic virus* serves as a docking point for the intercellular movement of viral replication vesicles, **Plant Physiology**, v. 175, p. 1732-1744, 2017.
- MULLIS, S. W.; LANGSTON, D. B.; GILAITIS, R. D.; SHERWOOD, J. L.; CSINOS, A. C.; SPARKS, A. N.; TORRANCE, R. L.; AND COOK, M. J. First report of Vidalia onion (*Allium*

cepa) naturally infected with *Tomato spotted wilt virus* and *Iris yellow spot virus* (Family *Bunyaviridae*, genus *Tospovirus*) in Georgia. **Plant Dis.** 88:1285, 2004.

MULLIS, S. W.; GITAITIS, R. D.; NISCHWITZ, C.; CSINOS, A. S.; RAFAEL MALLAUPOMA, Z. C., AND INGUIL ROJAS, E. H. First report of onion (*Allium cepa*) naturally infected with *Iris yellow spot virus* in Peru. **Plant Dis.** 90:377, 2006.

MUMFORD, R. A.; BARKER, I.; WOOD, K. R. The biology of the tospoviruses. **Ann. Appl. Biol.** 128:159–183, 1996.

NAGATA, T.; ALMEDIA, A. L.; DE RESENDE, R.; DE AVILA, C. The identification of the vector species of *Iris yellow spot tospovirus* occurring in onion in Brazil. **Plant Dis.** 83:399, 1999.

NASCIMENTO, R.J.; PIO-RIBEIRO, G; SANTOS , R.C.; MELO FILHO, P.A. Detecção de allexivirus em primórdios foliares de alho via RT-PCR. **Summa Phytopathologica** 34:267-269, 2008.

NURULITA, Sari et al. Detection of two poleroviruses infecting garlic (*Allium sativum*) in Australia. **Australasian Plant Pathology**, p. 1-5, 2022.

OLIVEIRA, M. L. De et al. Análise da presença de vírus em alho semente da segunda e quarta gerações, produzidos por termoterapia e cultura de tecido. **Summa Phytopathologica**, p. 75-77, 2014.

OLIVEIRA, M.L.; DE MARCHI, B.R.; MITUTI, T., PAVAN, M.A.; KRAUSE-SAKATE, R. Identification and sequence analysis of five allexiviruses species infecting garlic crops in Brazil. **Tropical Plant Pathology** 39: 483– 489, 2014.

OLIVEIRA, M.O. Caracterização de Allexivirus em alho nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste brasileiro e análise da sanidade vegetal do alho obtido por cultura de meristema e termoterapia na FCA/UNESP, 2013, 59 f. **Dissertacao (Mestrado)**– Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2013.

ORUETXEBARRIA, I.; GUO, D. Y.; MERITS, A.; MAKINEN, K.; SAARMA, M.; VALKONEN, J. P. T. Identification of the genome-linked protein in virions of *Potato virus A*, with comparison to other members in genus *Potyvirus*. **Virus Research**, v. 73, p. 103-112, 2001.

PASCHOLATI, S. F; LEITE, B.; STANGARLIN, J. R.; CIA, P.. **Interação Planta-Patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular.** [S.l: s.n.], 2008.

PLENK, A., AND GRAUSGRUBER-GROßGER, S. First report of *Iris yellow spot virus* in onions (*Allium cepa*) in Austria. **New Dis. Rep.** 23:13, 2011.

POZZER, L.; BEZERRA, I. C.; KORMELINK, R.; PRINS, M.; PETERS, D.; DE RESENDE, R. O.; DE AVILA, A. C. Characterization of a tospovirus isolate of *Iris yellow spot virus* associated with a disease in onion fields in Brazil. **Plant Dis** 83:345–350, 1999.

RAJAMAKI, M. L.; VALKONEN, J. P. T. Control of nuclear and nucleolar localization of nuclear inclusion protein a of Picorna-like *Potato virus A* in *Nicotiana* species. **The Plant Cell**, v. 21, p. 2485-2502, 2009.

- RAJAMAKI, M. L.; STRENG, J.; VALKONEN, J. P. T. Silencing suppressor protein VPg of a *Potyvirus* interacts with the plant silencing-related protein SGS3. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 27, p. 1199-1210, 2014.
- RAVI, K. S.; KITKARU, A. S.; WINTER, S. *Iris yellow spot virus* in onions: A new tospovirus record from India. **Plant Pathol.** 55:288, 2006.
- RESENDE, F. V.; HABER, L. L.; PINHEIRO, J. B.; JUNIOR, V. L.; LIMA, M. F.; MICHEREFF FILHO, M.; MALDONADE, I. R. Como Plantar Alho. **EMBRAPA HORTALIÇAS**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/hortalicas/alho/como-plantar>> Acesso em: 06 dez 2022.
- RESENDE, JULIANO TADEU V DE et al. Caracterização morfológica, produtividade e rendimento comercial de cultivares de alho. **Horticultura Brasileira** [online]. 2013, v. 31, n.1, pp. 157-162.
- RODRIGUEZ-CEREZO, E.; AMMAR, E.; PIRONE, E. D.; SHAWN, J. G. Association of the non-structural P3 viral protein with cylindrical inclusions in Potyvirus -infected cells. **Journal of General Virology**, v. 74, p. 1945-1939. 1993.
- ROSALES, M., PAPPU, H. R., LOPEZ, L., MORA, R., AND ALJARO, A. *Iris yellow spot virus* in onion in Chile. **Plant Dis.** 89:1245, 2005.
- SATURNINO, H. M.; CRUZ FILHO, J. Doenças da cebola. **Informe Agropecuário**, v. 6, n. 62, p. 47-59, 1980.
- SCHWARTZ, H.F., W.M. BROWN, JR., T. BLUNT, and D.H. GENT. 2002. Iris yellow spot virus on onion in Colorado. **Plant Dis.** 86:560.
- SOBRINHO, C. A.; FERREIRA, P. T. O.; CAVALCANTI, L. S. Indutores abióticos. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed.) Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba: FEALQ, p. 51-80, 2005.
- SOITAMO, A. J.; JADA, B.; & LEHTO, K. HCPPro silencing supressor significantly alters the gene expression profile in tobacco leaves and flowers. **BMC Plant Biology**, 11, 68, 2011.
- SOREL, M.; GARCIA, J. A.; GERMAN-RETANA, S. The Potyviridae cylindrical inclusion helicase: A key multipartner and multifunctional protein. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 27, p. 215-226, 2014.
- SUN, P.; AUSTIN, B. P.; TOZSER, J.; WAUGH, D. S. Structural determinants of tobacco vein mottling virus protease substrate specificity. **Protein Science**, v. 19, p. 2240-2251, 2010.
- STANKOVIĆ, I.; BULAJIĆ, A.; VUČUROVIĆ, A.; RISTIĆ, D.; MILOJEVIĆ, K.; NIKOLIĆ, D.; KRSTIĆ, B. First Report of *Tomato spotted wilt virus* Infecting Onion and Garlic in Serbia. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 96, p. 918, 2012.
- SYLLER, J. The roles and mechanisms of helper component proteins encoded by Potyvirus es and caulimoviruses. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 67, p. 119-130, 2005.
- TAKAICHI, M.; YAMAMOTO, M.; NAGAKUBO, T.; OEDA, K. Four garlic viruses identified by Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction and their regional distribution in Northern Japan. **Plant Disease**, vol. 82, n.6, p.694-698, 1998.

- TASKUN, H.; BAKTEMUR, G.; KURUL, M.; BYYUKALACA, S. Use of tissue culture techniques for producing virus-free plant in garlic and their identification through real-time PCR. **The Scientific World Journal**, v.2013, p.1-5, 2013.
- TERUMI ITAKO, A; TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; DA SILVA JÚNIOR, T. A. F.; SOMAN, J. M.; MARINGONI, A. C. Efeito de produtos químicos sobre a mancha bacteriana (*Xanthomonas perforans*) e na ativação de proteínas relacionadas à patogênese em tomateiro. **Idesia** [online]. 2012, vol.30, n.2 [citado 2022-02-06], pp.85-92
- TSUNEYOSHI, T; MATSUMI, T; , DENG, T. C.; SAKO, I.; SUMI, S. Differentiation of *Allium carlaviruses* isolated from different parts of the world based on the viral coat protein sequence. **Archives of Virology**, v. 143, p. 1093-1107, 1998.
- UDAYASHANKAR, A.C., NAYAKA, C.S., ARCHANA, B., NAYAK, U., NIRANJANA, S.R. AND PRAKASH, H.S., Strobilurins Seed Treatment Enhances Resistance of Common Bean Against *Bean common mosaic virus*. **J Phytopathol**, 160: 710-716, 2012.
- URCUQUI-INCHIMA, S.; HAENNI, A.-L.; BERNARDI, F. *Potyvirus* proteins: a wealth of functions. **Virus Research**, v.74, p.157-175, 2001.
- VAN DIJK, P. Carlavirus isolates from cultivated *Allium* species represent three viruses. **Journal of Plant Pathology**, Netherlands, v. 99, p. 233-257, 1993.
- VENANCIO, W.S.; RODRIGUES, M.A.T.; BEGLIOMINI, E; SOUZA, N.L. Physiological effects of strobilurim fungicides on plants. **Publication UEPG – Ciência Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharia**, v.9, n.3, p.59-68, 2003.
- VIEIRA, R.L.; DA SILVA, A.L.; ZAFFARI, G.R. et. al.. Efficient elimination of virus complex from garlic (*Allium sativum* L.) by cryotherapy of shoot tips. **Acta Physiologiae Plantarum** 37, 1733, 2015.
- VIJAYAPALANI, P.; MAESHIMA, M.; NAGASAKI-TAKEKUCHI, N.; MILLER, W. A. Interaction of the Trans-Frame Potyvirus Protein P3N-PIPO with Host Protein PCaP1 Facilitates Potyvirus Movement. **PLoS Pathogens**, v. 8, e1002639, 2012.
- WALTERMANN, A.; MAISS, E. Detection of 6K1 as a mature protein of 6 kDa in plum pox virus-infected *Nicotiana benthamiana*. **Journal of General Virology**, v. 87, p. 2381-2386, 2006.
- WALKEY, D.G.A.; ANTILL, D.N. Evaluation of viruses-free and virus-infected garlic (*Allium sativum* L.). **Journal of Horticultural Science**. V.64, n.1, p.60, 1989.
- WU, Y. X., AND VON TIEDEMANN, A. (2001). Physiological effects of azoxystrobin and epoxiconazole on senescence and the oxidative status of wheat. **Pestic. Biochem. Physiol.** 71, 1–10. doi: 10.1006/pest.2001.2561
- ZERBINI, F.M.; CARVALHO, M.G.; ZAMBOLIM, E.M. Movimento de vírus na planta. In: ZERBINI, F.M.; CARVALHO, M.G.; ZAMBOLIM, E.M. **Introdução à Virologia Vegetal**. 2 ed., Viçosa: UFV, Cap.7, p.71-86, 2006..
- ZHANG, C., HAJIMORAD, M. R., EGGENBERGER, A, L., TSANG, S., WHITHAM, S. A., & HILL, J. H. Cytoplasmic inclusion cistron of *Soybean mosaic virus* serves as a virulence determinant on *Rsv3*-genotype soybean and symptom determinant. **Virology**, v. 391, p. 240-248, 2009.

