



Universidade Federal Rural de Pernambuco
Bacharelado em Agronomia

MARCELO HENRIQUE OLIVEIRA GONÇALVES

**Detecção sorológica de cowpea aphid-borne mosaic virus
em diferentes espécies de *Passiflora* e caracterização
biológica de um isolado obtido de *Passiflora alata***

Recife – PE
2022

MARCELO HENRIQUE OLIVEIRA GONÇALVES

Detecção sorológica de cowpea aphid-borne mosaic virus em diferentes espécies de *Passiflora* e caracterização biológica de um isolado obtido de *Passiflora alata*

Relatório de pesquisa desenvolvida no laboratório de Fitovirologia e apresentado ao departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco como parte dos requisitos da disciplina de Estágio Supervisionado Obrigatório para a obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO

Orientadora: Profa. Dra. Rosana Blawid

Recife – PE
2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- G635d Gonçalves, Marcelo Henrique Oliveira
Detecção sorológica de cowpea aphid-borne mosaic virus em diferentes espécies de Passiflora e caracterização biológica de um isolado obtido de Passiflora alata / Marcelo Henrique Oliveira Gonçalves. - 2022.
41 f. : il.
- Orientadora: Rosana Blawid.
Inclui referências.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Agronomia, Recife, 2023.
1. Dot-Elisa. 2. Maracujazeiro. 3. Vigna unguiculata. 4. Feijão. I. Blawid, Rosana, orient. II. Título

CDD 630

**A Layanne Siqueira de Carvalho (*in memoriam*),
com todo amor e carinho.**

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a minha família, mas em especial, a minha mãe, Ana Cristina e minha Avó, Irene Alice, as quais foram o meu exemplo e suporte durante toda a minha vida. Às minhas tias Rosicleide, Maria das Dores, Maria Lúcia, Verônica, por todo os bons conselhos dados. E a minha prima, Yasmim Valeska.

Aos orientadores que tive durante o curso, que me ensinaram, e me apresentaram cada um, um pouco da produção do conhecimento científico: a Dra. Rejane Magalhães de Mendonça Pimentel, o Dr. Reginaldo de Carvalho, a Dra. Elineide Barbosa de Souza e a Dra. Rosana Blawid.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco e aos seus docentes que me auxiliaram e me guiaram em uma boa formação durante a construção de conhecimento que foi realizar essa graduação.

Aos amigos que fiz no laboratório de Fitobacteriologia, Igor Pimentel, Leandro Victor, Pedro Henrique, Fernanda Del Corona, Greecy Mirian, Leandro Vélez, Beatriz Letícia, Claudeana, Lucas Lucena, Wallison Vieira, Keyla, Lucas Amâncio. E aos que fiz no laboratório de Fitovirologia, Géssyka Albuquerque, José Ailton Cruz, Tatiane Santos, Alejandro Risco, Carlos Henrique, Elayni Araújo e Ana Paula.

Meus sinceros agradecimentos a Alexandre Xavier, Bruno Viana, Fernanda Santos, a Dra. Vivian Loges, e aos produtores de maracujazeiro no município de Vitória de Santo Antão, os quais fizeram esse trabalho possível de ser realizado.

Ao Professor Fábio Trindade que auxiliou iluminando a minha trajetória, quando eu ainda muito novo, não conseguia ver os caminhos que tinha.

Aos amigos que a universidade me deu, que cursaram, ou não, o curso de agronomia comigo e ajudaram a tornar os meus dias mais leves e mais felizes. Aqueles que acreditaram em mim, ainda quando eu mesmo não acreditei. Desejo os levar por toda a vida: Victória Liberal, Bruna Braz, Marcelle Andressa, Larissa Cristina, Lucas Nascimento, Alexsandra Costa, Raquel Barroncas, Lyani Regina, David Duarte, Bruno Mendes e José Roberto.

E também, aos amigos da vida: Lunielly Táperla, Luyta Lohan, Adrielle Maria, Rafael Moura, Mateus Santos, Marcos Santos, Thalyta Andrade, Eduarda Silva, Lucas Alexandre, Mateus Alexandre e Everton Bandeira Martins.

RESUMO

As espécies pertencentes ao gênero *Passiflora* são popularmente conhecidas como maracujazeiros. Elas possuem importância principalmente para uso ornamental, medicinal e para comercialização de seus frutos *in natura* ou processado para a industrialização. Dentre as doenças que afetam o seu cultivo, as viroses possuem grande relevância. E dentre elas, a virose do endurecimento dos frutos do maracujazeiro, causada pelo cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV), destaca-se em importância devido a sua grande disseminação e difícil manejo. Portanto, o objetivo principal deste trabalho foi a detecção de CABMV em diferentes espécies de *Passiflora* e sua caracterização biológica em plantas infectadas de *Passiflora alata*. Para tanto, foram coletadas 17 amostras pertencentes às espécies *P. edulis*, *P. watsoniana*, *P. cincinnata*, *P. alata*, *P. rupestris*, *P. subrotunda*, *P. serrato-digitata*, *P. galbana*, *P. vesicaria* e um híbrido ornamental cv. BRS Céu do Cerrado proveniente de cruzamento *P. edulis* x *P. incarnata* apresentando sintomas que poderiam ser associados a infecções virais. As amostras foram submetidas a detecção sorológica por meio de Dot-Elisa, utilizando anticorpo primário específico anti-CABMV e anticorpo secundário anti-IgG conjugado com enzima fosfatase alcalina (AS-0417, DSMZ, Alemanha). Além disso, realizou-se detecção por meio de PCR utilizando primers universais pAL1v1978 (5' GCA TCT GCA GGC CCA CAT YGT CTT YCC NGT 3') e Par1C496 (5' AAT ACT GCA GGG CTT YCT RTA CAT RGG 3') para detecção de coinfeção com begomovírus em quatro amostras de *P. edulis* e *P. alata*. O isolado RPA-1 de CABMV, obtido de *P. alata*, proveniente do município de Recife, foi submetido ao teste de *Western blot* para confirmação da presença viral. Em seguida, foi realizada a caracterização biológica do isolado RPA-1 mediante inoculação mecânica nas seguintes espécies: *P. edulis*, *P. suberosa*, *P. vesicaria*, *Phaseolus vulgaris* cv. Preto 193, *Glycine max*, *Vigna unguiculata* cv CNC 0434, *V. unguiculata* cv. TVu 2331 e *Nicotiana benthamiana*. Dentre as amostras avaliadas, 76% testaram positivo para a detecção do CABMV, dentre elas, as espécies: *P. edulis*, *P. alata*, *P. cincinnata*, *P. watsoniana*, *P. galbana*, *P. subrotunda* e o híbrido ornamental cv. BRS Céu do Cerrado. Nenhuma amostra avaliada apresentou infecção por begomovírus. Por último, o isolado RPA-1 foi detectado por *Western blot* para a presença do CABMV e foi capaz de infectar plantas de *N. benthamiana*, *P. edulis*, *P. vulgaris* cv. Preto 193, mas não foi capaz de causar sintomas em plantas de *Glycine max*, *Vigna unguiculata* cv CNC 0434, *V. unguiculata* cv. TVu 2331. Apesar do isolado RPA-1 induzir sintomas virais em plantas de *P. vesicaria*, não foi possível detectar a presença do CABMV por sorologia, o que pode indicar que o inóculo utilizado para o experimento de inoculação mecânica pode também conter outro vírus.

Palavras-chaves: Dot-Elisa, Maracujazeiro, *Vigna unguiculata*, Feijão.

ABSTRACT

Species belonging to the *Passiflora* genus are popularly known as passion fruit. They are important mainly for ornamental and medicinal use and for commercialization of their fruits in nature and for industrialization. Among the agents that cause disease in *Passiflora*, viruses are very important. The passion fruit woodiness disease, caused by cowpea aphid-mosaic virus (CABMV) stands out for its widespread and management difficulty. Therefore, the main objective of this work was the detection of CABMV in different species of *Passiflora* and the biological characterization in infected *Passiflora alata* plants. Seventeen samples belonging to the species of *P. edulis*, *P. watsoniana*, *P. cincinnata*, *P. alata*, *P. rupestris*, *P. subrotunda*, *P. serrato-digitata*, *P. galbana*, *P. vesicaria* and an ornamental hybrid cv. BRS Céu do Cerrado from a cross between *P. edulis* x *P. incarnata* showing symptoms that may be associated with viral infections. The samples were submitted to serological detection by Dot-Elisa, using specific anti-CABMV primary antibody and anti-Igg secondary antibody conjugated with alkaline phosphatase enzyme (AS-0417, DSMZ, Germany). PCR was performed using universal primers pAL1v1978 (5'GCA TCT GCA GGC CCA CAT YGT CTT YCC NGT 3') and Par1C496 (5' AAT ACT GCA GGG CTT YCT RTA CAT RGG 3') to detect co-infection with begomoviruses in four samples of *P. edulis* and *P. alata*. The isolated RPA-1 CABMV, obtained from *P. alata* from producing areas from Recife was analyzed by Western Blot to confirm the viral presence. In addition, the biological characterization of the isolate RPA-1 was carried out by mechanically inoculating the virus in the following species: *P. edulis*, *P. suberosa*, *P. vesicaria*, *Phaseolus vulgaris* cv. Preto 193, *Glycine max*, *Vigna unguiculata* cv CNC 0434, *V. unguiculata* cv. TVu 2331 and *Nicotiana benthamiana*. Among all samples, 76% were positive for CABMV, namely *P. edulis*, *P. alata*, *P. cincinnata*, *P. watsoniana*, *P. galbana*, *P. subrotunda* and also the ornamental hybrid cv. BRS Céu do Cerrado. No sample was positive for begomovirus infection. The isolated RPA-1 was detected by western blot for the presence of CABMV that was able to infect plants of *N. benthamiana*, *P. edulis*, *P. vulgaris* cv. Preto 193, but was not able to cause symptoms in *Glycine max*, *Vigna unguiculata* cv CNC 0434, *V. unguiculata* cv. TVu 2331. Despite this experiment lead to symptoms in *P. vesicaria*, it was not possible to detect the CABMV in the sample. These results may indicate that the inoculum used in the mechanical inoculation experiment may contain another virus.

Keywords: Dot-Elisa, Passion fruit, *Vigna unguiculata*, Beans.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	8
Revisão de Literatura	9
O gênero <i>Passiflora</i>	9
O Endurecimento dos Frutos do Maracujazeiro	11
Referências	15
 CAPÍTULO II	 21
Detecção sorológica do cowpea aphid-borne mosaic virus em diferentes espécies de passiflora e caracterização biológica de um isolado obtido de <i>Passiflora alata</i>	
Introdução	22
Material e Métodos	23
Resultados e Discussão	26
Referências	36
Conclusões	41

Capítulo I

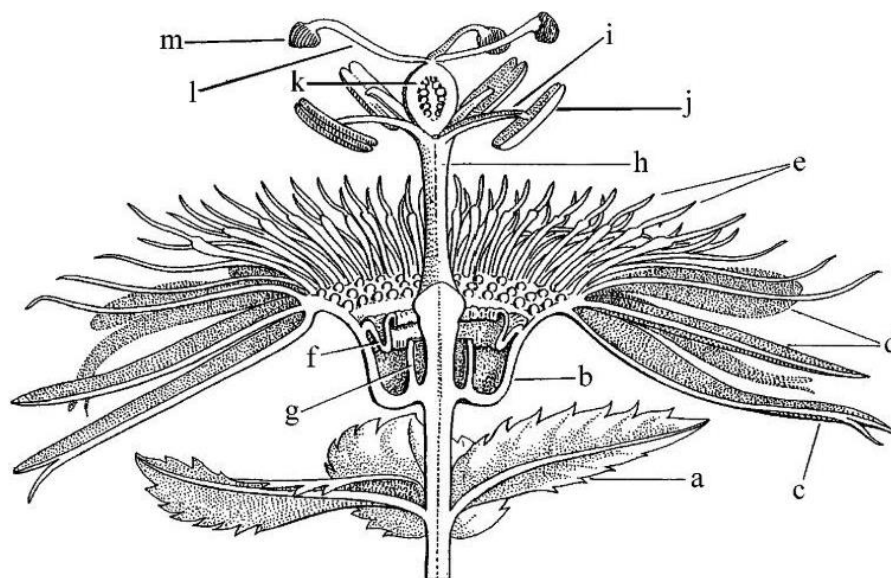
Introdução Geral

REVISÃO DE LITERATURA

O gênero *Passiflora* L.

