

COMPARAÇÃO DA REAÇÃO INDUZIDA EM VARIEDADES
DE FEIJOEIRO POR ISOLADOS DOS COMPLEXOS DE
VÍRUS DO MOSAICO COMUM DA SOJA E DO FEIJOEIRO

ANÉSIO BIANCHINI

Orientador: Dr. Álvaro Santos Costa

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Julho, 1980

A meus pais

Angelo Bianchini e Santina Bagio .

DEDICO

AGRADECIMENTOS

- Ao DR. ÁLVARO SANTOS COSTA pela orientação neste trabalho e contribuição para minha formação profissional.
- Aos professores HIROSHI KIMATI e ARMANDO BERGAMIM FILHO pelas críticas e sugestões apresentadas na revisão dos originais.
- Ao colega JORGE VEGA e VALDIR ATSUSKI YUKI da Seção de Virologia do IAC pelas respectivas contribuições nos exames em microscópio eletrônico dos isolados de vírus e obtenção de insetos vetores.
- Ao colega SEIJI IGARASHI do IAPAR pelas cópias das fotografias.
- Aos funcionários da Seção de Virologia que colaboraram no desenvolvimento deste trabalho, especialmente a Maria do Carmo Sarubi da Costa pelos serviços datilográficos referente.
- Ao INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ (IAPAR) e ao DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA DA ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ" pela oportunidade concedida para aperfeiçoamento.
- A EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA) pela concessão de bolsa.
- Ao INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS (IAC), especialmente à SEÇÃO DE VIROLOGIA pelas condições fornecidas para realização dos experimentos.
- A todos os colegas e amigos que de uma forma ou outra colaboraram durante o desenvolvimento deste trabalho.

ÍNDICE

	Página
Lista de tabelas	vii
Lista de figuras	ix
1. RESUMO	01
2. INTRODUÇÃO	04
3. REVISÃO DE LITERATURA	07
3.1. Vírus do mosaico comum da soja	07
3.1.1. Generalidades	07
3.1.2. Sintomas causados pelo VMCS no fei- joeiro	09
3.2. Vírus do mosaico comum do feijoeiro	10
3.2.1. Generalidades	10
3.2.2. Sintomas causados pelo VMCF no fei- joeiro	11
4. MATERIAL E MÉTODOS	14
4.1. Obtenção do material	14
4.1.1. Isolados dos vírus do VMCS e VMCF ...	14
4.1.2. Variedades utilizadas	15
4.1.3. Insetos vetores	16
4.2. Triagem varietal com diferentes isolados do VMCS e VMCF	16
4.2.1. Inoculação mecânica	16
4.2.2. Inoculação com vetor	18
4.3. Determinação do tipo de resistência	19

4.3.1. Inoculação da estirpe Piracicaba do VMCF em folhas primárias de plantas em vasos	19
4.3.2. Inoculação de folhas primárias destacadas com a estirpe Piracicaba e outros isolados do VMCS e VMCF	19
4.4. Testes de interação entre isolados de vírus dos dois complexos e entre isolados do mesmo complexo	20
4.5. Avaliação	20
5. RESULTADOS	22
5.1. Caracterização dos isolados do VMCS e VMCF obtidos no Paraná	22
5.2. Comparação entre os complexos do VMCS e VMCF na indução de sintomas nas diferentes variedades do feijoeiro através de inoculação mecânica	25
5.2.1. Sintomatologia induzida em inoculações dentro e fora de casa de vegetação ..	25
5.2.2. Indução de sintomas nas inoculações em épocas de temperatura ambiente relativamente moderada	27
5.2.3. Indução de sintomas nas inoculações em épocas de temperatura ambiente relativamente elevada	37
5.3. Comparação na indução de sintomas pelo VMCS e VMCF por inoculação mecânica e por vetor .	41

