

Subsídios para plano de contingência da  
“Doença das Estrias Marrons (CBSD)” e do  
“Mosaico Africano (CMD)” da mandioca



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Mandioca e Fruticultura  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

## **DOCUMENTOS 241**

# Subsídios para plano de contingência da “Doença das Estrias Marrons (CBSD)” e do “Mosaico Africano (CMD)” da mandioca

*Eduardo Chumbinho de Andrade  
Paulo Ernesto Meissner Filho  
Saulo Alves Santos de Oliveira  
Francisco Ferraz Laranjeira  
(Autores)*

**Embrapa Mandioca e Fruticultura**  
Cruz das Almas, BA  
2020

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Nome-síntese da Unidade Responsável**

Endereço, endereço, endereço  
Endereço, endereço, endereço  
CEP, cidade, UF  
Fone: número(s) de telefone(s)  
Fax: número(s) de fax  
www.embrapa.br  
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações  
da Embrapa Mandioca e Fruticultura

Presidente  
*Francisco Ferraz Laranjeira*

Secretário-Executivo  
*Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro*

Membros  
*Aldo Vilar Trindade, Ana Lúcia Borges, Eliseth de Souza Viana, Fabiana Fumi Cerqueira Sasaki, Harllen Sandro Alves Silva, Leandro de Souza Rocha, Marcela Silva Nascimento*

Supervisão editorial  
*Francisco Ferraz Laranjeira*

Revisão de texto  
*Adriana Villar Tullio Marinho*

Normalização bibliográfica  
*Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro*

Projeto gráfico da coleção  
*Carlos Eduardo Felice Barbeiro*

Editoração eletrônica  
*Anapaula Rosário Lopes*

Foto da capa  
*James Peter Legg*

**1ª edição**  
On-line (2020).

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Embrapa Mandioca e Fruticultura

Subsídios para plano de contingência da "Doença das Estrias Marrons (CBSD)" e do "Mosaico Africano (CMD)" da mandioca. Eduardo Chumbinho de Andrade .... [et. al.]. – Cruz das Almas, BA : Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2020

34 p. il. ; 21 cm. - (Documentos / Embrapa Mandioca e Fruticultura, 241).

ISSN 1809-4996, 38.

1. Mandioca. 2. Doença de planta. I. Andrade, Eduardo Chumbinho de II. Meissner Filho, Paulo Ernesto III. Oliveira, Saulo Alves Santos de. V. Laranjeira, Francisco Ferraz. VI. Título. VII. Série.

CDD 632.5

Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro (CRB 5/1161)

© Embrapa, 2020

## Autores

### **Eduardo Chumbinho de Andrade**

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA

### **Paulo Ernesto Meissner Filho**

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA

### **Saulo Alves Santos de Oliveira**

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA

### **Francisco Ferraz Laranjeira**

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA

## Apresentação

A mandioca tem importância destacada na agricultura brasileira, sendo cultivada em todo o território nacional. Além de ser fonte de renda e geração de empregos, possui grande importância na segurança alimentar de muitas famílias no Brasil e no mundo.

Os vírus causadores do mosaico africano da mandioca (ACMV) e da doença das estrias marrons (CBSV), não estão presentes no Brasil, mas são considerados as principais pragas da cultura no mundo, provocando grandes prejuízos nos locais onde ocorrem. O ACMV já é classificado no Brasil como Praga Quarentenária Ausente (A1) enquanto que o CBSV está sendo avaliado sua inclusão. Devido ao potencial destrutivo destas duas pragas à cultura da mandioca nacional, todos os esforços devem ser tomados para reduzir as chances da introdução e possível disseminação destas pragas no território brasileiro.

Esse documento apresenta subsídios para a elaboração de um plano de contingência para os vírus causadores do CMD e CBSD. Nele são descritos os sintomas causados pelos vírus, o que permite sua rápida identificação, sua área de ocorrência no mundo, suas possíveis formas de introdução e disseminação no país, seus hospedeiros e também os métodos de detecção e controle.

É, sem dúvida, uma importante fonte de consulta para a elaboração de políticas públicas voltadas a ações de defesa fitossanitária, visando garantir a sustentabilidade da mandiocultura no Brasil.

*Alberto Duarte Vilarinhos*

Chefe-geral da Embrapa Mandioca e Fruticultura

## Sumário

Introdução .....	9
O mosaico africano da mandioca (CMD) .....	9
A doença das estrias marrons da mandioca ("Cassava brown streak disease" CBSD).....	11
Distribuição geográfica e impactos do CMD e do CBSD .....	13
Ações preventivas .....	14
Aspectos de legislação e fiscalização .....	14
Ferramentas de diagnóstico para CBSD e CMD.....	15
Detecção e diagnose da CMD .....	15
Metodologia para extração do DNA/RNA de folhas de mandioca .....	17
Detecção por reação em cadeia da polimerase (PCR).....	18
Detecção e diagnose da CBSD .....	19
RT-PCR para a detecção do CBSV e UCBSV .....	23
Extração do RNA.....	23
Transcrição reversa – reação em cadeia da polimerase (RT-PCR).....	24
Primeira etapa – síntese do cDNA .....	24
Segunda etapa – PCR .....	25

Treinamento de pessoal para identificação e diagnóstico.....	25
Ações de pesquisa .....	25
Melhoramento genético preventivo .....	25
Prospecção e manejo de potenciais vetores da CMD e da CBSD no Brasil .....	26
Ações emergenciais .....	26
Ações em caso de suspeita de ocorrência de CBSD e/ou CMD .....	26
Ações em caso de detecção de CBSD e/ou CMD .....	27
Sugestões de Responsabilidades .....	28
Governo Federal .....	28
Governos Estaduais .....	29
Iniciativa Privada .....	29
Referências .....	30

## Introdução

A mandioca (*Manihot* spp.) é a principal fonte de carboidratos para milhões de pessoas em países em desenvolvimento. No Brasil, a mandioca é cultivada em toda a extensão do país, sendo utilizada na alimentação humana, na alimentação animal e na indústria. Em 2018, foram cultivados 2.074.689 hectares com mandioca, gerando uma produção de 19,39 milhões de toneladas. O principal produtor do país é o Pará, seguido de Paraná, Bahia, Maranhão, São Paulo, Rio Grande do Sul e Amazonas. A região Norte é a principal produtora do país, sendo responsável por aproximadamente 33% da produção nacional. Em 2017, o valor anual da produção ultrapassou R\$11 bilhões (IBGE, 2019).

A cultura da mandioca pode ser afetada por diferentes pragas, como insetos, ácaros, bactérias, fungos e víruses. Sua importância vai depender do momento em que a praga ocorrer, da sua incidência e da cultivar plantada (Souza et al., 2006). Atualmente, considera-se que as duas doenças com maior potencial destrutivo para a cultura no mundo sejam o mosaico africano (Cassava mosaic disease – CMD) e a doença das estrias marrons (Cassava brown streak disease – CBSD). Até o momento, essas duas doenças não foram relatadas no continente americano, estando restritas à África e a alguns países da Ásia (Rey; Vanderschuren, 2017).

Especificamente no Brasil, os vírus relatados associados à mandioca são: (i) o vírus do mosaico comum da mandioca (*Cassava mosaic common virus*, CsCMV); e (ii) o mosaico das nervuras (*Cassava vein mosaic virus*, CsVMV), (iii) vírus do couro de sapo (*Cassava Frogskin-associated virus*, CsFSV) (Souza et al., 2014).

## O mosaico africano da mandioca (CMD)

O mosaico africano da mandioca (Cassava Mosaic Disease, CMD) foi descrito no continente africano no final do século XIX (Warburg, 1894). Estudos identificaram um vírus como o agente causal da doença,



que foi denominado de *African cassava mosaic virus* (ACMV) (Bock; Woods, 1983). Ele foi classificado dentro do gênero *Begomovirus*. Nos anos seguintes, novas espécies de begomovírus foram descritas também causando o mosaico da mandioca no continente africano. Além disso, outras duas espécies de begomovírus foram identificadas na Índia e no Sri Lanka, causando sintomas similares aos do ACMV. No total, já foram descritas onze espécies de begomovírus associadas ao CMD (Tabela 1).

