

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA VEGETAL

## IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS ESTIRPES DO VIRUS DO MOSAICO COMUM DO FEIJOEIRO, NO BRASIL

#### DINALDO RODRIGUES TRINDADE

Tese apresentada ao Departamento de Biologia Vegetal do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília como requisito parcial à obtenção de Grau de Mestre em Ciências na área Fitopatologia

179

1981.00031

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA VEGETAL

IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS ESTIRPES DO VIRUS DO MOSAICO COMUM DO FEIJOEIRO, NO BRASIL

DINALDO RODRIGUES TRINDADE

Tese apresentada ao Departamento de Biologia Vegetal da Universidade de Brasília como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre em Ciências, na área de Fitopatologia.

> BRASILIA 1979

Trabalho realizado junto ao Departamento de Bio logia Vegetal, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob a orientação do Professor Claudio Lúcio Costa, com o apoio institucional da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA).

Aprovada por:

Professor Claudio Lucio Costa

Professor Elliot W./ Kitajima

Professor Ming-Tien Lin

A memória de meu pai e para minha mãe, esposa e filhos, dedico.

#### **AGRADEC IMENTOS**

Agradeço ao Professor Cláudio Lúcio Costa, pela ori

entação que me foi fornecida durante a realização do traba

lho, aos Professores E.W. Kitajima e M.T.Lin, pelas colabora

ções nas etapas de microscopia eletrônica e purificação e

pelas sugestões e correção do manuscrito, à Empresa Brasilei

ra de Pesquisa Agropecuária pelos subsídios financeiros.

Ao Doutor Guillermo Galvez do Centro Internacional 'de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia, por ter cedido as sementes das cultivares diferenciais para a realização deste trabalho.

Aos funcionários:

Veleziel Monteiro de Sousa	Est.Exp. de Biolo	2
The state of the s	gia.	
Fabio Rocha Fonseca	Est.Exp. de Biolo	2
	gia.	
João Gonçalves de Carvalho	Est.Exp. de Biolo	2
	gia.	

Ao funcionário da EMBRAPA

Engº Agrº Antonio Carlos P.Neves da Rocha -Chefe da UEPAE /

Aos pesquisadores e extensionistas incluídos na tab<u>e</u> la 2, pela remessa das sementes utilizadas na realização de<u>s</u> te trabalho.

As demais pessoas e instituições que contribuiram para a realização do presente trabalho.

Apresentação	i
Dedicatoria	ii
Agradecimentos	iii
Indice Geral	iv
Indice das tabelas	vi
Indice das figuras	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAIS E MÉTODOS	6
2.1. Amostras de sementes coletadas	6
2.2. Obtenção, isolamento e identificação dos isolados	
do virus do mosaico comum do feijoeiro	6
2.3. Caracterização complementar dos isolados	7
2.3.1. Morfologia do virus do mosaico comum do feijoeiro	7
2.3.2. Efeito citopatico	8
2.3.3. Propriedades físicas "in vitro"	8
2.3.4. Circulo de hospedeiras	8
2.3.5. Serologia	9
2.4. Propagação e manutenção dos isolados do virus do mo	
saico comum do feijoeiro	9
2.5. Anālise das reações nas cultivares diferenciais ino	
culadas mecanicamente com os isolados	10
2.5.1. Preparo das diferenciais	10
2.5.2. Inoculação dos isolados nas cultivares diferenci-	
ais	11
2.5.3. Recuperação do virus das cultivares diferenciais	
sem sintomas	11
2.6. Analise da transmissão pela semente dos 3 grupos	
de estirpes do virus do mosaico comum do feijoeiro	
identificados no Brasil	11
2.7. Reação de algumas cultivares comerciais de feijão,	
quando inoculadas mecanicamente com os 3 grupos de	
estirpes do virus do mosaico comum do feijoeiro i-	
dentificados no Brasil	12
3. RESULTADOS	12
3.1. Isolados obtidos e identificação	12
3.2. Caracterização complementar dos isolados	13

## INDICE DAS TABELAS

Tabela	1	Classificação das estirpes do VMCF baseada nas reações produzidas pelas cultivares diferenciais (Drijfhout et al. 1978)	26
Tabela	2	Amostras de sementes introduzidas utilizadas neste estudo	27
Tabela	3	Amostras de sementes recebidas e isolados obtidos	28
Tabela	4	Origem dos isolados obtidos	29
Tabela	5	Propriedades físicas "in vitro" do VMCF	30
Tabela	6	Classificação dos isolados do VMCF identifica dos no Brasil	31
Tabela	7.	Analise da transmissão pela semente, dos tres grupos de estirpes identificados no Brasil	32

### 1NDICE DAS FIGURAS

Figura	1	Distribuição das amostras de sementes recebi- das e dos isolados do virus do mosaico comum	
		do feijoeiro obtidos destas amostras	33
Figura	2	Sintomas do VMCF nas cultivares de feijão Ja lo e Manteiga	34
Figura :	3	Partículas e inclusões citoplasmáticas do VMCF	35
Figura	4	Diagrama da distribuição das mensurações das partículas dos isolados do virus do mosaico comum do feijoeiro (VMCF) determinadas atra vés de preparações em "leaf dip", tendo como padrão partículas do virus S da batata (PVS).	36
Figura !	5	Sintomas de mosaico apresentados pelas culti- vares diferenciais suscetíveis aos 3 grupos de estirpes identificados no Brasil	37
Figura (	6	Distribuição dos grupos de estirpes do virus do mosaico comum do feijoeiro identificados no Brasil, de acordo com a classificação de Drijfhout et al. (1978)	38

O Brasil, um dos principais produtores de feijão Phaseolus vulgaris L. do mundo (FAO, 1976), em determinadas é pocas é obrigado a importar este produto, para suprir a demanda do seu consumo interno, uma vez que também é o principal consumidor desta leguminosa. Este quadro vem se repetindo nos últimos anos, em virtude da sua produção não vir acompanhando o aumento do consumo.

Inúmeros são os fatores que contribuem para que a cultura do feijão no Brasil ainda não tenha atingido um indice de produtividade condizente com o seu potencial. Dentre estes, as moléstias ocupam papel de destaque, principalmente as viroses que tem assumido importância relevante no cultivo de feijão (Gamez, 1977).

A moléstia causada pelo virus do mosaico comum do feijoeiro (VMCF) tem se mostrado como uma das principais, pelo fato de estar presente em quase todas as áreas que tem cultura de feijão, devido a grande facilidade de disseminação do seu agente causal, que se dá principalmente através de especies de afídeos e pelas sementes de feijão.

Em 1899, Iwanoviski observou pela primeira vez na Rússia, um tipo de mosaico em feijão (Smith, 1972), que mais tarde Stewart & Reddick (1917) descreveram originalmente como sendo causado pelo virus do mosaico comum do feijoeiro (VMCF). Atualmente este virus se encontra difundido em todos aqueles paises onde o feijão é cultivado economicamente.

O virus do mosaico comum do feijoeiro, é um potyvirus (Harrison, et al. 1971), que passa facilmente por transmissão mecânica, é carreado pela semente de feijão (Medina & Grogan, 1961), é transmitido de modo não circulativo por espécies de afídeos (Kennedy et al., 1962; Zettler, 1967), tem ponto termal de inativação situado na faixa de 50 a 65° C, de pendendo da fonte do virus e da estirpe, tem ponto final de diluição usualmente entre 10<sup>-3</sup> e 10<sup>-4</sup> e a infectividade do suco pode ser mantida de 1 a 4 dias quando armazenado na tem-

peratura ambiente (Bos,1971; Smith, 1972). Os sintomas mostrados pelas plantas infetadas, podem ser mosaico associado com malformação da folha, bolhas, áreas verde-escuro ao longo das nervuras, redução do seu porte, clorose generalizada, deformação da vagem e morte da planta (Pierce, 1934; Bos, 1971; Costa, 1972; Smith, 1972). As vezes pode ocorrer um sintoma de necrose vascular severa geralmente conhecido como "black root desease" (Grogan & Walker, 1948).

Os prejuízos que o virus do mosaico comum do feijo eiro chega causar, podem ser refletidos na redução da produção e da qualidade do produto. Isto vai depender da época em que a cultura é infetada, uma vez que, se o virus ocorrer no início do seu ciclo os danos serão bem mais acentuados. Em alguns casos a produção pode ser reduzida em até 68% (Hampton, 1975).