O gênero *Passiflora* L. destaca-se como o maior dentro da família Passifloraceae Juss. ex Roussel com cerca de 573 diferentes espécies aceitas (POWO, 2022), sendo 157 de ocorrência no Brasil, e destas, ao menos 87 endêmicas (BERNACCI *et al.*, 2020). As espécies são classificadas em um sistema de subgênero, seções e séries que recebeu diversas modificações ao longo do tempo (CERVI, 1997). Sua distribuição nativa é no Novo Mundo, desde os Estados Unidos, até a América do Sul, exceto o extremo sul; Ásia Tropical e Subtropical e regiões no sudoeste do Pacífico. No entanto, a introdução das espécies desse gênero foi realizada em diversas regiões incluindo vários países na África e Europa (POWO, 2022). No Brasil, são encontradas preferencialmente em formações florestais úmidas, além da Caatinga e do Cerrado (ARAÚJO & ALVES, 2013).

As espécies de passiflora são descritas como trepadeiras herbáceas ou lenhosas e caule cilíndrico, angular, subangular e raramente quadrangular, estriado longitudinalmente, com a presença de gavinhas axilares solitárias. O formato das folhas é bastante variável, frequentemente simples, inteiras ou lobadas com venação palmada e nectários, geralmente, presentes nos pecíolos. A filotaxia é sempre alterna. Estípulas são presentes, as vezes cedo caducas. As flores são geralmente bissexuais com simetria radial e cores brancas, verdes, vermelhas, rosas, azuis ou púrpuras. Sépalas e pétalas são semelhantes na forma, de sépalas cartáceas a coriáceas, externamente verdes e internamente da mesma cor das pétalas; as pétalas são membranáceas, raro ausentes. Possui um disco nectarífero na base do hipanto, e a presença de uma corona bem desenvolvida, que consiste de uma ou várias linhas de filamentos, projeções ou membranas, geralmente coloridas que nascem no ápice da superfície interna do hipanto (característica que suporta a monofilia do grupo) (CERVI, 1997; JUDD *et al.*, 2009; COSTA & MELO, 2016). A representação de uma flor típica do gênero é apresentada abaixo (**Figura 1**):



Lamina 1. *Passiflora edulis* Sims

a) brácteas. b) tubo do cálice. c) sépala. d) pétala. e) corona de filamentos. f) opérculo. g) limen. h) androginóforo. i) filete. j) antera. k) ovário. l) estilete. m) estigma

Fonte: CERVI, 1997

Popularmente conhecidas como maracujazeiros, algumas espécies desse gênero possuem importância econômica para a comercialização dos frutos para consumo *in natura* ou industrializados, uso medicinal e ornamental (COSTA *et al.*, 2015). A principal espécie cultivada que corresponde a cerca de 90% da área produzida é *Passiflora edulis* Sims que possui duas formas reconhecidas: *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg., o maracujá amarelo ou azedo, que detém a maior área de produção no Brasil (D'ABADIA, 2019); e *Passiflora edulis* f. *edulis* Sims, o maracujá roxo, com produção concentrada no Equador, Peru, África e sudoeste Asiático, mas que também vem crescendo no Brasil (SOUZA, 2016). *P. alata* Curtis se destaca como a segunda espécie com maior área cultivada no Brasil (D'ABADIA, 2019), além de outras espécies que possuem produção comercial como *P. setacea* D.C. (maracujá pérola) e *P. cincinnata* Mast. (maracujá da caatinga) (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

As propriedades medicinais de algumas espécies de *Passiflora* são bastante reconhecidas pelo conhecimento popular e aplicadas como calmantes, antidepressivos e ajuste de distúrbios de humor e ansiedade. Os extratos são relatados como ansiolítico, espasmolítico, hipnótico, sedativo, narcótico e anódino. E apesar de diversos estudos, a real determinação de seu princípio ativo para algumas propriedades ainda é incerta. Mas apesar da presença também nas flores e frutos, as concentrações desses químicos são maiores nas folhas e raízes, garantindo o seu uso medicinal (TIWARI *et al.*, 2016), a exemplo da utilização da espécie *P. incarnata* na produção de medicamentos como Seakalm®, Apaxy®, Passiflorine®, Maracugina®, dentre

muitos outros.

O Brasil possui uma área plantada de 46.530 hectares voltadas a produção de maracujá. E apesar de haver produção em todas as unidades federativas, a região nordeste destaca-se como a maior produtora, produzindo 491.326 toneladas no ano de 2020, o que é correspondente a cerca de 70% da produção nacional (690.364 toneladas). O Estado da Bahia sempre foi considerado o maior produtor de maracujá do país. No entanto, à medida que a produção do fruto vem diminuindo nesse Estado com o passar dos anos, a produção no Estado do Ceará vem crescendo, chegando inclusive a ultrapassá-la no ano de 2020. Isso porque apesar do Estado possuir o maior valor de área plantada, a Bahia apresenta baixo rendimento por área, ficando inclusive atrás da média Nacional. Diferente do Estado do Ceará, que possui a segunda maior produtividade do país, ficando atrás apenas do Distrito Federal. Outros que merecem menção a quantidade produzida de frutos são os Estados de Santa Catarina, Pernambuco, São Paulo e Minas Gerais (IBGE, 2021).

Numa tentativa de melhorar a baixa produtividade no país, vem se investindo em pesquisa e tecnologias. O maracujazeiro é uma planta que precisa de tutoramento para a sua condução, podendo ser cultivado em latada ou espaldeira. E apesar de uma maior produtividade ser encontrada em produções do tipo latada, o seu custo de implantação é bem maior (D'ABADIA, 2019). Além disso, com melhoramento genético, a EMBRAPA vem lançando diversas cultivares no mercado, tanto para a produção de frutos como ornamental (EMBRAPA, 2022). O foco do melhoramento também tem sido a incorporação de resistência a doenças, principalmente as bacterioses e viroses (JUNQUEIRA *et al.*, 2005).

O Endurecimento Dos Frutos do Maracujazeiro

O endurecimento do fruto é considerado uma das principais doenças afetando os campos de produção de maracujá, podendo ser fator limitante para o seu cultivo em algumas regiões do mundo (CERQUEIRA-SILVA *et al.*, 2014). Seu primeiro relato no Brasil ocorreu no final da década de 70 em Feira de Santana no estado da Bahia (YAMASHIRA & CHAGAS, 1979) e logo se disseminou para vários Estados brasileiros como Pernambuco (LORETO & VITAL, 1983), Sergipe, Ceará, (KITAJIMA *et al.* 1986), São Paulo (CHAGAS *et al.*, 1992), Minas Gerais (ANJOS *et al.*, 2001), Goiás (GOMES, 2020), Espírito Santo, Distrito Federal (NASCIMENTO *et al.*, 2006), Pará (TRINDADE *et al.*, 1999), Paraná (KOTSUBO *et al.*, 2021), Santa Catarina (COLARICCIO *et al.*, 2020) sendo ainda, até então, não encontrado em Campos de Maracujazeiro no Acre (SANTOS, 2021).

Os sintomas virais são caracterizados por apresentar, nas folhas, mosaico comum

sistêmico com intensidade variada, acompanhado em alguns casos de enrugamento, deformações e bolhas no limbo foliar. Há um encurtamento dos internódios, levando a diminuição do porte da planta (ANJOS *et al.*, 2001). Os sintomas foliares podem apresentar menor severidade ou tornar-se assintomático em algumas folhas da haste e retornarem posteriormente nas folhas mais novas, de acordo com a estirpe e sua interação com as condições ambientais (SAMPAIO *et al.*, 2008). Nos frutos, os sintomas são caracterizados por redução, deformações, rachaduras, apodrecimento, queda e, principalmente, pelo endurecimento e engrossamento do pericarpo acompanhado de redução da polpa (GOMES, 2020).

Durante muito tempo, acreditou-se que o passion fruit woodiness virus (PWV) era o único agente etiológico da doença do endurecimento do fruto do maracujazeiro. No entanto, sabe-se atualmente que outras espécies podem causar essa doença como o *East Asian Passiflora virus* (EAPV), *Telosma mosaic virus* (TelMV), *Passiflora mottle virus*, (PaMoV) (DO *et al.*, 2021) e *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). No Brasil, devido a identificação baseada apenas em testes sorológicos e caracterização biológica, a sua etiologia foi relacionada ao PWV (KITAJIMA *et al.*, 1986; CHAGAS *et al.*, 1992). Entretanto, estudos revelaram que o cowpea aphid-borne mosaic virus era o agente causal da doença no País (NASCIMENTO *et al.*, 2004; NASCIMENTO *et al.*, 2006).

Os vírus do gênero *Potyvirus* fazem parte da família *Potyviridae*. A família é relatada como uma das maiores dentre as viroses de plantas. Seus membros são formados por um genoma de apenas uma única fita simples de sentido positivo de RNA que é envolvida pela capa proteica com aproximadamente 2.200 cópias de um peptídeo de 34 kDa arranjadas como uma hélice, formando uma partícula filamentosa flexível (WYLIE *et al.*, 2017). Atualmente o gênero *Potyvirus* é o maior contendo 195 espécies aceitas dentro da família, que agrupa outros 11 gêneros (ICTV, 2022). Os critérios de demarcação de espécies dentro desse gênero são bem estabelecidos. Leva-se em consideração o nível de identidade da ORF completa ser menor que 76% a nível de nucleotídeo e menor que 82% para aminoácidos. Para a região P1 as identidades das regiões codantes devem ser menores que 58% e menor que 74 a 78% para outras regiões. A identidade estabelecida para demarcação para nucleotídeos é de 76–77% e para aminoácidos de 80% para a região da capa proteica (CP) (ADAMS *et al.*, 2005).

Os potyvírus possuem uma grande ORF (*Open Read Frame*) que dá origem a uma poliproteína que se autocliva formando 10 proteínas maduras: P1, HC-Pro, P3, 6K1, CI, 6K2, VPg, NIa-Pro, NIb, e CP, e uma pequena ORF dentro do cístron P3 chamada de PIPO (*Pretty interesting Potyviridae ORF*), onde o mecanismo de deslizamento da RNA polimerase (-1 frameshift) na sequência GAA AAA A resulta na codificação da proteína P3N-PIPO (CHAI *et*

al., 2020). O genoma viral possui uma proteína VPg (*viral protein genome-linked*) ligada covalentemente na região terminal 5' e na região terminal 3' possui uma cauda poliadenilada (MLOTSHWA *et al.*, 2002). O genoma do CABMV varia de 9.465 nt a 9.930 nt sem a calda poliadenilada (MLOTSHWA *et al.*, 2002; BARROS *et al.*, 2011; MBEYAGALA *et al.*, 2018).