**Tabela 1.** Nome científico das espécies de begomovírus já descritas como causadoras do Mosaico Africano da Mandioca (CMD).

Espécies	Referência
<i>African cassava mosaic virus</i> (ACMV)	Bock; Woods, 1983
<i>Indian cassava mosaic virus</i> (ICMV)	Hong et al., 1993
<i>East African cassava mosaic virus</i> (EACMV)	Swanson; Harrison, 1994
<i>East African cassava mosaic Cameroon virus</i> (EACMCV)	Fondong et al., 1998
<i>East African cassava mosaic Malawi virus</i> (EACMMV)	Zhou et al., 1998
<i>South African cassava mosaic virus</i> (SACMV)	Berrie et al., 2001
<i>Sri Lankan cassava mosaic virus</i> (SLCMV)	Saunders et al., 2002
<i>East African cassava mosaic Zanzibar virus</i> (EACMZV)	Maruthi et al., 2004
<i>East African cassava mosaic Kenya virus</i> (EACMKV)	Bull et al., 2006
<i>African cassava mosaic Burkina Faso virus</i> (ACMBFV)	Tiendrébeogo et al., 2012
<i>Cassava mosaic Madagascar virus</i> (CMMGV)	Harimalala et al., 2012

\*Espécies dispostas em ordem cronológica dos relatos.

A dispersão dos vírus causadores do CMD ocorre de duas formas principais. A primeira é por trânsito e plantio de material propagativo de mandioca (manivas) infectado. Essa é a principal forma de disseminação a longas e curtas distâncias, e também de introdução do CMD em áreas indenes. Uma vez presente na área, ocorre a disseminação secundária do vírus (mandioca infectada para sadia), realizada pela mosca branca *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: *Aleyrodidae*). Por possuir hábito alimentar polífago, *B. tabaci* é capaz também de transmitir diversos *Begomovirus* de plantas espontâneas hospedeiras para plantas de mandioca (Sseruwagi et al., 2006). Neste contexto, é importante ressaltar que *B. tabaci* é um complexo, com diferentes genótipos/biotipos existentes, que apresentam diferenças de adaptação a hospedeiros e a eficiência de transmissão de CMDs (Legg et al., 2002).

O CMD é transmitido por *B. tabaci* de forma persistente circulativa (Dubern, 1994). O período mínimo de alimentação necessário para a aquisição do vírus pelo inseto é de 3 horas. Após a aquisição, há um período de latência de 3-4 horas, quando o vírus circula no corpo do inseto, que então se torna apto a transmitir o vírus. Para a transmissão do vírus, o inseto virulífero requer um período de alimentação de, no mínimo, 10 a 30 minutos (Dubern, 1994). Em condições experimentais, uma única mosca branca foi capaz de transmitir o vírus para plantas de mandioca. Os vírus do CMD, uma vez adquiridos pela mosca branca ainda na sua fase de ninfa, permanecem no inseto até a fase adulta. Entretanto, não há transmissão transovariana do vírus (transmissão da mãe para a progênie) (Dubern, 1994). Na Índia, foi relatado que a espécie de mosca branca *B. afer* também é capaz de transmitir CMD (Palaniswami et al., 1996).

## A doença das estrias marrons da mandioca (“Cassava brown streak disease” CBSD)

A doença das estrias marrons da mandioca (“Cassava brown streak disease,” CBSD) foi descrita pela primeira vez na Tanzânia, em 1935, permanecendo endêmica na região litorânea do leste da África (Tanzânia,

Moçambique e Quênia) (Legg; Hillocks, 2003). Entretanto, a partir de 2004, observou-se uma rápida disseminação da CBSD para Malawi, Uganda, Burundi, Ruanda, República Democrática do Congo, Angola, Sudão do Sul, Zâmbia e na Ilha Mayotte (Abarshi et al., 2012; Alicai et al., 2007; Kaweesi et al., 2014; Legg; Hillocks, 2003; Patil et al., 2015; Roux-Cuvelier et al., 2014).

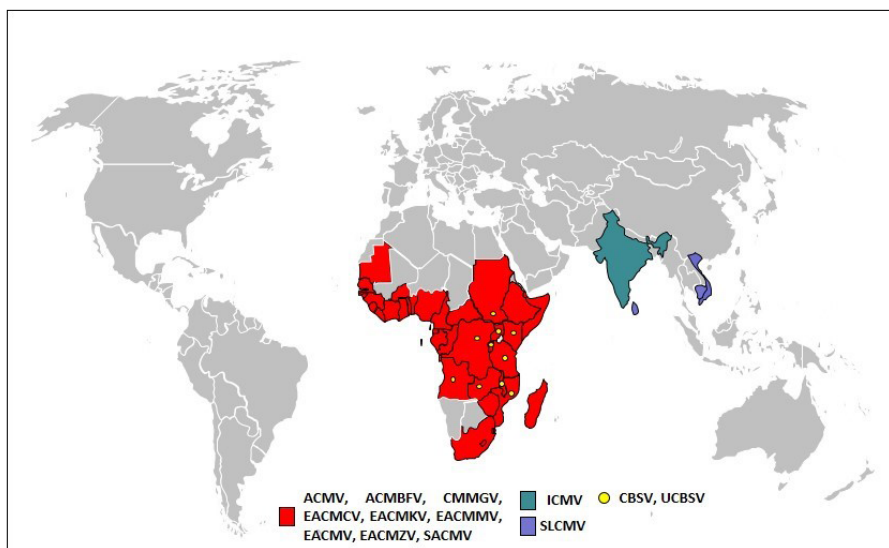
Duas espécies de vírus são responsáveis pela CBSD: o *Cassava brown streak virus* (CBSV) (Monger et al., 2001) e o *Ugandan cassava brown streak virus* (UCBSV) (Mbanzibwa et al., 2011). O CBSV e o UCBSV pertencem à família *Potyviridae* e ao gênero *Ipomovirus* (King et al., 2012).

Na natureza, as moscas-brancas *Bemisia tabaci* e *Aleurodicus dispersus* transmitem os dois vírus causadores da CBSD de forma semipersistente, após acesso de aquisição e de inoculação de cerca de 48 horas. Esses vírus não persistem no inseto. A disseminação desses vírus pelo inseto não é muito eficiente, sendo responsável pela sua dispersão em pequenas distâncias. As manivas infectadas dão origem a plantas doentes, que servem de fonte de inóculo primário para novas infecções no campo, por meio das moscas-branca e de ferramentas de cortes, e para outras áreas, por meio de material propagativo provenientes dessas plantas (Kaweesi et al., 2014; Patil et al., 2015; Rajabu, 2013). O trânsito de manivas permite a disseminação da praga a longas distâncias, sendo assim, cuidado especial deve ser adotado para evitar sua introdução em regiões nas quais ela não ocorre. As ferramentas de corte utilizadas em plantas infectadas podem transmitir o vírus para outras plantas localmente. Os vírus causadores da CBSD aparentemente não são transmitidos pela semente botânica da mandioca, assim como também não ocorre sua transmissão pelos restos culturais de plantas infectadas (Rajabu, 2013; Rewegasira, 2009).

No cenário atual, a CBSD é considerada um dos maiores desafios para segurança alimentar no mundo e um dos maiores problemas da cultura da mandioca (Legg et al., 2014; Kaweesi et al., 2014, Patil et al., 2015).

## Distribuição geográfica e impactos do CMD e do CBSD

A maioria das espécies dos vírus que causam o CMD ocorrem em países do continente africano, com exceção do ICMV, que ocorre na Índia, e do SLCMV, que ocorre no Sri-Lanka, no Vietnã e no Camboja (figura 1). A CBSD está restrita à África (Figura 1).