A variabilidade do virus do mosaico comum do feijoeiro é notória, haja visto o grande número de isolados e estirpes que tem sido identificados, principalmente com base nas reações de diferentes cultivares de feijão.

As primeiras estirpes do virus do mosaico comum do feijoeiro foram identificadas por Richards & Burkholder(1943) nos Estados Unidos, observando a diferença de patogenicidade que havia entre dois isolados de New York. Estes isolados foram classificados como estirpe-tipo e estirpe NY 15. A partir daí, estudos similares foram feitos por outros pesquisadores não só nos Estados Unidos como em outros países, e então Dean & Hungerford (1946) identificaram um isolado em Idaho semelhante a NY 15, e mais tarde Dean & Wilson (1959) também em Idaho, identificaram outra estirpe que se diferenciava da NY 15 por infetar as cultivares Great Northern 123 e Great Northern 31 que eram suscetíveis a esta.

Em 1961, Skotland & Burke, estudando um isolado do Oeste dos Estados Unidos, observaram que as cultivares Great Northern 123 e Great Northern 31 eram respectivamente suscetível e resistente e, deste modo, consideraram como nova estir pe do VMCF. Estudos semelhantes foram feitos por Zaumeyer &

Goth(1964) com um isolado da Florida e observaram que este causava sintomas mais severos nas cultivares suscetíveis às estirpes tipo NY 15 e Idaho e relataram então como nova estirpe.

Em 1965, Alvarez & Ziver identificaram um isolado no Chile, que apresentava características muito semelhantes a estirpe NY 15. Posteriormente, Moreno et al. (1968) estudaram um isolado da Costa Rica e verificaram que este não infetava todas as cultivares que eram suscetíveis a estirpe-tipo, do mesmo modo Gamez et al. (1970) identificaram um isolado no Peru com as mesmas características daquele que havia sido relatado na Costa Rica.

No México, Silbernagel (1969) identificou um isola do e observou que este infetava a cultivar Red Mexican 35, inclusive sendo transmitido pelas sementes desta, que até então vinha sendo considerada como resistente às estirpes descritas anteriormente e deste modo passou a considerar como nova estirpe.

Outra estirpe semelhante a estirpe-tipo foi relata da em Porto Rico por Alconero et al. (1972) e também Gamez (1973) relatou as estirpes de El Salvador e Nicarágua com características muito semelhantes à estirpe-tipo.

Foram ainda relatadas por Montenegro & Galindo ' (1974) as ocorrências das estirpes tipo e NY 15 no estado de Guanajuato no México.

As identificações das duas últimas estirpes foram feitas por Drijfhout & Bos (1977) na Holanda, codificando-as 'como NL 7 e NL 8. Estas estirpes se caracterizaram pelos fatos das cultivares Imuna e Puregold Wax serem, respectivamente, sus cetível e resistente a NL 7 e NL 8 e as cultivares GN 123, GN 31, Redlands Greenleaf B e Red Mexican 35 serem resistentes a NL 7 e suscetíveis a NL 8.

Em vista da conhecida variabilidade do virus do mosaico comum do feijoeiro e devido a heterogeneidade dos critérios que eram adotados para a identificação das suas estirpes,
tornava-se difícil estabelecer comparação de patogenicidade en
tre estas. Deste modo, a uniformização de critérios para a ca-

racterização de estirpes, tem um aspecto de singular importância, não só para o próprio diagnóstico como para o uso de genótipos de resistência.

Pierce (1935) fez um relato de que havia encontrado dois tipos de resistência ao virus do mosaico comum do feijoeiro e, posteriormente, Ali (1950) explicou, mais detalhadamente, o fato informando que estas resistências eram controladas por pares de gens inibidores recessivos(ii) e gens inibidores dominantes (II).

Baseado nestas informações acima referidas, fhout (1978), objetivando fornecer dados sólidos para os programas de melhoramento do feijoeiro, estudou a interação nética entre o feijoeiro e o virus do mosaico comum do feijoeiro (VMCF) e, em consequência deste estudo, Drijfhout et al. (1978) selecionaram um grupo de cultivares diferenciais com fins específicos de diferenciar as estirpes do VMCF. cultivares diferenciais de acordo com o seu genótipo, apresen tavam diferentes aspectos de resistência ao VMCF e assim, foram divididos em dois grupos. Um grupo portador de alelos recessivos (ii) e outro portador de alelos dominantes(II). diferença básica entre estes dois grupos era que os portadores de alelos recessivos (ii), em algumas combinações virushospedeira apresentavam mosaico sistêmico enquanto que os por tadores de alelos dominantes (II) não apresentavam o mosaico. Por outro lado, estas cultivares diferenciais foram ainda organizadas em 9 classes, onde cada uma destas, apresentava tipo de resistência ao VMCF.

Estas cultivares, com o seu genótipo e os tipos de resistência ao VMCF bem definidos, permitiram que os isolados do VMCF identificados nos diversos países, fossem classifica dos em 7 grupos de estirpes (Tabela 1).

Drijfhout <u>et al</u>. (1978), propuseram então que para uma uniformização na caracterização de estirpes do VMCF, seja adotada esta metodologia, baseada nas reações das cultivares diferenciais padronizadas especificamente para esta finalidade.

Adotando esta metodologia, Meiners <u>et al</u>. (1978), identificaram um isolado do VMCF infetando <u>Rhynchosia</u> <u>minima</u>, colocando-o no grupo II de estirpes.

No Brasil não há ainda informações detalhadas sobre a ocorrência de estirpes do virus do mosaico comum do feijoeiro. Tais informações se tornam necessárias para que se conheça a variação do virus, com vistas a um controle mais eficiente deste patógeno, uma vez que a medida mais recomendada é o plantio de sementes livres do virus, método que requer a sua multiplicação em condições controladas. Tal prática é trabalhosa e requer cuidados especiais geralmente só viáveis em instituições governamentais ou organizações que disponham de maiores recursos.

Para as condições brasileiras, o desejável seria o uso de cultivares resistentes, mas para isto é necessário identificar as estirpes do VMCF prevalentes nas diferentes regiões do país.

Com o objetivo de identificar as estirpes do virus do mosaico comum do feijoeiro que ocorrem no Brasil e fornecer subsídios para um programa de melhoramento, foi desenvolvida 'uma pesquisa na Universidade de Brasília, utilizando o método 'descrito por Drijfhout et al. (1978).

Este é o relato dos resultados encontrados nesta 'pesquisa.

#### 2. MATERIAIS E METODOS.

O virus do mosaico comum do feijoeiro, é sabidamente conhecido ser perpetuado pelas sementes de feijão, por este motivo foi decidido que a coleta de amostras de sementes seria a maneira mais viável de se obter o virus para o desenvolvimento deste trabalho.

Introduziram-se sementes das várias regiões do país com a suposição de que através da disseminação natural do virus, haveria nas amostras uma porcentagem de sementes que estariam carreando o virus.

As técnicas empregadas serão descritas a seguir.

#### 2.1. Amostras de sementes coletadas.

Através de pesquisadores e extensionistas, foram coletadas 159 amostras de sementes de feijão das várias regiões do país, produtoras ou não desta leguminosa. Não foram obtidas amostras dos territórios e dos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande no Norte e Paraíba (Tab. 2).

# 2.2. Obtenção, isolamento e identificação dos isolados do virus do mosaico comum do feijoeiro.

As sementes recebidas foram semeadas em telado para a obtenção de plantas com virus. O semeio foi feito em va sos de barro, cheios com um composto enriquecido com NPK na formulação 4-14-8. Para a semeadura tomaram-se amostras de 100 sementes por variedade de cada localidade, distribuidas em 20 vasos com 5 sementes por vaso. Vinte dias após a semeadura, as plantas que apresentaram sintomas do virus do mosaico comum do feijoeiro foram separadas, descartando-se as restantes. Das plantas que apresentaram sintomas do VMCF, perpetuado pela semente, foi feito o isolamento do virus através de transmissão pelo afídeo Myzus persicae Sulz., conhecido vetor deste virus.

Os afídeos utilizados provieram de colônias sobre plantas de rabanete (<u>Raphanus sativus L.</u>) e de couve(<u>Brassica oleracea</u> var <u>acephala</u> L.), cultivadas sob proteção de gaiolas de tela.