A transmissão dos integrantes desse gênero ocorre de forma mecânica e em uma relação não-persistente e não-circulativa por afídeos (BRAULT *et al.*, 2003). As espécies *Myzus persicae* (Sulzer), *Aphis gossypii* (Glover), *Aphis fabae/solanella* (Scopoli), *Aphis craccivora* (Bock), *Toxoptera citricidus* (Kilkaldy), *Uroleucon ambrosiae*, (Thomas) e *Myzus nicotianae* (Blackman) são conhecidas por ser vetor do CABMV. Apesar da transmissão ocorrer apenas por picada de prova, onde o inseto vetor rapidamente adquire o vírus e torna-se virulífero, até o momento, não há relatos de pulgão colonizando o maracujazeiro (GARCÊZ *et al.*, 2015). No patossistema do Maracujá, não há relatos de transmissão por sementes (FISCHER & REZENDE, 2008). Sendo que no feijão-caupí pode-se chegar à eficiência de até 80% de transmissão (OJUEDERIE *et al.*, 2009).

Dentre as espécies hospedeira do CABMV, encontra-se diversas plantas da família Fabaceae, sendo uma virose de grande importância para a produção de feijão (*Phaseolus vulgaris*), feijão-caupí (*Vigna unguiculata*) feijão-lima (*Phaseolus lunatu*), feijão de porco (*Canavalia ensiformes*) e amendoim (*Arachis hypogaea*) (PIO-RIBEIRO *et al.*, 2000; MEDEIROS *et al.*, 2020). O CABMV também foi encontrado infectando plantas daninhas como, *Crotalaria juncea*, *C. incana*, *C. spectabilis*, *Cajanus cajan*, *Lupinus albus*, *Macroptilium atropurpureum*, *Neonotonia wightii* e *Senna occidentalis*, que servem como reservatório do vírus para plantas cultiváveis (SILVA *et al.*, 2012).

Vinte e três espécies pertencentes ao gênero *Passiflora* já foram relatadas como hospedeiras do CABMV. A maioria, por meio ensaios de transmissão mecânica. (MACIEL *et al.*, 2009; GONÇALVES *et al.*, 2018; GONÇALVES *et al.*, 2021; FARIAS, 2016; BELLON, 2014; SANTOS *et al.*, 2006; MORAES *et al.*, 2002). E apesar de *P. suberosa* ter sido considerada uma espécie imune (MACIEL *et al.*, 2009), recentemente, estudos de transmissão e diagnose por meio de RT-PCR quantitativa detectaram a presença do vírus em plantas assintomáticas, nas quais não foram detectadas por RT-PCR convencional (GONÇALVES *et al.*, 2021).

Tabela 1 - Espécies do gênero *Passiflora* com relatos de transmissão ou detecção do cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV)

Espécie	Subgênero	Referência
<i>P. alata</i>	<i>Passiflora</i>	MACIEL <i>et al.</i> , 2009; GONÇALVES <i>et al.</i> , 2018
<i>P. amethystina</i>	<i>Passiflora</i>	MACIEL <i>et al.</i> , 2009
<i>P. bahiensis</i>	<i>Passiflora</i>	FARIAS, 2016
<i>P. caerulea</i>	<i>Passiflora</i>	MACIEL <i>et al.</i> , 2009
<i>P. cerradensis</i>	<i>Astrophea</i>	BELLON, 2014
<i>P. cincinnata</i>	<i>Passiflora</i>	MACIEL <i>et al.</i> , 2009; GONÇALVES <i>et al.</i> , 2018
<i>P. coccinea</i>	<i>Passiflora</i>	SANTOS <i>et al.</i> , 2006
<i>P. edulis</i>	<i>Passiflora</i>	MACIEL <i>et al.</i> , 2009; GONÇALVES <i>et al.</i> , 2018
<i>P. foetida</i>	<i>Passiflora</i>	MACIEL <i>et al.</i> , 2009; GONÇALVES <i>et al.</i> , 2018
<i>P. galbana</i>	<i>Passiflora</i>	FARIAS, 2016
<i>P. giberti</i>	<i>Passiflora</i>	MACIEL <i>et al.</i> , 2009; GONÇALVES <i>et al.</i> , 2018
<i>P. laurifolia</i>	<i>Passiflora</i>	MACIEL <i>et al.</i> , 2009
<i>P. ligularis</i>	<i>Passiflora</i>	GONÇALVES <i>et al.</i> , 2018
<i>P. maliformis</i>	<i>Passiflora</i>	MACIEL <i>et al.</i> , 2009; GONÇALVES <i>et al.</i> , 2018
<i>P. miersii</i>	<i>Passiflora</i>	GONÇALVES <i>et al.</i> , 2021
<i>P. morifolia</i>	<i>Decaloba</i>	MACIEL <i>et al.</i> , 2009
<i>P. mucronata</i>	<i>Passiflora</i>	MACIEL <i>et al.</i> , 2009
<i>P. nitida</i>	<i>Passiflora</i>	MORAES <i>et al.</i> , 2002; MACIEL <i>et al.</i> , 2009
<i>P. quadrangularis</i>	<i>Passiflora</i>	MACIEL <i>et al.</i> , 2009
<i>P. serratodigitata</i>	<i>Passiflora</i>	MACIEL <i>et al.</i> , 2009
<i>P. setacea</i>	<i>Passiflora</i>	GONÇALVES <i>et al.</i> , 2018
<i>P. suberosa</i>	<i>Decaloba</i>	GONÇALVES <i>et al.</i> , 2021
<i>P. subrotunda</i>	<i>Passiflora</i>	GONÇALVES <i>et al.</i> , 2018

Diferenças biológicas na capacidade de infectar diferentes hospedeiros são observadas por essa espécie viral. Ou seja, um isolado proveniente de plantas leguminosas pode não ser capaz de causar doença em maracujazeiro (CABMV-C) (PIO-RIBEIRO *et al.*, 2000; MAIA *et al.*, 2017; NASCIMENTO *et al.*, 2006). No entanto, existem isolados que são capazes de causar doença tanto em maracujazeiro como no feijão-caupí (NASCIMENTO *et al.*, 2006). E existem isolados, obtidos de maracujazeiro que não são capazes de infectar o feijão-caupí (CABMV-P) (MAIA *et al.*, 2017).

REFERÊNCIA

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, n. 3, p. 459–479, 2005. doi: 10.1007/s00705-004-0440-6.

ANJOS, J. R. N.; JUNQUEIRA, N. T. V.; CHARCHAR, M. J. A. Incidência e Distribuição do vírus do endurecimento dos frutos do maracujazeiro no Brasil Central. EMBRAPA. Brasília, 2001.

ARAÚJO, D.; MARCCUS, A. Flora da Usina São José, Igarassu, Pernambuco: Passifloraceae s.s. **Rodriguésia**, v. 64, n. 2, p. 247-254, 2013.

BARROS, D. R.; ALFENAS-ZERBINI, P.; BESERRA JÚNIOR, J. E. A, ANTUNES, T.; F. S.; ZERBINI, F. M. Comparative analysis of the genomes of two isolates of Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) obtained from different hosts. **Archives of Virology**, v. 156, p. 1085-1091, 2011.

BELLON, G. **Filogenia, variabilidade genética e caracterização de Passifloras silvestres, comerciais e híbridos interespecíficos como fontes de resistência à doenças**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2014, 151 p. Tese de Doutorado.

BERNACCI, L. C.; NUNES, T. S.; MEZZONATO, A. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; IMIG, D. C.; CERVI, A.C. (*in memoriam*). **Passiflora in Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB12506>>. Acesso em: 23 nov. 2021.

BRAULT, V.; UZEST, M.; MONSION, B.; JACQUOT, E.; BLANC, S. Aphids as transport devices for plant viruses. **Comptes Rendus - Biologies**, v. 333, n. 6–7, p. 524–538, 2003. doi: 10.1016/j.crv.2010.04.001.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S.; SOUZA, A. P.; CORRÊA, R. X. A history of passion fruit woodiness disease with emphasis on the current situation in Brazil and prospects for Brazilian passion fruit cultivation. **Eur J Plant Pathol**, v. 139, p. 261–270, 2014. DOI 10.1007/s10658-014-0391-z.

CERVI, A. C. Passifloraceae do Brasil. Estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. **Fontqueria** 45: Madrid, 92p., 1997.

CHAGAS, C. M.; REZENDE, J. A. M.; COLARICCIO, A.; PIZA JUNIOR, C. T.; LOPES, L. C.; FERRARI, J. T.; BELLUZI, B. M. Ocorrência do endurecimento do fruto do maracujazeiro no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.14, p.187-190, 1992.

CHAI, M.; WU, X.; LIU, J.; FANG, Y.; LUAN, Y.; CUI, X.; ZHOU, X.; WANG, A.; CHENG, X. P3N-PIPO Interacts with P3 via the Shared N-Terminal Domain To Recruit Viral Replication Vesicles for Cell-to-Cell Movement. *Journal of Virology*, USA, v.94, n.8, p.1–18, 2020. doi: 10.1128/JVI.01898-19.

COLARICCIO, A.; RODRIGUES, L. K.; RAMOS, A. F.; CHAVES, A. L. R.; EIRAS, M.; HAKAKAVA. R.; PERUCH, L. A. M. Characterization of Cowpea aphid-borne mosaic virus in *Passiflora edulis* ‘Catarina’ in the southern coast of Santa Catarina State, Brazil. **Arq. Inst. Biol.**, v.87, 1-3, 2020.

COSTA, E. C. S.; MELO, J. I. M. Passifloraceae Juss. ex Roussel do Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, Brasil. **Revista Nordestina de Biologia**, p.13-22, 2016.

COSTA, E. C. S.; NUNES, T. S.; MELO, J. I. M. Flora da Paraíba, Brasil: Passifloraceae *sensu stricto*. **Rodriguésia**, v.66, p.271-284, 2015.

D'ABADIA, A. C. A. **Variabilidade genética e caracterização de frutos de *Passiflora alata* Curtis e *Passiflora cincinnata* Mast conduzidos em latada e espaldeira**. Brasília, 146p., 2019. Tese de Doutorado.

DO, D.; CHONG, Y.; HA, V.; CHENG, C.; CHEN, Y.; BUI, T. NGUYEN, T.; YEH, S. Characterization and Detection of *Passiflora* Mottle Virus and Two Other Potyviruses Causing Passionfruit Woodiness Disease in Vietnam. **Phytopathology**, v.111, n. 9, p.1675-1685, 2021. doi.org/10.1094/PHYTO-10-20-0481-R.

EMBRAPA. **Embrapa's Passion Fruit Cultivars**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/en/cultivar/maracuja>> Acessado em: 20 de Janeiro 22.

FARIAS, D. H. **Caracterização da diversidade genética e resposta ao Cowpea aphid-borne mosaic virus em acessos e híbridos RC1 de maracujazeiro**. Minas Gerais: Universidade Federal de Viçosa, 167p., 2016. Tese de Doutorado.

FISCHER, I. H.; REZENDE, J. A. M. Diseases of Passion Flower (*Passiflora* spp.). **Pest technology**, v.2, n.1, p.1-19, 2008.

GARCÊZ, R. M.; CHAVES, A. L. R.; EIRAS, M. Survey of aphid population in a yellow passion fruit crop and its relationship on the spread Cowpea aphid-borne mosaic virus in a subtropical region of Brazil. **SpringerPlus**, v.4, 2015.

GOMES, F. R. **Qualidade de frutos de maracujazeiros sob efeito do vírus do endurecimento dos frutos**. Universidade Federal de Goiás, Jataí, 56p., 2020. Dissertação de mestrado.

GONÇALVES, Z. S.; JESUS, O. N.; LIMA, L. K. S.; CORRÊA, R. X. Responses of *Passiflora* spp. to cowpea aphid-borne mosaic virus reveal infection in asymptomatic plants and new species with probable immunity. **Archives of Virology**, v.166, n.9, p.2419–2434, 2021. doi:10.1007/s00705-021-05131-w.

GONÇALVES, Z. S.; LIMA, L. K. S.; SOARES, T. L.; ABREU, E. F. M.; BARBOSA, C. J.; CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; JESUS, O. N.; OLIVEIRA, E. J. Identification of *Passiflora* spp. genotypes resistant to Cowpea aphid-borne mosaic virus and leaf anatomical response under controlled conditions. **Scientia Horticulturae**, v.231, p.166-178, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.008>.

