

Necrose da Haste da Soja





REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
Luiz Inácio Lula da Silva
Presidente
Roberto Rodrigues
Ministro da Agricultura, Pecuária e Abastecimento



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Conselho de Administração

José Amauri Dimarzio

Presidente

Clayton Campanhola

Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires

Sérgio Fausto

Dietrich Gerhard Quast

Urbano Campos Ribeiral

Membros

Diretoria Executiva da Embrapa

Clayton Campanhola

Diretor-Presidente

Mariza Marilena Tanajura Luz Barbosa

Herbert Cavalcante de Lima

Gustavo Kauark Chianca

Diretores Executivos

Embrapa Soja

Caio Vidor

Chefe Geral

José Renato Bouças Farias

Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Alexandre José Cattelan

Chefe Adjunto de Comunicação e Negócios

Norman Neumaier

Chefe Adjunto de Administração

Exemplares desta publicação podem ser solicitadas a:
Área de Negócios Tecnológicos da Embrapa Soja
Caixa Postal 231 - CEP 86 001-970
Telefone (43) 3371 6000 Fax (43) 3371 6100 Londrina, PR
e-mail: sac@cnpsa.embrapa.br

As informações contidas neste documento somente
poderão ser reproduzidas com a autorização expressa
do Comitê de Publicações da Embrapa Soja



ISSN 1516-781X
Setembro, 2003

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Soja
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos221

Necrose da Haste da Soja

Álvaro M.R. Almeida; Fernanda F. Piuga;
Elliot W. Kitajima; José O. Gaspar; Nilson Va-
lentin;
Luis C. Benato; Silvana R.R. Marin; Eliseu Bin-
neck;
Thalita G. de Oliveira; Priscila Belintani;
Rodrigo A. Guerzoni; José Nunes Jr.;
Laércio Hoffmann; Paulo S. Nora;
Alexandre L. Nepomuceno;
Maurício C. Meyer; Leones A. Almeida

Londrina, PR
2003

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Soja

Rodovia Carlos João Strass - Acesso Orlando Amaral

Caixa Postal 231

86001-970 - Londrina, PR

Fone: (43) 3371-6000

Fax: (43) 3371-6100

Home page: <http://www.cnpso.embrapa.br>

e-mail (sac): sac@cnpso.embrapa.br

Comitê de Publicações da Embrapa Soja

Presidente:	<i>José Renato Bouças Farias</i>
Secretária executiva:	<i>Clara Beatriz Hoffmann-Campo</i>
Membros:	<i>Álvaro Manuel Rodrigues Almeida</i> <i>Geraldo Estevam de Souza Carneiro</i> <i>Ivan Carlos Corso</i> <i>José de Barros França Neto</i> <i>Léo Pires Ferreira</i> <i>Manoel Carlos Bassoi</i> <i>Norman Neumaier</i> <i>Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite</i>
Supervisor editorial:	<i>Odilon Ferreira Saraiva</i>
Normalização bibliográfica:	<i>Ademir Benedito Alves de Lima</i>
Editoração eletrônica:	<i>Neide Makiko Furukawa</i>
Capa:	<i>Danilo Estevão</i>

1ª Edição

1ª impressão 09/2003: tiragem: 1.000 exemplares

Todos os direitos reservados.

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

Necrose da haste da soja / Álvaro M.R. Almeida... [et al.]. – Londrina: Embrapa Soja, 2003.

44p. : il. color. ; 21 cm. – (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 1516-781X; n.221)

1.Soja-Vírus. 2.Doença de planta. 3.Necrose da haste.
I.Almeida, Álvaro M.R. II.Título. III.Série.

CDD 633.3498

© Embrapa 2003

Autores

- Álvaro M.R. Almeida** Engº Agrº, PhD em Fitopatologia
almeida@cnpso.embrapa.br
- Nilson Valentin** Laboratorista
nilson@cnpso.embrapa.br
- Luis C. Benato** Laboratorista
benato@cnpso.embrapa.br
- Silvana R.R. Marin** Laboratorista
silvana@cnpso.embrapa.br
- Alexandre L. Nepomuceno** Engº Agrº, PhD em Fisiologia Vegetal
anepo@cnpso.embrapa.br
- Maurício C. Meyer** Engº Agrº, Doutor em Fitopatologia
mcmeyer@armateus.com.br
- Leones A. Almeida** Engº Agrº, PhD em Genética e Melhoramen-
to
leones@cnpso.embrapa.br
Embrapa Soja
Caixa Postal 231
86001-970 - Londrina, PR
Fone: (43) 3371-6000
Fax: (43) 3371-6100
- Eliseu Binneck** Engº Agrº, Doutor em Bioinformática
bolsista do CNPq
binneck@cnpso.embrapa.br
- Fernanda F. Piuga** Estudante de Farmácia
- Thalita G. de Oliveira** Estudante de Farmácia
UNOPAR
Av. Paris, 675
86041-140 - Londrina, PR

Elliot W. Kitajima

Engº Agrº, Doutor em Fitopatologia
NAP/MEPA, Dpto. de Fitopatologia
ESALQ/USP
Caixa Postal 9
13418-900 - Piracicaba, SP
ewkitaji@carpa.ciagri.usp.br

José O. Gaspar

Biólogo, Doutor em Biologia Vegetal

Priscila Belintani

Engº Agrº, Doutor em Genética
IBILCE, UNESP
São José do Rio Preto, SP

Rodrigo A. Guerzoni

Engº Agrº, MSc em Fitopatologia

José Nunes Jr.

Engº Agrº, Doutor em Fitopatologia
CTPA
Caixa Postal 533
74001-970 - Goiânia, GO

Laércio Hoffmann

Engº Agrº, MSc em Fitopatologia
COODETEC
Caixa Postal 301
85818-660 - Cascavel, PR

Paulo S. Nora

Estudante de Química
Universidade Estadual de Londrina
Depto. de Química
Campus Universitário
86001-970 - Londrina, PR

Apresentação

A Embrapa Soja, ao longo de sua existência, tem procurado desenvolver tecnologias e gerar cultivares de soja que beneficiem os produtores brasileiros.

O sucesso da safra recorde de soja, com uma produção de 47 milhões de toneladas, observada no ano 2002/03, tem grande participação da Embrapa Soja.

Infelizmente, anualmente, problemas bióticos e abióticos têm afetado a produção de vários agricultores.

Dentre os fatores bióticos, as doenças têm-se tornado uma grande preocupação dos pesquisadores, pelas perdas causadas em diferentes regiões do País e por serem constante desafio quanto às medidas de controle e preservação ambiental.

Recentemente, a necrose da haste, de etiologia viral e transmitida pela mosca branca *Bemisia tabaci*, foi constatada no sudoeste de Goiás, com perdas severas entre as cultivares suscetíveis.

Em três anos, o vírus foi disseminado para outras regiões, atingindo campos do Maranhão, do Mato Grosso, da Bahia e do Paraná.

Esta publicação contém informações quanto aos estudos efetuados na identificação e na caracterização do patógeno envolvido com a necrose da haste da soja e quanto às variedades resistentes. Também demonstra a preocupação da Embrapa Soja com os produtores e com a assistência técnica, quanto aos esclarecimentos necessários ao diagnóstico e às medidas de controle.

José Renato Bouças Farias

*Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento
Embrapa Soja*

Sumário

Resumo	9
Abstract.....	10
Introdução.....	12
Estudos etiológicos.....	15
Levantamento da doença e novas ocorrências.....	23
Propriedades do gênero Carlavirus	25
Histórico de virose similar no Brasil.....	31
Variabilidade entre isolados do vírus	32
Determinação de resistência em cultivares de soja.....	33
Considerações finais	38
Agradecimentos	40
Referências bibliográficas	40

Necrose da Haste da Soja

Álvaro M.R. Almeida; Fernanda F. Piuga; Elliot W. Kitajima; José O. Gaspar;
Nilson Valentin; Luis C. Benato; Silvana R.R. Marin; Eliseu Binneck;
Thalita G. de Oliveira; Priscila Belintani; Rodrigo A. Guerzoni; José Nunes Jr.;
Laércio Hoffmann; Paulo S. Nora; Alexandre L. Nepomuceno;
Maurício C. Meyer; Leones A. Almeida

Resumo

O Brasil é o segundo maior produtor de soja do mundo, com área cultivada de 17 milhões de ha e uma produção de 47 milhões de toneladas, em 2002.

A soja é cultivada na faixa de latitude 32°S até a latitude 4°N.