As transmissões foram feitas pelo método usual, transferindo-se os afídeos das colônias para as plantas que apresentaram sintomas e que serviram como fonte de inóculo . Posteriormente, após alimentarem-se por um curto período, tem po suficiente para aquisição do virus, foram transferidos com auxílio de um pincel, para as cultivares de feijão Jalo e Man teiga que serviram como plantas-teste. Nestas permaneceram 'também por pouco tempo, uma vez que a transmissão do VMCF é não circulativa. Foram utilizados 10 afídeos por planta. Para o controle de sanidade da colônia, afídeos foram transferidos diretamente destas para as plantas-teste. Após o período da alimentação de inoculação os afídeos foram eliminados pulverizando-se as plantas com um aficida.

A identificação dos isolados, após a transmissão' por Myzus persicae, foi feita pelos sintomas exibidos nas cultivares de feijão Jalo e Manteiga, que são suscetíveis ao VMCF.

Os isolados foram codificados pela sigla da unida de da federação de onde provieram.

#### 2.3. Caracterização complementar dos isolados.

Mesmo com as evidências de características importantes para a identificação do virus do mosaico comum do feijoeiro, como sejam, perpetuação pelas sementes, transmissão por Myzus persicae e sintomas, foram feitos mais alguns testes com a finalidade de caracterizar melhor os isolados do virus, conforme serão apresentados a seguir.

#### 2.3.1. Morfologia do virus do mosaico comum do feijoeiro.

Todos os isolados foram examinados ao microscópio eletrônico em preparações rápidas pelo método "leaf dip" (Kitajima, 1965; Camargo et al., 1968), a partir de folhas da cultivar de feijão Manteiga, infetadas com o VMCF a fim de verificar a presença de partículas características desse virus (Bos, 1971). Foram feitas mensurações de partículas tomandose como padrão o comprimento das partículas do virus S da batata (PVS).

#### 2.3.2. Efeito Citopático.

Foram feitos também exames histológicos através de secções ultrafinas, para observação de alterações celulares atribuídas ao VMCF (Kitajima, 1968; Christie & Edwardson, 1977).

#### 2.3.3. Propriedades físicas "in vitro".

Foram determinadas as propriedades físicas vitro" de todos os isolados. Para esta finalidade o suco preparado de folhas de plantas da cultivar de feijão Manteiga, infetadas mecanicamente, partindo de uma única lesão da folha da cultivar Monroe que é hospedeira de lesão local do VMCF (Saettler & Trujillo, 1972). O inoculo foi preparado em tampão fosfato 0,02M pH 7,3 contendo 0,1% de sulfito de dio. Para o teste de infectividade foi utilizada a de feijão Jalo, hospedeira sensitiva do VMCF. Para o termal de inativação (p.t.i.), foram testadas as temperaturas 50, 55, 60, 65 e 70°C por 10 minutos. Para o envelhecimento, o suco foi guardado na geladeira ( 4 a 5°C) por 10 dias e no ambiente a 26°C por 5 dias. O ponto final de diluição(p.f.d.) foi determinado através das diluições de 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-6</sup>.

#### 2.3.4. Círculo de hospedeiras.

Para todos os isolados, foram feitos testes de infecção mecânica com espécies vegetais relatadas não serem infeta-

das pelo VMCF como, Lycopersicom esculentum Mill., Nicandra physaloides Gaert., Datura stramonium L. e Nicotiana tabacum L. e com aquelas ja relatadas como podendo ser infetadas, em função da estirpe do VMCF como Chenopodium amaranticolor Costa & Reym. C. quinoa Willd. e Vigna unguiculata (L) Walp. (Bos, 1971; Drijfhout & Bos, 1977; Hampton et al., 1978).

#### 2.3.5. Serologia.

Embora tenha sido tentado por 3 vezes, a purifica ção do virus do mosaico comum do feijoeiro pelo método de Uyemoto et al. (1972) não foi conseguida e, deste modo, não foi possível preparar um antissoro nem efetuar testes serológicos.

# 2.4. Propagação e manutenção dos isolados do virus do mosaico comum do feijoeiro.

Para aumentar o inóculo foi feita a propagação dos isolados do VMCF, na cultivar de feijão Manteiga, hospedeira suscetível do virus. Foram utilizados sempre 4 vasos com 2 plantas cada, por isolado, inoculando-se 6 plantas e deixando-se 2 como controle. Foram tomadas precauções para prevenir qualquer contaminação, como sejam: as plantas inoculadas com cada isolado eram mantidas bem afastadas para evitar que as folhas se tocassem; semanalmente eram feitas pulverizações contra afídeos e outros tipos de insetos; as mãos eram lavadas com detergente e desinfetadas com alcool entre as inoculações; os almofarizes e pistilos eram esterilizados antes de serem usados.

Os isolados foram mantidos em sementes secas colhidas de plantas inoculadas mecanicamente e em tecidos de folhas infetadas, dissecados e guardados em tubos de ensaio bem fechados contendo sílica gel.

Estas precauções serviram como regra geral e foram também adotadas nas inoculações e recuperações do virus das cultivares diferenciais.

# 2.5. Análise das reações nas cultivares diferenciais inocu - ladas mecanicamente com os isolados.

Neste trabalho, foram adotados os mesmos critérios e terminologias que constam no método descrito por Drijfhout et al. (1978).

Os autores deste trabalho adotaram os termos; susceti veis (sensitivas e tolerantes) e resistentes. Os critérios definição destas terminologias são: suscetíveis, quando as plantas são infetadas sistemicamente e resistentes quando não são in fetadas sistemicamente pelo virus. Suscetíveis sensitivas quando as plantas apresentam sintomas de mosaico moderado a severo, pre judicando bastante a planta e suscetíveis tolerantes quando plantas não exibem nenhum sintoma ou quando exibem um muito leve ou retardado, sem prejudicar muito a planta. Para que seja considerada infecção sistêmica, será necessário a exibição de um mosaico sistêmico bem claro ou que seja demonstrada a presença do virus, nas folhas não inoculadas de plantas que não estejam exibindo sintomas. Esta demonstração será feita da recuperação do virus, em cultivar de feijão sensitiva VMCF. No caso aqui, a cultivar utilizada para recuperação do virus foi Jalo.

#### 2.5.1. Preparo das diferenciais.

As sementes das cultivares diferenciais utilizadas for ram cedidas pelo Dr. Guillermo Galvez do Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. A semeadura foi feita em vasos de barro de tamanho médio, cheios com um composto enriquecido com NPK na formulação 4-14-8. Foi utilizada uma fila de 3 vasos com 2 plantas cada, por cultivar, observando-se uma distância mínima de 50 cm. entre filas. As plantas cresceram em vasos mantidos sob casa telada, coberta com telhas plástica, na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, num ambiente de temperatura média entre 18 a 27°C, registrado em termógrafo marca Tempscribe.

#### 2.5.2. Inoculação dos isolados nas cultivares diferenciais.

Cerca de 10 a 12 dias apos a semeadura das cultiva res diferenciais, foram feitas inoculações por processo mecâni co nas folhas cotiledonares de 4 plantas (2 vasos), deixando-se duas plantas sem inocular como controle. Tres a cinco dias pos, procedeu-se uma ré-inoculação. Como fonte de inóculo ram utilizadas folhas infetadas da cultivar de feijão Manteiga com 4 a 6 semanas de idade. O inoculo era preparado macerandose o tecido foliar infetado, em almofariz, na presença de tam pão fosfato 0,02M pH 7,3 na proporção de 1g de tecido para 9 ml de tampão. Ao tampão era adicionado previamente 0,1% de sulfito de sódio (Na<sub>2</sub> SO<sub>3</sub> ), como anti-oxidante. As ções eram feitas molhando-se a ponta do dedo indicador ou do pistilo, no inóculo e, em seguida, friccionando levemente superficie superior das folhas., previamente polvilhadas com po de Carborundum (500 mesh). As plantas inoculadas eram, em seguida, lavadas com agua de torneira através de uma piceta.

# 2.5.3. Recuperação do virus das cultivares diferenciais sem sintomas.

As cultivares diferenciais inoculadas com os isolados eram observadas durante 4 semanas e no fim deste período eram feitas as recuperações do virus na cultivar de feijão Jalo.