IBGE, 2021. Disponível Em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457#resultado> Acessado em: 20.01.22.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético**. Artmed Editora, 2009.

JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; BERNACCI, L. C. **Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças**. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. 2005.

KITAJIMA, E. W.; CHAGAS, C. M.; CRESTANI, O. A. Enfermidades de etiologia viral e associadas a organismos do tipo micoplasma em maracujazeiro no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.11, p.409-432, 1986.

KOTSUBO, R. Y.; SANTOS, K. S.; FANTIN, L. H.; CHAVES, V. C. A.; CASAROTO FILHO, J. V.; TISSIANO, V. F.; MOLINA, R. O. Temporal and spatial progress of Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) in passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). **Australian Journal of Crop Science**, v.15, n.2, p.284-289, 2021. doi: 10.21475/ajcs.21.15.02.p2997.

LORETO, T. J. G.; VITAL, A. **Viroses e Micoplasmoses do Maracujá em Pernambuco**. Informe SERDV, Recife, 1983.

MACIEL, S. C.; NAKANO, D. H.; REZENDE, J. A. M.; VIEIRA, M. L. C.; Screening of passiflora species for reaction to cowpea aphid-borne mosaic virus reveals an immune wild species **Sci. Agric**, v.66, n.3, 2009.

MAIA, L. M.; LIMA, J. A. A.; NASCIMENTO, A. K. Q. RABELO FILHO, F. A. C. Biological differences and unilateral cross-protection between biotypes of Cowpea aphid-borne mosaic virus. **Revista Ciência Agronômica**, v.48, n.2, p.310-317, 2017.

MBEYAGALA, E. K.; TUKAMUHABWA, P.; BISIKWA, J.; HOLTON, T.; MUKASA, S. B. Next-Generation Sequencing Reveals the First Complete Genome Sequence of Cowpea aphid-borne mosaic virus from Uganda. **Genome Announcements**, v.6, n.3, 2018. Doi:10.1128/genomeA.01491-17.

MEDEIROS, L. S. A.; OLIVEIRA, I. A.; KITAJIMA, E. W.; EIRAS, M.; PEREIRA, H. J.; RIBEIRO, S. G.; MATOS, K. S.; BESERRA JÚNIOR, J. E. A. A survey of RNA genome viruses in Lima bean crops of Northeastern Brazil. **Plant Protection**, v.79, n.3, 2020. Doi.org/10.1590/1678-4499.20190467.

MLOTSHWA, S.; VERVER, J.; SITHOLE-NIANG, I.; VAN KAMPEN, T.; VAN KAMMEN, A.; WELLINK, J. The genomic sequence of cowpea aphid-borne mosaic virus and its similarities with other potyviruses. **Archives of Virology**, v.147, p.1043–1052, 2002. <https://doi.org/10.1007/s00705-002-0800-z>.

MORAES, M. C.; VIEIRA, M. L. C.; NOVAES, Q. S.; REZENDE, J. A. M. Susceptibilidade de *Passiflora nitida* ao *Passion fruit woodiness virus*. **Fitopatol. Bras.**, v. 27, n. 1, 2002.

NASCIMENTO, A. V. S.; SANTANA, E. N.; BRAZ, A. S. K.; ALFENAS, P. F.; PIO-RIBEIRO, G.; ANDRADE, G. P.; CARVALHO, M. G.; ZERBINI, F. M. Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) is widespread in passionfruit in Brazil and causes passionfruit woodiness disease. **Archives of Virology**, v. 151, n.10, 2006. DOI: 10.1007/s00705-006-0859-z.

NASCIMENTO, A. V. S.; SOUZA, A. R. R.; ALFENAS, P. F.; ANDRADE, G. P.; CARVALHO, M. G.; PIO-RIBEIRO, G.; ZERBINI, F. M. Análise filogenética de potyvírus causando endurecimento dos frutos do maracujazeiro no Nordeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.378-383, 2004.

OJUEDERIE, O. B.; ODU, B. O.; ILORI, C. O. Serological detection of seed borne viruses in cowpea regenerated germplasm using protein a sandwich enzyme linked immunosorbent assay. **African Crop Science Journal**, v.17, n.3, 2009.

OLIVEIRA, J. S.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Importância dos maracujás (*Passiflora* L. spp.) e seu uso comercial. **Revista RG News**, v.3, n.3, 2017.

PIO-RIBEIRO, G.; PAPPU, S. S.; PAPPU, H. R.; ANDRADE, G. P.; REDDY, D. V. R. Occurrence of Cowpea aphid-borne mosaic virus in peanut in Brazil. **Plant Disease**, v.84, p.760–766, 2000.

POWO. **Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens**. 2022. Disponível em: <http://www.plantsoftheworldonline.org/>.

SAMPAIO, A. C.; SCUDELLER, N.; FUMIS, T. F.; ALMEIDA, A. M.; PINOTTI, R. N.; GARCIA, M. J. M.; PALLAMIN, M. L. Manejo cultural do maracujazeiro-amarelo em ciclo anual visando à convivência com o vírus do endurecimento dos frutos: um estudo de caso. **Rev. Bras. Frutic. [online]**, v.30, n.2, p.343-347, 2008. doi.org/10.1590/S0100-29452008000200013.

SANTOS, E. C.; BRAGA, M. F.; JUNQUEIRA, N. T. V.; REZENDE, L. N.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, K. P.; BELLON, G.; SILVA, M. R.; LIMA, C. A. Incidência de sintomas de virose em espécies silvestres de passiflora. **Embrapa Cerrados**, 2006. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/570147/incidencia-de-sintomas-de-virose-em-especies-silvestres-de-passiflora> Acessado em: 08 de maio de 2022.

SANTOS, G. A. S. Estudo da diversidade viral em maracujazeiro e outras espécies de plantas no estado do Acre. 2021. 113 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2021.

SOUZA, N. B. M. **Composição química e atividade antioxidante de maracujá-roxo (*Passiflora edulis* Sims *edulis*) em diferentes graus de maturação.** Bragança, 92p., 2016.

TIWARI, S.; SINGH, S.; TRIPATHI, S.; KUMAR, S. A PHARMACOLOGICAL REVIEW: PASSIFLORA SPECIE. **IJP**, v. 3, n.1, p.10-18, 2016.

TRINDADE, D. R. W.; POLTRONIERI, L. S.; ALBUQUERQUE, F. C.; RESENDE, J. A. M.; NOVAES, Q.; KITAJIMA, E. W. Ocorrência do “Passion fruit woodiness virus” (PWV) em maracujazais no estado do Pará. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.24, n.5, p.76-79, 1999.

WYLIE, S. J.; ADAMS, M.; CHALAM, C.; KREUZE, J.; LÓPEZ-MOYA, J. J.; OHSHIMA, K.; PRAVEEN, S.; RABENSTEIN, F.; STENGER, D.; WANG, A.; ZERBINI, F. M. ICTV virus taxonomy profile: Potyviridae. **Journal of General Virology**, v.98, n.3, p.352–354, 2017. doi: 10.1099/jgv.0.000740.

YAMASHIRO, T.; CHAGAS, C. M. Ocorrência de grave virose em maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.), no Estado da Bahia. **Congresso Brasileiro de Fruticultura**, v.5, p.915-917, 1979.

Capítulo II

Detecção sorológica do cowpea aphid-borne mosaic virus em diferentes espécies de *Passiflora* e caracterização biológica de um isolado obtido de *Passiflora alata*.

Deteção sorológica do cowpea aphid-borne mosaic virus em diferentes espécies de *Passiflora* e caracterização biológica de um isolado obtido de *Passiflora alata*.

Marcelo Henrique Oliveira Gonçalves, Carlos Henrique Machado Dias, Alexandre da Silva Xavier,
Géssyka Rodrigues de Albuquerque, Rosana Blawid.

INTRODUÇÃO

As espécies do gênero *Passiflora* são popularmente conhecidas como maracujazeiros, e algumas espécies possuem importância econômica para a comercialização dos frutos para consumo *in natura* ou industrializados, uso medicinal e ornamental (COSTA *et al.*, 2015). Dentre as espécies, a mais cultivada é o maracujá azedo (*Passiflora edulis*) (JUNQUEIRA *et al.*, 2005). Atualmente, a espécie *Passiflora alata* vem ganhando destaque e aumentando a sua demanda não só no mercado nacional, mas também no internacional (CERQUEIRA-SILVA *et al.*, 2014). É a segunda espécie do gênero mais cultivada no Brasil, ocupando cerca de 3% da área cultivada de plantas desse gênero (MACIEL *et al.*, 2009).

Diversas fitoviroses já foram descritas infectando o maracujazeiro no Brasil. As espécies virais relatadas foram pertencentes aos gêneros *Tymovirus* (CRESTANI *et al.*, 1986), *Potyvirus* (NASCIMENTO *et al.*, 2004) *Cucumovirus* (GIORIA *et al.*, 2002), *Cilevirus* (KITAJIMA *et al.*, 2003;; RAMOS-GONZÁLEZ *et al.*, 2020), *Crinivirus* (VIDAL *et al.*, 2021), *Polerovirus* (VIDAL *et al.*, 2018) e ao menos seis espécies distintas do gênero *Begomovirus* (FERREIRA *et al.*, 2010; SPADOTTI *et al.*, 2019; NOVAES *et al.*, 2002; ALVES *et al.*, 2011; MITUTI *et al.*, 2018) e um *Citlodavirus* (FONTENELE *et al.*, 2018). O endurecimento dos frutos do maracujazeiro, causado pelo cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) é a principal doença viral encontrada em campos de *P. edulis* no Brasil (NASCIMENTO *et al.*, 2004; NASCIMENTO *et al.*, 2006).

O CABMV pertence ao gênero *Potyvirus* família *Potyviridae*, e são transmitidos por afídeos de forma não-persistente e não-circulativa. Seus vírions são filamentosos e flexuosos, de 680–900 nm de comprimento e 11–13 nm de largura, com simetria helicoidal possuindo um único segmento de fita simples de RNA linear de sentido positivo de cerca de 9,7 kb. A proteína VPg encontra-se covalentemente ligada a extremidade 5' e o RNA viral possui uma cauda poliadenilada na extremidade 3'. O genoma contém uma ORF (Quadro de leitura aberto) que codifica uma poliproteína que é autoclivada e dá origem a 10 proteínas (WYLIE *et al.*, 2017), e uma segunda ORF que codifica a PIPO (CHAI *et al.*, 2020).

O CABMV foi relatado pela primeira vez causando doença em plantas de feijão-caupí (*Vigna unguiculata*) na Itália (VIDANO & CONTI, 1965). E apesar da doença do endurecimento dos frutos está presente no Brasil desde o final da década de 70 (YAMASHIRA & CHAGAS, 1979), a sua etiologia só foi relacionada ao CABMV recentemente (NASCIMENTO *et al.*, 2004). Atualmente, os isolados de CABMV podem se comportar biologicamente diferente em relação a infecção em hospedeiras. São relatados isolados originados de leguminosas que não são capazes de causar doença no maracujazeiro, isolados que causam doença tanto em maracujazeiro como em feijão-caupí, (NASCIMENTO *et al.*, 2006) e isolados provenientes de maracujazeiro que não causam doença em feijão-caupí (MAIA *et al.*, 2017; ROCHA SOBRINHO, 2020).