ZILIAN, E., & MAISS, E. Detection of plum plox potyviral protein-protein interactions in planta using an optimized mRFP-based bimolecular fluorescence complementation system. **Journal of General Virology**, v. 92, p. 2711-2723, 2011.

CAPÍTULO 2. Análise espacial das viroses do alho na região do Alto Paranaíba-MG.

RESUMO

Diversos vírus têm sido detectados na cultura do alho, sendo que as espécies pertencentes aos gêneros *Potyvirus*, *Carlavirus* e *Allexivirus* são as mais frequentes em todos os países onde ele é cultivado, causando relevantes perdas de produção. Apesar de a região do Alto Paranaíba, em Minas Gerais, ser uma das maiores produtoras de alho do Brasil, pouco se sabe a respeito da ocorrência e incidência dos principais vírus nesta região. O objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento das espécies virais presentes no município de São Gotardo – MG, localizado no Alto Paranaíba, em 10 áreas produtoras sob irrigação por pivô central. Cada área amostrada foi dividida em 3 subáreas e em cada uma delas foram avaliadas visualmente 1290 plantas para observar a presença ou ausência de sintomas. Em cada subárea foram coletadas 25 folhas com e sem sintomas para a identificação dos vírus presentes por meio da técnica RT-PCR. A incidência de vírus nas dez áreas foi bastante variável, sendo que 4 delas apresentaram uma incidência menor, variando de 2,9% a 16,7%. Nas demais, duas apresentaram 42,9% e 86,4% de incidência, respectivamente, enquanto que as quatro restantes mostraram uma incidência de 100%. As plantas infectadas apresentaram um padrão de distribuição espacial agregado em 90% dos blocos no teste de *run* e 63,3% de distribuição ao acaso no teste de *doublet*. O índice de dispersão foi de 63,3% dos blocos em um padrão espacial regular. Todas as amostras sintomáticas coletadas foram positivas para a presença de uma ou mais espécies de vírus pertencentes aos gêneros *Potyvirus*, *Carlavirus* e *Allexivirus*, indicando uma possível transmissão pelos bulbilhos empregados no plantio. Apenas três amostras assintomáticas foram negativas para todos os vírus, outras amostras assintomáticas foram positivas, provavelmente devido à transmissão do vetor no campo, portanto só devem apresentar sintomas no próximo plantio, quando a concentração do vírus na planta será maior. Esses resultados demonstram a importância do controle vetorial e do uso de material propagativo livres de vírus, pois se o inóculo estiver presente no início do ciclo da cultura, ele se disseminará rapidamente no campo, comprometendo a produtividade da cultura.

Palavras-chave: epidemiologia, GarV-D, GarV-X, GarV-B, SLV, GCLV, OYDV, LYSV.

1. INTRODUÇÃO

Devido às suas propriedades medicinais e características marcantes de aroma e sabor, o alho (*Allium sativum* L.) é muito apreciado como condimento de consumo ‘in natura’ em todo o mundo. O Brasil consome 300.000 toneladas de alho, sendo o consumo médio da hortaliça igual a 1,5 kg por habitante/ano. Do total consumido, cerca de 55% são oriundas de importação de países como China, Argentina e Espanha (ANAPA, 2022), gerando uma demanda constante para o aumento da produção interna de alho.

Segundo dados do IBGE (2021) a produção brasileira de alho é liderada pelo estado de Minas Gerais (73.940 ton), seguida de Goiás (50.213 ton) e Santa Catarina (18.419 ton). Em Minas Gerais, a cultura ocupa cerca de 4.861 hectares, concentrados principalmente na região do Alto Parnaíba (IBGE, 2021).

O principal fator limitante da cultura do alho no Brasil é a disponibilidade de bulbilhos sadios, pois o fato dele ser propagado vegetativamente via bulbilhos-semente favorece a disseminação de doenças importantes, capazes de causar perdas significativas na produção, que podem chegar a até 100%. Entre elas, destacam-se as doenças viróticas por não possuírem controle curativo e serem facilmente disseminadas por vetores, que são abundantes no campo, gerando transtornos e preocupações para os produtores (MESQUITA, 2018).

Dentre os vírus frequentemente encontrados infectando alho no Brasil e no mundo, os mais comuns são os pertencentes aos gêneros *Allexivirus*, *Carlavirus* e *Potyvirus*. No Brasil já foram reportadas as seguintes espécies: a) *Allexivirus*: *Garlic virus A* (GarV-A), *Garlic virus A* (GarV-A), *Garlic virus C* (GarV-C), *Garlic virus D* (GarV-D), *Garlic mite-borne filamentous virus* (GarMbFV) (NASCIMENTO et al., 2008) e *Garlic virus X* (GarV-X) (OLIVEIRA et al., 2014); b) *Carlavirus*: *Garlic common latent virus* (GCLV) (FAJARDO et al., 2001) e *Shallot latent virus* (SLV) (MITUTI et al., 2011); c) *Potyvirus*: *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) (DUSI, et al., 1994), *Leek yellow stripe virus* (LYSV) (DANIELS, 1999) e *Shallot yellow stripe virus* (SYSV) (FAJARDO et al., 2001). As infecções podem ocorrer com uma única espécie viral, mas são comumente causadas por dois ou mais vírus, potencializando as perdas sofridas pelas plantas.

A identificação dos vírus com base na sintomatologia é praticamente impossível, pelo fato de os carlavírus normalmente serem latentes nas plantas, ou pela semelhança entre os sintomas causados por diferentes espécies virais. Diversos sintomas podem ser observados, como mosaico estriado, amarelecimento, clorose, necroses leves, subdesenvolvimento e deformação das folhas (FERNANDES et al., 2013). Portanto, a diagnose laboratorial é importante, pois diferentes gêneros de vírus possuem diferentes vetores que demandam métodos de controle

distintos. Enquanto os potyvirus e carlavirus são transmitidos por diversas espécies de afídeos, como *Aulacorthum solani*, *M. persicae*, *Aphis gossypii* e outros (VAN DIJK, 1993; EL-WAHAB, 2009). Os allexivirus são transmitidos pelo ácaro do bulbo *Aceria tulipae* (ADAMS et al., 2012). Outro fator importante no desenvolvimento das viroses são as condições edafoclimáticas nas regiões onde se cultiva o alho no país, que são altamente favoráveis aos vírus e aos seus vetores.

Apesar da importância das viroses, os estudos do desenvolvimento dessas doenças nos campos de produção de alho são bastante raros ou mesmo inexistentes. Investigar a epidemiologia da doença permite a obtenção de informações fundamentais para subsidiar recomendações racionais de inseticidas e/ou acaricidas para o controle dos insetos vetores e para a adoção de outras práticas de manejo nas principais regiões produtoras do país.

A região do Alto Paranaíba em Minas Gerais é composta por dez municípios, dentre eles São Gotardo, cuja economia é pautada na atividade agrícola, com o alho ocupando posição de destaque. Apesar da alta importância das doenças viróticas ao longo dos últimos anos, as informações sobre ocorrência e incidência das diversas espécies de vírus presentes na cultura estabelecida nesta região, bem como os principais componentes envolvidos na epidemiologia dessas doenças são escassas ou mesmo ausentes. Uma das abordagens comuns é a análise espacial das viroses do alho em linha de plantio, que permite caracterizar o progresso espacial das doenças viróticas e interpretar a distribuição da mesma, de modo a determinar o seu comportamento (BERGAMIM FILHO e AMORIM, 1996; BERGAMIM FILHO et al., 2004; CAMPBELL e MADDEN, 1990).

Neste trabalho foi feito um levantamento das principais espécies virais encontradas em lavouras de alho no município de São Gotardo e da sua ocorrência, incidência e distribuição espacial em dez áreas comerciais de plantio.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Determinação da incidência de vírus

O levantamento da incidência de viroses foi realizado em 10 campos irrigados por sistema de pivô central, localizados na região produtora de alho em São Gotardo, região do Alto Paranaíba- Minas Gerais, durante a safra de 2022. A incidência foi determinada por inspeção visual dos sintomas, expressa em porcentagem de plantas sintomáticas em relação às plantas assintomáticas. Em cada campo foram avaliadas três subáreas distribuídas aleatoriamente, contendo 1290 plantas cada, e em cada uma das três subáreas foi coletada uma mostra contendo

25 folhas, que foi subdividida em outras 3 amostras, para a diagnose dos vírus pela técnica RT-PCR.

A análise espacial, nas mesmas subáreas, foi realizada aplicando-se os testes de run e de doublet, tendo os seus resultados sido analisados pelo valor estandardizado no teste de $Z (\pm 1,64)$ a 5% de probabilidade (HAU et al., 2011; BERGAMIM FILHO et al., 2004). Na análise de run, foi calculado o número esperado de runs $E(R)=1+2m(N-m)/N$ e a sua variância $\sigma^2(R)=2m(N-m)[2m(N-m)-N]/[N^2(N-1)]$. Para áreas com 100% de incidência de sintomas, a fórmula da variância foi alterada para $\sigma^2(R)=1+m(N-m)[2m(N-m)-N]/[N^2(N-1)]$. O valor estandardizado de $Z_R=[R+0,5-E(R)]/\sigma(R)$ foi obtido com base na distribuição normal, no qual se considerou $Z_R > -1,64$ ($P=0,05$) como padrão acaso e $Z_R < -1,64$ ($P=0,05$) como padrão agregado, onde: R= número de runs; m= número de plantas doentes; N= número de plantas na linha e $\sigma(R)$ = desvio-padrão.