Doenças causadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides são importantes fatores contrários à produção. Na safra 2000/01, plantas de soja com sintomas de nanismo, queima do broto e necrose da haste foram observadas em áreas da região central do Brasil (Goiatuba e Morrinhos, Estado de Goiás). Devido às severas necrose das hastes e morte de plantas, o pensamento inicial foi que o agente etiológico fosse um fungo. Entretanto, análises posteriores mostraram não haver nenhuma associação com esse tipo de organismo. Na safra 2001/02, plantas de soja da cv. Embrapa 63 (Mirador) com os mesmos sintomas, oriundas de Barreiras, Estado da Bahia, foram coletadas e utilizadas em enxertia. Os sintomas apareceram nas plantas enxertadas, cerca de duas a três semanas após, indicando uma possível associação com vírus. Pelo menos, três vírus têm sido associados a sintomas de queima do broto no Brasil e na Argentina. No entanto, estudos recentes com transmissão por mosca branca (*Bemisia tabaci* biotipo B), purificação, sorologia, microscopia eletrônica e estudos moleculares permitiram identificar o vírus como sendo *Cowpea mild mottle virus* - CpMMV, pertencente ao gênero Carlavirus.

Uma nova ocorrência aconteceu em 2002, devastando campos de soja da cv. UFV-19, em diferentes regiões do Estado de Goiás (Acreúna, Quirinópolis e Porteirão). Um levantamento de perdas nessa região mostrou perdas totais em 1000 ha, totalizando prejuízo de aproximadamente 600 mil dólares.

Na safra 2002/03, o vírus foi detectado em Sorriso (MT), Balsas (MA) e novas localidades de Goiás (Goiânia, Luziânia e Vianópolis), além de ter chegado à Palotina, Estado do Paraná.

Desde a primeira ocorrência, o vírus tem aparecido em diferentes áreas produtoras de soja do País. Devido à sua severidade, constitui-se em grande ameaça à produção de soja do Brasil.

Diversas cultivares resistentes já estão disponíveis para cultivo. Devido à seriedade do problema o programa de melhoramento da Embrapa liberará cultivares resistentes.

A doença é denominada necrose da haste da soja.

Abstract

Brazil is the world's second largest soybean (*Glycine max* Merrill) producer producing 47 million tons on 17 million ha in 2002.

Soybean is grown in most of Brazil from 32° latitude South to 4° latitude North. Diseases caused by fungi, bacteria, viruses, and nematodes are important constraints to soybean production. In the 2000/01 season, soybean plants were observed with symptoms of dwarfing and stem necrosis in large areas of Central Brazil (Goiatuba and Morrinhos, State of Goiás). Due to the severe stem necrosis and the death of the plants, the symptoms were initially thought to be caused by a fungal pathogen, however no fungus was consistently associated with the disease. When infected plants were grafted onto the soybean cultivar Embrapa 63 (Mirador), symptoms of mosaic, dwarfing and bud blight

developed within 2-3 weeks indicating a viral pathogen. Stem necrosis is not a common virus symptom, but bud blight has been associated with at least three viruses in Brazil and Argentina.

Recent studies have determined that the virus belongs to the genus *Carlavirus* based on whitefly transmission (*Bemisia tabaci* biotype B), purification characteristics and serology, electron microscopy and molecular studies, and that it is related to the *Cowpea mild mottle virus* (CpMMV).

A new outbreak of the disease occurred again in 2002 devastating soybean fields in different regions of Brazil (Acreúna, Quirinópolis and, Porteirão, State of Goiás). A survey of the regions where a susceptible cultivar UFV 19 was widely planted and later in Barreiras, BA, showed losses of 1,000 ha totaling almost US\$ 600.000,00.

In the season 2001/02, new outbreaks were recorded in Sorriso, State of Mato Grosso; Barreiras, State of Bahia and, Balsas, State of Maranhão. These areas are as much as 2000 km from the previous occurrence. In the season of 2002/03 outbreaks of this disease were identified in Palotina county, located at the southern State of Paraná, and new regions in the State of Goiás (Goiânia, Luziânia and Vianópolis).

Since the first occurrence in 2001, the virus has appeared in different areas and, due to its severity, constitutes a serious treat to soybean farmers in Brazil.

Several resistant cultivars are already available to farmers. Because of the severe threat posed by this disease, Embrapa will only release resistant cultivars.

The disease has been named soybean stem necrosis.

Introdução

O aumento da área cultivada com soja, no Brasil, e a produção dessa leguminosa, têm crescido a cada ano. Na safra 2002/03 foram plantados 17 milhões de ha, com uma produção de 47 milhões de toneladas e uma produtividade média de 2800 kg/ha (CONAB, 2003).

Anualmente, entretanto, têm sido contatadas perdas causadas por doenças em todas as regiões produtoras de soja. Doenças viróticas, devido às suas características próprias, são normalmente, de difícil diagnóstico.

Os sintomas causados por vírus, em plantas, são extremamente variáveis. Mosaicos, com diferentes matizes, cloroses do limbo foliar e de nervuras, lesões necróticas de folhas e hastes e queima do broto, são alguns exemplos. O aparecimento desses sintomas podem ser indicativos de infecção viral. No entanto, há inúmeros relatos desses sintomas causados por fungos e também por ação de agentes, abióticos como fungicidas, herbicidas e inseticidas.

Assim, quando, na safra 2000/01, sintomas de necrose da haste, com seca e morte de plantas de soja, apareceram na região de Morrinhos e Goiatuba, Estado de Goiás, acreditou-se estar frente a uma enfermidade de origem fúngica. Tentativas de isolamento do agente causal foram negativas.

Em agosto de 2001, plantas de soja com queima do broto e necrose de haste foram levadas para observação na Embrapa Soja. Essas plantas da linhagem BABR 98-26640, cultivadas sob irrigação e desenvolvidas em campo de multiplicação de sementes, em Barreiras, Estado da Bahia, apresentavam sintomas de necrose da haste, necrose do pecíolo e curvatura e necrose do broto (Fig. 1 e, 2A e 2B). Nesse campo, algumas plantas apresentavam outros sintomas como nanismo e deformação do limbo foliar, com presença de bolhas (Fig. 3).

Dessa vez, as tentativas de isolamento do agente causal consideraram o envolvimento de vírus, em virtude dos sintomas de queima do broto e mosaico. Os brotos foram enxertados em soja cv. Embrapa 63 (Mirador), observando-se, cerca de duas semanas após, sintomas de necrose



apical, nas brotações novas. Na cv. Coodetec 206, os sintomas caracterizaram-se pela formação de um mosaico denominado mosqueado (“mottling”), com formação de bolhas no limbo foliar, normalmente sem necrose apical. A inoculação mecânica de plantas de soja saudáveis com extrato de plantas infectadas, utilizando solução tampão apropriada, causou o aparecimento dos sintomas em plantas de soja das cv. Embrapa 63 (Mirador), Coodetec 206 e BRS 153, cerca de 12 a 15 dias após a inoculação. O tipo de sintoma e a intensidade de dano à planta de soja variaram com a cultivar. A cv. Embrapa 63 (Mirador) foi mais severamente afetada do que a cv. Coodetec 206. A cv. BRS 153 mostrou leve sintoma de mosaico. Especulou-se, à princípio, que as

diferenças em sintomas poderiam ser característica da cultivar, fato comprovado posteriormente.

Ficava claro que algum vírus deveria estar associado às plantas e provavelmente deveria ser a causa dos sintomas das plantas de soja encontradas em Morrinhos e Goiatuba.

Nos anos seguintes (2002 e 2003), sintomas similares foram constatados nos Estados do Mato Grosso, Maranhão e Paraná.

Os estudos e os trabalhos desenvolvidos na elucidação da etiologia do agente da necrose da haste da soja e a descrição de cultivares resistentes constituem o objetivo desta publicação.

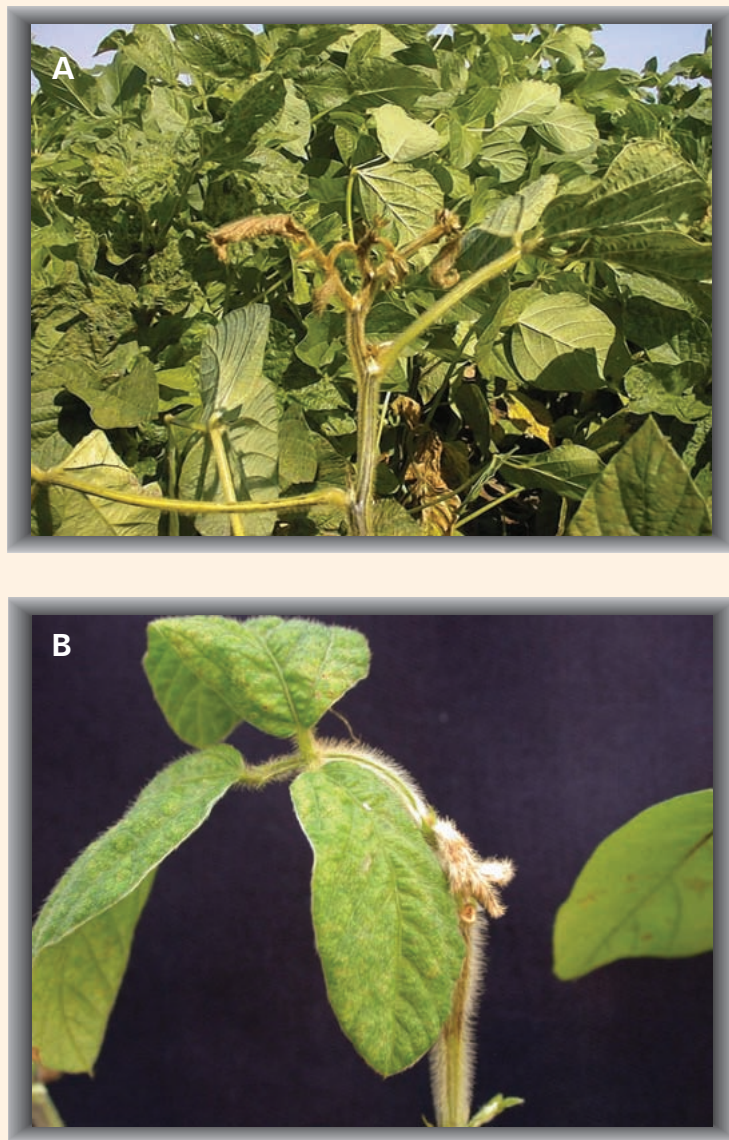


FIG. 2. A - necrose do broto apical; B - topo de planta infectada, mostrando curvatura e queima do broto.