	Página
5.3.1. Indução de mosaico	41
5.3.2. Indução de necrose sistêmica	41
5.4. Determinação do tipo de resistência apresen- tada pelas variedades de feijoeiro ao VMCS e VMCF por inoculação de isolados que induzem necrose sistêmica	44
5.4.1. Indução de necrose sistêmica com a es- tirpe Piracicaba do VMCF	44
5.4.2. Indução de lesões necróticas com a es- tirpe Piracicaba e isolados do VMCS e VMCF em folhas primárias desta- cadas	46
5.5. Avaliação do efeito de interação entre iso- lados do VMCS e VMCF em feijoeiro	48
6. DISCUSSÃO	50
7. CONCLUSÕES	58
8. SUMMARY	60
9. LITERATURA CITADA	63

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
01 Reação induzida por isolados do vírus do mosaico comum da soja obtidos no Paraná (S ⁰ a S ³) e por um isolado identificado (S _i) do VMCS, quando inoculados comparativamente em plantas-teste de feijoeiro e soja	23
02 Reação induzida por isolados do vírus do mosaico comum do feijoeiro obtidos no Paraná quando inoculados em plantas-teste do feijoeiro e soja ...	26
03 Reações obtidas em variedades de feijoeiro inoculadas mecanicamente com isolados do VMCS e VMCF no período de abril a outubro	28
04 Reações obtidas em variedades de feijoeiro inoculadas mecanicamente com isolados do VMCS e VMCF no período de novembro a março	39
05 Frequência na manifestação de mosaico em variedades de feijoeiro suscetíveis quando inoculadas com o VMCS e VMCF mecanicamente e pelo pulgão <i>M.persicae</i> .	42
06 Frequência de reação necrótica sistêmica em feijoeiros hipersensíveis inoculados com o VMCS e VMCF, mecanicamente e pelo vetor <i>Myzus persicae</i> .	43
07 Reação das variedades de feijoeiro resistentes ao VMCF inoculadas com isolado da estirpe Piracicaba para determinação do tipo de resistência.	45

Tabela

Página

08	Reação induzida por isolados do VMCF e VMCS quando inoculados como inóculo simples ou em mistura em plantas de feijoeiro	49
----	--	----

LISTA DE FIGURAS

Figuras	Páginas
01 Sintomas locais em folhas primárias causados pelos isolados do VMCS e VMCF em feijoeiro que reagem com mosaico	30
02 Escala de severidade dos sintomas de mosaico induzido por isolados do VMCS e VMCF	32
03 Sintomas induzidos na variedade Roxinho do feijoeiro pelo isolado S ₂ do vírus.....	35
04 Sintomas induzidos em variedades de feijoeiro com resistência de hipersensibilidade	40
05 Reação induzida pelo VMCS e pela estirpe Piracicaba do VMCF em folhas primárias destacadas de feijoeiro com resistência de hipersensibilidade.	47

1. RESUMO

Foram inoculadas, em casa de vegetação e fora desta, 20 variedades de feijoeiro com o vírus do mosaico comum da soja (VMCS) e com o vírus do mosaico comum do feijoeiro (VMCF). Os testes tiveram por objetivo estabelecer diferenças na sintomatologia induzida pelos dois vírus, em variedades comumente cultivadas no Estado do Paraná, que permitissem a diagnose desses em condições de campo.

As 20 variedades testadas dividiram-se em três grupos, segundo a reação destas aos complexos VMCS e VMCF : 1 - variedades suscetíveis aos dois complexos de vírus, e reagindo com mosaico: Jalinho, Mãezinha, Paulista, Pinto Nacional, Rosinha e Roxinho; 2 - suscetíveis ao VMCF, reagindo com mosaico e clorose, e resistente ao VMCS, reagindo com lesões locais cloróticas sem apresentar mosaico : Carnaval, Goiano Precoce e Jalo; 3 - resistentes hipersensíveis às duas viroses, reagindo frequentemente com necrose sistêmica: Aeté 1/38, Aroana, Bolinha (preto), Chumbinho, Coco Blanchi, Graxa, Moro, Olho de Pomba, Painão, Rio Tibagi e Vinagrinho.