Como regra geral, a recuperação era feita dos foliolos das extremidades dos ramos.

# 2.6. Análise da transmissão pela semente dos 3 grupos de estirpes do virus do mosaico comum do feijoeiro identificados no Brasil.

A analise foi feita nas cultivares de feijão Rico 23 e Manteiga, que foram inoculadas mecanicamente com cada grupo de estirpes, 10 a 12 dias apos semeadas em vaso. Das plantas

que apresentaram sintomas do virus do mosaico comum do feijo eiro foram colhidas sementes que foram posteriormente semeadas em vasos mantidos em casa telada. A porcentagem de transmissão foi calculada com base nas sementes que germinaram.

2.7. Reação de algumas cultivares comerciais de feijão , quando inoculadas mecanicamente com os 3 grupos de estirpes, do virus do mosaico comum do feijoeiro identificados no Brasil.

Foram analisadas as reações das seguintes 20 cultiva res de feijão: Jalo, Manteiga, Rico 23, Iguassu, Roxinho, Rio Tibagi, Preto Caruaru, S Cuva 168 N, Enxofre, IPA 7419, Costa Rica, Rico Baio, Rico Pardo, Chumbinho, Rosinha, Mulatinho Paulista, Mulatinho Vagem Roxa, Venezuela 350 e Roxo. As ino culações foram feitas 10 a 12 dias após a semeadura, efetuan do-se a recuperação do virus das plantas que não apresenta ram sintomas de mosaico sistêmico, após 4 semanas.

#### 3. RESULTADOS.

#### 3.1. Isolados obtidos e identificação.

Das 159 amostras estudadas, foram obtidos 16 isola - dos do virus do mosaico comum do feijoeiro, assim distribuí dos: o estado do Paraná com 3, o D.Federal com 3, o estado de Goiás com 2, o estado do Rio Grande do Sul com 2, o estado de Minas Gerais com 2, o estado do Pará com 1, o estado 'de S.Paulo com 1, o estado de S.Catarina com 1 e o estado da Bahia com 1. As tabelas (3) e (4), mostram respectivamente o número de amostras obtidas de cada Estado e a origem de cada isolado codificado com a sigla da unidade da federação de onde provieram. A figura (1) dá uma visão da distribuição 'das diversas regiões do Brasil de onde foram introduzidas amostras e obtidos os isolados.

Na identificação inicial dos isolados, feita nas cul tivares de feijão Jalo e Manteiga, após serem inoculadas com o VMCF através do afideo Myzus persicae, os sintomas foram: na cultivar Jalo, os sintomas começaram aparecer 4 a 5 dias após a inoculação, inicialmente clareamento das nervuras seguido por epinastia e enrolamento das folhas no sentido do apice do limbo para a bainha, o sintoma evoluiu para um amarelecimento das folhas, queda das folhas e morte da planta (Fig. 2 A ). Na cultivar Manteiga, os sintomas iniciaram mesma forma, mais tarde evoluindo para apresentar bolhas, deformação das folhas, mosaico, áreas verde-escuro ao longo das nervuras e enrolamento das folhas no sentido longitudinal (Fig. 2 B).

#### 3.2. Caracterização complementar dos isolados.

#### 3.2.1. Morfologia do virus do mosaico comum do feijoeiro.

Nas preparações rápidas em "leaf dip", foram visualizadas partículas alongadas e flexíveis (Fig. 3 A). Me diram-se 206 partículas, mas para efeito de cálculo foram com putadas 175 (85%), que apresentaram um comprimento médio de 720 nm (Fig.4), tomando-se como padrão o comprimento das partículas do virus S da batata.

#### 3.2.2. Efeito citopático.

Nas observações de secções ultrafinas, foram verificadas as presenças de inclusões lamelares em configuração do tipo "catavento" ou de "cilindros" e, ocasionalmente, de partículas do VMCF. (Fig.3 B, 3 C).

#### 3.2.3. Propriedades físicas "in vitro".

Considerando de modo geral para os 16 isolados, o ponto final de diluição (p.f.d.) ficou entre 10<sup>-3</sup> e

10<sup>-5</sup>, o ponto termal de inativação (p.f.i.) entre 50 e 55°C, a infectividade do suco foi mantida de 2 a 4 dias e por 10 dias respectivamente, quando guardados no ambiente e na geladeira (Tabela 5)

Os isolados MG 1, MG 2, GO 1 e PR 2, perderam a infectividade a partir do  $3^{\circ}$  dia e os demais a partir do  $4^{\circ}$  dia quando guardados no ambiente. O p.t.i. foi igual para todos os isolados. O p.f.d. para os isolados MG 1, MG 2, GO 1 e PR 2 foi de  $10^{-3}$  a  $10^{-4}$  e para os demais isolados variou de  $10^{-3}$  a  $10^{-5}$ . (Tabela 5).

#### 3.2.4. Circulo de hospedeiras.

Das espécies citadas como hospedeiras para o VMCF e que foram testadas, somente as cultivares de <u>Phaseolus vulgaris</u> foram infectadas com os 16 isolados. As reconhecidas como não hospedeiras e que foram testadas, também não foram infectadas por nenhum dos 16 isolados do VMCF.

3.3. Análise das reações das cultivares diferenciais aos isolados do virus do mosaico comum do feijoeiro identificados no Brasil.

As cultivares diferenciais do grupo 1 de resistência foram sensitivas para todos os 16 isolados (Tabela 6) e (Fig. 5D e 5E). As do grupo 2 de resistência foram resistentes para os isolados MG 1, MG 2, GO 1 e PR 2, tolerantes para os isolados PR 1, PR 3, GO 2, RS 1, RS 2, BA 1, SP 1, PA 1 e SC 1 e sensitivas para os isolados DF 1, DF 2 e DF 3 (Tabela 6) e (Fig. 5A e 5C). As do grupo 3 de resistência foram sensitivas' para os isolados DF 1, DF 2 e DF 3 e resistentes para os demais isolados, (Tabela 6) e (Fig. 5B). As cultivares diferenciais dos grupos de resistência de 4 a 9 foram resistentes a todos os 16 isolados.

3.4. Classificação dos isolados do virus do mosaico comum do feijoeiro identificados no Brasil.

De acordo com as reações produzidas nas cultivares diferenciais, os isolados do VMCF identificados no Brasil, foram classificados nos grupos de estirpes I, II e IV. No grupo II ficaram 4 isolados, no grupo II 9 isolados e no grupo IV 3 isolados. Os isolados do Paraná foram classificados nos grupos I (PR 2) e II (PR 1 e PR 3). Os isolados de Goiás foram classifidos no grupo I (GO 1) e no grupo II (GO 2). Os 3 isolados do D.Federal (DF 1, DF 2 e DF 3) foram classificados no grupo IV. Os isolados de Minas Gerais (MG 1 e MG 2) ficaram no grupo IV. Os isolados obtidos dos estados do Pará (PA 1), da Bahia (BA 1), de S.Paulo (SP 1), de S.Catarina (SC 1) e do Rio Grande do Sul (RS 1 e RS 2), foram todos classificados no grupo II de estirpes. (Tab. 6)

A figura (6) da uma visão da distribuição dos grupos de estirpes identificados no Brasil.

3.5. Análise da transmissão pela semente entre os 3 grupos de estirpes do virus do mosaico comum do feijoeiro identificados no Brasil.

Na cultivar Rico 23 a transmissão foi de 8,3%,14,7% e 33,5% respectivamente para os grupos de estirpe I, II e IV. Na cultivar Manteiga, a transmissão foi respectivamente de 42, 49 e 64% para os grupos de estirpe I, II e IV.

Comparando-se a transmissão entre os 3 grupos dentro de cada uma destas cultivares, a proporção foi mais ou menos semelhante, já entre as cultivares a transmissão foi mais elevada na cultivar de feijão Manteiga. (Tabela 7).

3.6. Reação de cultivares comerciais de feijão à inoculação mecânica dos 3 grupos de estirpes identificados no Brasil.

Das 20 cultivares de feijão comerciais estudadas, 8 apresentaram reação necrótica aos 3 grupos de estirpes e 1

apresentou reação necrótica ao grupo I. As que apresentaram reação necrótica aos 3 grupos de estirpes foram: S Cuva 168 N , Rio Tibagi, Costa Rica, IPA 7419, Carioca, Mulatinho Paulista e Preto Caruaru. A cultivar Chumbinho reagiu com necrose na folha inoculada, apenas para o grupo I de estirpe.