FIG. 3. Nanismo de plantas de soja infectadas. Observar formação de bolhas no limbo foliar.

Estudos etiológicos

A etiologia de um patógeno caracteriza-se principalmente, pelo conhecimento do agente patogênico, do seu mecanismo de transmissão, das condições que favorecem a doença, entre outros. Os sintomas de necrose da haste e de pecíolos, com aparecimento de queima do broto, observados nas plantas, podem ser causados por vírus pertencentes a diferentes gêneros: *Soybean mosaic virus-SMV* (*Potyvirus*), *Tobacco ringspot virus-TRSV* (*Nepovirus*), *Tobacco streak virus-TSV* (*Ilarvirus*), *Cowpea severe mosaic virus-CpSMV* (*Comovirus*) e *Alfalfa mosaic virus-AMV* (*alfamovirus*), (Costa, 1977; Anjos e Lin, 1984; Laguna et al., 1988; Almeida, 1994). O sintoma de queima do broto causado por alguns desses vírus é influenciado pelo genótipo. Por exemplo, as cv. de soja Ogden e Buffalo, quando inoculadas com uma determinada estirpe de SMV, apresentam necrose da haste e queima do broto (Almeida, 1983). Desse modo, a diagnose no campo torna-se difícil e pode levar

a erros na identificação do vírus. Entretanto, aos mais acostumados com esses sintomas, ficou claro que as plantas coletadas na Bahia não eram infectadas pelo TSV. No Brasil, a queima do broto da soja causada pelo TSV (Costa & Carvalho, 1955) ocorre normalmente, entre os 20 e 40 dias após a emergência. No caso da Bahia, as plantas tornaram-se necróticas em poucos dias, normalmente quando estavam no estágio R1 e apresentavam, além de queima do broto, sintomas bastante variáveis, desde plantas anãs (forte redução de crescimento), com folhas encarquilhadas, acompanhadas ou não por necrose da haste e dos pecíolos. A redução de porte era bem diferente da induzida por TSV, a qual é mais severa e induz forte alteração das folhas com redução no tamanho e formato afilado.

O estudo da etiologia foi continuado com a utilização de microscopia eletrônica. Pequenos fragmentos das folhas infectadas, oriundas de Barreiras (BA), foram retirados e os cortes ultra-finos preparados para análise. As fotos mostraram a presença de partículas falcadas, agrupadas na forma de feixes, características de infecção por vírus do grupo *carlavirus* (Fig. 4). A partir dessa informação, procedeu-se à diagnose

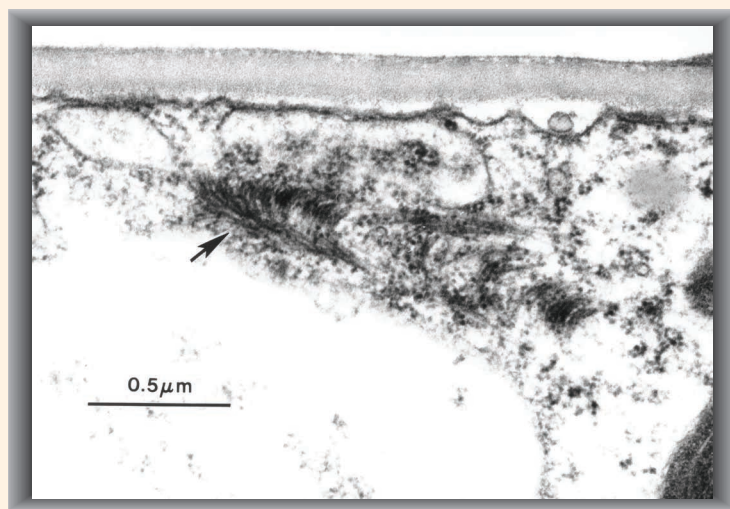


FIG. 4. Agrupamento típico de partículas de vírus, característica do gênero Carla-

utilizando método molecular denominado RT-PCR. Oligonucleotídeos desenhados especificamente para *carlavirus* (Badge et al., 1996) foram utilizados e permitiram a amplificação de uma pequena porção do RNA viral, com tamanho de 120 pb (Fig. 5), a qual, após clonada e sequenciada, foi alinhada e comparada com sequências armazenadas no GenBank. O resultado mostrou que o RNA do vírus causador da necrose da haste da soja apresentou 88,4% de similaridade com o *Cowpea mild mosaic virus* (CpMMV), isolado M, código AF 024629, do GenBank, membro do gênero *Carlavirus*.

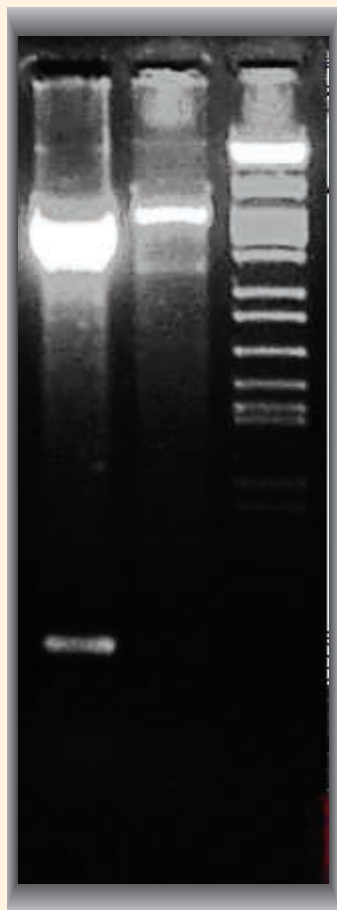


FIG. 5. Amplificação do RNA viral a partir de RT-PCR, com "primers" degenerados, específicos para *carlavirus*. Amostra da esquerda: fragmento de folha infectada com isolado de Barreiras, BA, com peso molecular de 120 pares de bases; Amostra do centro, oriunda de folha sadia. À direita, marcador molecular.

Procurou-se infectar artificialmente, por inoculação mecânica, plantas de diferentes espécies botânicas. O extrato de plantas infectadas foi obtido com tampão, com pH e molaridade apropriados. Os resultados mostraram que entre as espécies testadas o vírus possui estreita gama de plantas hospedeiras (Tabela 1).

Testes de transmissão por insetos foram feitos através de pulgões e moscas brancas. No caso de pulgões utilizaram-se as espécies *Uroleucon ambrosiae* e *Myzus persicae*. Insetos avirulíferos, mantidos em telado, foram submetidos a jejum por 3 h e, a seguir, separados em dois grupos com acesso à folha de soja infectada, por 5 e 30 min. Os insetos, após o período de aquisição, foram transferidos para plantas de soja cv. Embrapa 63 (Mirador). Cerca de 24 h após, os insetos foram mortos com aplicação de inseticida e as plantas mantidas em casa de vegetação. A avaliação visual de sintomas, feita duas e quatro semanas após a inoculação, foi negativa.

No caso de moscas brancas, utilizou-se a espécie *Bemisia tabaci* biotipo B (= *B. argentifolii* Bellows & Perring), coletadas em plantas de feijão, mantidas em telados e sabidamente livres de vírus. As moscas foram mantidas em plantas de soja infectadas por 18-24 h e depois transferidas para plantas sadias. Os sintomas apareceram nas folhas mais novas, cerca de 10-12 dias após a inoculação. Inicialmente, as folhas apresentavam clareamento de nervuras, seguindo-se aparecimento de mosaico, o qual se tornava forte, com formação de bolhas no limbo foliar. Em outros casos, as folhas com mosaico apresentavam pequenas manchas necróticas, evoluindo para necrose apical e da haste. O broto da planta infectada normalmente curva para baixo e necrosa.

Plantas coletadas no campo podem exibir a haste parcial ou totalmente necrosada. Corte longitudinal da haste pode mostrar a medula com pontos necróticos na junção do pecíolo necrosado (Fig. 6) ou escurecimento total da medula (Fig. 7).