Para o teste de doublet, foram caracterizados os números de plantas sadias (quadrados verdes) e doentes (quadrados vermelhos) nas linhas de plantio. Foi calculado o número esperado de doublets $E(D)=m(m-1)/N$ e sua variância $\sigma^2(D)=[m(m-1)[N(N-1)+(2N(m-2)+N(m-2)(m-3)-(N-1)m(m-1)]/N^2(N-1)]$. Para áreas com 100% de incidência de sintomas, a fórmula da variância foi alterada para variância $\sigma^2(D)=[m(m-1)[N(N-1)+(2N(m-2)+N(m-2)(m-3)-(N-1,1)m(m-1)]/N^2(N-1)]$. O valor estandardizado de $Z_D=[(D+0,5-E(D))/\sigma(D)]$ foi calculado com base na distribuição normal, considerando-se $Z_D > 1,64$ ($P=0,05$) como padrão agregado e $Z_D < 1,64$ ($P=0,05$) como padrão acaso. Nesse caso, D= número de doublet; m= número de plantas doentes; N= número de plantas na linha e $\sigma(D)$ = desvio-padrão.

2.2 Diagnose dos vírus por RT-PCR

As plantas com sintomas foram analisadas por RT-PCR para confirmar a infecção e identificar o vírus presente. A extração do RNA total foi feita a partir de folhas, utilizando-se o método Trizol (AFGC PROTOCOLS, 2002), como descrito adiante. Inicialmente foram trituradas 0,2 g de tecido vegetal fresco em almofariz, na presença de nitrogênio líquido, e em seguida adicionado 1ml da solução extratora Trizol (38% de fenol saturado, 0,8 M de tiocianato de guanidina, 0,4 M de tiocianato de amônio, 0,1 M de acetato de sódio, pH 5 e 5% de glicerol). O extrato obtido foi incubado em banho-maria por 5 minutos a 60°C, agitado em vórtex por 30 segundos e centrifugado por 10 minutos a 12.000 rpm a 4°C. O sobrenadante foi transferido para novos tubos, aos quais se adicionaram 240 µl de clorofórmio. Estes foram então submetidos à agitação em vórtex, incubação à temperatura ambiente por 3 minutos e centrifugação a 12.000 rpm por 10 min a 4°C. A fase aquosa foi cuidadosamente coletada e transferida para novos tubos,

aos quais foi adicionada metade desse volume da solução citrato/cloreto (0,8M de Citrato de Sódio e 1,2M de Cloreto de Sódio) e isopropanol na proporção 1:1. Os tubos foram agitados cuidadosamente, por inversão, e deixados à temperatura ambiente por 10 minutos para que ocorresse a precipitação do RNA. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 12.000 rpm por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* lavado com 300 µl de álcool 70%, por centrifugação a 12000 rpm por 2 minutos. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* foi secado em temperatura ambiente e ressuspendido em 25 µl de água ultra pura tratada com DEPC. Após a extração a qualidade do RNA extraído foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 0,7% contrastado com Gel Red (Biotium®).

A obtenção do cDNA foi realizada com o uso da enzima transcriptase reversa, empregando-se a seguinte reação: 3,0 µl de água, 0,5µl de primer reverse do vírus alvo, 0,5 µl de dNTP e 2 µl do RNA total da planta. Essa mistura foi incubada por 10 minutos a 70°C e transferida imediatamente para um recipiente com gelo. Em seguida foram adicionados 1 µl de tampão, 0,5 µl da enzima MMLV transcriptase reversa (Sigma Aldrich ®) e 3,5 µl de água. Essa mistura foi incubada a 37°C por 50 minutos, para síntese do cDNA, e a 85°C por 5 minutos para inativação da enzima.

A amplificação do cDNA por PCR foi realizada separadamente para cada vírus a ser diagnosticado, empregando-se os primers descrito na tabela 1. A reação de PCR foi composta por: 1,25 µl do tampão da enzima, 0,5 µl de cada primer (*forward* e *reverse*) a 10 pmol, 0,5 µl de dNTP 10pml, 1 µl do cDNA, 0,13 µl de Taq polimerase (Cellco ®) e 8,62 µl de água ultrapura tratada com DEPC. Para a amplificação do DNA empregou-se inicialmente 95°C por 2 min, seguido por 35 ciclos: 95°C por 45 s, TA (temperatura de anelamento para cada par de primer dos diferentes vírus) por 1 min e 72°C por 1 min, com uma extensão final de 72°C durante 10 min. O produto do PCR foi analisado por eletroforese em gel de agarose 0,7% contrastado com gel red (Biotium®).

Tabela 1. Sequência dos primers empregados para diagnose dos vírus que infectam o alho.

Vírus	Sequência do Primer	Temperatura de Anelamento - TA (°C)	Tamanho da banda - bp	Referência
<i>Potyvirus</i>	5' GTITGYGTIGAYGAYTTYAAYAA 3' 3' TCIACIACIGTIGAIGGYTGNC 5'	45	350	ZHENG et al., 2008
<i>Allexivirus</i>	5' CTACCACAAAYGGNTCVTC 3' 3' CACNGCGTTRAAGAARTC 5'	48	240	OLIVEIRA et al., 2014
<i>Carlavirus</i>	5' GGNTKKGAAWCTGGGAGDCC 3' CATKTMATTCCAACAACNGGYGC	55	362	MITUTI et al., 2015

LYSV	5' GAACTAGATGCAGGGACAC 3' 3' GCCGTCTAATCCAAACAGC 5'	57,9	767	PARK et al., 2005
OYDV	5' AAGGATAAAGACGTTGATG 3' 3' CGTGTGTTGGTCTTGTTTA 5'	50	692	PARK et al., 2005
GarV-A	5'CCCAAGCTTACTGGAAGGGTGAATTAGAT3' 3'CCCAAGCTTAGGATATTAAGTCTTGAGG5'	53	816	MELO FILHO et al., 2004
GarV-B	5' GCAGAATAARCCCCCYTC 3' 3' RAAGGGTTTATTCTGTTG 5'	50	439	OLIVEIRA et al., 2014
GarV-C	5'CCCAAGCTTCATCTACAACAACAAGGCG3' 3'CCCAAGCTTATAAGGGTGCATGATTGTGG5'	53	864	MELO FILHO et al., 2004
GarV-D	5'CCAAGCTTAAGCAAGTGAAGAGTGTAAG3' 3'CCAAGCTTTTGGAGAGGAGGTTGAGA5'	53	842	MELO FILHO et al., 2004
GarVX	GATCGGAACCAAGGAATAA GAGTGGAAACCATATTCGAG	52,1	660	PARK et al., 2005
GARMB-FV	ATGTCAGGTTCCACAAGT TCAGAACGTAATCATGGGA	50,6	357	PARK et al., 2005
SLV	AATGATGTTGGNGTBATGG CATKTMATTCCAAACAACNGGYGC	52	485	MITUTI et al., 2015
GCLV	AGAGCTMGRCAAGGATGCTGC CATKTMATTCCAAACAACNGGYGC	56	551	MITUTI et al., 2015

3. RESULTADOS

A incidência dos vírus em cada uma das subáreas amostradas está representada na Tabela 2. Dentre as 10 áreas amostradas, apenas quatro apresentaram incidência relativamente baixa de vírus, sendo uma com 3% e outras três variando entre 11,4% e 12,0%. Nas demais seis, uma apresentou incidência de 42,8%, outra 85,7% e as quatro restantes apresentaram incidência de 100% de vírus. Apenas três amostras testaram negativo para todos os vírus (Tabela 2). Quando analisados ao nível de espécie, sete delas foram detectadas: três pertencentes ao gênero *Allexivirus*: Garv-B, Garv-D, Garv-X; duas pertencentes ao gênero *Carlavirus*: GCLV, SLV e duas pertencentes ao gênero *Potyvirus*: OYDV e LYSV (Tabela 3).

A distribuição espacial das plantas com sintomas característicos de viroses (Figura 1) mostrou um padrão ao acaso em todos os blocos da área A, no bloco 2 da área B, no bloco 3 da área C e nos blocos 2 e 3 da área D; nas demais áreas o padrão espacial observado é agregado de acordo com o teste de run. No teste de doublet as áreas G, H, I e J apresentaram o padrão de distribuição espacial agregado, assim como os blocos 1 e 2 da área A, blocos 2 e 3 da área B e blocos 3 das áreas D e F. A análise do índice de dispersão mostrou que o padrão espacial passa de agregado para regular a medida que se eleva a incidência de plantas doentes na área (Tabela 3).

Tabela 2. % De plantas sintomáticas por área em São Gotardo – MG.

ÁREA	BLOCO	% PLANTAS SINTOMÁTICAS	Nº DE AMOSTRAS ANALISADAS VIA RT-PCR	GÊNEROS IDENTIFICADOS		
				<i>ALLEXIVIRUS</i>	<i>CARLAVIRUS</i>	<i>POTYVIRUS</i>
				AMOSTRAS +	AMOSTRAS +	AMOSTRAS +
	1	2,71%	3		66,6%	
A	2	2,79%	3		100%	
	3	3,41%	3		100%	
	MÉDIA	2,97%				
	1	16,30%	3		100%	33,3%
B	2	5,27%	3		100%	
	3	14,34%	3		66,6%	
	MÉDIA	12,00%				
	1	15,50%	3		100%	
C	2	10,23%	3	33,3%	100%	
	3	8,37%	3		100%	33,3%
	MÉDIA	11,37%				
	1	16,12%	3		100%	
D	2	13,41%	3	33,3%	100%	
	3	8,29%	3		66,6%	
	MÉDIA	12,61%				
	1	23,33%	3		100%	
E	2	41,24%	3	33,3%	100%	
	3	63,87%	3		100%	
	MÉDIA	42,81%				
	1	85,00%	3	33,3%	100%	
F	2	82,10%	3		100%	
	3	89,90%	3		100%	
	MÉDIA	85,70%				
	1	100,00%	3		100%	
G	2	100,00%	3		100%	
	3	100,00%	3		100%	66,6%
	MÉDIA	100,00%				
	1	100,00%	3	66,6%	100%	
H	2	100,00%	3		100%	66,6%
	3	100,00%	3		100%	
	MÉDIA	100,00%				
	1	100,00%	3		100%	
I	2	100,00%	3		100%	100%
	3	100,00%	3	33,3%	100%	100%
	MÉDIA	100,00%				
	1	100,00%	3	33,3%	100%	
J	2	100,00%	3		100%	
	3	100,00%	3		100%	
	MÉDIA	100,00%				

Tabela 3. Espécies identificadas em diferentes áreas produtoras de alho na safra 2022 em São Gotardo – MG.