As variedades do primeiro grupo, Jalinho e Mãezinha, mostraram um mosaico mais severo, e a var. Roxinho reagiu com mosaico evidente somente aos isolados F_2 do VMCF e S_0 e S_2 do VMCS. A var. Carnaval, do segundo grupo, apresentou algumas manchas cloróticas sistêmicas aos isolados S_1 e S_2 do VMCS. Nas variedades do terceiro grupo a reação de hipersensibilidade apareceu com maior frequência na época mais quente do ano, de novembro a março. A var. Rio Tibagi, entretanto, apresentou necrose sistêmica durante todas as épocas do ano em que foi inoculada.

O VMCS induziu um mosaico sempre mais severo que o induzido pelo VMCF nas variedades suscetíveis. As plantas infectadas distinguiram-se das infectadas com o VMCF pela tendência de desenvolver sintomas de "mosaico em colherinha". De todos isolados, o S_3 e S_1 foram os que induziram mosaico mais severo causando eventualmente morte apical ou da planta inteira nas variedades Jalinho e Mãezinha. Sintomas necróticos, locais e sistêmicos, também foram mais frequentemente induzidos pelo VMCS que pelo VMCF.

Nas inoculações com o vetor o VMCF induziu necrose sistêmica com maior frequência que com inoculações mecânica. Para o VMCS, a indução de necrose sistêmica foi maior com inoculação mecânica que com o vetor, resultado esse, que foi atribuído à baixa eficiência do vetor em transmitir o vírus.

Em inoculações em folhas destacadas das variedades Rio Tibagi e Coco Blanchi, o VMCS induziu lesões necróticas em pintas enquanto o VMCF não induziu nenhuma le

Testes com misturas de isolados do VMCS e VMCF inoculados simultaneamente na mesma planta e a intervalos de 4 dias, entre a inoculação de um isolado e outro, mostraram sintomas intermediários que indicam relação de parentesco entre eles.

Embora tenham ocorrido diferenças na sintomatologia das duas viroses, causada pelo VMCS e VMCF, estas não foram frequentemente suficientes para permitir uma diagnose positiva do vírus causal em condições de campo, necessitando-se de testes adicionais em laboratório ou casa de vegetação em hospedeiros diferenciadores, completar a identificação do vírus.

2. INTRODUÇÃO

O vírus da soja *Glycine max* (L.) Merr. conhecido por vírus do mosaico comum da soja (VMCS), ocorre na maioria dos países onde se cultiva esta leguminosa. No Brasil este vírus está presente praticamente em todas as lavouras. Além da soja o VMCS é patogênico a várias outras leguminosas, entre estas o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) o qual apresenta um grande número de variedades altamente suscetíveis (CONOVER, 1948; HEINZE e KÜHLER, 1940; QUINIONES e DUNLEAVY, 1970; COSTA *et alii*, 1972, 1978).

A ampliação na área de cultivo da soja no sul do Brasil é um dos fatores que vem possibilitando uma rápida distribuição do VMCS em regiões onde se cultiva o feijoeiro, tornando este vírus uma séria ameaça para esta cultura nas áreas onde variedades suscetíveis são cultivadas. No Paraná este problema pode se tornar mais sério, tendo em vista a bastante acelerada ampliação no cultivo da soja. Até o início da década de sessenta (BRASIL, 1975) o cultivo da soja restringia-se praticamente ao Estado do Rio Grande do

Sul, o qual atingiu em 1960 93% da produção nacional. Só a partir de 1968, a expansão da cultura registrou-se em níveis significativos para outros estados, e o Paraná destacou-se atingindo em 1979 40% da produção nacional (levantamento do CNPSoja).

O VMCS é transmitido por várias espécies de afídeos (KOSHIMIZU e IIZUKA, 1963; SMITH, 1972; COSTA *et alii*, 1978) o que facilita a sua transmissão da soja para o feijoeiro e também dentro de uma mesma cultura.

Não há ainda determinação da importância econômica ou epidemiológica do VMCS para a cultura do feijoeiro, mas o vírus já foi isolado de plantas desta cultura em condições naturais de campo (COSTA *et alii*, 1971) o que vem comprovar a possibilidade de ocorrer uma incidência da virose nas condições acima, causando sérios prejuízos caso ocorram fatores favoráveis.