Para todos estes casos, a recuperação em feijão Jalo foi negativa e deste modo estas cultivares foram consideradas resistentes, de acordo com a conceituação adotada neste trabalho.

As demais cultivares de feijão comerciais, estudadas, apresentaram sintoma de mosaico sistêmico bem claro e portanto foram consideradas sensitivas.

#### 4. DISCUSSÃO.

Considerando o número de amostras de sementes de feijão, que foram introduzidas, observou-se que a quantidade 'de isolados do virus do mosaico comum do feijoeiro obtida foi pequena. No entanto, vale registrar que a maioria das amostras de sementes provieram de campos experimentais e que a maior parte dos isolados foi obtida de amostras de sementes colhidas em campos de produção de feijão. O fato das sementes introduzidas de campos experimentais estarem livres do VMCF é sugestivo de que os pesquisadores estão fazendo uso de sementes de boa qualidade sanitária.

A ocorrência de maior incidência de sementes con taminadas dentre aquelas originadas de culturas de produção co mercial, sugere uma maior disseminação do virus nestas condições.

É bem possível então, que outras estirpes do VMCF venham ainda a ser descritas no Brasil.

Outro fator que contribuiu para que a técnica de introdução de sementes não tenha sido muito eficiente na coleção de isolados, foi o baixo poder germinativo das sementes, principalmente dos Estados do Espírito Santo e Mato Grosso de onde não se obteve nenhum isolado.

Considerando os meios de disseminação do VMCF, ou seja, transmissão por sementes e disseminação natural por diversas espécies de afídeos, é de se esperar que o virus ocorra também nestes Estados.

Os resultados da presente pesquisa, permitiu ampliar o conhecimento da distribuição geográfica do VMCF no Brasil, que agora inclui também os Estados de S.Catarina, Bahia, Goiás e Pará, onde a ocorrência do virus do mosaico comum do feijoeiro não fora ainda registrada.

Comparando-se os dados coletados na identificação e caracterização complementar dos isolados do virus aqui examinados, com os que são citados na literatura, verifica-se que estão correlacionados com aqueles atribuídos ao virus do mosaico comum do feijoeiro, confirmando a identidade destes isolados com o VMCF.

Outros dados que reforçam esta afirmativa, foram os obtidos com a inoculação das cultivares diferenciais, que são específicas para o virus do mosaico comum do feijoeiro. A especificidade destas cultivares diferenciais, foi testada casualmente quando um dos materiais inoculados, causou mosaico sistêmico nas cultivares diferenciais portadoras de alelos dominantes (II), o que não deveria ocorrer caso se tratasse do VMCF. Mas ao ser feito o exame deste material ao microscópio eletrônico, foi verificada a presença de partículas esféricas indicando que se tratava de um outro virus, não pertencente aos potyvirus.

Os isolados que foram obtidos nesta primeira avaliação da situação das estirpes do virus do mosaico comum do
feijoeiro no Brasil, foram suficientes para se detectar os
grupos de estirpes mais prevalentes, principalmente naqueles
Estados que são os principais produtores de feijão, como Para
nã e Minas Gerais.

A identificação dos grupos I, II e IV de estirpes do VMCF, de acordo com a proposição de Drijfhout et al.(1978) veio contribuir de certa maneira, para que os melhoristas pos sam incluir em seus programas de melhoramento do feijão, a busca de material resistente a estas estirpes. Também a iden-

tificação das localidades onde foram coletadas e que constam no relato dos resultados desta pesquisa, poderão facilitar aos melhoristas para que testem no campo nestes locais, as suas cultivares melhoradas.

\* Com base nestes resultados, a princípio, pode-se sugerir o controle do VMCF, pela produção e distribuição de cultivares de feijoeiro que incorporem no seu genótipo os alelos dominantes II.

#### 5. RESUMO.

O virus do mosaico comum do feijoeiro (VMCF), se encontra distribuído em todas as partes do mundo onde se cultiva economicamente o feijão. É um potyvirus carreado pela semente do feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.) e transmitido de modo não circulativo por várias espécies de afídeos.

O controle desta virose no Brasil, vem sendo feito pelo uso de sementes livres do virus, método que requer a sua multiplicação sob condições controladas. O desejável seria a incorporação às variedades mais plantadas no país, fatores de resistência ao vírus, mas isto só será possível, em bases mais sólidas, após a caracterização das estirpes prevalentes nas diferentes regiões do Brasil. Este resumo relata os resultados das pesquisas feitas com esta finalidade.

A coleta de isolados do VMCF, foi feita pela introdução de sementes de feijoeiro das várias regiões do pais, as quais foram semeadas em casa-de-vegetação, nas tentativas de obter plantas infetadas com o virus. A partir destas, foi feito o isolamento do virus, através da transmissão
pelo afídeo Myzus persicae, complementando-se a sua identificação pelas propriedades físicas "in vitro", visualização '
das partículas pelo método "leaf dip" e das inclusões em seções ultrafinas no microscópio eletrônico. A identificação '
das estirpes do VMCF, foi feita inoculando-se mecanicamente
os 16 isolados nas cultivares diferenciais (Dubbele Witte,
Strinless Green Refugee, Imuna, Michelite 62, Puregold Wax,
Sanilac, Redlands Greenleaf B, Great Northern UI 123

Monroe, Great Northern UI 31, Red Mexican UI 35, Jubila, Topcrop, Improved Tendergreen, Widusa e Amanda), que foram padronizadas por Drijfhout et al. (1978).

Baseando-se nas reações destas cultivares diferenciais, os isolados estudados puderam ser reunidos de acordo com a classificação apresentada no trabalho acima referenciado, nos seguintes grupos: Grupo I: 2 de M.Gerais, 1 do Paraná e 1 de Goiás; no Grupo II: 2 do Paraná, 2 do R.G.do Sul, 1 de Goiás, 1 do Pará, 1 de S.Catarina, 1 de S.Paulo e 1 da Bahia; no grupo IV: os 3 do Distrito Federal.

Estes resultados indicam que no Brasil existem 'representantes de pelo menos 3 grupos, dos 7 grupos de estirpes do virus do mosaico comum do feijoeiro, classificados por Drijfhout et al. (1978).

#### ABSTRACT

Bean common mosaic virus (BCMV) has a wide distribution and has been found everywhere in the world where bean is cultivated. The virus is a potyvirus and is transmitted through seed and by several aphid species in a non-circulative manner.

In Brazil, control of the disease caused by this virus is done by using virus-free seeds wich requires the multiplication of the seeds under controlled conditions. However, the ideal control measure for this disease would be the incorporation of resistance factores in the commercial bean cultivars in this country. But this is possible only after the virus strains frequently found in different regions of the country are characterized. This is the aim of the present work.

Bean seeds collected from various regions of Brazil were sown in a screenhouse in order to obtain virus-infected plants which were then used as the sources of the virus. Virus isolates were obtained from these plants through aphid, Myzus persicae Sulz. physical properties in vitro of the isolates were determined and the particle morphology and virus inclusions were observed under electron microscope in "leaf dip" preparations and ultrathin sections, respectively.

Sixteen virus isolates were classified into recognized BCMV strains by host reactions in the following differential cultivars used by Drijfhout et al.(Neth.J. Pl. Path. 84: 13-26.1978): "Dubbele Witte", "Strinless Green Refugee", "Imuna", "Puregold Wax", "Sanilac", Michelite 62", "Redlands Greenleaf B", "Great Northern II 123", "Monroe", "Great Northern UI 31", "Red Mexican UI 35", "Jubila", "Top-crop", "Improved Tendergreen", "Widusa" and "Amanda".

Based on this method, four isolates, including two from Minas Gerais, one each from Parana and Goias, were classified in strain Group I. Nine other isolates, including

two each from Parana and Rio Grande do Sul and one each from Goias, Para, Santa Catarina, São Paulo and Bahia, belong to Group II, while all three isolates from Federal District are Group IV.

These results indicate that exists in Brazil at least three of seven strain groups of bean common mosaic virus according to the classification system of Drijfhout et al.