ÁREA	<i>Allexivirus</i>	<i>Carlavirus</i>	<i>Potyvirus</i>
A		SLV	
B		SLV	LYSV
C	GarV-D	SLV	OYDV
D	GarV-D	SLV	-
E	GarV-D	SLV	-
F	GarV-B	SLV	-
G	-	SLV, GCLV	OYDV
H	GarV-X	SLV, GCLV	LYSV
I	GarV-D	GCLV	OYDV
J	GarV-D	GCLV	-

Figura 4. Distribuição espacial das viroses do alho em áreas irrigadas

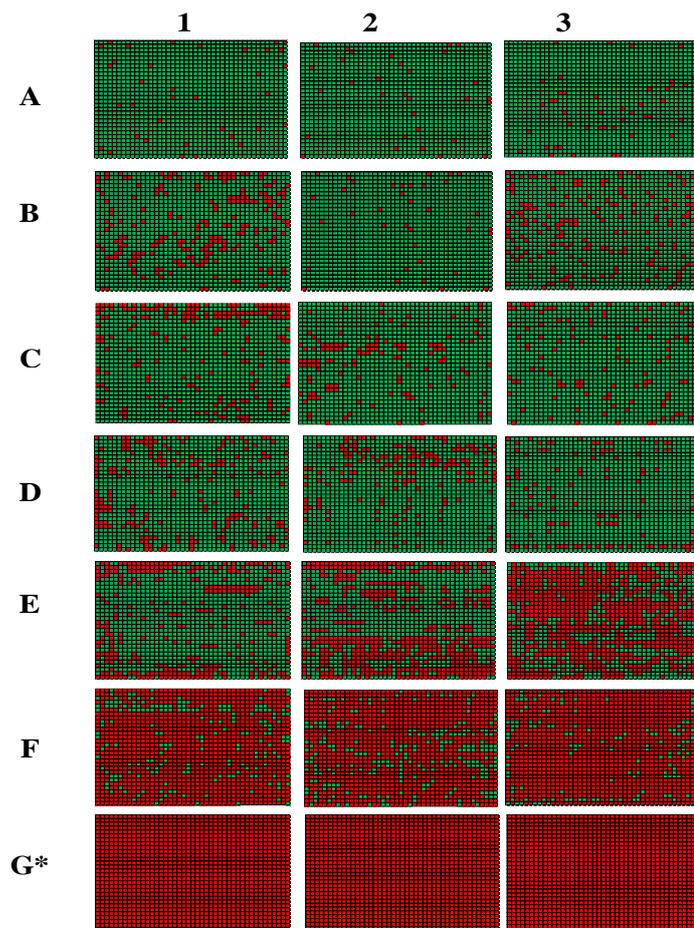


Tabela 4. Padrão espacial em linha de plantio de viroses do alho causada submetidos ao teste de run, doublet e índice de dispersão na safra de 2022 na região de São Gotardo – MG.

A	B	M	TESTE DE RUN					TESTE DE DOUBLET					ÍNDICE DE DISPERSÃO	
			R	E (R)	σ^2 (R)	ZR	P	D	E (D)	σ (D)	ZD	P	V M	P
A	1	35	97	69,1	3,54	15,1	AC	0	0,92	0,87	-0,45	AC	1,1	AG
	2	36	89	70,9	3,74	9,56	AC	0	0,977	0,92	-0,49	AC	1,4	AG
	3	44	105	86	5,53	8,28	AC	6	1,46	1,37	4,29	AG	1	AG
B	1	210	302	352,6	95,64	-5,13	AG	71	34,02	23,88	7,66	AG	1,7	AG
	2	68	152	129,8	12,78	6,34	AC	3	3,53	3,17	-0,02	AC	1,3	AG
	3	185	321	317,9	77,68	0,4	AG	29	26,39	19,39	0,7	AC	1,1	AG
C	1	200	245	338,98	88,36	-9,94	AG	79	30,85	22,06	10,4	AG	7,4	AG
	2	132	201	237,98	43,38	-5,53	AG	41	13,4	10,82	8,54	AG	3,3	AG
	3	108	211	198,91	30,23	2,28	AC	13	8,95	7,53	1,65	AG	2,2	AG
D	1	208	309	349,9	94,18	-4,16	AG	56	33,38	23,52	4,76	AG	2	AG
	2	173	264	300,6	69,4	-4,33	AC	49	23,07	17,32	6,35	AG	4,3	AG
	3	107	183	197,2	29,7	-2,52	AC	32	8,79	7,4	8,7	AC	6,7	AG
E	1	301	300	462,5	165	-12,7	AG	153	70	41,2	13	AG	5,6	AG
	2	532	342	622,9	300	-16,2	AG	358	211,6	75	17	AG	6,9	AG
	3	824	431	596,3	274	-9,94	AG	601	525,7	68,8	9,14	AG	1	R
F	1	1097	290	329,25	83,33	-4,24	AG	944	932,02	20,98	2,72	AG	0,7	R
	2	1059	332	380,27	111,3	-4,52	AG	886	868,54	27,99	3,39	AG	0,6	R
	3	1160	219	234,8	42,22	-2,35	AG	1038	1042,2	10,67	-1,13	AC	0,3	R
G*	1	1290	1	1	1	0,5	AG	1289	1289	128,9	0,04	AC	0	R
	2	1290	1	1	1	0,5	AG	1289	1289	128,9	0,04	AC	0	R
	3	1290	1	1	1	0,5	AG	1289	1289	128,9	0,04	AC	0	R

*O mesmo padrão foi observado para os pivôs H, I e J. Legenda: A: pivô; B: bloco; M: número de plantas doentes; R: número de runs; D: número de doublets; E: valor esperado de R e D; σ : variância de R e D; valor standardizado: runs (Z_R) e doublets (Z_D); P (padrão): AG (agregado), AC (acaso) e R (regular).

4. DISCUSSÃO

O levantamento realizado em São Gotardo possibilitou averiguar um panorama geral da situação das lavouras de alho na região do Alto do Paranaíba. Foi possível observar que, mesmo as quatro lavouras consideradas praticamente “livres de vírus”, na realidade apresentaram incidência média entre 3 e 12%. Quando o aspecto geral das plantas na lavoura foi observado visualmente, a impressão era de que realmente estas estavam livres de vírus. Entretanto, quando observadas com mais cuidado, por pessoal treinado no reconhecimento dos sintomas, eles puderam ser detectados, ainda que mais fracos do que nas lavouras com mais de 40% de incidência de vírus.

Segundo a literatura, os carlavirus estão presentes nos cultivos de alho em todo o mundo e tem sido relatado que, isoladamente, a infecção por espécies deste gênero não causa sintomas severos nas plantas infectadas (BARG et al., 1994; BELLARDI et al., 1994). Entretanto, a

ocorrência de infecções mistas de carlavirus com os potyvirus pode levar a manifestação de sintomas mais severos (TAKAICHI et al., 1998), tal qual o observado nas áreas G, H e I.

Sabe-se que as doenças causadas por vírus pertencentes, principalmente aos gêneros *Allexivirus*, *Carlavirus* e *Potyvirus* provocam a degenerescência dos bulbilhos utilizados na propagação do alho, levando à redução do vigor vegetativo, potencial produtivo e qualidade dos bulbos ao longo das gerações da cultura (RESENDE et al., 2016). É comum que o produtor rural utilize o próprio material de plantio como alho-semente, o que, aliado a um armazenamento inadequado, expõe o cultivo a uma alta taxa de infecção de allexivirus no plantio subsequente (DOVAS et al., 2001). A infecção mista com espécies do gênero *Allexivirus* pode provocar sintomas mais fortes e possivelmente redução na produção (TAKAICHI et al., 2002; LU et al., 2007), assim como o observado em seis das 10 áreas visitadas.

Lunello et al. (2007) compararam plantas “livres de vírus” com plantas infectadas por LYSV e por um complexo viral (*Potyvirus*, *Carlavirus* e *Allexivirus*). A infecção apenas com LYSV levou a uma redução de 28% no peso dos bulbos, já a presença de infecções mistas provocou redução de 74% no peso dos bulbos.

Os maiores danos à produção em alho têm sido atribuídos às infecções causadas por OYDV e LYSV, que são os dois potyvírus que já foram relatados no país. Esses vírus podem, isoladamente, reduzir a massa de bulbos entre 39% e 60% e entre 17% e 54%, respectivamente, dependendo da cultivar (MOURA, 2013). A presença destas espécies em 50% das áreas visitadas no presente trabalho proporcionou uma maior percepção visual dos sintomas e acendeu um alerta para a necessidade de substituição dos bulbilhos-sementes para os plantios do próximo ano.

O bulbilho-semente infectado pode ser utilizado para plantio até certo número de remultiplicações sem ocasionar perdas significativas para o produtor. Silva et al. (2010), analisaram cultivares seminobres livres de vírus e infectadas durante nove anos de cultivo e constataram redução de produtividade destes materiais ao longo de sucessivos ciclos de cultivo. Mituti (2013) analisou a taxa de reinfecção do complexo viral e confirmou que o uso de bulbilhos-sementes após três anos consecutivos leva a produção semelhante ao alho-semente 100% infectado.

A eliminação das viroses é feita a partir da cultura de meristema, propiciando um aumento no vigor das plantas e maior produtividade e qualidade do produto final. No entanto, a exigência nutricional do alho oriundo de cultura de tecidos ainda é pouco conhecida e necessita de muitos estudos para o melhor aproveitamento do seu alto potencial produtivo (RESENDE et al., 2016). Dessa forma nem sempre a nutrição mineral é realizada de forma adequada, o que gera prejuízos

não só na produção, mas também na conservação pós-colheita dos bulbos (MACEDO et. al, 2009).

O manejo adotado em cada área é algo particular de cada produtor e varia conforme a tecnificação dos mesmos, o que também pode contribuir para uma maior ou menor produtividade de plantas com diferentes índices de infecção. Neste trabalho, observou-se que dentre as áreas que apresentaram uma incidência de plantas sintomáticas igual a 100%, a severidade dos sintomas foi diferente. Acredita-se que isso possa ser devido à concentração de vírus no bulbilho utilizado no plantio, que pode ter sido multiplicado por um maior número de gerações, associado ao manejo adotado pelo produtor, pois cada um deles adota uma metodologia diferente.