Foi feito teste de transmissão por sementes, utilizando 1885 sementes colhidas de plantas da cv. Embrapa 63 (Mirador), previamente infectadas mecânicamente. As sementes colhidas foram semeadas

TABELA 1. Reação de espécies botânicas infectadas pelo vírus da necrose da haste da soja (*Cowpea mild mottle virus*-CpMMV).

Família	Espécie	Reação*
Amaranthaceae	<i>Amaranthus</i> sp.	–
	<i>Gomphrena globosa</i>	–
Asteraceae	<i>Helianthus annuus annuus</i>	–
	<i>Emilia sonchifolia</i>	–
	<i>Bidens pilosa</i>	–
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium amaranticolor</i>	LLN
	<i>Chenopodium quinoa</i>	–
	<i>Chenopodium murale</i>	–
Cucurbitaceae	<i>Cucurbita pepo</i> cv. 'Caserta'	–
Fabaceae	<i>Glycine max</i>	–
	cv. Santa Rosa	–
	cv. Davis	NS
	cv. FT-10	Mo/NS
	cv. Embrapa 63 (Mirador)	NS/Mo
	cv. CD 206	Mo
	cv. Embrapa 133	–
	cv. BRSMT Pintado	–
	cv. UFV 19	NS
	<i>Phaseolus vulgaris</i>	–
	cv. Rosinha	–
	cv. Carioca	–
	cv. Jalo	ML/E
	cv. Manteiga	ML/E
	cv. Tibagi	–
	<i>Lupinus albus</i>	–
	<i>Crotalaria striata</i>	–
<i>C. mucronata</i>	–	
<i>C. spectabilis</i>	–	
<i>Vigna unguiculata</i> cv. Blackeye	–	
<i>Arachis hypogea</i>	MF	
		Continua...

Família	Espécie	Reação*
...Continuação Tabela 1		
Gramineae	<i>Zea mays</i>	–
Labiatae	<i>Ocimum basilicum</i>	–
Pedaliaceae	<i>Sesamun indicum</i>	–
Solanaceae	<i>Lycopersicom esculentum</i>	–
	<i>Nicotiana tabacum</i> 'Sansun NN'	–
	<i>N. glutinosa</i>	–
	<i>N. benthamiana</i>	–
	<i>N. debneyi</i>	–
	<i>Datura stramonium</i>	–

* NS = necrose sistêmica; Mo = mosqueado; M = mosaico; ML = mosaico leve; MF = mosaico forte com bolhas; LLN = lesão local necrótica; E = encarquilhamento; – = sem sintoma.



FIG. 6. Necrose parcial de medula em haste localizada junto à inserção de folha infec-



FIG. 7. Necrose total de medula de haste de planta infectada.

em bandejas com solo esterilizado por solarização. Avaliações feitas aos 14 e 28 dias após semeadura não detectaram nenhuma planta sintomática.

O vírus foi parcialmente purificado, a partir de feijoeiro 'Jalo' utilizando metodologia descrita por Gaspar & Costa (1993). Dessa preparação, determinaram-se a massa molecular da proteína capsial e o tamanho médio das partículas. A massa molecular foi estimada em gel de poliacrilamida, com 3,5% no gel empilhador e 12% no gel de resolução, adicionando-se SDS (dodecil sulfato de sódio). Após eletroforese por 2 h a 120 V, à temperatura ambiente, o gel foi corado em solução de "comassie blue" e a massa da proteína foi estimada com o auxílio de marcadores com massa conhecida. O valor determinado, 29.12 ± 0.85 kDa (Fig. 8), foi similar àqueles descritos para o gênero *Carlavirus*. O tamanho de partículas foi determinado por microscopia eletrônica, mostrando partículas com 15 nm de diâmetro e comprimento variável de 600 a 700 nm (Fig. 9).

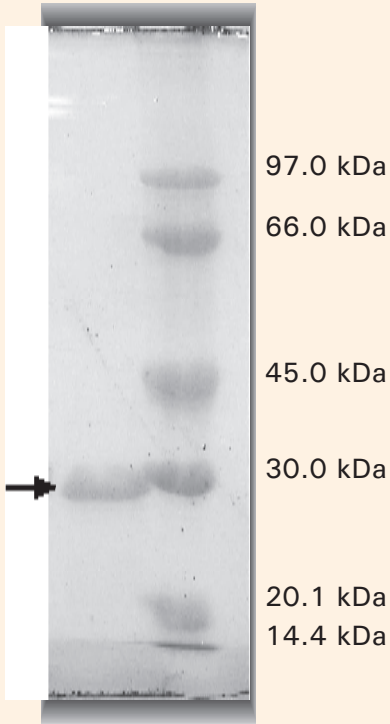


FIG. 8. Perfil eletroforético do *Cowpea mild mottle virus* isolado de soja. M = marcador para estimar a massa da proteína capsial (29KDa).



FIG. 9. Fotomicrografia de partícula de vírus. Barra = 120 nm.

A identificação do vírus foi também auxiliada por imunoadsorção em microscopia eletrônica (Immunosorbent electron microscope - ISEM) utilizando-se antissoro produzido contra CpMMV (fornecido pelo Dr. M. Iwaki, Japão). A Figura 10 mostra as partículas decoradas.

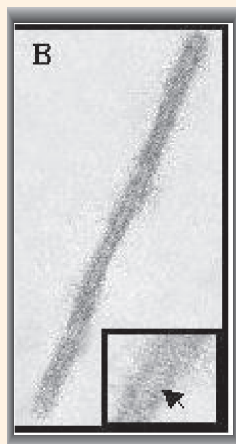


FIG. 10. Partícula de vírus após tratamento com antissoro preparado contra CpMMV. Observar no detalhe as moléculas de anticorpos aderidas à partícula de vírus. Barra = 120 nm.

Levantamento da doença e novas ocorrências

A associação dos sintomas observados nas plantas de soja em Barreiras, BA, com a infecção viral, favoreceu o diagnóstico, em outros locais. Assim, quando da solicitação para visitar campos de soja da cv. UFV-19 localizadas no sudoeste do Estado de Goiás, em fevereiro de 2002, com sintomas de necrose da haste e forte redução de desenvolvimento vegetativo, a associação foi imediata pois os sintomas eram similares àqueles observados em Barreiras no ano de 2001. A visita a outros campos de soja na região, especialmente nos municípios de Quirinópolis, Acreúna, Porteirão e Goiatuba (GO), permitiram observar sintomas mais severos (Fig. 11). Em algumas plantas observou-se nas vagens a presença de lesões necróticas escuras, restritas à epiderme e similares àquelas causadas por antracnose (Fig. 12). Esse sintoma foi confirmado em plantas infectadas em casa de vegetação. Apenas nos locais visitados, as áreas com perda total devido à virose atingiram



FIG. 11. Sintomas de plantas de soja mortas no campo.



FIG. 12. Lesões necróticas desenvolvidas na epiderme de vagens de soja.

mais de 300 ha. À época da visita, a população de mosca branca era baixa. No entanto, os relatos dos produtores foram de que a população fora alta, anteriormente. As amostras de plantas infectadas coletadas nesses locais foram utilizadas em testes biológicos e moleculares, permitindo associar a etiologia viral de carlavírus aos sintomas observados. Na Figura 5, podem-se observar as amostras de RNA viral, correspondentes às coletas de ambas as regiões (Barreiras, BA e Acreúna, GO) amplificadas pela reação em cadeia de polimerase, com transcriptase reversa. Ainda nesse mesmo ano, constatou-se a presença da doença em Sorriso (MT) e Balsas (MA).

No ano seguinte, safra 2002/03, a doença foi constatada em outras regiões produtoras do Brasil, mostrando que o vírus continua a ser disseminado: Luziânia, Goiânia e Vianópolis (GO), e Palotina (PR) (Hoffmann et al., 2003). Um resumo do histórico da doença e do avanço de disseminação no Brasil pode ser visto na Figura 13.

A anomalia também foi constatada na safra 2000/01 pelos Eng. Agrônomos M.N. Matsumoto e J.L. Alberini, em Morrinhos, GO e Goiatuba, GO, respectivamente.

Propriedades do gênero *Carlavirus*

Os carlavirus foram assim denominados por Harrison et al. (1971), indicando como membro-tipo o *Carnation latent virus* - CLV. Os vírus pertencentes ao gênero *Carlavirus* caracterizam-se por possuírem partículas com RNA monopartido, de fita única e com peso molecular variando de $2,3$ a $3,0 \times 10^6$ (6,4 - 8,6Kb), sendo que o conteúdo de RNA varia de 5% a 8,5%, entre espécies desse gênero (Van Regenmortel, 2000). A massa molecular da proteína capsidial, estimada por eletroforese em gel desnaturante de SDS-poliacrilamida, varia de 31 kDa a 39 kDa (Brunt & Kenten, 1973; Gaspar & Costa, 1993; Van Regenmortel, 2000; Cohen et al., 2003).