**Figura 1.** Distribuição global dos vírus causadores do mosaico africano da mandioca (“Cassava mosaic disease”, CMD) e da doença das estrias marrons da mandioca (“Cassava brown streak disease”, CBSD).

Fonte: Mapa construído com base em informações disponíveis em diferentes literaturas.

O CMD é um dos principais responsáveis pela redução da produção de mandioca na África (Fauquet; Fargette, 1990). As pandemias de CMD que ocorreram ao leste e ao centro da África afetaram pelo menos nove países, cobrindo uma área de 2,6 milhões de quilômetros quadrados e acarretando uma perda econômica estimada entre US\$ 1,9-2,7 bilhões, levando fome e morte a milhares de pessoas (Patil; Fauquet 2009). Em regiões com alta incidência de CMD, as perdas na produção podem che-

gar a 95% (Fauquet; Fargette, 1990). Entretanto, atualmente, essa doença vem reduzindo seu impacto no continente africano face aos trabalhos realizados por centros de pesquisas dos países afetados (ex. NaCRRI, Uganda) e por centros internacionais (ex. IITA, Nigéria e Tanzânia), onde variedades com resistência completa às principais estirpes desses vírus já estão disponíveis aos produtores. Em contrapartida, a importância da CBSD vem aumentando, visto que, até o momento, não foi identificada resistência completa à doença.

As perdas causadas pela CBSD resultam tanto da redução da produção das plantas infectadas quanto na queda da qualidade das raízes produzidas. Estudos demonstraram que a infecção pela CBSD pode acarretar perdas superiores a 80% na produção (Campo et al., 2011). Além dos danos diretos, a CBSD induz o surgimento de áreas necróticas nas raízes, que, quando maduras, podem tornar-se impróprias para o consumo. Essa situação obriga o produtor a antecipar a colheita para evitar a deterioração das raízes, reduzindo ainda mais a produção (Gondwe et al., 2002). Estimativas do dano econômico nos países afetados pela CBSD atingem pelo menos US\$ 75 milhões (Manyong et al., 2012).

## Ações preventivas

### Aspectos de legislação e fiscalização

Apesar de haver restrição quanto à importação de material vegetal fresco de outros países, o que inclui a importação de manivas-semente, até a presente data apenas uma das espécies associadas ao mosaico africano (ACMV) está listada pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento como praga quarentenária ausente (PQA), e nenhuma das espécies do complexo CBSD estão listadas (BRASIL, 2018). Dessa forma, existe a necessidade premente de inclusão de todas as espécies relatadas como associadas aos complexos CMD e CBSD como PQA, dando respaldo técnico para as ações de fiscalização e diagnóstico de pragas.

Além disso, medidas adicionais devem ser tomadas, como:

- a) Regularizar a entrada no país de plantas (ou partes de plantas) que sejam relatadas como hospedeiras dessas viroses (Tabela suplementar 1), provenientes de países com presença de CMD e/ou CBSD. O CBSD está restrito a *Manihot* spp. As importações de plantas do gênero *Manihot* desses países com fins de propagação devem proceder de estações quarentenárias intermediárias. Esses materiais devem estar devidamente indexados e certificados quanto aos vírus associados à CMD e/ou à CBSD.
- b) Colocar em prática ações de vigilância (por exemplo, a realização de monitoramentos) para a detecção precoce de possíveis incursões de CMD e/ou CBSD.
- c) Credenciar laboratórios para o diagnóstico dos vírus associados à CMD e à CBSD.

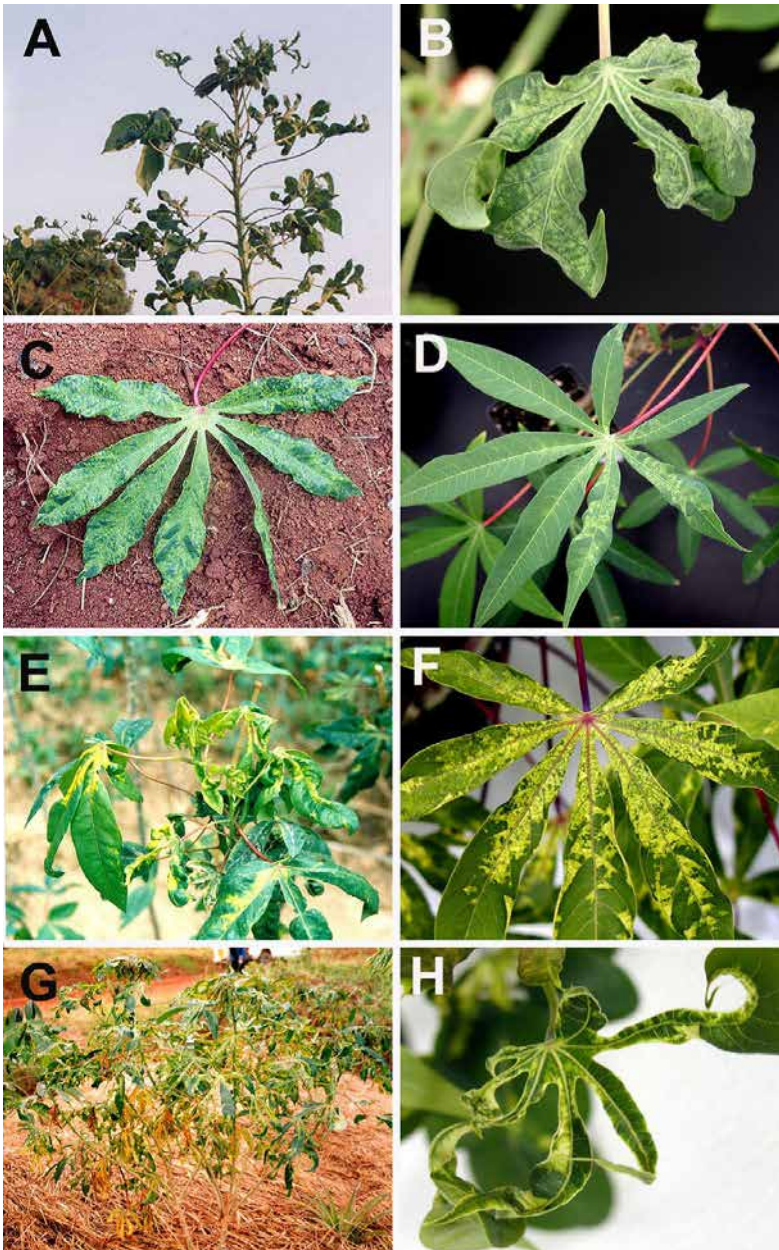
## Ferramentas de diagnóstico para CBSD e CMD

### Detecção e diagnose da CMD

Os sintomas típicos da infecção por CMD são o mosaico e a deformação foliar. A severidade desses sintomas irá variar em função da espécie de vírus presente, da ocorrência de infecções mistas, da variedade afetada e das condições ambientais (Figura 2).

Os begomovírus causadores da CMD podem ser detectados por ELISA ou por métodos moleculares, como PCR e PCR em tempo real (qPCR). Os vírus podem ser detectados em todos os tecidos da planta de mandioca, sendo mais facilmente detectados nas folhas. O teste de PCR e qPCR são os mais indicados para a detecção e a identificação das espécies de begomovírus causadoras de CMD pela sensibilidade, pela especificidade e também pela possibilidade de se sequenciar o fragmento viral amplificado por PCR para confirmar a identidade do begomovírus presente na amostra.

Fotos: Autor (Joseph Ndunguru)



**Figura 2.** Sintomas induzidos em mandioca por diferentes espécies de begomovírus causadoras de CMD. (A e B) EACMKV, (C e D) ACMV, (E e F) EACMMV, (G e H) EACMV. (fotos publicadas por Ndunguru et al. 2005).