Recentemente observamos a presença de diversos sintomas que aparentavam ser de origem viral em diversas espécies de passifloras cultiváveis, selvagem e ornamental. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi detectar o CABMV em diferentes amostras coletadas em Pernambuco nos municípios de Recife e Vitória de Santo Antão e caracterizar o CABMV biologicamente através do estudo parcial da gama de hospedeiros de um isolado obtido de *P. alata*.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de amostras

Folhas de espécies pertencentes ao gênero *Passiflora* apresentando sintomas associados a possíveis infecções virais como mosaico, arroxamento, pontos cloróticos, bolhosidade e deformação foliar foram coletadas de campos dos municípios de Recife e Vitória de Santo Antão, Estado de Pernambuco, Brasil, no período de junho de 2021 a março de 2022. As amostras foram secas com sílica gel, e armazenadas em tubos Falcon contendo cloreto de cálcio a uma temperatura de 4°C no Laboratório de Fitovirologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Um total de 17 amostras foram coletadas representando *P. edulis* (4), *P. watsoniana* (3), *P. cincinnata* (2), *P. alata* (2), *P. rupestris* (1), *P. subrotunda* (1), *P. serrato-digitata* (1), *P. galbana* (1), *P. vesicaria* (1) e um híbrido ornamental *P. edulis* x *P. incarnata* cv. BRS Céu do Cerrado.

Deteção sorológica do CABMV por Dot-Elisa

Todas as amostras foram submetidas ao teste de Dot-Elisa, em que quatro discos para cada amostra foliar foram macerados em tubos eppendorf contendo 200 µl de tampão 1x PBS (1,4

mM NaCl + 0,02 M KCl + 0,02 M KH₂PO₄ + 0,08 M Na₂HPO₄·7H₂O, pH 7,4) e centrifugados por 2 minutos a 13.000rpm. Foram depositados 3 µl do sobrenadante em uma membrana de nitrocelulose contendo poros de 0,45 µm. A membrana foi bloqueada utilizando tampão 1X TBS (20 mM Tris-Cl + 0,5 M NaCl + Água destilada, pH 7,4) e Tween 20 a 2%. Anticorpos específicos Igg anti-CABMV (AS-0417, DSMZ, Alemanha, 1:1000) foram incubados overnight no escuro a 4°C e, o anticorpo secundário anti-Igg conjugado com enzima fosfatase alcalina (1:2000) foi incubado durante 2h sob agitação lenta. Entre cada etapa foram realizadas três lavagens de 5 minutos usando tampão 1X TBS e Tween 20 a 0,05%. A revelação colorimétrica foi realizada com substrato tampão (0,1 M Tris + 100 mM NaCl + 5 mM MgCl₂, pH 9,5) e NBT/BCIP (nitro-blue tetrazolium chloride/5-bromo-4-chloro-3'-indolyphosphate p-toluidine salt). Cada amostra foi avaliada em triplicata.

Deteção de begomovírus por PCR (Reação em Cadeia da Polimerase)

Três amostras de *P. edulis* e uma planta daninha (*Blainvillea* sp.) coletada em uma das propriedades em Vitória de Santo Antão e uma amostra de *P. alata* coletada em Recife apresentando fortes sintomas de bolhosidade, mosaico, deformação foliar e enrolamento, tiveram o DNA total extraído pelo método CTAB adaptado (DOYLE & DOYLE, 1987). Para a detecção foi usado o par de *primers* universais pAL1v1978 (5'GCA TCT GCA GGC CCA CAT YGT CTT YCC NGT 3') e Par1C496 (5' AAT ACT GCA GGG CTT YCT RTA CAT RGG 3') (ROJA *et al.*, 1993) os quais amplificam um fragmento de aproximadamente 1200 nt correspondendo a parte do seguimento de DNA-A de begomovírus. As reações foram compostas por 10x PCR buffer, 50mM MgCl₂, 10mM dNTP, 10µM de cada primer, Taq DNA-polimerase (5 U) e 1µL de DNA total extraído e volume final da reação 25µL. Como controle positivo, usou-se amostras RF1 de plantas infectadas de *Phaseolus lunatus*. As condições de amplificação foram como a seguir: um *hot-start* manual de 80° C por 1 min (*Hot-start*), desnaturação inicial a 95° C por 3 min, 35 ciclos de 94°C por 1 min, 50° C por 1 min, 72° C por 2 min e extensão final a 72° C por 10 min. A amplificação foi submetida a eletroforese em gel de agarose 0,8% de concentração. A banda amplificada foi purificada com auxílio de um kit de purificação (Ludwig, RS, Brasil) e as amostras foram enviadas para sequenciamento tipo Sanger no Laboratório de Bioinformática e Biologia Evolutiva do Departamento de Genética da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). As sequências de nucleotídeos foram submetidas a análise por BLASTn.

Detecção sorológica do CABMV por *Western Blotting*

Para a detecção sorológica 0,3g de folhas de *P. alata* apresentando sintomas de mosaico e bolhosidade confirmadas para a presença de CABMV por Dot-Elisa e isolado RPA-1 foram macerados em 750µL de tampão Berger (750mM Tris-HCl (pH 8,8), 4% SDS, 4% β-mercaptoethanol, 40% sacarose) e a amostra foi centrifugada por 10 min a 13 000 RPM. O sobrenadante foi retirado e adicionado tampão de amostra acrescido de 2X SDS em uma proporção 1:1. As proteínas foram separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida SDS PAGE numa concentração de 12% com diferença de potencial de 120V. As proteínas foram transferidas para a membrana de nitrocelulose com poros de 0,45 µm (ThermoFisher, MA, EUA) em um sistema de eletrotransferência (*overnight*) com diferencial de potencial de 35V. Após a transferência, realizou-se uma lavagem da membrana por 5 min usando 1X TBS e Tween 20 a 0,05% e se seguiu o mesmo protocolo já descrito anteriormente para o Dot-Elisa a partir do passo de bloqueamento.

Caracterização biológica

Folhas de *P. alata* de uma planta confirmada com a presença de CABMV por Dot-Elisa e *Western Blotting* (código RPA-1) foram maceradas com tampão fosfato de inoculação (0,05M, pH 7,4; contendo 11,2 mL de solução 1M fosfato de potássio monobásico e 38,8 mL de solução 1M fosfato de potássio dibásico) e inoculadas usando celite como abrasivo por transmissão mecânica em mudas de plantas com 2 a 4 folhas. As seguintes espécies foram utilizadas para este experimento: Maracujá amarelo (*P. edulis*), Maracujá silvestre (*P. vesicaria*), Maracujá de cortiça (*P. suberosa*), feijão (*Phaseolus vulgaris* cv. Preto 193, *V. unguiculata* cv CNC 0434, *V. unguiculata* cv TVu 2331) e *Nicotiana benthamiana*. As plantas foram avaliadas até 30 dias quanto a expressão de sintomas. A presença do vírus foi confirmada através de detecção por Dot-Elisa, nas mesmas condições citadas anteriormente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO.

De todas as amostras avaliadas, 13 apresentaram reação positiva ao anticorpo contra CABMV por Dot-Elisa, representando cerca de 76% das amostras (**Tabela 2**). As espécies *P. edulis*, *P. alata*, *P. cincinnata*, *P. watsoniana*, *P. galbana*, *P. subrotunda* e o Híbrido ornamental cv. BRS Céu do Cerrado demonstraram sinais de infecção por CABMV. Os sintomas podem ser observados nas **Figura 1 e 2**. Quatro amostras apresentaram resultados negativos quanto a infecção viral, pertencentes as espécies de *P. vesicaria*, *P. serrato-digitata*, *P. rupestris* e uma amostra de *P. watsoniana*.

Tabela 2 – Amostras de passiflora coletadas e resultado de detecção sorológica por Dot-Elisa

Código	Espécie	Local	Data	Dot-Elisa
RPA-1	<i>P. alata</i>	Recife	17.06.21	+
RPA-2	<i>P. alata</i>	Recife	16.03.22	+
VPE-1	<i>P. edulis</i>	Vitória de Santo Antão	01.10.21	+
VPE-2	<i>P. edulis</i>	Vitória de Santo Antão	01.10.21	+
VPE-3	<i>P. edulis</i>	Vitória de Santo Antão	01.10.21	+
RPE-4	<i>P. edulis</i>	Recife	29.10.21	+
BRS CC	<i>P. edulis</i> x <i>P. incarnata</i>	Recife	29.10.21	+
RPW-1	<i>P. watsoniana</i>	Recife	29.10.21	+
RPW-2	<i>P. watsoniana</i>	Recife	29.10.21	-
RPW-3	<i>P. watsoniana</i>	Recife	16.03.22	+
RPC-1	<i>P. cincinnata</i>	Recife	29.10.21	+
RPC-2	<i>P. cincinnata</i>	Recife	16.03.22	+
RPV-1	<i>P. vesicaria</i>	Recife	29.10.21	-
RPR-1	<i>P. rupestris</i>	Recife	16.03.22	-
RPS-1	<i>P. subrotunda</i>	Recife	16.03.22	+
RPSD-1	<i>P. serrato-digitata</i>	Recife	16.03.22	-
RPG-1	<i>P. galbana</i>	Recife	16.03.22	+

As espécies *P. edulis*, *P. alata*, *P. cincinnata* e *P. subrotunda* em outro estudo, foram relatadas apresentando diferentes graus de suscetibilidade quanto a inoculação mecânica com CABMV (GONÇALVES *et al.*, 2018), sendo que *P. edulis* e *P. alata* apresentaram mudanças anatômicas mais drásticas durante a infecção viral (GONÇALVES *et al.*, 2021).

Para o nosso conhecimento, até o presente momento, esse é o primeiro relato de CABMV infectando *P. watsoniana* de forma natural no município de Recife, Pernambuco. Interessantemente, *P. watsoniana* além de apresentar deformação e queda foliar, também apresentou sintomas atípicos distribuídos sistemicamente de mosaico na parte adaxial foliar,

acompanhado de arroxamento da parte abaxial das folhas seguido de expressão de mosaico (Figura 2F e G).