#### LITERATURA CITADA

- ALI, M.A. Genetics of resistance to the common bean mosaic virus (bean virus 1) in the bean (<u>Phaseolus vulgaris</u> L.).

  Phytopath. 40: 69-79. 1950.
- ALVAREZ, A.M & ZIVER, M.A. E1 "strain" NY 15 del mosaico comum del frijol en Chile. Agric.Tec. 25(4): 171-172. 1965.
- ALCONERO, R., MEINERS, J.P. & SANTIAGO, A. A new strain of common bean mosaic in Puerto Rico. Phytopath.62:667.1972. (Abstract)
- BOS, L. Bean common mosaic virus. C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses no 73. 4 pp. 1971.
- CAMARGO, I.J.B., KITAJIMA, E.W. & COSTA, A.S. Estudo ao microscópio eletrônico de tecidos de plantas infetadas pelo virus do mosaico comum e mosaico amarelo do feijoeiro.

  Bragantia 27 (33): 409-415. 1968.
- COSTA, A.S. Investigações sobre moléstias do feijoeiro no Brasil <u>In</u>. Anais do 1º Simpósio Brasileiro de Feijão, 2º vol. Viçosa. Imprensa Universitária. 1972. 305-384.
- CHRISTIE, R.G. & EDWARDSON, J.R. Light and electron microscopy of plant virus inclusions. Florida Agricultural Experiment Stations. Monograph series. nº 9. 1977.
- DEAN, L.L. & HUNGERFORD, C.W. A new bean mosaic in Idaho. Phytopath. 36: 324-326. 1946.
- DEAN, L.L. & WILSON, V.E. A new strain of common bean mosaic in Idaho. Pl. Dis. Rep. 43: 1108-1110. 1959.
- DRIJFHOUT, E. Genetic interaction between <u>Phaseolus vulgaris</u> and bean common mosaic virus with implications for strain identification and breeding resistance. Center for Agricultural Publishing and Documentation. 98 pp.1979. (Thesis)
- DRIJFHOUT, E., SILBERNAGEL, M.J. & BURKE, D.W.Diferentiation of strains of common mosaic virus. Neth.J.Pl.Path.84:13 26. 1978.

- DRIJFHOUT, E. & BOS, L. The identification of two new strains of bean common mosaic virus. Neth.J.Path. 83: 13-25. 1977.
- F.A.O. Production yearbook. 1976.
- GROGAN, G.R. & WALKER, J.C. The relation of common mosaic to black root of bean. J. Agric.Res. 77: 315-331. 1948.
- GAMEZ, R., OSORES, A. & ECHANDI, E. Una raza nueva del virus del mosaico comun del frijol. Turrialba 20(4):397-400.1970.
- GAMEZ, R. Los virus del frijol en Centroamérica. III. Razas del virus del mosaico comun del frijol en El Salvador y Nicarágua. Turrialba 23(4): 475-476. 1973.
- GAMEZ, R. Las enfermidades virales como factores limitantes en la produccion del frijol (Phaseolus vulgaris) en América Latina. Fitopatologia 12(1): 24-26. 1977.
- HARRISON, B.D., FINCH, J.T., GIBBS, A.J., HOLLINGS, M., SHEPHERD, R.J., VALENTA, V. & WETTER, C. Sixteen groups of plant viruses. Virology 45: 356-363. 1971.
- HAMPTON, R.O. The nature of bean yield reduction by bean yellow and bean common mosaic viruses. Phytopath. 65: 1342-1346. 1975.
- HAMPTON, R., BECZNER, L., HAGEDRON, D., BOS, L., INOUYE, T., BARNETT, O., MUSIL, M. & MEINERS, J. Host reactions of mechanically transmissible legume viruses of the northern temperate zone. Phytopath. 68(7): 989-997. 1978.
- KENNEDY, J.S., DAY, M.F. & EASTOP, V.F. A conspectus of aphids as vectores of plant viruses. Comm.Inst. Entom. 117 p.1962.
- KITAJIMA, E.W. A rapid method to detect particles of some spherical plant viruses in fresh preparations. J. Elect. Microscopy. 14: 119-121. 1965.
- KITAJIMA, E.W. Inclusões intracelulares induzidas pelo virus de planta. Rev.Soc.Bras.de Fitop. 2(2): 81-99. 1968.
- MEDINA, A.C. & GROGAN, R.G. Seed transmission of bean mosaic viruses. Phytopath. 51: 452-456. 1961.

- MORENO, R., GAMEZ, R. & GONZALES, L.C. El virus del mosaico comun del frijol (<u>Phaseolus vulgaris</u> L.), en Costa Rica. Turrialba 18(3): 257-263. 1968.
- MONTENEGRO, B.J. & GALINDO, A.J. El virus del mosaico comun del frijol en el estado de Guanajuato y evaluacion de la resistencia de variedades. Agrociencia 18: 89-95. 1974.
- MEINERS, J.P., GILLASPIE Jr. A.G., LAWSON, R.H. & SMITH, F.F. Identification and partial characterization of a strain of bean common mosaic virus from <a href="https://rec.phys.org/rep.edu/rep.287">Rhynchosia minima</a>.

  Phytopath. 68: 283-287. 1978.
- PIERCE, W.H. Viroses of the bean. Phytopath. 24:87-115.1934.
- PIERCE, W.H. The inheritance of resistance to common bean mosaic in field and garden beans. Phytopath.25: 875-883. 1935.
- RICHARDS, B.L. & BURKHOLDER, W.H. A new mosaic disease of beans. Phytopathological notes. Phytopath.33:1215-1216. 1943.
- STEWART, V.B. & REDDICK, D. Bean mosaic. Phytopath. 7: 61 . 1917.
- SKOTLAND, C.B. & BURKE, D.W. A seed-borne bean virus of wide host range. Phytopath. 51: 565-568. 1961.
- SILBERNAGEL, M.J. Mexican strain of bean common mosaic virus. Phytopath. 59: 1809-1812. 1969.
- SMITH, K.M. A textbook of plant viruses diseases. 3a. ed.

  London. Longman Group Ltd. 1972.
- SAETTLER, A.W. & TRUJILLO, G.E. Monroe bean as a local lesion host for bean common mosaic virus. Phytopath. 62:489-490. 1972.
- UYEMOTO, J.K., PROVIDENTI, R. & SCHROEDER, W.T. Serological relationship and detection of bean common and bean yellow mosaic virus in agar gel. Ann. Appl. Biol. 71: 235-242 . 1972.
- ZAUMEYER, W.J. & GOTH, R.W. A new severe sympton inducing strain of common bean mosaic virus. Phytopath.54:1378-1385.

ZETTLER, F.W. A comparison of species of Aphididae with species of three other aphid families regarding virus transmission and probe behavior. Phytopath.57:398-400. 1967.

Tabela 1. Classificação das estirpes do VMCF baseada nas reações produzidas pelas cultivares diferenciais (Drijfhout et al. 1978)

													-											
										G	rupos	s de	es	tirp	es									
Cultivares		st.			I			ΙI			III	•		IV				V		V	I		VII	
diferenciais		Resi				***************************************					I	sola	dos											
differencials	v	Gr.de R	Type	NL 1	PR 9 M	Iran	NL 7	R 220	S 74	PV 25	NL 8	Florida	Idaho	Western	NL 6	Bailif	NY 15	NL 2	Imuna	NL 3	NL 5	NL 4	Mexican	Chile
A. (ii)	71						3																	
Dubbele Witte Str.Gr.Ref.		1	++	++	++	+	++	++	++	++	+ +	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+ +	+ +	+.	++
Puregold Wax Imuna		2	-	-	-	-	+ +t	+t +t		+ t + t	=	++	+	+ .	++	++	+t +t	+	++	+t +t		+	++	++
RG B GN 123		3	-	-	-	-	-	-	-	:	-	++	++	++	++	++	-	-	-	+ +t	+ +t	++	++	++
Sanilac Michelite 62		4	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	++	++	++	++	++	-	-	-
Monroe GN 31 RM 35		5		-	-	-		-	-	-	-	=	-	-	-	-	=	-	-	=	=	++++	+ + +	+ + +
B. (II)																		1.7						
Jubila		6	-	-	-	-				-	-	-	+ n	+ n	+n	+n	-	+n	+n	+n	+ n	-	-	-
Topcrop Imp.Tgr.		7	-	-	-	-	-	-	-	-	=	-	+ n + n	+n +n		+n +n	-	+n	+n +n		+ n + n	-	-	-
Widusa		8	-	-	-	-	-	-	-	-	+n	-	<u>+</u> n	<u>+</u> n	<u>+</u> n	<u>+</u> n	-	-	-	+n	+n	-	-	-
Amanda		9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+ n	-	-	-

<sup>+=</sup> suscetível, sensitiva, mosaico sistêmico moderado a severo; +t=suscetível, tolerante, sintoma sistêmico ausente, retardado ou leve, virus recuperado dos folíolos novos; -= resistente, não apresenta sintoma sistêmico, virus não recuperado dos folíolos novos; +n= suscetível sensitiva a necrose sistêmica, mor te dos brotos novos e virus não recuperado; +n= suscetível ou resistente, virus não recuperado de folíolos de plantas sem sintoma. (ii) = portadores de alelos recessivos; (II) = portadores de alelos dominan - tes.