## Metodologia para extração do DNA/ RNA de folhas de mandioca

Existem diversos métodos de extração de ácidos nucleicos descritos e kits comerciais que podem ser utilizados para isso. O procedimento descrito a seguir é baseado no protocolo CTAB adaptado por Abarshi et al. (2010), e foi escolhido por permitir a extração conjunta de DNA e RNA, e assim ser utilizado tanto para a detecção dos begomovírus causadores da CMD quanto para a detecção dos vírus causadores da Doença das estrias marrons da mandioca (Cassava brown streak disease, CBSD): (i) *Cassava brown streak virus* (CBSV); e (ii) *Ugandan cassava brown streak virus* (UCBSV) (Abarshi et al. 2012).

Procedimento:

- 1) Macerar 0,1g – 0,3 g de folhas de mandioca em nitrogênio líquido, em um almofariz com pistilo, até a obtenção de um pó. Transfira o pó para um microtubo de 2,0 mL;
- 2) Adicionar 1 mL de tampão CTAB (2 % CTAB (p/v), 1,4 M NaCl, 0.2 % 2-mercaptoetanol (v/v), 20 mM EDTA, 100 mM Tris–HCl, pH 8.0);
- 3) Misturar vigorosamente em agitador tipo vortex;
- 4) Incubar a 65 °C por 10 minutos;
- 5) Centrifugar a 12.000 g por 10 minutos. Transferir o sobrenadante para um novo microtubo de 2,0 mL;
- 6) Adicionar 1 volume de fenol: clorofórmio: álcool isoamílico (25:24:1), e misturar os tubos por inversão;
- 7) Centrifugar a 12.000 g por 10 minutos. Transferir o sobrenadante (fase aquosa) para um novo microtubo de 1,5 mL;
- 8) Adicionar 0,6 volumes de isopropanol gelado, e incubar a -20 °C por 1 hora;
- 9) Centrifugar a 12.000 g por 10 minutos a 4 °C. Descartar o sobrenadante;



- 10) Adicionar 0,5 mL de etanol 75 %, misturar por inversão;
- 11) Centrifugar a 12.000 g por 2 minutos a 4 °C. Descartar o sobrenadante;
- 12) Secar o pellet a temperatura ambiente;
- 13) Ressuspender o pellet em 50 µL a 100 µL de água livre de nucleases;
- 14) Quantificar a concentração dos ácidos nucleicos.

## Detecção por reação em cadeia da polimerase (PCR)

A detecção dos CMDs pela técnica de PCR possibilita tanto a detecção universal (sem identificação da espécie) quanto a específica, dependendo do conjunto de iniciadores utilizados. A Tabela 2 contém uma lista de alguns conjuntos de iniciadores universais ou espécie-específico utilizados na detecção das espécies de CMD por PCR.

A composição da reação de PCR irá depender do kit comercial a ser utilizado, entretanto recomenda-se utilizar pelo menos 20 ng de DNA total na reação de PCR. Além disso, é possível realizar multiplex-PCR para detecção simultânea de diferentes espécies de ACMV e EACMV (Aloyce et al., 2013).

**Tabela 2.** Iniciadores utilizados para detecção universal ou específica de begomovírus causadores de CMD.

Iniciador	Sequência (5' → 3')	Espécie de CMD	Fragmento PCR (nt)	Referência
Deng A Deng B	TAATATTACCKGWKGVCCSC TG- GACYTTRCAWGGBCCTTCACA	Universal	520	Deng et al. (1994)
JSP001 JSP002	ATGTCGAAGCGACCAGGAGAT TGTTTATTAATTGCCAATACT	ACMV Universal	554	Fondong et al. (2000)
EAB555/F EAB555/R	TACATCGGCCTTTGAGTCGCATGG CTTATTAACGCCTATATAAACACC	EACMV universal	744	Ndunguru et al. (2005)

**Tabela 2.** Continuação.

Iniciador	Sequência (5' → 3')	Espécie de CMD	Fragmento PCR (nt)	Referência
EACMCV1 EACMCV2	AAGTCTGAGGATGTAAACGAG ACCTAGACGAGGACAAGAATTCC	EACMCV	435	Aloyce et al. (2013)
EACMMV1 EACMMV2	GTGCCCTGTTCTTCACGGT ACACACGTCCCAGACGAAA	EACMMV	503	Aloyce et al. (2013)
EACMV1 EACMV2	GTTCCGGCTATCACCTTCTAGAACA AAGGCTTACATTGAAAAGGGA	EACMV	375	Aloyce et al. (2013)
EACMZV1 EACMZV2	CCAGGTGCAAGAATCGCTTA AGGTGCTCCAATTGCTCTC	EACMZV	260	Aloyce et al. (2013)
EACMKV1 EACMKV2	AAGGAGTCAGAGGCTCTTG CCA- CGTTTGAATTTCAAATTC	EACMKV	669	Aloyce et al. (2013)
F461- CMMGV-A R1588- CMMGV-A	CAGGCACAAGCAAGTTCA AGACGTATCGACCTAAGC	CMMGV	1127	Harimalala et al. (2015)
F441-SA- CMV-A R1153-SA- CMV-A	CAAGGCACAAACAAGCGT ACACTCCAGGTTACGGAGC	SACMV	712	Harimalala et al. (2015)
ICMV-AV1F ICMV-AV1R	ATGTCGAAGCGACCAGCAGATA- TCAT TTAATTGCTGACCGAATCGTAGAAG	ICMV	770	Dutt et al. (2005)
SLCMV-A-F SLCMV-A-R	TGTAATTCTCAAAAGTTACAGTC ATATGGACCACATCGTGTC	SLCMV	600	Makeshkumar et al. (2005)

## Detecção e diagnose da CBSD

Causada pelo *Cassava brown streak virus*, CBSV, e pelo *Ugandan cassava brown streak virus*, UCBSV, pode ser detectada pelos sintomas produzidas em mandioca, pelos sintomas produzidos em plantas indicadoras inoculadas mecanicamente com as amostras em análise, por testes sorológicos como o ELISA ou por métodos moleculares como RT-PCR e

RT-PCR em tempo real (Kaweesi et al., 2014, Mbewe et al., 2015, Monger et al, 2001, Patil et al, 2015). Os dois vírus podem ser detectados em todos os tecidos da planta de mandioca, exceto nas partes necrosadas, sendo mais facilmente detectados nas raízes e em tecidos com sintomas mais severos (Musa, 2012).

Amostras suspeitas de conterem o CBSD devem ser enviadas para Laboratórios de Diagnóstico Fitossanitário (LDF). Na página da Internet do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) há um link indicando os LDF credenciados no Brasil (<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/laboratorios-credenciados/diagnostico-fitossanitario>), constando seus endereços, telefones e e-mails para contato, e as análises que realizam. No momento não há qualquer laboratório credenciado que trabalhe com esse vírus, mas os laboratórios credenciados para detecção de vírus têm condições de trabalhar com a CBSD.

A severidade da CBSD varia significativamente com a cultivar avaliada e com o ambiente no qual seu hospedeiro é cultivado, mas os sintomas, quando produzidos, são bem característicos e permitem o seu diagnóstico (Meissner et al., 2017). Algumas cultivares apresentam sintomas mais severos nos brotos e nas raízes, enquanto em outras os sintomas estão presentes apenas nas folhas, mas podem ocorrer variações na sintomatologia apresentada. Em algumas cultivares as plantas infectadas não manifestam sintomas, a infecção fica latente, então, por esse motivo, materiais a serem utilizados como matrizes ou que vão ser importados devem ser indexados. O CBSV e o UCBSV podem ser encontrados ao mesmo tempo em plantas com CBSD (Kaweesi et al., 2014).