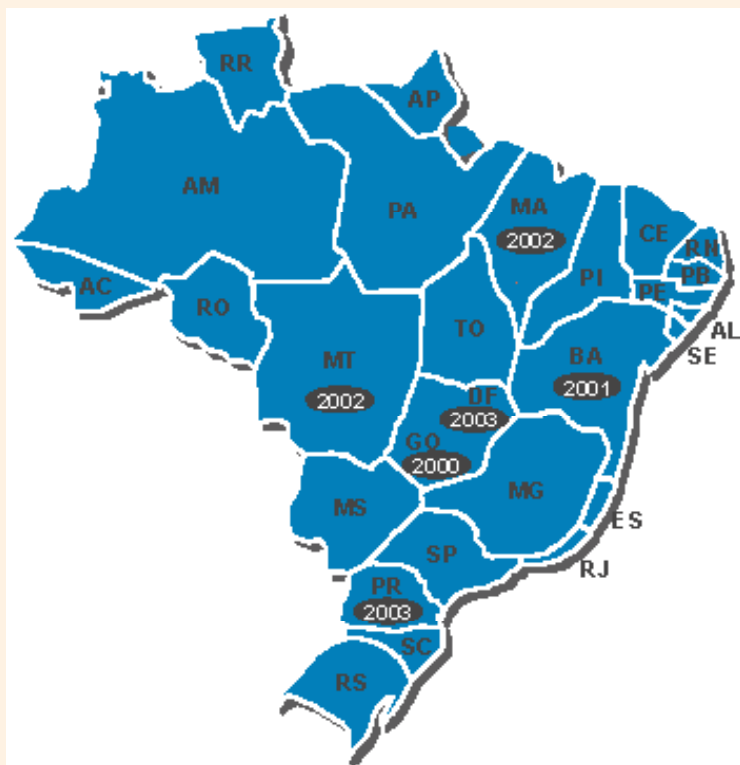


FIG. 13. Disseminação do vírus da necrose da haste desde sua descoberta no Brasil.

A densidade do vírion em cloreto de céσιο é variável de 1,28 a 1,33 g/cm³ (<http://ictvdb.bio2.columbia.edu/ICTVdB/index.htm>). As partículas alongadas, flexuosas, medem 10-15 nm de diâmetro e 610-700 nm de comprimento (Weter & Milne, 1981; Iwaki et al., 1982). A partir de dados para a massa molecular da proteína e conteúdo de ácido nucleico, foi estimado o peso molecular da partícula em 50-60 x 10⁶ Da, o que indica que cada partícula contém cerca de 1600 a 1800 subunidades proteicas. Estas partículas possuem coeficiente de sedimentação entre 157 S e 172 S, sendo que seu coeficiente de extinção varia de 2,1 a 2,3 (Wetter & Milne, 1981).

A seqüência parcial de nucleotídeos da extremidade 3' do RNA genômico foi determinada para várias espécies do gênero, tais como *Potato virus M* - PVM, *Potato virus S* - PVS, *Lily symptomless virus* - LSV, *Helenium virus S* - HelVS, CLV, *Cactus virus B* - CVB, *Poplar mosaic virus* - PopMV, *Garlic virus 1*- GV1 e CpMMV. A seqüência completa dos nucleotídeos foi determinada para algumas espécies como o PVM (Zavriev et al., 1991), *Blueberry Scorch virus* - BBScV (Cavileer et al., 1994) e *Aconitum latent virus* - AcLV (Fuji et al., 2002) que possuem, respectivamente, 8534, 8514 e 8657 nucleotídeos, excluindo a seqüência poli(A).

O conhecimento sobre a seqüência de nucleotídeos e conseqüentemente da estrutura do genoma possibilita uma melhor compreensão e inferência sobre as estratégias utilizadas na replicação viral. Assim, a análise das seqüências completas de PVM, BBScV e AcLV-D permitiu identificar seis fases abertas de leitura (Open Reading Frames- ORFs) que codificam proteínas com as seguintes massas moleculares, para o BBScV: 5'-223 KDa- 25 KDa- 12 KDa- 7 KDa- 34 kDa- 11 KDa-3' e para o PVM: 5'-223 KDa- 25 KDa- 11 KDa- 7 KDa- 33 KDa- 16 KDa-3'.

O modo de replicação dos carlavirus em suas plantas hospedeiras ainda não é completamente conhecido. Até o momento, apenas a estratégia de produção de RNAs subgenômicos foi confirmada na tradução dos *Carlavirus*, notadamente das proteínas codificadas pelas ORFs 3'-terminal. A autoproteólise e produção de proteínas "transframe" vêm sendo estudadas e, possivelmente, também fazem parte da estratégia de replicação viral (Foster, 1992, Gramstat et al., 1994). Um possível modo de replicação pode ser visualizado na Figura 14.

O genoma dos *Carlavirus* está organizado em três agrupamentos de genes espaçados por pequenas regiões intergênicas, além das regiões não codificadoras nos terminais 5' e 3' que apresentam, em suas extremidades, respectivamente as estruturas de "Cap" e poli(A).

O primeiro agrupamento 5'-terminal referente à fase aberta de leitura 1 (Open Reading Frame 1) codifica uma grande proteína com domínios

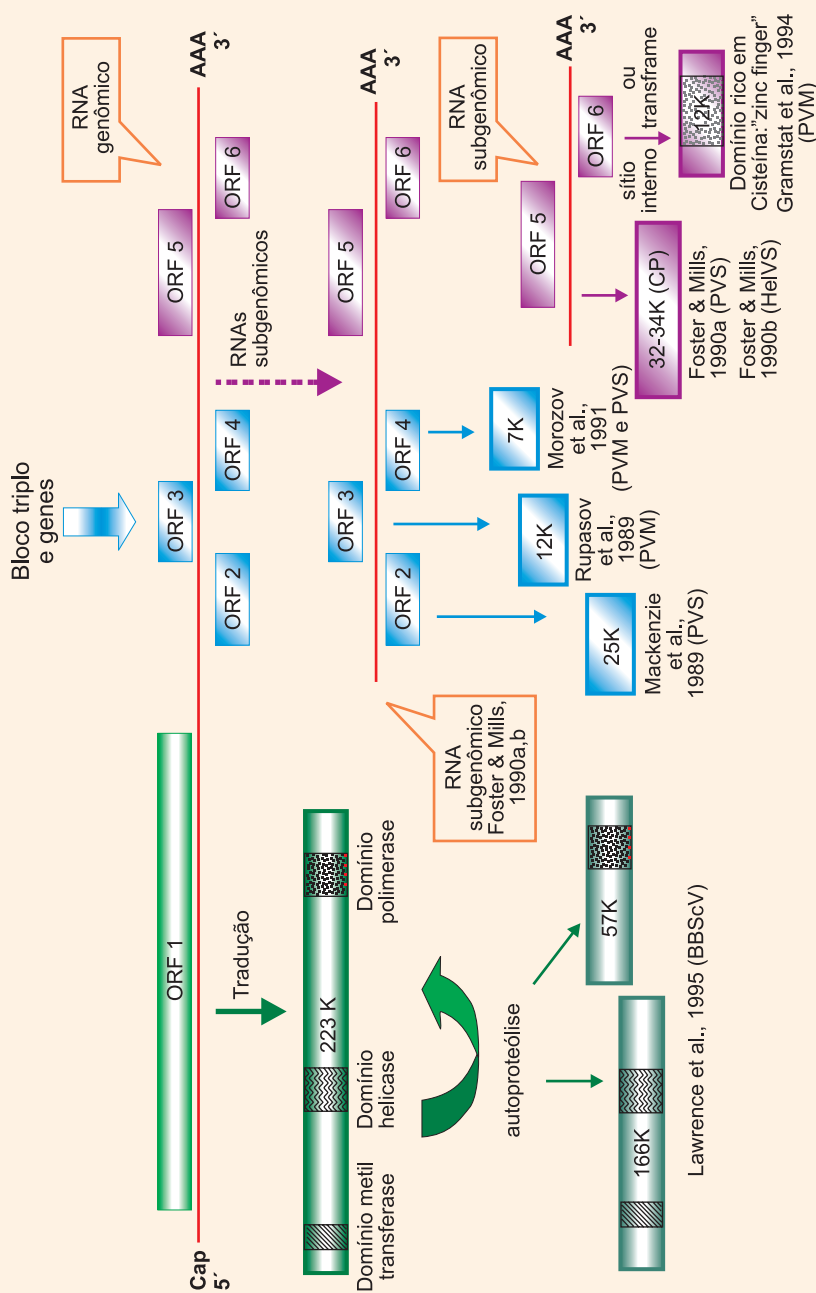


FIG. 14. Organização do genoma dos carlavirus e possíveis proteínas codificadas conforme dados obtidos para os vírus BBScV (Lawrence et al., 1995), PVM (Gramstat et al., 1994, Rupasov et al., 1989; Morozov et al., 1991), PVS (Mackenzie et al., 1989; Foster & Mills, 1990a) e HelVS (Foster & Mills, 1990b). As massas moleculares para as proteínas podem variar conforme às espécies do gênero.

específicos para as funções de ligação à nucleotídeos tri-fosfato NTP, helicase e polimerase (replicase). O segundo agrupamento, o “bloco triplo de genes” (ORF 2, ORF 3 e ORF 4) possui capacidade codificadora para três proteínas e apresentam homologia com o genoma de outros gêneros como os *Hordeivirus*, *Furovirus* e *Potexvirus* (Morozov et al., 1991). O terceiro conjunto (ORF 5 e ORF 6) codifica a proteína capsidial e uma proteína 3'-terminal de função ainda desconhecida.