A indução de sintomas pelos dois complexos de vírus, VMCS e VMCF, em feijoeiro são mais ou menos similares. Em geral, ambos induzem mosaico e ou necrose. A diferença é que os sintomas do mosaico causados pelo VMCS são em geral mais severos que os induzidos pelo VMCF (COSTA *et alii*, 1978). No entanto, em campo onde ocorrem variações de ambiente, de estirpes dos vírus e variedades do feijoeiro, a sintomatologia induzida pelos dois complexos de vírus também pode variar muito o que vem causar muita confusão quanto à identificação das viroses causadas pelo VMCS ou VMCF. Em levantamentos destas viroses é necessário, portanto, um conhecimento prévio das variações principais e mais comuns

que ocorrem sob a influência dos fatores acima.

Os objetivos do presente trabalho foram 1) determinar comparativamente as variações na reação de variedades de feijoeiro a diferentes isolados dos dois complexos VMCS e VMCF e estabelecer as principais diferenças entre a sintomatologia das duas viroses que possam facilitar ou permitir a distinção das mesmas em condições de campo; 2) encontrar variedades de feijoeiro que possam ser utilizadas em testes de diferenciação das duas viroses ou de estirpes dos vírus causadores; 3) demonstrar a existência de estirpes diferentes e verificar se a interação entre os complexos ou isolados destes induzem variações pronunciadas na sintomatologia; 4) determinar as variedades de feijoeiro suscetíveis e resistentes ao VMCS e o tipo de resistência entre diversas variedades do Estado do Paraná.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Vírus do mosaico comum da soja

3.1.1. Generalidades

O mosaico comum da soja, segundo vários autores (JOHNSON *et alii*, 1954; VASCONCELOS, 1963; VALIELA, 1969), foi constatado pela primeira vez por CLINTON (1916) em Connecticut, Estados Unidos, ao qual deu a denominação de clorose ou enrugamento. A natureza virótica do agente causal foi determinada por GARDNER e KENDRICK (1921) trabalhando com plantas que apresentavam o mesmo tipo de mosaico descrito por CLINTON (1916).

A partícula infecciosa do VMCS é semelhante à do VMCF; é alongada, do tipo bastonete flexuoso, pertencente ao grupo do vírus Y da batata (BRANDES e WETTER, 1969) (Potyvírus na língua inglesa). O tamanho da partícula varia de acordo com os autores, dentro de uma faixa de 12-18nm de diâmetro e de 650 a 800nm de comprimento (BRANDES e WETTER, 1959; QUANTZ 1961; GALVEZ 1966; ROSS, 1967; DEBROT & ROJAS, 1967).

De acordo com os dados de vários investigadores (HEINZE e KÖHLER, 1940; QUANTZ, 1961; VASCONCELOS, 1963; GALVEZ, 1963; QUINIONES e DUNLEAVY, 1970), outras propriedades físicas do VMCS como o ponto termal de inativação e ponto final de diluição também assemelham-se aos do VMCF.

A transmissão do VMCS pode ocorrer, naturalmente, pela semente e por insetos. Pela semente a porcentagem de transmissão varia desde valores insignificantes até 80%, de acordo com a variedade, estirpe do vírus, condições de ambiente e estágio da planta por ocasião da infecção (KENDRICK e GARDNER, 1924; CONOVER, 1948; KENNEDY e COOPER, 1967; ROSS, 1969; COSTA *et alii*, 1970; IIZUKA, 1973; PHATAK, 1974; PORTO e HAGEDORN, 1975; COSTA e COSTA LIMA NETO, 1975).

A transmissão por insetos pode ser feita por espécies de afídeos, principalmente o *Myzus persicae* Sulz. e *Aphis fabae* Scop. (HEINZE e KÖHLER, 1940; CONOVER, 1948; VASCONCELOS, 1963, KOSHIMIZU e IIZUKA, 1963; DEBROT e ROJAS, 1967). Da soja para o feijoeiro, foi demonstrado que a espécie *Myzus persicae* teve maior eficiência na transmissão do vírus entre outras sete espécies de afídeos testados (COSTA *et alii*, 1978).