A CBSD provoca manchas cloróticas nas folhas entre as nervuras (Figuras 3), estrias marrons nas hastes (Figura 4) e constrictões nas raízes, sendo que infecções severas levam à necrose das hastes, ocorrendo morte descendente dos brotos. Nas raízes, causa necrose corticosa amarelada e amarronzada (Figura 5) (Maruthi et al., 2005; Meissner et al., 2017). O conjunto dos sintomas apresentados permite a diagnose dessa virose. Os sintomas da CBSD são mais severos em condições de temperaturas mais baixas (Rwegasira, 2009).



Fotos: James Peter Legg

**Figura 3.** Sintomas foliares da CBSD em mandioca (fotos cedidas por James Peter Legg, em 2005).



Foto: James Peter Legg

**Figura 4.** Sintoma de estrias marrons nas hastes da mandioca causada pela CBSD (foto cedida por James Peter Legg, em 2006).

Fotos: James Peter Legg



**Figura 5.** Sintomas da podridão da CBSD nas raízes da mandioca (fotos cedidas por James Peter Legg, em 2009).

A RT-PCR permite a detecção dos vírus causadores da CBSD em 90% das amostras sintomáticas, indicando que a sintomatologia é uma boa ferramenta para a identificação de plantas com suspeitas de infecção (Mbewe et al., 2015).

O ELISA também tem sido usado na detecção do CBSV, mas não permite a distinção entre o CBSV e o UCBSV (Patil et al., 2015).

## RT-PCR para a detecção do CBSV e UCBSV

### Extração do RNA

Na literatura, já foram testados diferentes procedimentos para a extração de RNA de amostras suspeitas de conterem CBSV, utilizando dodecil sulfato de sódio (SDS)/fenol, CTAB e isotiocianato de guanidina (Monger et al., 2001). Nesse documento, será descrito um procedimento no qual o RNA é extraído de folhas de mandioca utilizando Brometo de Cetrimônio (CTAB) com algumas modificações, o qual apresentou melhores resultados.

Extração do RNA conforme Monger et al. (2001) e Legg et al. (2003)

- 1) Macerar 0,1 g a 0,3 g de folhas de mandioca em nitrogênio líquido em um almofariz com pistilo até a obtenção de um pó.
- 2) Antes que ele descongele, adicionar 1 mL a 3 mL de tampão de extração CTAB (p/v);
- 3) Nota: O tampão de extração CTAB é preparado pela mistura de 2 % de CTAB, 2 % de polivinilpirrolidona 40 (PVP 40), 100 mM de Tris-HCl pH 8,0, 20 mM de etilenodiaminatetraacetato (EDTA), 1,4 M de NaCl, sendo autoclavado antes do seu uso.
- 4) Agitar no vortex.
- 5) Transferir 800 µL da suspensão formada para um microtubo plástico de 1,5 mL, e incubar a 65 °C por 15 minutos.
- 6) Após a incubação, adicionar 600 µL de clorofórmio/álcool isoamílico (24:1) aos tubos contendo a suspensão (maceração + tampão CTAB) e misturar invertendo os tubos.
- 7) Centrifugar a 18.516 x g por 10 min, à temperatura ambiente.
- 8) Remover a fase aquosa da parte superior do tubo (sobrenadante) e repetir a adição de clorofórmio/álcool isoamílico (24:1).

- 9) Transferir 300  $\mu\text{L}$  da fase aquosa (sobrenadante) para um novo microtubo de 1,5 mL e adicionar 0,5 volume de NaCl a 5 M e dois volumes de etanol gelado.
- 10) Misturar bem e incubar por 30 min a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- 11) Centrifugar a  $4.629 \times g$  por 10 min, para sedimentar o RNA.
- 12) Remover o etanol e ressuspender o pelete em 0,5 mL a 1,0 mL de 2 M LiCl. Incubar a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  por uma noite.
- 13) Centrifugar a  $16.516 \times g$  por 30 min a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- 14) Descartar o LiCl e lavar o pelete com 500  $\mu\text{L}$  de etanol 70 %.
- 15) Descartar o etanol e deixar o pelete secar.
- 16) Ressuspender o pelete em 50  $\mu\text{L}$  a 100  $\mu\text{L}$  de água ultrapura tratada com Dietilpirocarbonato (DEPC).

## Transcrição reversa – reação em cadeia da polimerase (RT-PCR)

A transcrição reversa (RT) consiste de duas etapas consecutivas que são realizadas conforme foi descrito por Mbanzibwa et al. (2011).

### Primeira etapa – síntese do cDNA

- 1) Adicionar, em um microtubo: 5  $\mu\text{g}$  de RNA total, 2 pmol de oligo(dT)<sub>25</sub> e água livre de nucleases completando o volume para 12  $\mu\text{L}$ .
- 2) Incubar a amostra por 3 min a  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  e depois transferir o tubo imediatamente para o gelo.
- 3) Adicionar ao microtubo: 4  $\mu\text{L}$  do tampão 5x da reação, 2  $\mu\text{L}$  de ditioneitol (DTT) 0,1 M, 1  $\mu\text{L}$  da mistura de dNTPs a 10 mM, 1  $\mu\text{L}$  (200 U) da enzima transcriptase reversa (M-MLV).
- 4) Incubar a reação final a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 1 h, e, em seguida, a  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , por 15 min.

## Segunda etapa – PCR

- 1) Adicionar, em um microtubo: 2,5 µL do cDNA, 5 µL do tampão 10x da PCR (200 mM Tris-HCl, pH 8.4, 500 mM KCl), 3 µL de MgCl<sub>2</sub> 25 mM, 1 µL de dNTPs (2,5 mM cada), 0,5 µL (1 U) da Taq Platinum DNA polimerase (Invitrogen), 0,5 µM de cada um dos oligonucleotídeos: CBSDDR (5'-GGA TAT GGA GAA AGR KCT CC-3') e CBSDDF2 (5'-GCT MGA AAT GCY GGR TAY ACA A-3'). O volume da reação é completado para 50 µL adicionando-se água livre de nuclease.
- 2) Para a amplificação é utilizada uma desnaturação inicial a 94 °C por 3 minutos, seguida de 35 ciclos que envolvem as etapas sequenciais de desnaturação a 94 °C por 30 segundos, anelamento do oligonucleotídeo a 51 °C por 30 segundos, e extensão a 72 °C por 30 segundos para finalizar uma extensão a 72 °C por 10 minutos.
- 3) Os amplicons produzidos são analisados por eletroforese em gel de agarose a 2 %. Utilizando os primers CBSDDR e CBSDDF2 são produzidos amplicons de 438-440 nucleotídeos para o UCBSV e de 344 nucleotídeos para o CBSV.

## Treinamento de pessoal para identificação e diagnóstico

O treinamento de técnicos na identificação da CBSD deve ser feito quanto aos sintomas apresentados por essa virose, que são bem característicos. O diagnóstico em laboratório pode ser feito por diferentes métodos, mas, nesse documento, foi feita a descrição da RT-PCR conforme a metodologia descrita anteriormente, em Laboratório de Diagnóstico Fitossanitário.

## Ações de pesquisa

### Melhoramento genético preventivo

Atualmente, a Embrapa Mandioca e Fruticultura vem realizando atividades de melhoramento preventivo para a CMD e CBSD, em parceria com



instituições internacionais como o NaCRRRI (Uganda) e o IITA (Nigeria). Genótipos elite de mandioca estão sendo avaliados em condições de alta pressão de inóculo, visando à identificação de plantas com resistência a esses vírus. Adicionalmente, estratégias de seleção assistida por marcadores moleculares do tipo “KASP” e procedimentos de seleção genômica estão sendo aplicadas visando à identificação dos alelos de resistência a essas viroses em germoplasmas e variedades de mandioca do Brasil. Essas atividades visam antever a possível chegada destes vírus, e proporcionar, em caso de epidemia, estratégias de mitigação das doenças por meio de resistência varietal.

## **Prospecção e manejo de potenciais vetores da CMD e da CBSD no Brasil**

Uma vez que as principais espécies de moscas-branca relatadas como vetores da CBSD, *B. tabaci* e *A. dispersus*, estão presentes na África, nas Américas e na Ásia (Oliveira; Lima, 2006), existe a necessidade de levantamento e avaliação da distribuição dessas espécies no Brasil.