A maioria dos *carlavírus* é transmitida por pulgões de maneira não persistente (Harrison et al., 1971) e também por mosca branca (Muniyapa & Reddy, 1983).

A inclusão do CpMMV no gênero *Carlavirus* foi sugerida a partir do trabalho de Iwaki et al. (1982) ao constatarem que algumas propriedades do CpMMV, isolado na Tailândia, em 1979, eram similares àquelas descritas para os vírus desse gênero. No entanto, uma grande diferença foi apresentada pelos autores, ao constatarem que o isolado da Tailândia, sorologicamente relacionado com o CpMMV descrito na África (Brunt & Kenten, 1973), era transmitido por mosca branca (*Bemisia tabaci*), um fato novo e considerado de extrema importância na disseminação do vírus.

Neste estudo, a identificação da espécie de mosca branca utilizada foi determinada segundo Martinez et al. (2000), a partir de reação de RAPD, utilizando “primer” OPH-16 (De Barro & Driver, 1997). As amplificações submetidas a eletroforese foram comparadas aos perfís eletro-foréticos de Martinez et al. (2000) comprovando a presença de bandas específicas da espécie *B. tabaci* biotipo B (Fig. 15).

Uma segunda e forte evidência de que o CpMMV era um carlavírus partiu do trabalho de Badge et al. (1996), ao constatarem que além de algumas das propriedades físico-químicas desse vírus serem similares àquelas do gênero *Carlavirus*, havia também uma evidência molecular. Os autores sequenciaram parte do RNA viral, constatando que uma porção da região terminal 3', com 958 nucleotídeos, continha sequência similar àquelas mencionadas para carlavírus.

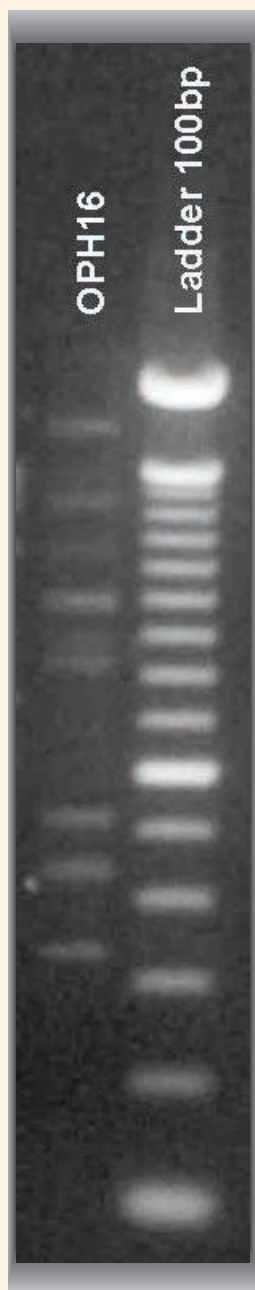


FIG. 15. Perfil eletroforético de DNA de mosca branca amplificado com "primer" OHP-16. Bandas amplificadas têm peso molecular de 320 pb e 440 pb, características de *B. tabaci* biotipo B.

A primeira constatação do CpMMV em soja foi feita por Brunt & Phillips (1977), citado por Iwaki et al. (1982), na Tailândia, sendo mais tarde determinada sua transmissão por mosca branca (Iwaki et al., 1982).

Um fato importante para a sojicultura brasileira, com relação a esse vírus, foi descrito por Thouvenel et al. (1982) ao determinarem que o CpMMV foi transmitido por sementes de soja das cultivares Santa Rosa e Júpter, coletadas em plantas infectadas.

O CpMMV é capaz de infectar 46 espécies botânicas, pertencentes a 10 famílias. Nessas famílias, 19 espécies são leguminosas (Edwardson & Christie, 1986).

Histórico de virose similar no Brasil

A constatação de que o vírus identificado em soja era semelhante ao CpMMV permitiu uma associação com um vírus isolado no Brasil, a partir de plantas de feijoeiro 'Jalo'. Em 1979, Costa et al. (1980) isolaram um vírus, do feijoeiro 'Jalo', o qual foi transmitido por mosca branca e causava um sintoma denominado mosaico angular (Fig. 16). O vírus apresentava partículas alongadas de 650 nm, ocorrendo no citoplasma de células do parênquima foliar. Alguns anos mais tarde, Costa et al. (1983) observaram que isolados coletados desse vírus em Capão Bonito (SP) e Londrina (PR) infectavam outras leguminosas, inclusive a soja, sendo a virose denominada mosaico angular do feijoeiro (*Bean angular mosaic virus*-BAMV).

Estudos de relacionamento sorológico (Gaspar et al., 1985) mostraram que o BAMV foi idêntico ao vírus do mosqueado fraco do caupi (*Cowpea mild mottle virus* -CpMMV) descrito em soja e em outras espécies vegetais em Gana (Brunt & Kenten, 1973), Nigéria (Brunt & Phillips, 1981), Tailândia (Iwaki et al., 1982) e Costa do Marfim (Thouvenel et al., 1982).



FIG. 16. Sintomas causados pelo vírus da necrose da haste da soja, em feijão

Variabilidade entre isolados do vírus

Atualmente, 13 isolados do vírus da necrose da haste, coletados em diferentes locais do país são mantidos em casa de vegetação. Ao se inocular diversos genótipos de soja com esses isolados, observou-se que as reações a um mesmo isolado diferia de acordo com o genótipo. Cada isolado foi inoculado em 25-30 plantas das cv. CD 206, Embrapa 63 (Mirador) e BRS 153. A escolha desses genótipos deu-se devido a observações anteriores em casa de vegetação. Dez dias após a primeira inoculação todas as plantas foram re-inoculadas. Aos 15 e 30 dias após a segunda inoculação procedeu-se à avaliação para obtenção do índice de severidade (IS):

$IS = (n_1 + 2.n_2 + 3.n_3) \cdot 100 / 3.N$, onde n_i = número de plantas em cada nível de severidade; N = número total de plantas inoculadas. Os níveis

de severidade estabelecidos foram: 1 = plantas com leve sintoma de mosaico, folhas não deformadas; 2 = plantas com mosaico evidente e folhas deformadas; 3 = plantas com nanismo e/ou com necrose da haste.

Os índices de severidade obtidos demonstram que os isolados podem variar quanto a essa característica (Tabela 2). O isolado de Goiatuba foi o mais severo, seguido de um isolado de Barreiras e Sorriso. De igual modo, certas variedades são mais afetadas do que outras.

TABELA 2. Índice de severidade de diferentes isolados do vírus da necrose da haste, de diferentes regiões do Brasil, inoculados em três cultivares de soja.

Isolado/Local	Cultivares			Média
	CD 206	BRS 153	Embrapa 63 (Mirador)	
Goiatuba	69,44	39,22	54,55	54,40
Sorriso-1	40,58	23,81	41,67	35,35
Barreiras-1	61,11	41,67	50,00	50,93
Montividiu	37,04	13,33	33,33	27,90
Barreiras-2	50,72	17,54	43,06	37,11
Barreiras-3	40,00	21,05	42,42	34,49
Palotina	46,67	41,67	41,67	43,33
Senador Canedo	52,38	30,00	40,00	40,79
Sorriso-2	33,33	28,33	36,67	33,89

Determinação de resistência em cultivares de soja

Observações visuais nos diferentes locais visitados no sudoeste de Goiás, no Mato Grosso, na Bahia e no Paraná mostraram que havia diferenças quanto à suscetibilidade entre as cultivares de soja (Fig. 17). Essa observação estimulou a imediata avaliação das reações dos genótipos recomendados para cultivo no Brasil.



FIG. 17. Vista de campo de soja infectada com o vírus da necrose da haste. À esquerda, cv. Conquista, resistente; à direita, cv. UFV-19, suscetível.

Trinta plantas de cada genótipo foram semeadas e inoculadas mecanicamente com tampão apropriado. Os resultados de dois testes permitiram identificar as cultivares resistentes e suscetíveis à necrose da haste da soja, para as diferentes regiões geográficas onde essa cultura é cultivada (Tabela 3).

Entretanto, como essa virose e seus efeitos econômicos eram desconhecidos no Brasil, o desenvolvimento de cultivares de soja não consideravam a seleção para a resistência como um fator importante na geração de cultivares. Conseqüentemente, muitos genótipos apresentam plantas suscetíveis e resistentes. Convencionalmente, genótipos com até 15% de plantas suscetíveis, foram considerados, na avaliação, desuniformes. Todos aqueles com valores superiores foram considerados suscetíveis. Assim, nas avaliações foram encontrados genótipos resistentes, suscetíveis e desuniformes (Tabela 3). Do total de 174 cv. avaliados, 26,44% foram considerados resistentes; 41,37% foram desuniformes e, 32,18% foram suscetíveis. Os cv. considerados desuniformes não devem afetar

TABELA 3. Reação de cultivares de soja à infecção pelo vírus da necrose da haste da soja. R= resistente; S= suscetível; D = população desuniforme quanto à resistência (até 15% de plantas suscetíveis).