Tabela 2 . Amostras de sementes introduzidas utilizadas neste estudo.

Fornecedor	Entidade	Estado	Nº Amostras
Maria A.S.Tanaka	EPAMIG	MG	26
Rivaldo C.Mafra	IPA	PE	03
Dirceu P.Santos	EMPABA	BA	10
Sérgio S.Menezes	EMATER	SE	01
J.Azevedo Dias	EMATER	SE	01
Jorge Alves	EMBRAPA (UEPAE/Pelotas)	RS	06
Jamil Feres	IPAGRO	RS	05
José Ribamar N.dos	Anjos.EMATER	GO	03
Edson H.N.Vieira	EMBRAPA		
	(CNPAF)	GO	14
Eliana Lopes Dau	EMCAPA	ES	12
Luis C.B.Nasser	EMBRAPA (UEPAE/Pontagrossa)	PR	08
Roberto Menezes	IAPAR	PR	08
Mário Akutsu	EMPASC	SC	06
Toshio Hara	UFRRJ	RJ	05
Geraldo de M.Moura	EMBRAPA (UEPAE/Rio Branco)	AC	01
João R.V.Correa	EMBRAPA (UEPAE/Altamira)	PA	06
Abdias F.Coimbra	EMATER	MT	07
José U.G.Fontoura	EMBRAPA (UEPAE/Dourados)	MT	07
Lenival S.Viana	EMATER	AL	02
Através CNPAF	EMBRAPA	AM	01
Através CNPAF	EMBRAPA.	SP	08
C.L.Costa	UnB	DF	18
A.S.Costa(folha de jão infectada, rece da através Prof.Kit ma da UnB).	ebi=	SP	01

Tabela 3. Amostras de sementes recebidas e isolados obtidos.

ESTADOS	Nº DE AMOSTRAS	Nº DE ISOLADOS
Acre	1	0
Amazonas	1	0
Alagoas	2	0
Bahia	10	1
Distrito Federal	18	3
Espírito Santo	12	0
Goias	17	2
Minas Gerais	26	2
Mato Grosso	14	0
Pernambuco	3	0
Parana	16	3
Para	6	1
Rio de Janeiro	5	0
Rio Grande do Sul	11	2
São Paulo	9	1
S. Catarina	6	1
Sergipe	<b>2</b>	
TOTAL	159	16

Tabela 4 . Origem dos isolados obtidos.

Νδ	Local	Estado	Isolado
1	Est. Biológica da UnB	D. Federal	DF 1
2	CPAC-EMBRAPA/Planaltina	D. Federal	DF 2
3	Fazenda Tamandua	D. Federal	DF 3
4	Lavras	M. Gerais	MG 1
5	Caldas	M. Gerais	MG 2
6	Ceres	Goias	GO 1
7	Rio Verde	Goiás	GO 2
8	1º de Maio	Parana .	PR 1
9	Mamboré	Parana	PR 2
10	Pontagrossa	Parana	PR 3
11	Julio de Castilho	R.G. do Sul	RS 1
12	Pelotas	R.G. do Sul	RS 2
13	Altamira	Para	PA 1
14	S Joaquim	S. Catarina	SC 1
15	Campinas	S. Paulo	SP 1
16	Ibotirama	Bahia	BA 1

Tabela 5 . Propriedades físicas "in vitro" do VMCF.

Isolados		L.	I.V	. (	dias	;) *	P.T.	I.(°C)	P.F.D.					
		1	2	3	4		50	55	10-	1 <sub>10</sub> -	210-	<sup>3</sup> 10 <sup>-4</sup>	410-5	
MG 1		+	+	_	_		+	-	+	+	+	_	-	
MG 2		+	+	-	-		+	-	+	+	+	-	-	
GO 1		+	+	-	_		+	_	+	+	+	_	-	
PR 2		+ .	+	•	-		+	_	+	+	+	-	-	
PR 1		+	+	+			+	-	+	+	+	+	-	
PR 3		+	+	+	-		+	-	+	+	+	+	-	
GO 2		+	+	+	-		+	-	+	+	+	+	-	
RS 1		+	+	+	_		+	-	+	+	+	-	-	
RS 2		+	+	+	_		+	-1-1	+	+	+	-	-	
SP 1		+	+	+	-		+	-	+	+	+	+	-	
BA 1		+	+	+	-		+	-	+	+	+	+	-	
SC 1		+	+	+	-		+	-	+	+	+		-	
PA 1		+	+	+	-		+	-	+	+	+	+	-	
DF 1		+	+	+	_		+	-	+	+	·+	+	-	
DF 2		+	+	+	_		+	-	+	+	+	+	-	
DF 3		+	+	+	_		+	-	+	+	+	+	-	

<sup>\* =</sup> ambiente com temperatura de 26° C

<sup>+ =</sup> suco infectivo

<sup>- =</sup> suco não infectivo

L.I.V. = longevidade "in vitro".

P.T.I. = ponto termal de inativação

P.F.D. = ponto final de diluição

Obs. As temperaturas 60, 65 e 70° C não constam nesta tabela, devido os resultados a partir da temperatura de 55° C se rem negativos.

Tabela 6 . Classificação dos isolados do VMCF, identificados no Brasil.

Cultivares	t.					Ģri	upos	de e	esti	rpes							
daretvares	is			I	II.									I			
Diferenciais	.Res		Isolados														
	Grp	MG1	MG2	GO1	PR2	PR1	PR3	GO 2	RS1	RS 2	BA1	SP1	PA1	SC1	DF1	DF2	DF3
A. Dubbele Witte Str.Gr.Ref.	1	++	++	++	+ +	+ +	++	++	++	++	++	+	+	+ +	÷ ÷	++	++
Puregold Wax Imuna	2	-	=	-	=	+t +t	+t +t	+t +t	+t +t	+t +t	+t 。+t	+t +t	+t +t	+t +t	+ +	++	+
RG B GN 123	3	-	Ξ	=	=	=	=	-	=	=	=	-	-	-	++	++	++
Sanilac Michelite 62	4	-	-	-	=	=	=	-	-	-	-	-	-	=	Ξ	=	=
Monroe GN 31 RM 35	5	-	=	-	-	=	:	=	=	=	=	= =	-	-	=	=	:
B.Jubila	6	-	-	-	-	-	-	_	-	-	-	_	-	-	-	-	-
Topcrop	7	-	-	-	-	-	-	-		_	-	-	-	-,	-	_	-
Imp.Tgr.		-	-	-	_	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Widusa	8	-	•		-	-	-	***	-	***	-	-	-	-		-	-
Amanda	9	-	_	-	-	-	-	-	_	-	_	-	-	-	-	-	-

<sup>+ =</sup> Suscetivel Sensitiva; + t = Suscetivel Tolerante; - = Resistente

A. = Grupo de cultivares com alelos recessivos (ii)

B. = Grupo de cultivares com alelos dominantes (II)

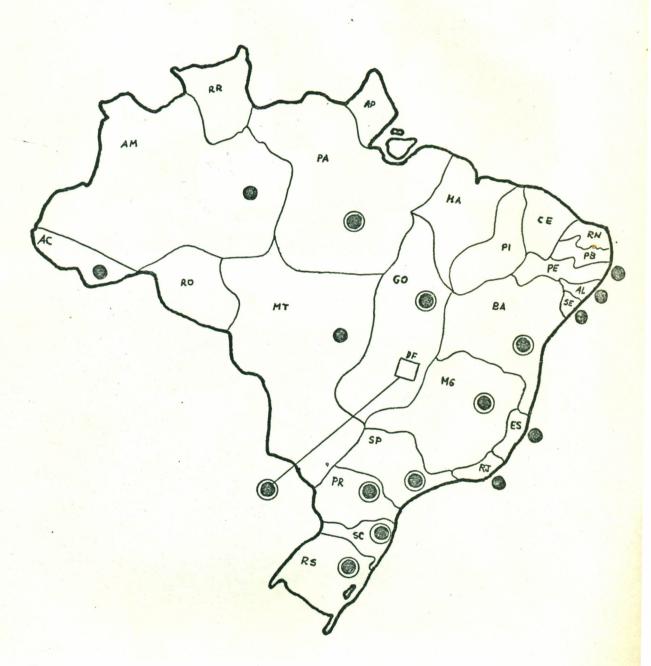
Tabela 7. Análise da transmissão pela semente dos tres grupos de estirpes identificadas no Brasil.