## **Ações emergenciais**

### **Ações em caso de suspeita de ocorrência de CBSD e/ou CMD**

Amostras suspeitas de conterem o CBSD devem ser enviadas para Laboratórios de Diagnóstico Fitossanitário (LDF). Na página da internet do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) há um link indicando os LDF credenciados no Brasil (<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/laboratorios-credenciados/diagnostico-fitossanitario>), em que constam seus endereços, telefones e e-mails para contato, bem como as análises que realizam.

Em face da suspeita de ocorrência de vírus associados à CMD e/ou à CBSD em áreas de produção, a propriedade deverá ser interditada pelo serviço oficial, suspendendo de imediato a movimentação de material propagativo (maniva),

partes de plantas, produtos, subprodutos e artigos regulamentados existentes na propriedade, até o resultado do laudo laboratorial. Adicionalmente, a área afetada deverá ser avaliada quanto à presença de possíveis vetores (moscas-branca) e pulverizada com inseticida recomendado para o controle desse inseto praga.

## **Ações em caso de detecção de CBSD e/ou CMD**

Em função da confirmação da presença de foco de CMD e/ou CBSD, deverão ser aplicadas as seguintes medidas emergenciais:

### **I - Deslocamento imediato de técnicos capacitados para a área focal a fim de delimitar e implementar as ações de controle e erradicação da praga, por meio de:**

- a) interdição da(s) propriedade(s) com ocorrência de foco, proibindo a saída de produtos veiculadores da(s) praga(s).
- b) eliminação das plantas sintomáticas e sob suspeita na área de plantio, por meio de enterrio.
- c) realização de levantamentos de delimitação nas propriedades circunvizinhas ao foco, num raio de ação de, no mínimo, 5,0 km da área focal. Paralelamente, devem ser realizadas as investigações para localização do foco primário, considerando a extensão da infestação; as condições edafoclimáticas da área, topografia, direção do vento, fluxo de trânsito de pessoas, material vegetal e veículos (hidrovias, rodovias, aerovias), presença de espécies do gênero *Manihot* nas proximidades de lavouras comerciais de mandioca.

### **II - Caracterização da área do primeiro foco, por meio de:**

- a) georreferenciamento da área.
- b) informações da densidade de plantas hospedeiras, como número de plantas sadias e sintomáticas.

- c) descrição dos sintomas das viroses (porcentagem de plantas afetadas, severidade estimada dos sintomas e distribuição nas plantas).
- d) mapeamento de todas as plantas hospedeiras dos possíveis vetores nas áreas de trabalho.
- e) coleta de material vegetal de plantas de mandioca infectadas e/ou sob suspeita, seguido de envio das amostras para identificação da praga em laboratórios oficiais ou credenciados pertencentes à Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária.

## Sugestões de Responsabilidades

### Governo Federal

#### DSV/MAPA

- Coordenar nacionalmente o Plano de Contingência e designar um Coordenador Estadual para cada Unidade da Federação.
- Disponibilizar aos Estados recursos orçamentários, financeiros e materiais para a implementação das ações, de sua competência, previstas no plano de contingência.
- Normatizar sobre as medidas de prevenção e controle para erradicação da CMD e CBSD.
- Promover a capacitação de Fiscais Federais Agropecuários sobre a CMD e a CBSD.
- Fomentar o credenciamento de laboratórios para a realização de exames de indexação e diagnósticos de CMD e CBSD.

## **SFA/MAPA**

- Em caso de ocorrência de foco, disponibilizar imediatamente técnicos capacitados no reconhecimento da praga, a fim de prestarem orientação quanto as ações a serem realizadas em campo.
- Coordenar a aplicação do Plano de Contingência.
- Priorizar as ações de emergência, promover deslocamento imediato de FFA para área de ocorrência e solicitar os recursos necessários ao DSV/ MAPA.
- Em caso de suspeita de foco, enviar amostra para identificação laboratorial e comunicar de imediato o DSV.
- Enviar relatórios ao DSV sobre as atividades contidas no plano de contingência.

## **Governos Estaduais**

- Controlar o trânsito interestadual de produtos vegetais.
- Implementar programa de Educação Sanitária.
- Comunicar de imediato a suspeita de foco à SFA.
- Executar, sob orientação dos Fiscais Federais Agropecuários, levantamentos fitossanitários e as medidas de emergência contidas no plano de contingência quando da detecção de CMD e/ou CBSD.
- Capacitar técnicos dos órgãos estaduais de defesa agropecuária.

## **Iniciativa Privada**

- Comunicar de imediato a SFA/MAPA em caso de suspeita de foco.
- Implementar programa de Educação Sanitária.
- Executar, conjuntamente com a SFA/MAPA, as medidas de emergência.

## Referências

- ABARSHI, M.M.; MOHAMMED, I.U.; WASSWA, P.; HILLOCKS, R.J.; HOLT, J.; LEGG, J.P.; SEAL, S.E.; MARUTHI, M.N. Optimization of diagnostic RT-PCR protocols and sampling procedures for the reliable and cost-effective detection of Cassava brown streak virus. **Journal of Virological Methods**, v. 163, 353–359, 2010.
- ABARSHI, M. M.; MOHAMMED, L. U.; JEREMIAH, S. C.; LEGG, J. PL, LAVA KUMA, P.; HILLOCKS, R. J.; MARUTHI, M. N. Multiplex RT-PCR assays for the simultaneous detection of both RNA and DNA viruses infecting cassava and the common occurrence of mixed infections by two cassava brown streak viruses in East Africa. **Journal of Virological Methods**, v. 179, p. 176-184, 2012.
- ALICAI, T.; OMONGO, C. A.; MARUTHI, M. N.; HILLOCKS, R. J.; BAGUMA, Y.; KAWUKI, R.; BUA, A.; OTIM-NAPE, G. W.; COLVIN, J. Re-emergence of cassava brown streak disease in Uganda. **Plant Disease**, v. 91, p. 24–29, 2007.
- ALOYCE, R.C.; TAIRO, F.; SSERUWAGI, P.; REY, M.E.C.; NDUNGURU, J. A single-tube duplex and multiplex PCR for simultaneous detection of four cassava mosaic begomovirus species in cassava plants. **Journal of Virological Methods**, v. 189, p. 148-156, 2013.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 39, de 1 de outubro de 2018, **Diário Oficial da União**, n., 190, Seção 1, p. 11-14, 2 out. 2018. Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/sanidade-vegetal/arquivos-quarentena/PRAGASQUARENTENRIASAUSENTES\\_SITEMAPA\\_5.11.2019.pdf](http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/sanidade-vegetal/arquivos-quarentena/PRAGASQUARENTENRIASAUSENTES_SITEMAPA_5.11.2019.pdf). Acesso em: 5 nov. 2019.
- BERRIE, L. C.; RYBICKI, E. P.; REY, M. E. Complete nucleotide sequence and host range of South African cassava mosaic virus: further evidence for recombination amongst begomoviruses. **Journal of General Virology**, v. 82, p. 53-58, 2001.
- BOCK, K. R.; WOODS, R. D. Etiology of African cassava mosaic disease. **Plant Disease**, v. 67, p. 994-995, 1983.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 39, de 1 de outubro de 2018. Dispõe sobre o estabelecimento da lista de pragas quarentenárias ausentes (PQA) para o Brasil. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2 out. 2018. Seção 1, p. 11.
- BULL, S. E.; BRIDDON, R. W.; SSERUBOMBWE, W. S.; NGUGI, K.; MARKHAM, P. G.; STANLEY, J. Genetic diversity and phylogeography of cassava mosaic viruses in Kenya. **Journal of General Virology**, v. 87, p. 3053-3065, 2006.
- CAMPO, B. V. H.; HYAMAN, G.; BELLOTI, A. Threats to cassava production: known and potential geographic distribution of four key biotic constraints. **Food Security**, v. 3, p. 329-345, 2011.
- DENG, D.; MCGRATH, P.F.; ROBINSON, D.J.; HARRISON, B.D. Detection and differentiation of whitefly-transmitted geminiviruses in plants and vector insects by the polymerase reaction with degenerate primers. **Ann. Appl. Biology**, v. 125, p. 327–336, 1994.
- DUBERN, J. Transmission of African cassava mosaic geminivirus by the whitefly (*Bemisia tabaci*). **Tropical Science**, v. 34, p. 82-91, 1994.
- DUTT, N.; BRIDDON, R.W.; DASGUPTA, I. Identification of a second begomovirus, Sri Lankan cassava mosaic virus, causing cassava mosaic disease in India. **Archive Virology**, v. 150, p. 2101–2108, 2005.