BA/BR 31	R	BR 35 (Rio Balsas)	D
BR 1	D	BR 36	D
BR 2	R	BR 37	D
BR 3	S	BR 38	D
BR 4	S	BR 40 (Itiquira)	R
BR 5	D	BR/Emgopa 312 (Potiguar)	R
BR 6 (Nova Bragg)	D	BR/Emgopa 314 (Garça Branca)	D
BR 7	D	BR/IAC 21	R
BR 8 (Pelotas)	D	BRS 65	R
BR 9 (Savana)	D	BRS 66	R
BR 10 (Terezina)	R	BRS 132	S
BR 11 (Carajás)	D	BRS 133	R
BR 12	S	BRS 134	R
BR 13 (Maravilha)	S	BRS 135	R
BR 14 (Modelo)	S	BRS 136	R
BR 15 (Mato Grosso)	D	BRS 137	R
BR 16	R	BRS 138	D
BR 23	R	BRS 153	S
BR 24	R	BRS 154	D
BR 27 (Cariri)	R	BRS 155	S
BR 28 (Seridó)	R	BRS 156	S
BR 29 (Londrina)	R	BRS 157	D
BR 30	R	BRS 181	R
BR 32	D	BRS 182	D

Continua...

...Continuação Tabela 3

BRS 183	S	BRS Gralha	S
BRS 184	R	BRS Jiripoca	R
BRS 185	D	BRS Juçara	S
BRS 205	D	BRS Milena	R
BRS 206	D	BRS Nova Savana	D
BRS 211	S	BRS Pétala	S
BRS 212	S	BRS Piraíba	S
BRS 213	S	BRS Pirarara	S
BRS 214	R	BRS Rosa	D
BRS 215	R	BRS Sambaíba	D
BRS 216	S	BRS Seleta	S
BRS 217	R	BRS Tambaqui	S
BRS 218	S	BRS Tracajá	D
BRS 219	R	BRSGO 204	S
BRS 230	R	BRSGO Bela Vista	S
BRS 231	R	BRSGO Caiapônia	R
BRS 232	R	BRSGO Catalão	R
BRS 233	D	BRSGO Goiatuba	D
BRS Anhumas	S	BRSGO Jataí	D
BRS Apiakás	S	BRSGO Luiziana	S
BRS Aurora	S	BRSGO Paraíso	S
BRS Babaçú	D	BRSGO Santa Cruz	D
BRS Barreiras	D	BRSMMA Parnaíba	D
BRS Bororo	D	BRSMMA Pati	D
BRS Carla	D	BRSMMA Seridó RCH	S
BRS Celeste	D	BRSMG 68	S
BRS Curicaca	S	BRSMG Confiança	S

Continua...

...Continuação Tabela 3			
BRSMG Garantia	D	Embrapa 5	D
BRSMG Liderança	D	Embrapa 9 (Bays)	D
BRSMG Nova Fronteira	S	Embrapa 19	S
BRSMG Renascença	S	Embrapa 20 (Doko RC)	D
BRSMG Segurança	S	Embrapa 25	R
BRSMG Virtuosa	S	Embrapa 26	D
BRSMS Acará	S	Embrapa 30 (Valo do Rio Doce)	S
BRSMS Apaiari	S	Embrapa 31 (Mina)	S
BRSMS Bacuri	R	Embrapa 32 (Itaquí)	S
BRSMS Carandá	D	Embrapa 33 (Cariri RC)	D
BRSMS Curimatá	D	Embrapa 34 (Teresina RC)	D
BRSMS Lambari	D	Embrapa 46	S
BRSMS Mandi	R	Embrapa 47	S
BRSMS Piapara	D	Embrapa 48	D
BRSMS Piracanjuba	R	Embrapa 58	R
BRSMS Piraputanga	S	Embrapa 59	R
BRSMS Sauá	R	Embrapa 60	S
BRSMS Surubi	R	Embrapa 61	R
BRSMS Taquari	D	Embrapa 62	D
BRSMS Tuiuiú	D	Embrapa 63 (Mirador)	S
BRSMT Crixás	R	Embrapa 64 (Ponta Porã)	D
BRSMT Pintado	R	MG/BR 22 (Garimpo)	S
BRSMT Uirapuru	R	MG/BR 42 (Kage)	D
Embrapa 1 (IAS 5 RC)	R	MG/BR 46 (Conquista)	D
Embrapa 2	S	MG/BR 48 (Garimpo RCH)	R
Embrapa 3	D	MS/BR 17 (São Gabriel)	D
Embrapa 4 (BR 4 RC)	S	MS/BR 18 (Guavira)	R

Continua...

...Continuação Tabela 3			
MS/BR 19 (São Gabriel)	S	MT/BR 47 (Canário)	D
MS/BR 20 (Ipê)	D	MT/BR 49 (Pioneira)	R
MS/BR 21 (Buriti)	S	MT/BR 50 (Parecis)	D
MS/BR 34 (Empaer 10)	D	MT/BR 51 (Xingu)	D
MS/BR 39 (Chapadão)	D	MT/BR 52 (Curió)	D
MT/BR 45 (Paiaguás)	D	MT/BR 53 (Tucano)	D

a produtividade, no campo. No entanto, as plantas infectadas servirão como fonte de inóculo para cultivares suscetíveis.

Considerações finais

Os resultados das pesquisas conduzidas na Embrapa Soja mostram que:

1. o vírus coletado nos Estados de Goiás, Mato Grosso, Maranhão, Bahia e Paraná pertence ao gênero *Carlavirus*, sendo transmitido por mosca branca (*Bemisia tabaci* biótipo B) e é similar ao CpMMV e ao *Bean angular mosaic virus* (BAMV), descrito no Brasil;
2. utilizando-se oligonucleotídeos desenhados para carlavlrus, foi possível amplificar parte do genoma com tamanho de 120 pb, semelhante àquele citado para membros do gênero *Carlavirus*;
3. a sequência de nucleotídeos encontrada foi similar àquela descrita para o CpMMV, apresentando 88,4 % de similaridade;
4. fotomicrografias em microscópio eletrônico mostraram a presença de partículas falcadas, em feixes, no citoplasma e partículas alongadas flexíveis com 650-700 nm de comprimento;

5. o vírus não foi transmitido por sementes de plantas infectadas da cv. Embrapa 63 (Mirador), mas Thouvenel et al. (1982) descreveram que sementes de soja das cv. Santa Rosa e Júpiter transmitiram o CpMMV. O isolado brasileiro, não infecta a cv. Santa Rosa;
6. devido aos sintomas apresentados pelas plantas, denominou-se essa doença como necrose da haste da soja.

A constatação da presença desse vírus em soja, no Brasil, é preocupante por vários aspectos:

1. nas lavouras de cultivares suscetíveis as perdas nunca foram inferiores a 85% e em vários campos houve morte de plantas com perda total;
2. desde o aparecimento, em 2000, a virose foi disseminada rapidamente e em algumas regiões, tornou-se endêmica;
3. vírus similar, identificado anteriormente em feijão (Costa et al., 1983) não causou perdas severas em soja, indicando que provavelmente este novo isolado é potencialmente mais prejudicial à soja;
4. o vírus, à semelhança do relato de Costa et al. (1983), é transmitido por mosca branca, inseto de ocorrência generalizada em lavouras de soja e outras espécies vegetais e cujo controle químico é difícil; além disso, a maneira de transmissão não persistente (Muniyappa & Reddy, 1983) favorece a disseminação nos campos de soja;
5. os estudos conduzidos, permitiram avaliar a reação da maioria das cultivares de soja da Embrapa recomendadas para as diversas regiões do País;
6. os resultados aqui apresentados permitem ao produtor escolher as cultivares resistentes, adequadas à sua região, onde o problema já se manifestou.

Agradecimentos

Os autores expressam seus agradecimentos aos Drs. Léo P. Ferreira, Geraldo E. de Souza Carneiro e Regina M.V.B. de Campos Leite pela análise crítica e sugestões.

Referências bibliográficas

ALMEIDA, A.M.R. Distribuição e prevalência de estirpes do vírus do mosaico comum da soja no Estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, v.8, p.349-352, 1983.

ALMEIDA, A.M.R. Virus diseases. In: EMBRAPA. National Soybean Research Center. **Tropical soybean: improvement and production**. Rome: FAO, 1994. p.65-74. (FAO. Plant Production and Protection Series, 27).

ALMEIDA, A.M.R.; FERREIRA, L.P.; HENNING, A.A.; VELOSO, J.F.S.; YORINORI, J.T. Doenças da soja. In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Ceres, 1997. p.642-664.