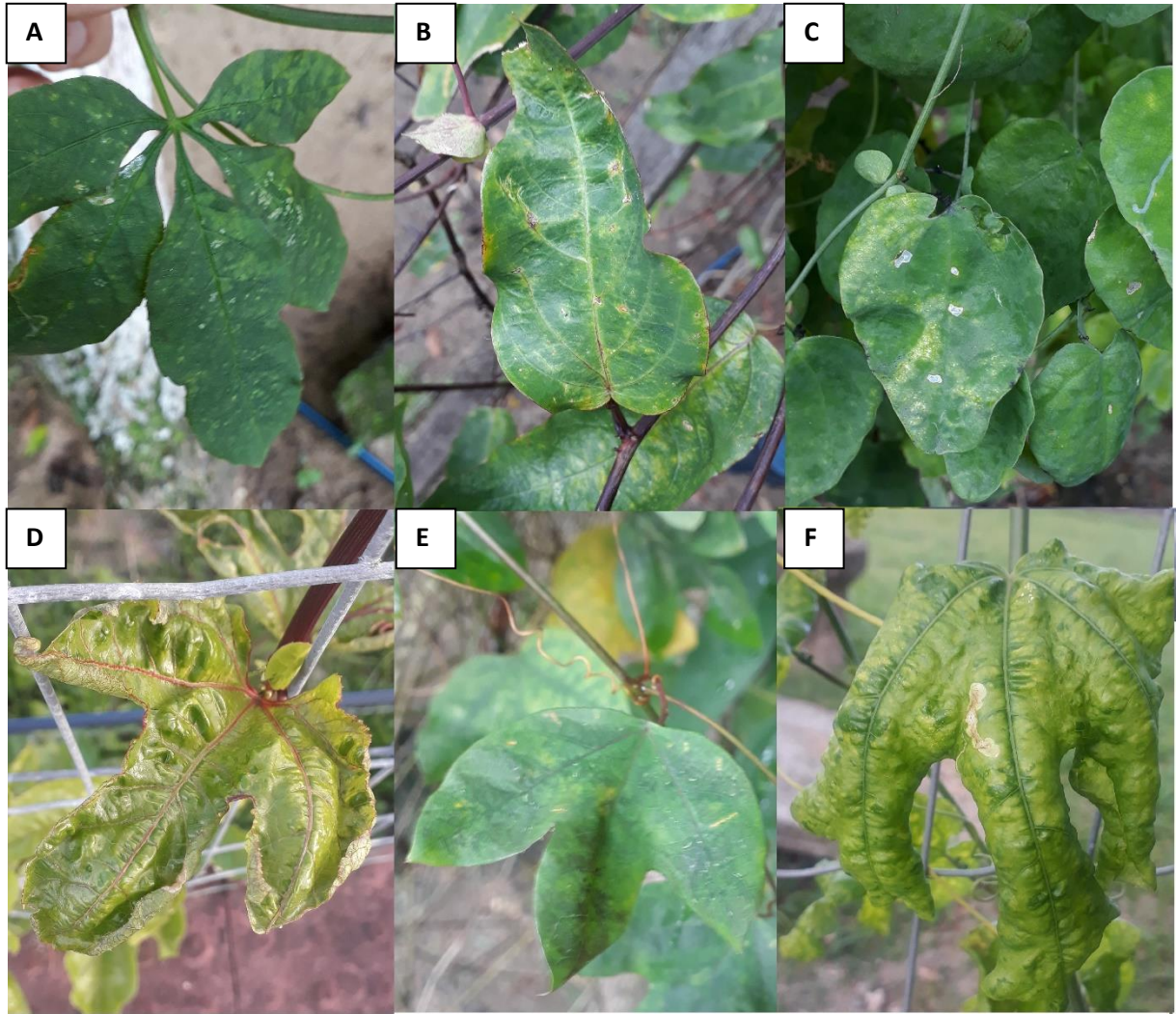


Figura 1 – Amostras de passiflora apresentando sintomas de infecção com CABMV. A – amostra RPC-2, *P. cincinnata*; B – amostra RPG-1, *P. galbana*; C – amostra RPS-1, de *P. sub-rotunda*; D – amostra RPE-4, de *P. edulis*; E – amostra RPW-3, de *P. watsoniana*; F - amostra BRS CC, híbrido ornamental *P. edulis* x *P. incarnata* cv. BRS Céu do Cerrado.

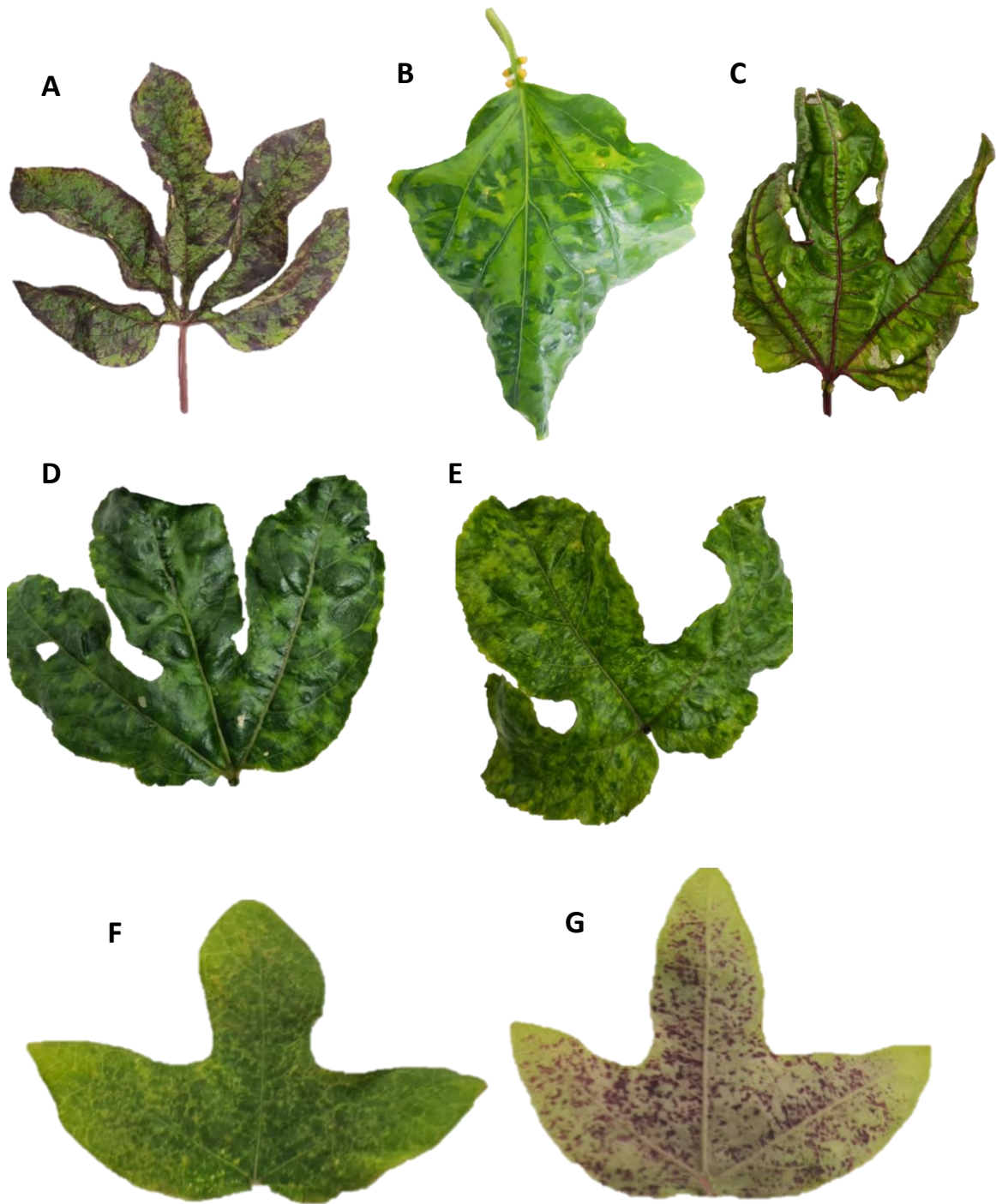


Figura 2 – Amostras de passiflora apresentando sintomas de infecção com CABMV. A – amostra RPC-1; B – amostra RPA-1; C – amostra RPE-4; D – amostra VPE-1; E – amostra VPE-3; F – Face adaxial foliar da amostra RPW-1; G - Face abaxial foliar da amostra RPW-1.

Sintomas pouco semelhantes ocorrem em espécies de videira (*Vitis vinifera*), onde são observados arroxamento em folhas devido a infecções virais e o incremento no acúmulo de antocianinas, que são flavonoides solúveis em água envolvidos na coloração vermelha a roxo-azulada em frutos, flores e folhas. Por exemplo, grapevine leafroll-associated closteroviruses (GLRaV-1 e GLRaV-3, *Ampelovirus*) e grapevine vitivirus A (GVA, *Vitivirus*) aumentou o nível de acúmulo de antocianina em folhas de videira, com diferença bastante expressiva entre diferentes cultivares (GUIDONI *et al.*, 2000).

Dentre uma das amostras, RPC-1, de *P. cincinnata* pertencente a cultivar Sertão Forte, também foi possível observar sintoma semelhante de manchas roxas nas folhas (**Figura 2A**). A inoculação mecânica em *P. edulis* induziu sintomas distinto do observado na espécie, caracterizado, principalmente por amarelecimento das folhas mais velhas com pontuações verdes e clorose das nervuras em folhas mais novas (**Figura 3**). Além disso, uma outra amostra selvagem da mesma espécie RPC-2, apresentou sintomas atípicos, de apenas mosaico foliar (**Figura 1A**). Este resultado alertou sobre a possibilidade de coinfeção com outro vírus até então desconhecido, já que as duas amostras foram positivas quanto a presença do CABMV segundo o teste de Dot-Elisa.

Figura 3 -Folhas de *P. edulis* inoculadas com a amostra RPC-1. Sintomas atípicos do observado em *P. edulis* infectado com apenas CABMV.



Apesar da associação entre o sintoma de arroxamento e a infecção com CABMV nas espécies *P. watsoniana* e *P. cincinnata*, não se pode determinar o agente causal dos sintomas somente baseando-se nas formas dos sintomas. A presença de coinfeções com outras espécies virais ou a ocorrência de sinergismos relacionados a fatores ambientais é comum em campos abertos. Para a determinação do agente causal dos sintomas virais é necessário a realização de estudos posteriores através da construção de clones infecciosos e o cumprimento dos postulados de Koch, e/ou sequenciamento de alto rendimento. É importante frisar que os vírus podem interferir nas vias de biossíntese de antocianinas em espécies de passiflora influenciando na proteção contra luz ultravioleta, atração de insetos, defesa contra herbivoria e simbiose (GUTHA *et al.*, 2010), entre outros mecanismos.

Todas as amostras de passifloras avaliadas testaram negativas para a presença de infecção por begomovírus (**Figura 4C**). A única amostra testada como positiva foi a de *Blainvillea* sp., indicando a presença de begomovírus em um dos campos de Vitória de Santo Antão. O sequenciamento e análise de BLASTn revelou 98,94% de identidade com o segmento de DNA-A do isolado BR:Lim1:09 da espécie de *Blainvillea yellow spot virus* código de acesso JX871393.1, encontrado infectando plantas de *Blainvillea rhomboidea* no município de Limoeiro em Alagoas no ano de 2009 (TAVARES *et al.*, 2012). No entanto, até o presente momento, não existem relatos de begomovírus causando doença em maracujazeiro no Estado de Pernambuco.