FAUQUET, C.; FARGETTE, D. African cassava mosaic virus: etiology, epidemiology and control. **Plant Disease**, v. 74, p. 404–411, 1990.

FONDONG, V. N.; PITA, J. S.; REY, C.; BEACHY, R. N. & FAUQUET, C. M. First report of the presence of East African cassava mosaic virus in Cameroon. **Plant Disease**, v. 82, p. 1172, 1998.

FONDONG, V.N.; PITA, J.S.; REY, M.E.C.; DE KOCHKO, A.; BEACHY, R.N.; FAUQUET, C.M. Evidence of synergism between African cassava mosaic virus and a new double-recombinant geminivirus infecting cassava in Cameroon. **J. Gen. Virol**, v. 81, p. 287–297, 2000.

GONDWE, F. M. T.; MAHUNGU, N. M.; HILLOCKS, R. J.; RAYA, M. D.; MOYO, C. C.; SOKO, M. M.; CHIPUNGU, E. P.; BENESI, I. R. M. . Economic losses experienced by small-scale farmers in Malawi due to cassava brown streak virus disease. In **Cassava Brown Streak Virus Disease: Past, Present, and Future**. Proceedings of an International Workshop, Mombasa, Kenya, 27–30 October, pp. 28–36. Edited by J. P. LEGG & R. J. HILLOCKS. AYLESFORD, UK: Natural Resources International Limited. 2002.

HARIMALALA, M.; LEFEUVRE, P.; DE BRUYN, A.; TIENDRÉBÉOGO, F.; HOAREAU, M.; VILLEMOT, J.; RANOMENJANAHARY, S.; ANDRIANJAKA, A.; REYNAUD, B.; LETT, J.-M. A novel cassava-infecting begomovirus from Madagascar: cassava mosaic Madagascar virus. **Archives of Virology**, v. 157, p. 2027–2030, 2012.

HARIMALALA, M.; CHIROLEU, F.; GIRAUD-CARRIER, C.; HOAREAU, M.; ZINGA, I.; RANDRIAMAMPINANINA, J. A.; VELOMBOLA, S.; RANOMENJANAHARY, S.; ANDRIANJAKA, A.; REYNAUD, B.; LEFEUVRE, P. AND LETT, J. Molecular epidemiology of cassava mosaic disease in Madagascar. **Plant Pathology**, v. 64, p. 501-507, 2015.

HONG, Y. G.; ROBINSON, D. J.; HARRISON, B. D. Nucleotide sequence evidence for the occurrence of three distinct whitefly-transmitted geminiviruses in cassava. **Journal of General Virology**, v. 74, p. 2437–2443, 1993.

IBGE 2019. **Produção Agrícola de 2018**. Consultado em 18/03/2019. Disponível em: < <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados.html?view=municipio>>

KAWEESI, T.; KAWUKI, R.; KYALIGONZA, V.; BAGUMA, Y.; TUSLIME, G.; FERGUSON, M. E. Field evaluation of selected cassava genotypes for cassava brown streak disease based on symptom expression and virus load. **Virology Journal**, v. 11, n. 216, p. 1-14, 2014.

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

LEGG, J.P.; FRENCH, R.; ROGAN, D.; OKAO-OKUJA, G.; BROWN, J.K. A distinct, *Bemisia tabaci* (Gennadius) Hemiptera: *Sternorrhyncha: Aleyrodidae*) genotype cluster is associated with the epidemic of severe cassava mosaic virus disease in Uganda. **Molecular Ecology**, v. 11, p. 1219–1229, 2002.

LEGG, J.P.; HILLOCKS, R. J. (Eds). **Cassava brown streak virus disease: Past, Present and Future**. Proceedings of an International Workshop, Mombasa, Kenya, 27-30 October 2002. Natural Resources International Limited, Aylesford, UK. 2003. 100 p.

LEGG, J. P.; KUMAR, P. L.; MAKESHKUMAR, T.; TRIPATHI, L.; FERGUSON, M.; KANJU, E.; NTAWURUHUNGA, P.; CUELLAR, W. Cassava virus diseases: biology, epidemiology,

and management. **Advances in Virus Research**, v. 91, n. 1, p. 86-131, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.aivir.2014.10.001>.

MAKESHKUMAR, T.; ANOOP SANKAR, NAIR, R. R. AND EDISON, S. Detection of cassava mosaic virus in India using polymerase chain reaction and nucleic acid hybridization technique. **J. Root crops**, v. 31, p. 1-6, 2005.

MANYONG, V. M.; MAEDA, C.; KANJU, E.; LEGG, J. P. Economic damage of cassava brown streak disease in sub-Saharan Africa. In **Tropical Root and Tuber Crops and the Challenges of Globalization and Climate Change**, 11th ISTRC-AB Symposium, 4–8 October 2010, pp. 61–68. Edited by R. U. OKECHUKWU & P. NTAWURUHUNGA. Kinshasa, Democratic Republic of Congo. 2012.

MARUTHI, M.; SEAL, S.; COLVIN, J. BRIDDON, R. W.; BULL, S. E. East African cassava mosaic Zanzibar virus – a recombinant begomovirus species with a mild phenotype. **Archives of Virology**, v. 149, p. 2365-2377, 2004.

MARUTHI, M. N.; HILLOCKS, R. J.; MTUNDA, K.; RAYA, M. D.; MUHANNA, M.; KIOZIA, H.; REKHA, A. R.; COLVIN, J.; THRESH, J. M. Transmission of *Cassava brown streak virus* by *Bemisia tabaci* (Gennadius). **Journal of Phytopathology**, v. 153, p. 307-312, 2005.

MBANZIBWA, D. R.; TIAN, Y. P.; TUGUME, A. K.; MUKASA, S. B.; TAIRO, F.; KYAMANYWA, S.; KULLAYA, A.; VALKONEN, J. P. T. Simultaneous virus-specific detection of the two cassava brown streak-associated viruses by RT-PCR reveals wide distribution in East Africa, mixed infections, and infections in *Manihot glaziovii*. **Journal of Virological Methods**, v. 171, p. 394-400, 2011.

MBEWE, W.; KUMARA, P. L.; CHAGADEYA, W.; NTAWURUHUNGA, P.; LEGG, J. Diversity, distribution and effects on cassava cultivar of Cassava brown streak viruses in Malawi. **Journal of Phytopathology**, v. 163, p. 433-443, 2015.

MEISSNER, P. E.; ANDRADE, E. C.; LARANJEIRA, F. F. **Cassava brown streak** vírus e **Ugandan cassava brown streak** vírus, agentes causais da Doenças das Estrias Marrons da Mandioca (“Cassava brown streak disease”, CBSD). – Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2017. 23 p. il.

MONGER, W. A.; SEAL, S.; COTTON, S.; FOSTER, G. D. Identification of different isolates of Cassava brown streak virus and development of a diagnostic test. **Plant Pathology**, v. 50, p. 768-775, 2001.

MUSA, M. A. **Molecular diagnostics, genetic diversity and generating infectious clones for cassava brown streak viruses**. PhD thesis. University of Greenwich. 2012. 230 p.