O padrão espacial regular constatado no presente experimento evidencia que os bulbilhos-sementes utilizados para plantio não eram totalmente livres de vírus, mesmo nas lavouras com baixa incidência. Gitaitis et. al (1998) observaram que o TSWV (*Tomato Spotted Wilt Virus*) em pimenta e tomate apresentam um padrão espacial de agregação, o que indica que a maioria das infecções surgiu da transmissão primária. Um estudo realizado por Della Vecchia et. al (2007) também demonstrou um padrão espacial agregado para *Tomato yellow vein streak vírus*, uma begomovirose do tomateiro, o que se deve à concentração de plantas sintomáticas nos bordos das estufas, seguida da migração de insetos vetores a partir de áreas externas à estufa.

Os padrões de distribuição ao acaso demonstram que o material utilizado nos campos com menores incidências provavelmente passaram por limpeza clonal, de modo que a disseminação dos vírus deve ter ocorrido através de afídeos vetores, que provavelmente adquiriram o vírus em áreas vizinhas com plantios mais antigos e contaminados. A limpeza clonal não impede a reinfecção natural com os vírus, portanto a detecção eficiente da infecção viral e o descarte das plantas infectadas são práticas fundamentais para preservação do potencial de produção das plantas (FERNANDES et. al., 2013). Principalmente se for considerado que uma única planta de alho infectada pode produzir 12 bulbilhos, em média, que se forem utilizados para novos plantios darão origem ao mesmo número de plantas infectadas.

Por outro lado, a ocorrência de 40% das lavouras com 100% de infecção viral ressalta a importância de se utilizar alho-semente-livre-de-vírus, para obter plantas mais vigorosas e com melhor qualidade fisiológica dos bulbos, resultando no aumento da produtividade nos plantios seguintes (RESENDE et al., 2016). Nota-se, portanto, que o manejo das viroses na cultura do alho deve ser essencialmente preventivo, fazendo uso de alho-semente com qualidade sanitária conhecida, que assegure baixo nível de inóculo primário, e procurando estabelecer a cultura áreas livres de vírus e de seus vetores, adotando medidas mais rigorosas se a cultura for destinada a produção de bulbilhos sementes.

5. CONCLUSÕES

Foram detectadas três espécies de vírus pertencentes ao gênero *Allexivirus*: Garv-B, Garv-D, Garv-X; duas pertencentes ao gênero *Carlavirus*: GCLV, SLV e duas pertencentes ao gênero *Potyvirus*: OYDV e LYSV, em incidências que variaram de 3% a 100%, em levantamento realizado em 10 campos de produção comercial de alho na região de São Gotardo – Alto do Paranaíba-MG.

O padrão espacial apresentado pelas plantas infectadas foi agregado e regular, devido ao método de propagação vegetativa utilizado na cultura e à transmissibilidade por insetos e ácaros vetores, que favorecem a introdução e disseminação das doenças viróticas no campo.

REFERÊNCIAS

ADAMS, M. J.; KING, A. M.; LEFKOWITZ, E.; CARSTENS, E.B. **Virus Taxonomy - Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. pp 1069-1090, 2011.

AFGC PROTOCOLS. Disponível em:

<<https://www.arabidopsis.org/portals/masc/AFGC/RevisedAFGC/site2RnaL.htm>>. Acesso em: 06 jan 2022.

ANAPA. Campanha Brasil temperado já surte efeito. Disponível em:

<<https://anapa.com.br/campanha-brasil-temperado-ja-surte-efeito/>>. Acesso em 16 dez 2022.

BARG, E; LESEMANN, DE.; VETTEN, HJ. Identification, partial characterization, and distribution of viruses infecting allium crops in South an Southeast Asia. **Acta Horticulturae** 358:251-258. 1994.

BELLARDI, M.G.; MARANI, F.; BETTI, L.; RABITI, A.L. Detection of *Garlic common latent virus* (GCLV) in *Allium sativum* L. in Italy. **Phytopathology**, v. 34, p.58-61, 1995.

BERGAMIM FILHO, A.; AMORIM, L.. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Ceres, 1996.

BERGAMIM FILHO, A. et al. Análise espacial de epidemias. In: VALE, F. X. R. et al. (org.). **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Perffil, 2004. p. 193-240.

CAMPBELL, L.; MADDEN, L.. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: Wiley Interscience, 1990.

DANIELS, J. Occurrence of virus in garlic in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, n 24, p. 91, 1999.

DELLA VECCHIA, Marilia Gabriela Salveti et al. Dinâmica temporal e espacial da begomovirose causada por *Tomato yellow vein streak virus* em tomateiro na região de Campinas-SP. **Summa Phytopathologica**, v. 33, p. 388-396, 2007.

DOVAS, I. C.; HATZILOUKAS, E.; SALOMON, R.; BARG, E.; SHIBOLETH, Y. & NIKOLAOS, I. K. Incidence of viruses infecting *Allium* spp. In Greece. **European Journal of Plant Pathology** 107: 677-684. 2001.

DUSI A. N.; FAJARDO, T. V. M.; CUPERTINO, F. P. Serological identification of garlic (*Allium sativum* L.) viruses in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, p. 298, 1994. Suplemento. Resumo.

EL-WAHAB, A.S.A. Aphid-transmission efficiency of two main viruses on garlic in Egypt, *Onion yellow dwarf virus* (OYDV-G) and *Leek yellow stripe virus* (LYSV-G). **Academic Journal of Entomology**, v.2, n.1, p.40-42, 2009.

FAJARDO, T. V. M.; NISHIJIMA, M.; BUSO, J. A.; TORRES, A. C.; AVILA, A. C.; RESENDE, R. O. Garlic viral complex: identification of potyviruses and carlaviruses in Central Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 619-626, set. 2001.

FERNANDES, F. R.; DUSI, A. N.; RESENDE, F. V. Viroses do alho no Brasil: importância e principais medidas de controle. Brasília-DF: EMBRAPA. **Circular técnica 122** p. 9, 2013.

GITAITIS, R. D.; DOWLER, C. C.; CHALFANT, R. B. Epidemiology of tomato spotted wilt in pepper and tomato in southern Georgia. **Plant Disease**, v. 82, n. 7, p. 752-756, 1998.

HAU, B.; AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A. Epidemiologia: Análise espacial. *In*: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. (org.). **Manual de fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Ceres, 2011. v. 1, cap. 38, p. 667-695.

IBGE. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/alho/mg>>. Acesso em: 16 dez 2022.

KING, A.M.Q., LEFKOWITZ, E., ADAMS, J.M., CARSTENS, E.B. Virus Taxonomy, **Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses** 1327, p. 2012.

LU, Y. W.; CHEN, H. Y.; ADAMS, M. J. & CHEN, J. P. Serological relationships among the over-expressed coat proteins of allexiviruses. **Journal of Phytopathology** 156: 251-255. 2008.

LUNELLO, P.; DI RIENZO, J.; CONCI, V. C. Yield loss in garlic caused by *leek yellow stripevirus* Argentinean isolate. **Plant Disease** 91(2):153–158 DOI 10.1094/PDIS-91-2-0153, 2007.

MACÊDO, F. S. et al. Produtividade de alho vernalizado em função de doses de nitrogênio e molibdênio. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 3, p. 657-663, Sept. 2009.

MELO FILHO, P.A.; NAGATA, T.; DUSI, A.N.; BUSO, J.A.; TORRES, A.C.; EIRAS, M.; RESENDE, R.O. Detection of three Allexivirus species infecting garlic in Brazil. Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília, v.39, n.8, p.735-740, 2004.

MESQUITA, D. C. M. Compatibilidade micelial de *Sclerotium cepivorum* e reação de genótipos de alho e cebola à podridão branca. 2018. 138f. **Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)** – Universidade de Brasília, Brasília, 2018. Disponível em: http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/32480/1/2018_D%C3%A9borahChristinaMoraesMesquita.pdf. Acesso em: 10 mar. 2021.

MITUTI, T.; MARUBAYASHI, J.M.; MOURA, M.F.; KRAUSE-SAKATE, R.; PAVAN, M.A. First Report of Shallot latent virus in Garlic in Brazil. **Plant Disease**, v.95, n.2, p.227, 2011.

MITUTI, T.; **Viroses do alho**: métodos de diagnose e degenerescência do alho semente livre de vírus. 2013. 98f. Tese (Doutorado em agronomia) – UNESP, Botucatu – SP, 2013.

MITUTI, T.; MOURA, M. F.; MARUBAYASHI, J. M.; OLIVEIRA, M. L.; IMAIZUMI, V. M.; SAKATE, R. K.; PAVAN, M. A. Survey of viruses belonging to different genera and species in noble garlic in Brazil. *Scientia Agricola*, v. 72, n. 3, p. 278-281, 2015.

MOURA, A. P. de; GUIMARÃES, J. A.; FERNANDES, F. R.; MICHEREFF FILHO, M. Recomendações técnicas para o manejo integrado de pragas da cultura do alho. Brasília-DF: EMBRAPA. **Circular técnica 118**p. 9, 2013.

NASCIMENTO, R.J.; PIO-RIBEIRO, G; SANTOS , R.C.; MELO FILHO, P.A. Detecção de allexivirus em primórdios foliares de alho via RT-PCR. **Summa Phytopathologica** 34:267-269, 2008.

- OLIVEIRA, M. L. De et al. Análise da presença de vírus em alho semente da segunda e quarta gerações, produzidos por termoterapia e cultura de tecido. **Summa Phytopathologica**, p. 75-77, 2014.
- OLIVEIRA, M.L.; DE MARCHI, B.R.; MITUTI, T., PAVAN, M.A.; KRAUSE-SAKATE, R..Identification and sequence analysis of five allexiviruses species infecting garlic crops in Brazil. **Tropical Plant Pathology** 39: 483– 489, 2014.
- PARK, K. S., BAE, Y. J., JUNG, E. J., & KANG, S. J.. RT-PCR-based detection of six garlic viruses and their phylogenetic relationships. **Journal of microbiology and biotechnology**, v. 15, n. 5, p. 1110-1114, 2005.
- RESENDE, F. V.; HABER, L. L.; PINHEIRO, J. B.; MELLO, A. F. S. 2016. Produção de alhos emente. In: NASCIMENTO, MN; PEREIRA, RB (eds). **Hortaliças de propagação vegetativa: Tecnologia de multiplicação**. Brasília, DF: Embrapa. p.15-61.
- SILVA, E. S.; SOUZA, R. J.; PASQUAL, M. Diferenças de produtividade entre cultivares de alho obtidas por cultura de tecidos e multiplicação convencional, em um período de nove anos consecutivos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 5, p. 692-697, 2010.
- TAKAICHI, M.; YAMAMOTO, M.; NAGAKUBO, T.; OEDA, K. Four garlic viruses identified by Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction and their regional distribution in Northern Japan. **Plant Disease**, vol. 82, n.6, p.694-698, 1998.
- VAN DIJK, P. Carlavirus isolates from cultivated Allium species represent three viruses. **Journal of Plant Pathology**, Netherlands, v. 99, p. 233-257, 1993.
- ZHENG, Linda et al. Accumulating variation at conserved sites in potyvirus genomes is driven by species discovery and affects degenerate primer design. **PLoS One**, v. 3, n. 2, p. e1586, 2008.