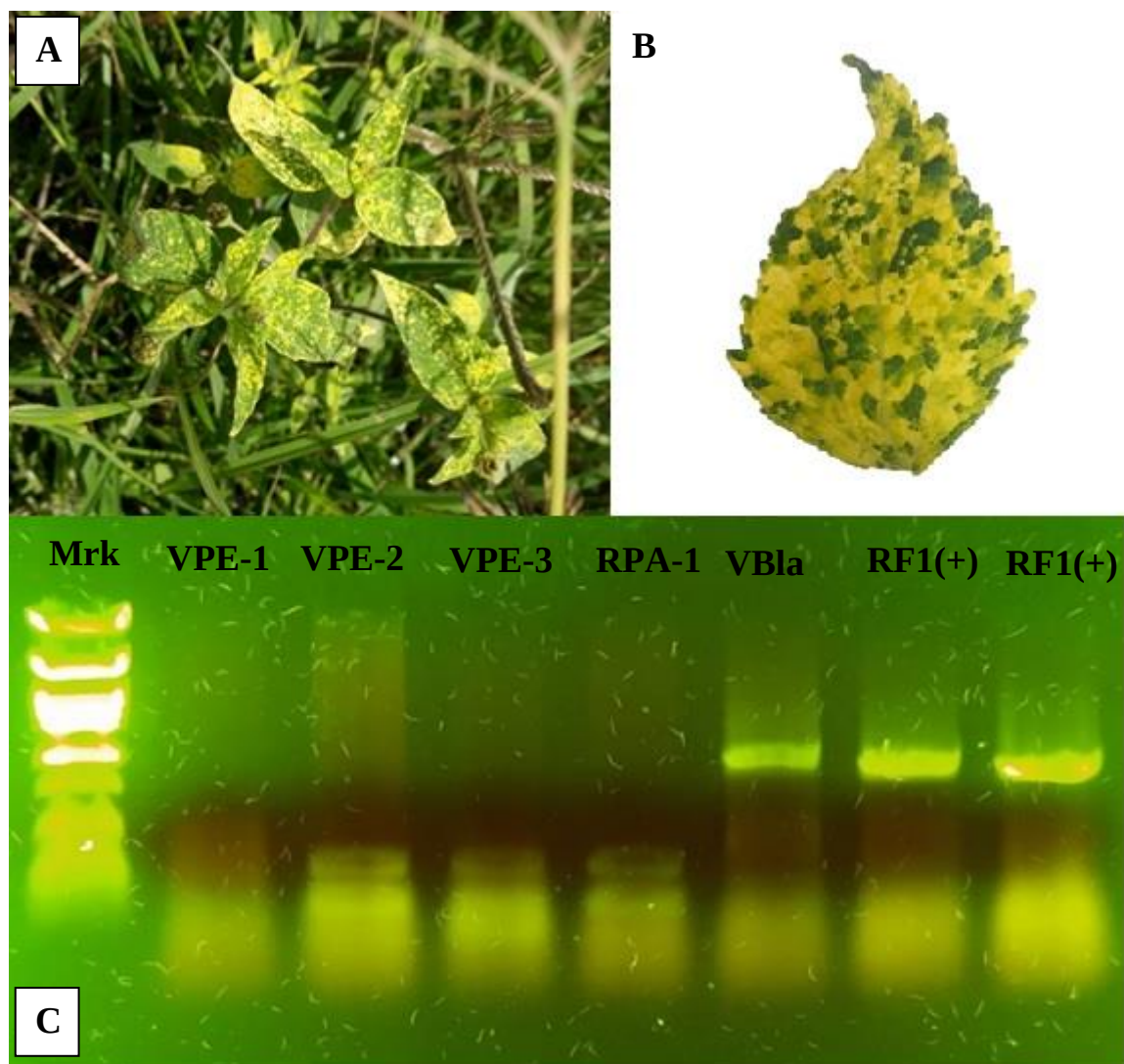


Figura 4 – Plantas de *Blainvillea* sp. apresentando sintomas de infecção ocasionada por begomovírus em campo (A), em folha destacada (B) e gel de agarose 0,8% apresentando os resultados de PCR realizados com os primers genéricos PAL/PAR: Mrk - Marcador molecular (Lambda DNA/*Hind* III); VPE-1, VPE-2, VPE-3 são amostras de *P. edulis*; RPA-1 – *P. alata*; VBla – *Blainvillea* sp. RF1(+) – controle positivo.

Plantas de *P. alata* infectadas com o isolado RPA-1, e positivo para CABMV por Dot-Elisa foram analisadas por *Western blotting* com intuito de garantir que a amostra não seja um falso positivo para CABMV por dot-Elisa (**Figura 5**). A testemunha positiva apresentou três bandas reagindo inespecificamente com o anticorpo, e uma banda bem definida no intermédio que provavelmente corresponde a capa proteica viral. Segundo Huguenot *et al.* (1994) a CP possui peso molecular de 32 kDa em isolados de feijão-caupí obtidos de países do Oeste e Norte da África. A mesma banda é observada na amostra RPA-1, e está ausente no controle negativo. A presença menos intensa da banda pode ser resultado de uma baixa replicação viral, já que

não foram utilizadas folhas do ápice da planta. No entanto, este experimento deverá ser repetido com um marcador molecular de proteína para confirmação do peso molecular da CP viral.

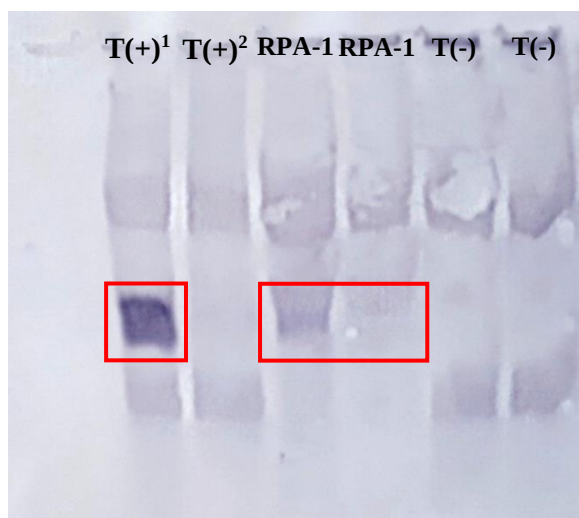


Figura 5 – Resultado do experimento de *Western blot*. Testemunha positiva T(+)¹ folha apical e T(+)² folha velha; *P. alata*, RPA-1; Testemunha negativa de *P. alata* T(-).

Esse mesmo isolado RPA-1 foi caracterizado quanto ao estudo parcial de gama de hospedeiros utilizando plantas pertencentes a três famílias: Solanaceae, Passifloreaceae e Fabaceae (**Tabela 3**). O isolado induziu sintomas sistêmicos tipicamente virais em plantas das espécies de *N. benthamiana*, *P. edulis*, *P. vesicaria*, *P. vulgaris* cv. Preto 193 (**Figura 6**). Os sintomas variaram de acordo com a espécie. Todas apresentaram sintomas de mosaico foliar. O maracujá amarelo (*P. edulis*) apresentou sintomas bastante severos de encarquilhamento e deformação foliar. Interessantemente, plantas de *P. vesicaria* passou por um processo de recuperação (sintoma de *Recovery*) com o passar dos dias, dando origem a folhas novas assintomáticas.

Tabela 3 – Resultado do estudo parcial da gama de hospedeiros realizado com o isolado RPA-1 de *P. alata*.

Família	Nome comum	Nome científico	Plantas sintomáticas / Plantas Inoculadas	Dot-Elisa
Solanaceae	Nicotiana benthamiana	<i>Nicotiana benthamiana</i>	4/4	+
Passifloreaceae	Maracujá amarelo	<i>Passiflora edulis</i>	4/4	+
	Maracujá cortiça	<i>Passiflora suberosa</i>	0/4	-
	Maracujá silvestre	<i>Passiflora vesicaria</i>	2/4	-
Fabaceae	Feijão comum	<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. Preto 193	4/4	+
	Feijão caupí	<i>Vigna unguiculata</i> cv. CNC 0434	0/4	-
	Feijão caupí	<i>Vigna unguiculata</i> cv. TVu 2331	0/4	-
	Soja	<i>Glycini max</i> cv. BMX Força	0/4	-

Dentre as espécies avaliadas da família Fabaceae, o feijão comum (*P. vulgaris* cv. Preto 193) foi a única espécie suscetível ao isolado RPA-1. Essa espécie apresentou forte sintoma de amarelecimento, redução do tamanho das folhas e posterior queda das mesmas. Diferente do que foi observado em outras plantas, não houve recuperação, levando a planta rapidamente a morte. Esse isolado não foi capaz de induzir sintomas, nem de ser detectado em soja e nas duas cultivares de *V. unguiculata* avaliadas. Trabalhos mostram que a transmissão mecânica de CABMV de um isolado proveniente de amendoim é capaz de induzir sintomas sistêmicos em plantas de soja cv. Vale do Rio Doce (PIO-RIBEIRO *et al.*, 2000). No entanto, mais recentemente, os isolados de caupí e maracujazeiro avaliados por Maia *et al.* (2017) não causaram sintomas em soja. A capacidade de CABMV em causar doença em feijão-caupí, também é variável, sendo proposta a ocorrência de biotipos (MAIA *et al.*, 2017; NASCIMENTO *et al.* 2006; ROCHA SOBRINHO, 2020).

Nascimento *et al.* (2006) avaliando 14 isolados de CABMV obtidos de *P. edulis* de diversas localidades relatou a capacidade de todos infectar o feijão comum (*P. vulgaris*) cv. Preto 153, e o feijão-caupí (*V. unguiculata*) cvs. Pitiúba e Clay. Maia *et al.* (2017) observaram que os isolados virais infectavam diferentemente as espécies de plantas. Por exemplo, os isolados de CABMV-P, obtidos de *P. edulis* não infectaram o caupí, e os isolados de CABMV-C, obtidos de caupí, não infectaram o maracujá. No entanto, a capacidade desses isolados em infectar o feijão comum não foi avaliada nesse experimento. Ressalta também o trabalho de

Rocha Sobrinho (2020) que também observou a capacidade do CABMV obtido de *P. edulis* em infectar o feijão comum, mas não infectar o feijão-caupí.

Tendo em vista os resultados obtidos tanto nesse trabalho, como em outros, o Estado de Pernambuco possui o relato de diferentes biotipos infectando o maracujazeiro (MAIA *et al.*, 2017; Nascimento *et al.* 2006) e como observado por Nicolini *et al.* (2012) através de análises filogenéticas a partir da CP viral, uma possível adaptação a hospedeiros pode estar ocorrendo nessa região. Desta maneira, faz-se importante a realização de estudos que visem compreender a relação evolutiva das diferentes espécies virais e a interação vírus-hospedeiro-vetor, além de possíveis fatores epidemiológicos que estejam guiando o surgimento de diferenças genéticas que determinam a capacidade distinta de infecção entre isolados obtidos de diferentes hospedeiros.

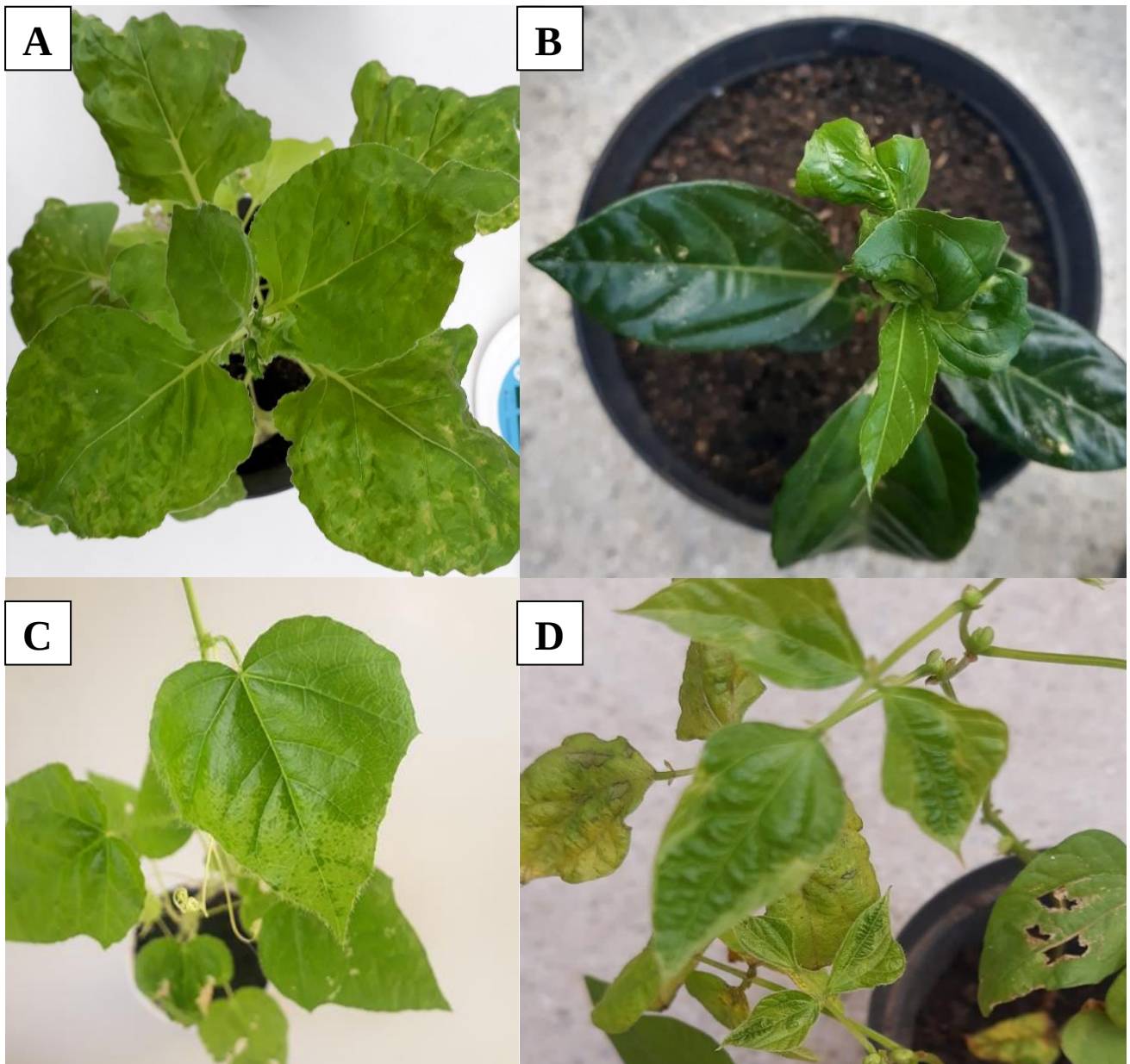


Figura 6 – Resultado do estudo parcial da gama de hospedeiro do isolado RPA-1. A – *N. benthamiana*; B – *P. edulis*; C – *P. vesicaria*; D – *P. vulgaris*.

