

Tolerância ao *Cowpea mild mottle virus* e sua concentração relativa em soja

Tatiana Mituti¹; Álvaro Manoel Rodrigues Almeida². ¹Graduanda de Biologia, Centro Universitário Filadélfia, Londrina, PR; ²Embrapa Soja, amra@cnpso.embrapa.br

Introdução

Os organismos patogênicos associados à soja, tais como fungos, bactérias e vírus, podem causar sérias perdas na produção dessa leguminosa. Nos últimos anos, surgiram vários organismos prejudiciais a esta cultura, dentre eles a podridão parda da haste, o oídio e a necrose da haste da soja (*Cowpea mild mottle virus*). Em março de 2003, em Palotina, PR, foram coletadas plantas da cv. CD 206 com intensos sintomas de necrose da haste, dos pecíolos e dos brotos, redução do porte e até morte de plantas (Almeida et al., 2002).

Através de análises biológica e molecular, foi confirmada a presença de um carlavírus semelhante àquele identificado como *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV), que causa a doença denominada de Necrose da Haste da Soja (VNHS). O CPMMV tem se espalhado rapidamente para as diversas regiões produtoras de soja, no Brasil, e é transmitido por mosca branca (*Bemisia tabaci*).

O trabalho teve como objetivo verificar o nível de sintoma da planta correspondente à concentração relativa do vírus, determinada através da técnica de ELISA indireto, e a influencia da temperatura no aumento da concentração viral.

Material e Métodos

Plantas de soja das cvs. BRSMT Pintado e BRS 133, consideradas resistentes, e CD 206 e BRS 136, consideradas suscetíveis, foram inoculadas com suspensão viral, obtida a partir da maceração de tecido foliar sintomático,

na presença de tampão fosfato de potássio 0,01M, pH7, utilizando carvão vegetal finamente moído como abrasivo. Após a inoculação, as plantas foram lavadas e mantidas em casa-de-vegetação, em temperatura de 28°C. As avaliações, quanto ao nível de sintoma (1 a 4), foram feitas 20 dias após a inoculação. O mesmo experimento foi repetido em condições de baixa temperatura (média 20°C).

As folhas do trifólio imediatamente acima das folhas primárias, inoculadas, e as folhas do terceiro trifólio foram utilizadas, isoladamente, para o teste de Elisa.

O teste de ELISA indireto (Koenig, 1981) foi feito utilizando anti-soro obtido pela imunização de coelhos com preparações purificadas do CPMMV. A imunoglobulina G (IgG) foi obtida após purificação do anti-soro. A diluição da IgG foi de 1:300. O extrato vegetal foi utilizado na diluição de 1:2500. Amostras de folhas de soja sadia foram utilizadas como controle negativo. As placas foram submetidas à leitura de absorbância em 405 nm, após 40 minutos da aplicação do substrato (p-nitrofenilfosfato).

Em outro experimento, procurou-se avaliar a concentração viral da planta aos 8, 16 e 32 dias após inoculação. O folíolo central de todos os trifólios, de cada planta inoculada, foi coletado e utilizado na análise.

Resultados e Discussão

Através do teste de ELISA, o VNHS foi quantificado, e, nos primeiros trifólios obtiveram-se as absorbâncias de 0,425, 0,257, 0,092 e 0,142, nas cultivares BRSMT Pintado, BRS 133, CD 206 e BRS 136, respectivamente. Nos trifólios mais novos, a absorbância foi de 0,565, 0,454, 0,362 e 0,370, em BRSMT Pintado, BRS 133, CD 206 e BRS 136, respectivamente.

As plantas assintomáticas das cvs. BRSMT Pintado e BRS 133 possuíam maior concentração de vírus do que as plantas das cvs. suscetíveis (CD 206 e BRS 136). Assim, essas cultivares foram denominadas como tolerantes ao CPMMV. Também constatou-se que, em baixas temperaturas, o nível dos sintomas aumentou nas plantas suscetíveis e nas tolerantes. Outro fato importante observado foi a maior concentração relativa de vírus nos trifólios mais novos.

No experimento de diferentes épocas de coleta das folhas, constatou-se o início do declínio da concentração relativa de vírus aos 16 dias após a inoculação das plantas.

O vírus causador da necrose da haste da soja é transmitido pela mosca-branca (*Bemisia tabaci*); no entanto, o controle do vetor é inviável. A melhor alternativa de controle é através de cultivares resistentes/tolerantes. Avaliações de campo mostraram que algumas cultivares são assintomáticas, enquanto outras apresentam recuperação. Dentre as cultivares assintomáticas, verificou-se a tolerância de BRSMT Pintado e BRS 133.

Cultivares assintomáticas não podem ser consideradas resistentes, necessitando diagnose para confirmação da presença de vírus. A concentração viral tende a diminuir nas plantas infectadas. Plantas suscetíveis não apresentaram recuperação e, entre 350 genótipos do banco ativo de germoplasma testados, nenhum foi resistente ou imune ao CPMMV.

Referências

ALMEIDA, A. M. R.; VLIET, H. van der.; KITAJIMA, E. W.; PIUGA, F. F.; MARIN, S. R. R.; BINNECK, E.; NEPOMUCENO, A. L. Necrose da haste: uma nova virose da soja, no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 2.; MERCOSOJA 2002, 2002, Foz do Iguaçu. **Perspectivas do agronegócio da soja: resumos**. Londrina: Embrapa Soja, 2002. p. 42. (Embrapa Soja. Documentos, 181). Organizado por Odilon Ferreira Saraiva, Clara Beatriz Hoffmann-Campo.

KOENIG, R. Indirect ELISA methods for the broad specificity detection of plant viruses. **Journal of General Virology**, v. 55, p. 53-62, 1981.