CAPÍTULO 3. Efeito da Piraclostrobina na produção de plantas de alho (*Allium sativum* L.) com infecções virais simples e mistas

RESUMO

A produção de alho no Brasil tem tido uma tendência de crescimento contínuo nos últimos anos, entretanto, o produtor ainda precisa vencer uma série de desafios para garantir a produtividade e rentabilidade da cultura. Um dos principais fatores limitantes é a obtenção de material propagativo sadio, livre das principais espécies de *Potyvirus*, *Carlavirus* e *Allexivirus*, que ocasionam grandes perdas na produção. Portanto, buscar alternativas para controlar ou minimizar as perdas causadas pelo plantio de alho infectado tem sido o principal objetivo dos produtores. Neste trabalho, foi testado o efeito de produtos comerciais CabrioTop® (Piraclostrobina 50 g/kg e Metiram 550 g/kg) e Orkestra® (Piraclostrobina – 333 g L-1 e Fluxapiraxade – 167 g L-1), ambos contendo a molécula Piraclostrobina, que tem mostrado um efeito positivo na melhoria do desempenho e mesmo uma indução de resistência a vírus em plantas. Neste trabalho foi investigado o efeito desses produtos na produção das plantas de alho provenientes de material propagativo infectado com vírus. O experimento foi conduzido em campo, no município de São Gotardo – MG, com delineamento experimental de blocos casualizados, empregando-se 400 bulbilhos por parcela, sendo a parcela útil formada por 32 plantas com quatro repetições. Os tratamentos envolveram diferentes doses e vias de aplicação, como: tratamento de bulbilhos, incorporação no solo e aplicação foliar. A colheita manual foi realizada quando 2/3 da parte aérea das plantas estavam amareladas, caracterizando a maturação do bulbo. Após o processo de “cura”, as seguintes variáveis respostas foram avaliadas: peso (g), diâmetro (mm) e número de bulbilhos. Não foram observados efeitos positivos ou negativos do uso de Piraclostrobina aplicada em diferentes épocas e combinações de aplicação sobre o alho.

Palavras-chave: Estrobilurinas, viroses do alho, produtividade.

1. INTRODUÇÃO

A busca pelo aumento quantitativo e qualitativo da produção de alho nas regiões produtoras brasileiras tem sido constante, pois apesar de o Brasil produzir mais de 155 toneladas (IBGE, 2020) ainda não atende totalmente a demanda nacional. As condições climáticas nacionais somadas ao sistema de plantio da cultura favorecem a ocorrência de vários patógenos, destacando-se os de etiologia viral por causarem rápida degenerescência das sementes.

Diversas espécies de vírus têm sido identificadas nos últimos tempos, sendo as dos gêneros *Potyvirus*, *Carlavirus* e *Allexivirus* as mais comuns em todo o mundo (LUNELLO et al., 2007). A disseminação das viroses no campo é favorecida pela inexistência de controle curativo, devido ao modo de replicação dos fitovírus e da transmissão que ocorre através de bulbilhos-semente infectados e de vetores no campo e na fase de armazenamento. Diante disto, medidas de caráter preventivo são de extrema importância para impedir ou diminuir perdas na produção.

A Piraclostrobina tem sido utilizada como alternativa aos danos provocados por estresses bióticos e abióticos, devido a seu efeito benéfico na produtividade de plantas como soja, feijão, tomate, trigo e milho, dentre outras (FAGAN et al., 2010; MAHONEY et al., 2015; DAL CORTIVO et al., 2017; LIANG et al., 2018; SULEWSKA et al., 2019). As estrobilurinas, como a Piraclostrobina, são capazes de inibir a cadeia de transporte de elétrons e aumentar o nível de espécies reativas de oxigênio (ROS) dentro da mitocôndria. Acredita-se que isto induziria um aumento na expressão de genes nucleares de defesa ainda desconhecidos, resultando na inibição do movimento e da replicação viral (Xie et al., 2001). Udayashankar et al. (2012) demonstraram que as sementes de feijão tratadas com Piraclostrobina conferiram 76% de proteção contra o *Bean common mosaic virus* (BCMV) e Hermes et al. (2002) registraram a indução de resistência ao *Tobacco mosaic virus* (TMV) em plantas de *Nicotiana tabacum* cv Xanthi. Entretanto, até o momento não foi ainda investigado o efeito da Piraclostrobina na produtividade de plantas de alho sadias ou infectadas com vírus.

Comercialmente a Piraclostrobina é encontrada como Comet® (Piraclostrobina – 250 g L-1) e de forma conjugada como CabrioTop® (Piraclostrobina 50 g/kg e Metiram 550 g/kg) e Orkestra® (Piraclostrobina – 333 g L-1 e Fluxaproxade – 167 g L-1), todos registrado para o controle de Mancha-púrpura (*Alternaria porri*) e Ferrugem (*Puccinia allii*) na cultura do alho (BASF, 2022).

Neste trabalho foi investigado o efeito da Piraclostrobina associada à fluxaproxade e Piraclostrobina associada à metiram na produção e produtividade de plantas de alho com

infecções virais, quando aplicado em diversas concentrações no tratamento de sementes, no solo e via foliar.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido na zona rural do município Rio Paranaíba - MG (19°18'47.7"S 46°12'49.7"W) e no laboratório de Virologia Molecular localizados no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA). O clima da região é classificado como “Aw”, que indica clima tropical, quente em todas as estações do ano (temperatura média mensal $\geq 18^\circ\text{C}$), com inverno seco.

Figura 1. Vista aérea da área experimental.



Fonte: Google Earth

Os tratamentos (Tabela 5) com o fungicida Orkestra® SC, que contém em sua formulação a molécula de Piraclostrobina (167g/L) mais a de fluxapiróxade (333 g/L) e o Cabrio® Top que contém Piraclostrobina a 5%.

Tabela 5. Tratamentos empregados no experimento em campo.

Tratamento	Via de aplicação	Composição do Produto	Produto Comercial	Dose	Esquema de aplicação
1	-	-	-	-	-
2	TS	fluxapiróxade + Piraclostrobina	Orkestra® SC	0,75:1	Pré-plantio
3	TS	fluxapiróxade + Piraclostrobina	Orkestra® SC	01:01	Pré-plantio
4	TS + APF	fluxapiróxade + Piraclostrobina	Orkestra® SC	TS: 1:1; APF 0,35 L/ha	Pré-plantio
5	IC	fluxapiróxade + Piraclostrobina	Orkestra® SC	0,75 L/ha	Pré-plantio
6	IC	fluxapiróxade + Piraclostrobina	Orkestra® SC	1 L/ha	Pré-plantio

7	APF	fluxapiraxade + Piraclostrobina	Orkestra® SC	0,35 L/ha	15, 30, 45 e 60 (DAE)
8	IC + APF	fluxapiraxade + Piraclostrobina	Orkestra® SC	IC: 0,75 L/ha; APF: 0,35 L/ha	Pré-plantio; 15, 30, 45 e 60 (DAE)
9	IC + APF	fluxapiraxade + Piraclostrobina	Orkestra® SC	IC: 1 L/ha; APF: 0,35 L/ha	Pré-plantio; 15, 30, 45 e 60 (DAE)
10	IC	metiram + Piraclostrobina	Cabrio® Top	5 Kg/ha	Pré-plantio
11	IC	metiram + Piraclostrobina	Cabrio® Top	7,5 Kg/ha	Pré-plantio
12	APF	metiram + Piraclostrobina	Cabrio® Top	3 Kg/ha	15, 30, 45 e 60 (DAE)
13	IC + APF	metiram + Piraclostrobina	Cabrio® Top	IC: 5 Kg/ha; APF 3 Kg/ha	Pré-plantio; 15, 30, 45 e 60 (DAE)
14	IC + APF	metiram + Piraclostrobina	Cabrio® Top	IC: 7,5 Kg/ha; APF: 3 Kg/ha	Pré-plantio; 15, 30, 45 e 60 (DAE)
15	IC + APF	metiram + Piraclostrobina	Cabrio® Top	IC: 5 Kg/ha; APF: 3 Kg/ha	Pré-plantio; 30 e 60 (DAE)

Legenda: TS: tratamento de bulbilho-semente; IC: incorporação ao solo; APF: aplicação via foliar; DAE: dias após a emergência.

Adotou-se o delineamento experimental de blocos casualizados, empregando-se 400 bulbilhos por parcela, sendo que a parcela útil foi de 32 plantas com quatro repetições. O manejo de plantas daninhas foi feito antes do plantio, com a aplicação dos herbicidas pré-emergentes Goal (600 mL/ha), Flumyzin (60 mL/ha) e Ronstar (2 L/ha) e controle manual após o plantio conforme a necessidade da área. O plantio foi realizado a uma profundidade de 5 cm, com espaçamento de 12 cm entre linhas e 9 cm entre plantas, em solo arado e gradeado, com irrigação via sistema de pivô central.

A adubação foi feita seguindo o padrão do produtor e foi dividida em duas fases, sendo que a primeira fase (tabela 6) abrangeu desde o pré-plantio até o início da diferenciação, e a segunda fase (tabela 7) abrangeu o restante do ciclo da cultura até a colheita.

Tabela 6. Adubação da primeira fase do alho.