		Cultivares												
Grupo		Ric	0 23		Manteiga									
de Estirpes	N° Semen	de	Plantas infeta-		N° Semen		Plantas infeta-	_						
	Sem.	Germ.	das(nº)	(%)	Sem.	Germ.	das (nº)	(%)						
I	124	121	10	8,3	100	100	42	42						
II	140	136	20	14,7	119	100	49	49						
IV	168	167	56	33,5	240	224	143	64						

Sem. = semeadas

Germ. = germinadas

Fig. 1 Distribuição das amostras de sementes recebidas e dos isolados do virus do mosaico comum do feijoei ro obtidos destas amostras.



- Amostras
- Amostras e isolados



Fig. 2. Sintomas do VMCF nas cultivares de Feijão Jalo (A) e Manteiga (B).

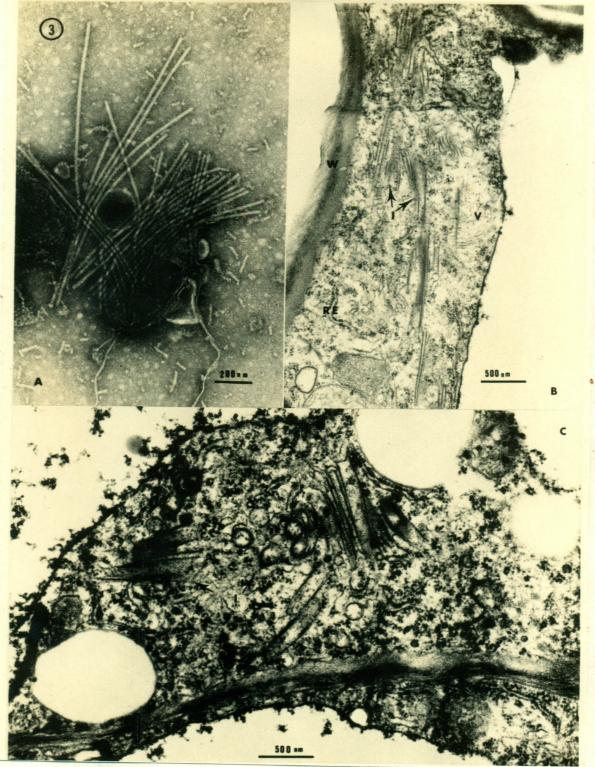
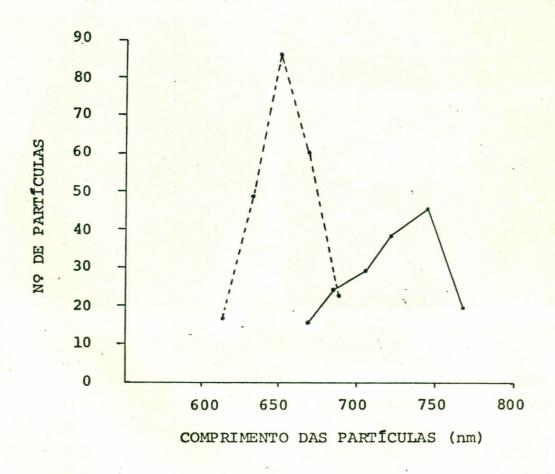


Fig. 3. Partículas (A) e inclusões citoplasmáticas (B e C) do VMCF. (W: parede celular; I: inclusões; V: virus e RE: retículo endoplasmático).

Fig. 4. Diagrama da distribuição das mensurações das partículas dos isolados do virus do mosaico comum do feijoeiro (VMCF) determinadas através de preparações em "leaf dip", tendo como padrão partículas' do virus S da batata (PVS).



PVS VMCF

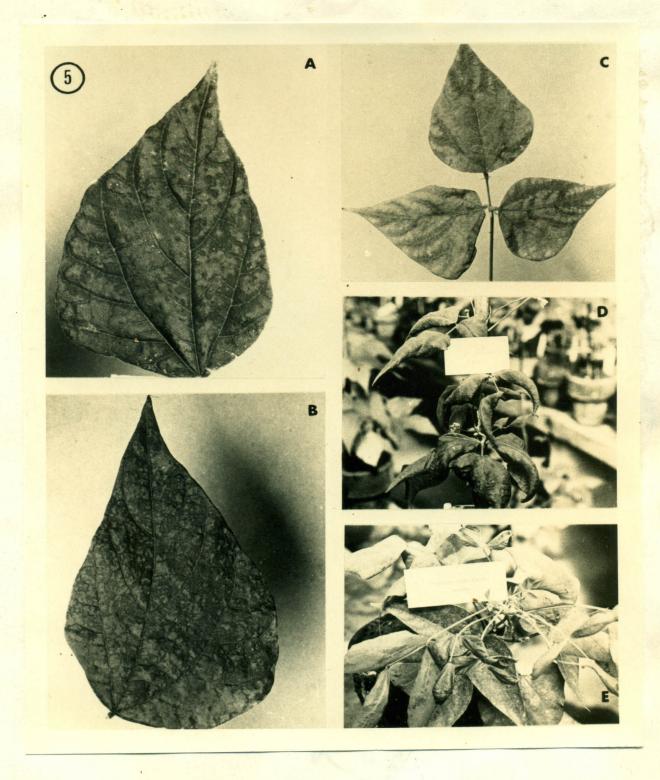
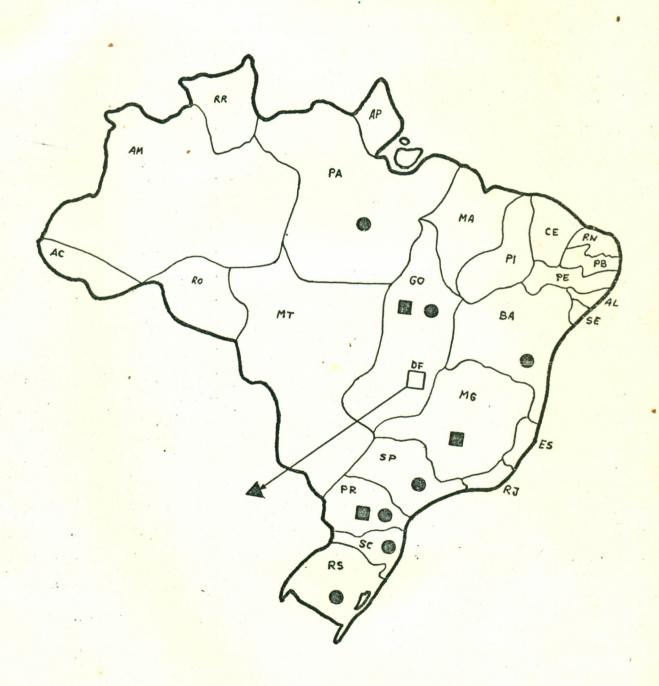


Fig. 5 . Sintomas de mosaico apresentados pelas cultivares diferenciais suscetíveis aos 3 grupos de estirpes identificados no Brasil. (De E) Grupo 1 de resistência; (A e C) Grupo 2 de resistência e (B) Grupo 3 de resistência.

Fig. 6 . Distribuição das estirpes do virus do mosaico comum do feijoeiro identificadas no Brasil, de acordo com a classificação de Drijfhout et al. (1978).



Grupo II

Grupo I

▲ Grupo IV