ANJOS, J.R.N.; LIN, M.T. Bud blight of soybeans caused by cowpea severe mosaic virus in central Brazil. **Plant Disease**, v.68, p.405-407, 1984.

BADGE, J.; BRUNT, A.; DAGLESS, E.; KARAMAGIOLI, M.; PHILLIPS, S.; SEAL, S.; TURNER, R.; FOSTER, G.D. A carlavírus-specific PCR primer and partial nucleotide sequence provides further evidence for the recognition of cowpea mild mottle virus as a whitefly-transmitted carlavirus. **European Journal of Plant Pathology**, v.102, p.305-310, 1996.

BRUNT, A.A.; KENTEN, R.H. Cowpea mild mottle, a newly recognized virus infecting Cowpea (*Vigna unguiculata*) in Ghana. **Annals of Applied Biology**, v.74, p.67-74, 1973.

BRUNT, A.A.; PHILLIPS, S. Fuzzy vein: a disease of tomato in Western Nigeria induced by cowpea mild mottle virus. **Tropical Agriculture**, v.58, n.2, p.177-180, 1981.

CAVILEER, T.D.; HALPERN, B.T.; LAWRENCE, D M.; PODLECKIS, E.V.; MARTIN, R.R.; HILLMAN, B.I. Nucleotide sequence of the carlavirus associated with blueberry scorch and similar diseases. **Journal of General Virology**, v.75, p.711-720, 1994.

COHEN, J.; ZEIDAN, M.; FEIGELSON, L.; NASLEININ, L.; ROSNER, A.; GERA, A. Characterization of a distinct carlavirus isolated from Verbena. **Archives of Virology**, v.148, p.1007-1015, 2003.

CONAB. **Previsão e acompanhamento da safra 2002/2003**: sexto levantamento agosto/2003. Disponível em: < <http://www.conab.gov.br/download/safra/safra20022003Lev06.pdf> >. Acesso em: 10 set. 2003.

COSTA, A.S.; CARVALHO, A.M.B. Studies on Brazilian tobacco streak. **Journal of Phytopathology**, v.42, p.113-138, 1955.

COSTA, A.S. Investigações sobre moléstias da soja no estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v.3, n., p.3-30,1977.

COSTA, A.S.; GASPAR, J.O.; VEGA, J. Mosaico angular do feijoeiro jalo causado por um vírus do grupo S transmitido por mosca branca. In: SEMINARIO SOBRE PRAGAS E DOENCAS DO FEIJOEIRO, 1., 1980, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Biológico, 1980.

COSTA, A.S.; GASPAR, J.O.; VEGA, J. Mosaico angular do feijoeiro jalo causado por um carla vírus transmitido pela mosca branca *Bemisia tabaci*. **Fitopatologia Brasileira**, v.8, p.325-337, 1983.

De BARRO, P.J.; DRIVER, F. Use of RAPD-PCR to distinguish the B biotype from other biotypes of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). **Australian Journal Entomology**, v.36, p.149-152, 1997.

EDWARDSON, J.R.; CHRISTIE, R.G. **Viruses infecting forage legumes**. Gainesville: University of Florida, 1986. v.1, 246p. (Monograph, 14).

FOSTER, G.D. The structure and expression of genome of carlaviruses. **Research of Virology**, v.143, p.103-112, 1992.

FOSTER, G.D.; MILLS, P.R. Investigation of the 5' terminal structures of genomic and subgenomic RNAs of potato virus S. **Virus Genes**, v. 4, p.359-366, 1990a.

FOSTER, G.D.; MILLS, P.R. Evidence for the role of subgenomic RNA species in the production of *Helenium* virus S coat protein during *in vitro* translation. **Virus Research**, v.17, p.61-70, 1990b.

FUJI, S.; YAMAMOTO, H.; INOUE, M.; YAMASHITA, K.; FUKUI, Y.; FURUYA, H.; NAITO, H. Complete nucleotide sequence of the genomic RNA of Aconitum latent virus (genus Carlavirus) isolated from *Delphinium sp.* **Archives of Virology**, v.147, p.865-870, 2002.

GASPAR, J.O.; BERIAM, L.O.S.; ALVES, M.N.; OLIVEIRA, A.R.; COSTA, A.S. Serological identity of *bean angular mosaic* and *cowpea mild mottle* viruses. **Fitopatologia Brasileira**, v.10, p.195-199, 1985.

GASPAR, J.O.; COSTA, A.S. Vírus do mosaico angular do feijoeiro: purificação e ultraestrutura dos tecidos infectados. **Fitopatologia Brasileira**, v.18, p.534-540, 1993.

GRAMSTAT, A.; PRÜFER, D.; RHODE, W. The nucleic acid-binding zinc finger protein of potato virus M is translated by internal initiation as well as by ribosomal frameshifting involving a shifty stop codon and a novel mechanism of P-site slippage. **Nucleic Acids Research**, v.22, p.3911-3917, 1994.

HARRISON, B.D.; FINCH, J.T.; GIBBS, A.J.; HOLLINGS, M.; SHEPHERD, R.J.; VALENTA, V.; WETTER, C. Sixteen groups of plant viruses. **Virology**, v.45, p.356-363, 1971.

HOFFMANN, L.L.; ROTT, M.A.O.; ALMEIDA, A.M.R. Ocorrência de

CMMV (*Cowpea mild mottle virus*) em soja, no Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 36.; 2003, Uberlândia. **Resumos...** Uberlândia: Sociedade Brasileira de Fiotopatologia, 2003. p.101.

LAWRENCE, D.M.; ROZANOV, M.M.; HILLMAN, B.I. Autocatalytic processing of the 223-kDa protein of blueberry scorch carlavirus. **Virology**, v. 207, p.127-135, 1995.

IWAKI, M.; THONGMEEARKON, P.; PROMMIN, M.; HONDA, Y.; HIBI, J. Whitefly transmission and some properties of *Cowpea mild mottle virus* on soybean in Thailand. **Plant Disease**, v.66, p.265-268, 1982.

LAGUNA, I.G.; PARDINA RODRIGUEZ, P.; TRUOL, G.; NIEVES, J. Virus diseases of soybean in Argentina. **Fitopatologia Brasileira**, v.13, p.193-197, 1988.

LAWRENCE, D.M.; ROZANOV, M.M.; HILLMAN, B.I. Autocatalytic processing of the 223-kDa protein of blueberry scorch carlavirus. **Virology**, v.207, p.127-135, 1995.

MACKENZIE, D.J.; TREMAINE, J.H.; STACE- SMITH, R. Organization and interviral homologies of the 3'-terminal portion of potato virus S RNA. **Journal of General Virology**, v.70, p.1053-1063, 1989.

MARTINEZ, S.S.; CARVALHO, A.O.R.; VIEIRA, L.G.; NUNES, L.M.; BIANCHINI, A. Identification, geographical distribution and host plants of *Bemisia tabaci* (Genn.) biotypes (Homoptera:Aleyrodidae) in the state of Paraná, Brazil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.29, n.3, p.597-603, 2000.

MOROZOV, S.Y.; MIROSHNICHENKO, N.A.; SOLOVYEV, A.G.; ZELENIINA, D.A.; FEDORKIN, O.N.; LUKASHEVA, L.I.; GRACHEV, S.A.; CHRNOV, B.K. *In vitro* membrane binding of the translation products of the carlavirus 7-kDa protein genes. **Virology**, v.183, p.782-785, 1991.

MUNIYAPPA, V.; REDDY, D.V.R. Transmission of Cowpea mild mottle virus by *Bemisia tabaci* in a nonpersistent manner. **Plant Disease**, v.67,

p.391-393, 1983.

RUPASOV, V.V.; MOROZOV, S.Y.; KANYUKA, K.V.; ZAVRIEV, S.K. Partial nucleotide sequence of potato virus M RNA shows similarities to potexvirus in gene arrangement and the encoded amino acid sequences. **Journal of General Virology**, v.70, p.1861-1869, 1989.

THOUVENEL, J.C.; MONSARRAT, A.; FAUQUET, C. Isolation of *Cowpea mild mottle virus* from diseased soybeans in Ivory Coast. **Plant Disease**, v.66, p.336-337, 1982.

VAN REGENMORTEL, M.H.V.; FAUQUET, C.M.; BISHOP, D.H.L.; CARSTENS, E.B.; ESTES, M.H.; LEMON, S.M.; MANILOFF, J.; MAYO, M.A.; MCGEOCH, D.J.; PRINGLE, C.R.; WICKNER, R.B. **Virus taxonomy**: seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego: Academic Press, 2000. 1162p.

ZAVRIEV, S.K.; KANYUKA, K.V.; LEVAY, K.E. The genome organization of potato virus M RNA. **Journal of General Virology**, v.72, p.9-14, 1991.



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Soja
Rod. Carlos João Strass - Distrito de Warta
Fone: (43) 3371-6000 Fax: (43) 3371-6100
Caixa Postal 231 - 86001-970 Londrina PR
Home page: <http://www.cnpso.embrapa.br>
E-mail: sac@cnpso.embrapa.br
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

**Ministério da Agricultura
Pecuária e Abastecimento**