1ª FASE		ADUBO	DOSE (Kg/ha)	QUANTIDADE PROGRAMADA (Kg/ha)								
AD.	DAP			N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Ca	Mg	Mn	B	Zn	S
PP	-15	02-30-06+0,2%B+0,2%Zn	3800	76,0	1140,0	228,0	247,0	0,0	0,0	0,0	7,6	114,0
	-7	UREIA	200	92,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
P	-7	ÁCIDO BÓRICO	3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,51	0,0	0,0
	0	00 - 23 - 00	1100	0,0	253,0	0,0	198,0	0,0	0,0	0,0	0,0	132,0
1ª C	7	UREIA	125,0	57,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		SULFATO DE MG	30,0	0,0	0,0	0,3	0,0	2,7	0,0	0,0	0,0	3,5
		SULFATO DE Zn	5,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0
		SULFATO DE MN	5,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	1,6	0,0	0,0

		ÁCIDO BÓRICO	3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0
		20 - 00 - 20	200	40,0	0,0	40,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2ª C	14	SULFATO DE MG	10	0,0	0,0	0,1	0,0	0,9	0,0	0,0	0,0	1,2
		ÁCIDO BÓRICO	3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0
3ª C	17	ALGEN MICRON	100	0,0	0,0	0,0	32,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		19 - 04 - 19	200	38,0	8,0	38,0	0,0	2,0	0,0	0,2	0,2	2,0
4ª C	21	ÁCIDO BÓRICO	3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0
		SULFATO DE MN	5	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	1,6	0,0	0,0	0,9
TOTAL 1ª FASE				303,5	1401,0	306,6	477,0	8,6	3,1	2,2	8,8	254,5

Tabela 7. Adubação da segunda fase do alho.

2ª FASE		ADUBO	DOSE (Kg/ha)	QUANTIDADE PROGRAMADA (Kg/ha)								
AD	DAD			N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Ca	Mg	Mn	B	Zn	S
5ª C	3	ALGEN MICRON	100	0,0	0,0	0,0	32,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		20 - 00 - 20	200	40,0	0,0	40,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		ÁCIDO BÓRICO	3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0
6ª C	10	SULFATO DE MN	5	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	1,6	0,0	0,0	0,9
		SULFATO DE Zn	5,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	
		SULFATO DE MG	30	0,0	0,0	0,3	0,0	2,7	0,0	0,0	0,0	3,5
7ª C	13	ALGEN MICRON	100	0,0	0,0	0,0	32,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		20 - 00 - 20	200	40,0	0,0	40,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
8ª C	17	ÁCIDO BÓRICO	3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0
9ª C	24	09 - 00 - 24	200	18,0	0,0	48,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0
TOTAL 2ª FASE				98,0	0,0	128,4	64,0	8,7	1,6	1,4	1,0	4,4

A colheita manual foi realizada quando 2/3 da parte aérea das plantas estavam amareladas, caracterizando a maturação do bulbo. Em seguida, as plantas foram submetidas ao processo de “cura” até que as ramas adquirissem aparência bem seca, cor amarela-palha, diâmetro do colo reduzido e a película externa do bulbo se soltasse com facilidade. As características avaliadas foram: peso (g) do bulbo, diâmetro (mm) do bulbo e número de bulbilhos.

Os dados obtidos após a cura do alho foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro Wilk) e homogeneidade (Bartlett) para verificar se os dados atendiam as pressuposições da ANOVA através do software estatístico RStudio 2022.07.2. As variáveis que não apresentavam distribuição normal dos dados, tiveram seus dados transformados e após atendidas as pressuposições da ANOVA, as variáveis foram submetidas ao teste de médias de Tukey.

A extração do RNA total das plantas para a identificação das espécies virais presentes foi feita a partir de bulbilhos infectados, utilizando-se o método Trizol (AFGC PROTOCOLS, 2002). Para isso, 0,2g de tecido vegetal fresco foram macerados na presença de nitrogênio líquido e em seguida adicionado 1ml da solução extratora Trizol (38% de fenol saturado, 0,8 M de tiocianato de guanidina, 0,4 M de tiocianato de amônio, 0,1 M de acetato de sódio, pH 5 e 5% de glicerol). O extrato obtido foi incubado em banho-maria por 5 minutos a 60°C. Logo após, foi agitado em vórtex por 30 segundos e centrifugado por 10 minutos a 12.000 rpm a 4°C. O sobrenadante foi transferido para novos tubos e adicionado 240 µl de clorofórmio. Os tubos foram agitados em vórtex e deixados a temperatura ambiente por 3 min, em seguida, as amostras foram centrifugadas por 10 min a 12.000 rpm a 4°C. A fase aquosa foi cuidadosamente coletada e transferida para novos tubos, aos quais foi adicionada metade do volume coletado, da fase aquosa, da solução citrato/cloreto (0,8M de Citrato de Sódio e 1,2M de Cloreto de Sódio) e isopropanol na proporção 1:1. Os tubos foram agitados cuidadosamente, por inversão, e deixados à temperatura ambiente por 10 minutos para que ocorresse a precipitação do RNA. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 12.000 rpm por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* lavado com 300 µl de álcool 70% gelado, por centrifugação a 12000 rpm por 2 minutos. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* foi seco em temperatura ambiente e ressuspenso em 25 µl de água ultra pura tratada com DEPC. Após a extração a qualidade do RNA extraído foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 0,7% contrastado com Gel Red (Biotium®).

A obtenção do cDNA foi realizada com o uso da enzima transcriptase reversa, empregando-se a seguinte reação: 3,0 µl de água, 0,5µl de primer reverse do vírus alvo, 0,5 µl de dNTP e 2 µl do RNA total da planta. Essa mistura foi incubada por 10 minutos a 70°C e transferida imediatamente para um recipiente com gelo. Em seguida foram adicionados 1 µl de tampão, 0,5 µl da enzima MMLV transcriptase reversa (Sigma Aldrich ®), 3,5 µl de água, foi submetida a incubação de 37°C por 50 minutos para síntese do cDNA e a 85°C por 5 minutos para inativação da enzima.

A amplificação do cDNA por PCR foi realizada separadamente para cada vírus a ser diagnosticado, empregando-se os primers descrito na tabela 2 (capítulo 2). A reação de PCR foi composta por: 1,25 µl do tampão da enzima, 0,5 µl de cada primer (*forward* e *reverse*), 0,5 µl de dNTP, 1 µl do cDNA, 0,13 µl de Taq polimerase (Cellco ®) e 8,62 µl de água ultrapura tratada com DEPC. Com ciclo da PCR: 95°C por 2 min, seguido por 35 ciclos: 95°C por 45 s, TA (temperatura de anelamento para cada par de primer dos diferentes vírus) por 1 min e 72°C por

1 min, com uma extensão final de 72°C durante 10 min. O produto da amplificação foi observado após corrida de eletroforese em gel de agarose 0,7% contrastado com gel red (Biotium®).

3. RESULTADOS

Todos os tratamentos apresentaram sintomas de infecção viral e a análise de RT-PCR revelou que os sintomas foram causados pela presença de infecções mistas causadas pelas espécies *Garlic common latent virus* (GCLV) e *Shallot latent virus* (SLV) do gênero *Carlavirus* e *Leek yellow stripe vírus* (LYSV) e *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) do gênero *Potyvirus*.

Os resultados obtidos após a aplicação dos diversos tratamentos se encontram discriminados na Tabela 8. Apesar de não ter sido detectado diferenças estatísticas nos parâmetros avaliados, peso, diâmetro e número de bulbilhos, em relação ao controle, pode-se notar algumas tendências de aumento ou diminuição na performance das plantas. Os tratamentos 6 e 7, por exemplo induziram as maiores perdas no peso dos bulbilhos, de 3,12% e 4,76%, respectivamente, enquanto que os tratamentos 3 e 5 induziram os maiores ganhos, de 4,8 e 4,2, respectivamente. Ambos ocorreram quando foi utilizado tratamentos contendo o Orchestra® SC. Quando foram empregados tratamento com o Cabrio® Top apenas tanto os ganhos como as perdas foram menores, indicando uma inocuidade do tratamento. O maior ganho foi observado no tratamento 14 que gerou um ganho de 2,4%, enquanto que a maior perda (1,9%) foi no tratamento 15, mostrando uma maior aproximação do peso dos bulbilhos controle, que não foram submetidos a nenhum tratamento.

Tabela 8. Teste de Tukey para as variáveis resposta peso, diâmetro e número de bulbilhos.

TRATAMENTO	PESO	% Ganho (+) % Perda(-)	DIÂMETRO	% Ganho (+) % Perda(-)	Nº DE BULBILHOS	% Ganho (+) % Perda(-)
1	67,1	-	56,7	-	12	-
2	65,5	-2,4%	55,2	-2,64%	11	-8,33%
3	70,3	+4,8%	57,3	+1,05%	12	0
4	66,8	-0,4%	55,9	-1,40%	11	-8,33%
5	69,9	+4,2%	57,6	+1,58%	12	0
6	65	-3,12%	56,5	-0,35%	12	0
7	63,9	-4,76%	54,7	-3,52%	11	-8,33%
8	68,3	+1,8%	57	+0,50%	12	0
9	67,6	+0,7%	56,1	-1%	12	0
10	66	-1,63%	55,6	-1,94%	11	-8,33%
11	67,4	+0,4%	56,3	-0,70%	12	0
12	67,7	+0,89%	56,8	+0,10%	12	0
13	65,8	-1,9%	55,8	-1,58%	11	-8,33%
14	68,9	+2,7%	56,8	+0,10%	12	0
15	65,8	-1,9%	55,9	-1,40%	12	0
CV	4,57 %		2,08 %		5,99 %	

*Não houve diferença entre as médias ao nível de 95% de confiança pelo Teste de Tukey.

4. DISCUSSÃO

Neste trabalho, onde foram aplicadas diversas dosagens de Orkestra® SC e de Cabrio® Top em plantas de alho portadoras de 100% de infecções mistas com diversas espécies de vírus pertencentes às espécies de *Allexivirus*, *Carlavirus* e *Potyvirus* não logrou detectar um tratamento que tivesse efeito relevante sobre o desempenho das plantas. Enquanto alguns pesquisadores que empregaram produtos à base de Piraclostrobina relataram ganhos positivos na planta, outros observaram que nenhum efeito sobre a planta pode ser registrado. Vilela et al. (2012), investigando a ação da Piraclostrobina em híbridos de milho não detectaram nenhum incremento na produção e no peso de mil grãos. Marafon & Simonetti (2012) e Vilela et al., (2012) analisaram características biométricas do milho e observaram que a altura de plantas, altura de inserção de espiga e diâmetro de colmo não sofreram alterações positivas ou negativas devido a aplicação de Piraclostrobina.