REFERÊNCIAS

- ALVES, A. C. C. N.; INUOE-NAGATA, A. K.; MOREIRA, A. G.; BARBOSA, A. L.; REZENDE, J. A. M. Strains of sida mottle virus and sida micrantha mosaic virus infecting passionflower in different regions of Brazil. **Journal of the Brazilian Society for Virology**, v.16, 2011.
- CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S.; SOUZA, A. P.; CORRÊA, R. X. A history of passion fruit woodiness disease with emphasis on the current situation in Brazil and prospects for Brazilian passion fruit cultivation. **European Journal of Plant Pathology**, v.139, n.2, p.261-270, 2014.
- COSTA, E. C. S.; NUNES, T. S.; MELO, J. I. M. Flora da Paraíba, Brasil: Passifloraceae sensu stricto. **Rodriguésia**, v.66, n.1, p.271–284, 2015. doi:10.1590/2175-7860201566117.
- CRESTANI, O. A.; KITAJIMA, M. T. L.; MARINHO, V. L. A. Passion fruit yellow mosaic virus, a new tymovirus found in Brazil. **Phytopathology**, USA, v.76, p.951–955, 1986. doi: 10.1094/Phyto-76-951.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v.19, p.11-15, 1987
- FERREIRA, S. S.; BARROS, D. R.; ALMEIDA, M. R.; ZERBINI, F. M. Characterization of Passionfruit severe leaf distortion virus, a novel begomovirus infecting passionfruit in Brazil, reveals a close relationship with tomato-infecting begomoviruses. **Plant Pathology**, v.59, n.2, 2010.
- FONTENELE, R. S.; ABREU, R. A.; LAMAS, N. S.; ALVES-FREITAS, D. M. T.; VIDAL, A. H.; POPPIEL, R. R.; MELO, F. L.; LACORTE, C.; MARTIN, D. P.; CAMPOS, M. A.; VARSANI, A. RIBEIRO, S. G. Passion fruit chlorotic mottle virus: Molecular characterization of a new divergent geminivirus in Brazil. **Viruses**, v.10, n.4, 2018.
- GIORIA, R.; ESPINHA, L. M.; REZENDE, J. A. M.; GASPAR, J. O.; KITAJIMA, E. W. Limited movement of Cucumber mosaic virus (CMV) in yellow passion flower in Brazil. **Plant Pathology**, v.51, n.2, p.127–133, 2002.
- GONÇALVES, Z. S., JESUS, O. N., LIMA, L. K. S., & CORRÊA, R. X. Responses of Passiflora spp. to cowpea aphid-borne mosaic virus reveal infection in asymptomatic plants and

new species with probable immunity. **Archives of Virology**, v.166, n.9, p.2419–2434, 2021. doi:10.1007/s00705-021-05131-w.

GONÇALVES, Z. S.; LIMA, L. K. S.; SOARES, T. L.; ABREU, E. F. M.; BARBOSA, C. J.; CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; JESUS, O. N.; OLIVEIRA, E. J. Identification of Passiflora spp. genotypes resistant to Cowpea aphid-borne mosaic virus and leaf anatomical response under controlled conditions. **Scientia Horticulturae**, v.231, p.166-178, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.008>.

GUIDONI, S.; MANNINI, F.; FERRANDINO, A.; ARGAMANTE, N.; DI STEFANO, R. Effect of virus status on leaf and berry phenolic compounds in two wine grapevine *Vitis vinifera* cultivars. **V International Symposium on Grapevine Physiology**, 2000.

GUTHA, L. R.; CASASSA, L. F.; HARBERTSON, J. F.; NAIDU, R. A. Modulation of flavonoid biosynthetic pathway genes and anthocyanins due to virus infection in grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaves. **BMC Plant Biology**, v.10, n.1, p.1-18, 2010.

HUGUENOT, C.; FURNEAUX, M. T.; HAMILTON, R. I. Capsid protein properties of cowpea aphid-borne mosaic virus and blackeye cowpea mosaic virus confirm the existence of two major subgroups of aphid-transmitted, legume-infecting potyviruses. **Journal of General Virology**, v.75, p.3555-3560, 1994.

JUNQUEIRA, NILTON TADEU VILELA; BRAGA, MARCELO FIDELES; FALEIRO, FABIO GELAPE; PEIXOTO, JOSÉ RICARDO; BERNACCI, LUIS CARLOS. **Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças**. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. 2005.

KITAJIMA, E. W.; REZENDE, J. A. M.; RODRIGUES, J. C. V. Passion fruit green spot virus vectored by *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) on passion fruit in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 30, n. 1–3, p. 225–231, 2003.

MACIEL, S. C.; NAKANO, D. H.; REZENDE, J. A. M.; VIEIRA, M. L. C.; Screening of passiflora species for reaction to cowpea aphid-borne mosaic virus reveals an immune wild species. **Sci. Agric**, v.66, n.3, 2009.

MAIA, L. M.; LIMA, J. A. A.; NASCIMENTO, A. K. Q. RABELO FILHO, F. A. C. Biological differences and unilateral cross-protection between biotypes of Cowpea aphid-borne mosaic virus. **Revista Ciência Agronômica**, v.48, n.2, p. 310-317, 2017.

MITUTI, T.; SPADOTTI, D. M. A.; NARITA, N.; REZENDE, J. A. M. First Report of Sida Mottle Alagoas Virus Infecting *Passiflora edulis* in Brazil. **APS Publications**, v. 103, n. 1, 2019.

NASCIMENTO, A. V. S.; SANTANA, E. N.; BRAZ, A. S. K.; ALFENAS, P. F.; PIO-RIBEIRO, G.; ANDRADE, G. P.; CARVALHO, M. G.; ZERBINI, F. M. Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) is widespread in passionfruit in Brazil and causes passionfruit woodiness disease. **Archives of Virology**, v. 151, n. 10, p. 2102, 2006. DOI: 10.1007/s00705-006-0859-z.

NASCIMENTO, A.V.S.; SOUZA, A.R.R.; ALFENAS, P.F; ANDRADE, G.P.; CARVALHO, M.G.; PIO-RIBEIRO, G.; ZERBINI, F.M. Análise filogenética de potyvírus causando endurecimento dos frutos do maracujazeiro no Nordeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.378-383, 2004.

NICOLINI, C.; RABELO FILHO, F. A. C.; RESENDE, R. O.; ANDRADE, G. P.; KITAJIMA, E. W.; PIO-RIBEIRO, G.; NAGATA, T. Possible host adaptation as an evolution factor of Cowpea aphid-borne mosaic virus deduced by coat protein gene analysis. **J Phytopathol**, v.160, p.82–87, 2012.

NOVAES, Q. S., FREITAS-ASTUA, J. U. L. I. A. N. A., SÃO JOSÉ, A. R., YUKI, V. A., KITAJIMA, E. W., & REZENDE, J. A. Infecção mista de maracujazeiro com o Passion fruit woodiness virus e um begomovírus no Estado da Bahia. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p.648-648, 2002.

PIO-RIBEIRO, G.; PAPPU, S. S.; PAPPU, H. R.; ANDRADE, G. P.; REDDY, D. V. R. Occurrence of Cowpea aphid-borne mosaic virus in peanut in Brazil. **Plant Disease**, v.84, p.760–766, 2000.

RAMOS-GONZÁLEZ, P. L.; SANTOS, G. F.; CHABI-JESUS, C.; HARAKAVA, R.; KITAJIMA, E. W.; FREITAS-ASTÚA, J. Passion Fruit Green Spot Virus Genome Harbors a New Orphan ORF and Highlights the Flexibility of the 5'-End of the RNA2 Segment Across Cileviruses. **Frontiers in Microbiology**, v.11, p.1–16, 2020.

ROCHA SOBRINHO, G. G. **Importância de leguminosas na epidemiologia do Cowpea aphid-borne mosaic virus em cultivos de maracujazeiro amarelo**. Vitória da Conquista - BA: UESB, 2020. 70 p. (Tese – Doutorado em Agronomia, Área de Concentração em Fitotecnia).

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

SPADOTTI, D. M. A.; BELLO, V. H.; FAVARA, G. M.; STANGARLIN, O. S.; KRAUSE-SAKATE, R.; REZENDE, J. A. M. Passiflora edulis: new natural host of Melochia yellow mosaic virus in Brazil. **Australasian Plant Disease Notes**, v.14, n.1, p.9–10, 2019. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s13314-019-0354-5>.

TAVARES, S. S.; RAMOS-SOBRINHO, R.; GONZÁLEZ-AGUILERA, J.; LIMA, G. S. A.; ASSUNÇÃO, I. P.; ZERBINI, F. M. Further molecular characterization of weed-associated Begomoviruses in brazil with an emphasis on Sida spp. **Planta Daninha**, v.30, n.2, p.305-315, 2012.

VIDAL, A. H.; FELIX, G. P.; ABREU, E. F. M.; NOGUEIRA, I.; ALVES-FREITAS, D. M. T.; FALEIRO, F. G., ... RIBEIRO, S. G. Occurrence of lettuce chlorosis virus in Passiflora spp. in Brazil. **Journal of Plant Pathology**, v.103, n.2, p.443–447, 2021. doi:10.1007/s42161-021-00813-5.

VIDAL, A. H.; SANCHES, M. M.; ALVES-FREITAS, D. M. T.; ABREU, E. F. M.; LACORTE, C.; PINHEIRO-LIMA, B.; ... RIBEIRO, S. G. First World Report of Cucurbit aphid-borne yellows virus Infecting Passionfruit. **Plant Disease**, 2018. doi:10.1094/pdis-04-18-0694-pdn

VIDANO, C.; CONTI, M. Transmission con afidi d'um 'cowpea mosaic virus' isolate da Vigna sinensis Endl. (in Italia). **Atti del Accademia di Scienza**, v.99, 1965.

WYLIE, S. J.; ADAMS, M.; CHALAM, C.; KREUZE, J.; LÓPEZ-MOYA, J. J.; OHSHIMA, K.; PRAVEEN, S.; RABENSTEIN, F.; STENGER, D.; WANG, A.; ZERBINI, F. M. ICTV virus taxonomy profile: Potyviridae. **Journal of General Virology**, v.98, n.3, p.352–354, 2017. doi: 10.1099/jgv.0.000740.

YAMASHIRO, T.; CHAGAS, C. M. Ocorrência de grave virose em maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.), no Estado da Bahia. **Congresso Brasileiro de Fruticultura**, Campinas, v.5, p.915 - 917, 1979.

CONCLUSÕES

- Das amostras de plantas pertencentes ao gênero *Passiflora* avaliadas 76% apresentaram infecções com o CABMV.
- Esse é o primeiro relato do CABMV infectando *P. watsoniana* de forma natural.
- O Isolado de CABMV (RPA-1), obtido de *P. alata*, foi capaz de infectar o feijão comum (*Phaseolus vulgaris*), mas não foi capaz de infectar o feijão-caupí (*Vigna unguiculata*).