NDUNGURU, J.; LEGG, J. P.; AVELING, T. A. S.; THOMPSON, G.; FAUQUET, C. M. Molecular biodiversity of cassava begomoviruses in Tanzania: evolution of cassava geminiviruses in Africa and evidence for East Africa being a center of diversity of cassava geminiviruses. **Virology Journal**, v. 2, p. 21, 2005.

OLIVEIRA, M. R. V.; LIMA, L. H. C. **Moscas-brancas na cultura da mandioca no Brasil**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2006. 57 p. documentos.

PALANISWAMI, M. S.; NAIR, R. R.; PILLAI, K. S.; THANKAPPAN, M. Whiteflies on cassava and its role as vector of cassava mosaic in India. **Journal of Root Crops**, v. 22, p. 1-8, 1996.

PATIL, B. L.; FAUQUET, C. M. Cassava mosaic geminiviruses: actual knowledge and perspectives. **Molecular Plant Pathology**, v. 10, p. 685–701, 2009.

PATIL, B. L.; LEGG, J. P.; KANJU, E.; FAUQUET, C. M. Cassava brown streak disease: a threat to food security in Africa. **Journal of General Virology**, v. 96, p. 956-968, 2015.

REY, C.; VANDERSCHUREN, H. Cassava Mosaic and Brown Streak Diseases: Current Perspectives and Beyond. **Annual review of virology**, v. 4, p. 429-452, 2017.

RAJABU, C. A. **Development and evaluation of efficient diagnostic tools for cassava mosaic and cassava brown streak diseases**. Dissertation Master of Science. The University of Witwatersrand, Johannesburg. 2013. 115 p.

ROUX-CUVELIER, M.; TEYSSÉDRE, D.; CHESNEAU, T.; JEFFRAY, C.; MASSÉ, D.; JADE, K.; ABDOUL KARIME, A. L.; HOSTACHY, B.; REYNAUD, B.; LEGG, J. P.; LETT, J. M. First report of cassava brown streak disease and associated Ugandan cassava brown streak virus in Mayotte Island. *New Disease Reports*, v. 30, n. 28, 2014. <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2014.030.028>.

RWEGASIRA, G. M. **Aspects of the epidemiology of cassava brown streak virus disease in Tanzania**. Thesis Doctor Philosophy. Faculty of Science of University of the Witwatersrand. Johannesburg. 2009. 221 p.

SAUNDERS, K.; SALIM, N.; MALIC, V. R.; MALATHID, V. G.; BRIDDON, R.; MARKHAM, P. G.; STANLEY, J. Characterization of Sri Lankan Cassava Mosaic Virus and Indian Cassava Mosaic Virus: Evidence for Acquisition of a DNA B Component by a Monopartite Begomovirus. **Virology**, v. 293, p. 63-74, 2002.

SOUZA, A. N.; SILVA, F. N.; BEDENDO, I. P.; CARVALHO, C. M. A Phytoplasma Belonging to a 16SrIII-A Subgroup and dsRNA Virus Associated with Cassava Frogskin Disease in Brazil. **Plant disease**, v. 98, p. 771-779, 2014.

SOUZA, L. S.; FARIAS, A. R. N.; MATTOS, P. L. P.; FUKUDA, W. M. G. editores. **Aspectos socioeconômicos e agronômicos da mandioca**. Cruz das Almas : Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. 817p.

SSEUWAGI, P.; MARUTHI, M.N.; COLVIN, J.; REY, M.; BROWN, J.K.; LEGG, J.P. Colonization of non-cassava plant species by cassava whiteflies (*Bemisia tabaci*) in Uganda. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 19, p 145–153, 2006.

SWANSON, M. M.; HARRISON, B. D. Properties, relationships and distribution of cassava mosaic geminiviruses. **Tropical Science**, v. 34:15–25, 1994.

TIENDRÉBÉOGO, F.; LEFEUVRE, P.; HOAREAU, M.; HARIMALALA, M. A.; BRUYN, A.; VILLEMOT, J.; TRAORÉ, V. S. E.; KONATÉ, G.; TRAORÉ, A. S.; BARRO, N.; REYNAUD, B.; TRAORÉ, O.; LETT, J. M. Evolution of African cassava mosaic virus by recombination between bipartite and monopartite begomoviruses. **Virology Journal**, v. 9, p. 67, 2012.

WARBURG, O.; 1894. Die kulturpflanzen usambaras. *Mitt. Deutsch. Schutz.* 7, 131.

ZHOU, X.; ROBINSON, D. J.; HARRISON, B. D. Types of variation in DNA-A among isolates of East African cassava mosaic virus from Kenya. Malawi and Tanzania. **Journal of General Virology**, v. 79, p. 2835-2840, 1998.



**Tabela suplementar 1.** Lista das espécies de plantas relatadas como hospedeiras (em condições naturais ou experimentais) de uma ou mais espécies de begomovírus causadores do mosaico da mandioca.

Nome científico	Nome comum	Referência
<i>Manihot esculenta</i> (Euphorbiaceae)	Mandioca	Fauquet & Fargette, 1990
<i>Manihot glaziovii</i> (Euphorbiaceae)	Mandioca	Alabi et al., 2008
<i>Jatropha curcas</i> (Euphorbiaceae)	Pinhão manso	Appiah et al., 2012
<i>Jatropha multifida</i> (Euphorbiaceae)	Pinhão manso	Fauquet & Fargette, 1990
<i>Ricinus communis</i> (Euphorbiaceae)	mamona	Alabi et al., 2008
<i>Ageratum conyzoides</i> (Asteraceae)	Mentrasito, Erva de São João	Saunders et al., 2002
<i>Chromolaena odorata</i> (Asteraceae)	Capim mombutu	Eni & Fasasi, 2013
<i>Arabidopsis thaliana</i> (Brassicaceae)	Arabidopsis	Mittal et al., 2008
<i>Leucana leucocephala</i> (Fabaceae)	Leucena	Alabi et al., 2008
<i>Glycine max</i> (Fabaceae)	Soja	Mgbechi-Ezeri et al., 2008
<i>Phaseolus vulgaris</i> (Fabaceae)	Feijão	Berrie et al., 2001
<i>Senna occidentalis</i> (Fabaceae)	Fedegoso	Alabi et al., 2008
<i>Senna alata</i> (Fabaceae)	Fedegoso	Eni & Fasasi, 2013
<i>Centrosema pubescens</i> (Fabaceae)	Ervilha borboleta	Monde et al., 2010
<i>Pueraria javanica</i> (Fabaceae)	Kudzu tropical	Monde et al., 2010
<i>Malva parviflora</i> (Malvaceae)	Malva, Malva-de-cheiro, Malvisco	Berrie et al., 2001
<i>Hewittia sublobata</i> (Convolvulaceae)	Não há.	Bock et al., 1981
<i>Combretum confertum</i> (Combretaceae)	Não há.	Alabi et al., 2008
<i>Nicotiana</i> ( <i>benthamiana</i> , <i>clevelandii</i> , <i>debneyi</i> , <i>glutinosa</i> , <i>rustica</i> , <i>tabacum</i> ). (Solanaceae)	Espécies de tabaco	Bock et al., 1983, Mittal et al., 2008
<i>Datura</i> ( <i>ferox</i> , <i>stramonium</i> ) (Solanaceae)	trombeta, figueira brava	Bock et al., 1983
<i>Nicandra physaloides</i> (Solanaceae)	Joá-de-capote	Bock et al., 1978
<i>Solanum nigrum</i> (Solanaceae)	Erva Moura	Bock et al., 1978
<i>Laportea aestuans</i> (Urticaceae)	Urtiga	Rossel et al., 1987



---

*Mandioca e Fruticultura*

MINISTÉRIO DA  
AGRICULTURA



PÁTRIA AMADA  
**BRASIL**  
GOVERNO FEDERAL