Por outro lado, Fagan et. al. (2010) verificaram que a aplicação de Piraclostrobina em plantas de soja alterou a taxa de assimilação de carbono e de nitrogênio, o que levou a um acréscimo de 7% e 8% na massa de mil grãos e de 1080 e 468 kg ha⁻¹ na produtividade. Resultados semelhantes foram encontrados por Jadoski et. al. (2015), que observaram que a Piraclostrobina alterou positivamente mecanismos antioxidativos e carboxilativos e também aumentou a produtividade de grãos no feijoeiro.

Diminuição na produção foi também relatada por Paul et al. (2011), que relataram elevada ocorrência de resultados negativos no rendimento, ou seja, menores produtividades em área tratadas com fungicida em relação às áreas não tratadas.

Essa discrepância encontrada nos resultados de produção de plantas tratadas com produtos à base de Piraclostrobina pode estar possivelmente relacionada com o tipo de solo, condições ambientais, etc. Groff et al. (2020) submetem plantas de trigo a doses crescentes de nitrogênio e observaram que o aumento de massa fresca e seca da planta só foi observado quando as plantas foram submetidas a aplicação de piraclostrobina. Shetley et al. (2015) chamaram a atenção para o fato de que no milho e em muitas outras plantas as respostas fisiológicas à Piraclostrobina incluem aumentos nos processos que requerem nutrientes. Eles testaram 13 diferentes adubos foliares em milho, na presença e ausência de tratamento com Piraclostrobina e em três locais com condições edafoclimáticas diferentes: Novelty, Portageville e Albany. Eles observaram que apenas um dos 13 fertilizantes foliares empregados aumentou em 10% o rendimento dos grãos em Novelty e Portageville mas não causou nenhum efeito em Albany, em comparação com os controles não tratados com Piraclostrobina. Isso mostrou o efeito da

adubação e das condições ambientais, que provavelmente deve estar associado à diferença de resultados encontrados por diversos autores.

A infecção viral modifica processos vitais da planta como armazenamento de reservas, desenvolvimento de novos tecidos, absorção e transporte de água e minerais pelos vasos condutores, a fotossíntese e o uso de fotoassimilados (TAIZ e ZAIGER, 2013). Tais alterações certamente estão relacionadas à diminuição na produção de alho (LOT et. al, 1998; TANABE, 1999; CONCI et. al., 2003; MELO-FILHO et. al, 2006). É possível que a Piraclostrobina não tenha contribuído com efeitos significativos sobre as variáveis analisadas devido à alta incidência de viroses de modo que, para apresentar um resultado mais expressivo, haveria a necessidade de um teor de adubação nitrogenada mais elevado.

Ainda assim, foi possível observar que os tratamentos T3 e T5 (Tabela 8) apresentaram uma média de peso de bulbos 4,8% e 4.2%, respectivamente maior com a aplicação de Orkestra® no tratamento de bulbilhos e incorporação no solo. Considerando que a média nacional de produção de alho está em torno de 18 ton/ha (ANAPA, 2022), esses tratamentos poderiam proporcionar um incremento de 864 e 756 kg/ha, ou seja, 86 e 75 caixas de 10 kg que são comercializadas a R\$ 136,32/caixa no estado de Minas Gerais (CONAB, 2022), o que justificaria a aplicação dos referidos tratamentos. A partir desses resultados, próximo passo deverá ser a aplicação desses tratamentos em experimentos de alho combinados com doses crescentes de adubação nitrogenada visando investigar um possível ganho mais expressivo na produção e produtividade das plantas de alho.

5. CONCLUSÕES

Os tratamentos com Piraclostrobina associada à fluxapiraxade e Piraclostrobina associada à metiram, em diversas concentrações, vias de aplicação e estádios de desenvolvimento não induziram diferença significativa na produtividade de plantas de alho infectadas com 4 espécies de vírus.

REFERÊNCIAS

AFGC PROTOCOLS. Disponível em:

<<https://www.arabidopsis.org/portals/masc/AFGC/RevisedAFGC/site2RnaL.htm>>. Acesso em: 16 jan 2022.

ANAPA. Alho nacional bate importado na mesa do brasileiro pela primeira vez em 5 anos. Disponível em: <<https://anapa.com.br/alho-nacional-bate-importado-na-mesa-do-brasileiro-pela-primeira-vez-em-5-anos/>>. Acesso em: 20 nov de 2022.

BASF. (2022). Cabrio®Top – Fungicida para Hortifrúti – BASF Brasil. Disponível em: <<https://agriculture.basf.com/br/pt/protecao-de-cultivos-e-sementes/produtos/cabrio-top.html>>. Acesso em: 16 jan de 2022.

BASF. (2022). Orkestra®SC – Fungicida multicultura – BASF Brasil. Disponível em: <<https://agriculture.basf.com/br/pt/protecao-de-cultivos-e-sementes/produtos/orkestra-sc.html>>. Acesso em: 16 jan de 2022.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Análise Mensal: Alho, novembro, 2022. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-alho/item/download/45485_5ae4942bc1e6799813bb0052eb5c1b8d>. Acesso em: 04 dez de 2022

CONCI, V. C., CANAVELLI, A. E. & LUNELLO, P. A. Yield losses associated with vírus-infected garlic plants during five sucessives Years. **Plant Disease** 87: 1411-1415. 2003.

DAL CORTIVO, Cristian et al. Biostimulant effects of seed-applied sedaxane fungicide: morphological and physiological changes in maize seedlings. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 2072, 2017.

FAGAN, E.B.; DOURADO NETO, D.; VIVIAN, R.; FRANCO, R.B.; YEDA, M.P.; MASSIGNAM, L.F.; OLIVEIRA, R.F.; MARTINS, K.V. Efeito da aplicação de Piraclostrobina na taxa fotossintética, respiração, atividade da enzima nitrato redutase, e produtividade de grãos de soja. **Bragantia**, v.69, n.4, p.771-777, 2010.

GROFF, V. L. F.; GARCIA, C.; GROFF, D. G. F.; AVILA, F. W.; SANTOS, L. A.; Influência do teor de nitrogênio no efeito verde causado por Piraclostrobina em plantas de trigo. **Applied Research & Agrotechnology**, Guarapuava-PR, v.13: e5964, 2020.

HERMES, S.; SEEHAUS, K.; KOEHLE, H. A Strobirulin fungicide enhances the resitance of tobacco against *Tobacco mosaic virus* and *Pseudomonas syringae* pv. *Tabaci*. **Journal Plant Physiology**, Jena, v. 130, p. 120-127, 2002.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2020. Levantamento sistemático da produção agrícola. **IBGE**. Disponível: <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em 06 dez 2022.

JADOSKI, Cleber Junior et al. Ação fisiológica da Piraclostrobina na assimilação de CO₂ e enzimas antioxidantes em plantas de feijão condicionado em diferentes tensões de água no solo. **Irriga**, v. 20, n. 2, p. 319-333, 2015.

LIANG, Shuang; XU, X.; LU, Z.. Effect of azoxystrobin fungicide on the physiological and biochemical indices and ginsenoside contents of ginseng leaves. **Journal of Ginseng Research**, v. 42, n. 2, p. 175-182, 2018.

- LOT, H.; CHOVELON, V.; SOUCHE, S. & DELECOLLE, B. Effects of Onion yellow dwarf and Leek yellow stripe viroses on symptomatology and yield loss of three French garlic cultivars. **Plant Disease** 82: 1381-1385.
- LUNELLO, P.; DI RIENZO, J.; CONCI, V. C. Yield loss in garlic caused by *leek yellow stripevirus* Argentinean isolate. **Plant Disease** 91(2):153–158 DOI 10.1094/PDIS-91-2-0153, 2007.
- MAHONEY, K. J.; VYN, R. J.; GILLARD, C. L. The effect of pyraclostrobin on soybean plant health, yield, and profitability in Ontario. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 95, n. 2, p. 285-292, 2015.
- MARAFON, C.A.; SIMONETTI, A.P.M.M. Avaliação de parâmetros produtivos e severidade de ferrugem na cultura do milho. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**. v.1, n.1, p.221-238, 2012.
- MELO-FILHO, P. A.; RESENDE, R. O.; CORDEIRO, C. M. T.; BUSO, J. A.; TORRES, A. C. DUSI, A. N. Viral reinfection affecting bulb production in garlic after seven years of cultivation under field conditions. **European Journal of Plant Pathology** 116: 95-101. 2006.
- PAUL, P.A.; MADDEN, L.V.; BRADLEY, C.A.; ROBERTSON, A.; MUNKVOLD, G.; SHANER, G.; WISE, K.; MALVICK, D.; ALLEN, T.W.; GRYBAUSKAS, A.; VINCELLI, P.; ESKER, P. Meta-analysis of yield response of hybrid field corn to foliar fungicides in the U.S. corn belt. **Phytopathology**, v.101, p.1122-1132, 2011.
- SHETLEY, John; NELSON, Kelly A.; STEVENS, William G.; et al. Corn yield response to pyraclostrobin with foliar fertilizers. **Journal of Agricultural Science**, v. 7, n. 7, p. 18, 2015.
- SULEWSKA, Hanna et al. Can pyraclostrobin and epoxiconazole protect conventional and stay-green maize varieties grown under drought stress?. **Plos one**, v. 14, n. 8, p. e0221116, 2019.
- TANABE, C. M. N. Avaliação da degenerescência em campo causada por fitovirose na cultura de alho (*Allium sativum* L.). **Dissertação (Mestrado)**. Universidade de Brasília. Brasília. 1999. 91p.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. Porto Alegre: **Artmed**, 2013. 918p.
- UDAYASHANKAR, A.C., NAYAKA, C.S., ARCHANA, B., NAYAK, U., NIRANJANA, S.R. AND PRAKASH, H.S., Strobilurins Seed Treatment Enhances Resistance of Common Bean Against *Bean common mosaic virus*. **J Phytopathol**, 160: 710-716, 2012.
- VILELA, R.G.; ARF, O.; KAPPES, C.; KANEKO, F.H.; GITTI, D.D.; FERREIRA, J.P.; Desempenho agrônômico de híbridos de milho, em função da aplicação foliar de fungicidas. **Bioscience Journal**. v.28, n.1, p.25-33, 2012.
- XIE, Zhixin et al. An important role of an inducible RNA-dependent RNA polymerase in plant antiviral defense. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 11, p. 6516-6521, 2001.