O vírus é também facilmente transmissível por inoculação mecânica em condições experimentais.

Quanto à gama de hospedeiros, além da soja e do feijoeiro, foi demonstrado que o VMCS pode infectar várias outras espécies de leguminosas por inoculação mecânica e com insetos (QUANTZ, 1961; GALVEZ, 1963; WALTERS, 1963; VASCONCELOS, 1963; QUINIONES e DUNLEAVY, 1970).

3.1.2. Sintomas causados pelo VMCS no feijoeiro

O VMCS foi considerado inicialmente como incapaz de infectar o feijoeiro (KENDRICK e GARDNER, 1924; PIERCE, 1935). Posteriormente, HEINZE e KÖHLER (1940) em inoculações com o VMCS na var. "Wachsdattel" observaram o desenvolvimento de lesões necróticas. QUANTZ (1961) demonstrou que diversas variedades de feijoeiro inoculadas com VMCS desenvolveram lesões locais. Entre estas, a var. "Doppellte holländische Princess" teve invasão sistêmica, desenvolvendo sintomas de mosaico. DEBROT e ROJAS (1967) descreveram, além de mosaico, o aparecimento eventual de necrose dos bordos das folhas com inoculação de var. "Doppellte holländische Princess" com o VMCS.

Lesões locais acompanhadas ou não de necrose sistêmica ou mosaico, foram induzidas em feijoeiro, com inoculação do VMCS, por diversos outros autores, em trabalhos posteriores (ROSS, 1969; DUNLEAVY, QUINIONES e KRASS, 1970; HAN e MURAYAMA, 1970; MILBRATH e SOONG, 1976; GABRIAL, PICKARD e STUCKEY, 1977). Com inoculação do VMCS, mecânica e com insetos, em diversas variedades de feijoeiro cultivados no Estado de São Paulo, COSTA *et alii* (1978) descreveram que os feijoeiros pertencentes ao grupo Preto reagiram com necrose local seguida de invasão sistêmica, que podia ser necrótica ou acompanhada de mosaico. Os feijoeiros, pertencentes ao grupo Rosinha, reagiram com forte mosaico acompanhado de redução no tamanho da planta, das folhas e da produção, dando um conjunto de sintomas mais severos que aqueles induzidos pelo VMCF.

Lesões necróticas locais também foram induzidas com inoculação do VMCS em folhas destacadas da var. Top crop e outras, mantidas sobre papel de filtro úmido em placas de "Petri" à temperatura de 30 a 32°C, (QUANTZ, 1957, QUANTZ, 1961; MILBRATH e SOONG, 1976). MILBRATH e SOONG (1976) observaram que o número de lesões foi maior a 30°C que a 25°C, e a 35°C não apareceram lesões. Estes investigadores observaram também, que o número de lesões foi inversamente proporcional à diluição do inóculo. O VMCS pode também invadir plantas de feijoeiro sem induzir nenhum sintoma nas mesmas (CONOVER, 1948; GALVEZ, 1963; GHABRIAL, PICKARD e STUKEY, 1977).

3.2. Vírus do mosaico comum do feijoeiro

3.2.1. Generalidades

O mosaico comum do feijoeiro foi reconhecido, pela primeira vez, como uma doença causada por vírus, por STEWART e REDDICK (1917) nos Estados Unidos, ao qual deram o nome de bean mosaic virus (BMV). PIERCE (1934) acrescentou o cognome "comum" para diferenciar do vírus do mosaico amarelo do feijoeiro, completando então, a denominação de vírus do mosaico comum do feijoeiro (VMCF).

Como já mencionado anteriormente o VMCF e o VMCS possuem estrutura e propriedades físicas semelhantes. O VMCF é transmitido através das sementes do feijoeiro, mecanicamente (STEWART e REDDICK, 1917) e por afídeos (NELSON, 1922; FAJARDO, 1930; ZAUMEYER e KEARNS, 1936). Entre estes afídeos encontra-se a espécie *Myzus persicae*, a qual

já foi citada como boa transmissora do VMCS.

3.2.2. Sintomas causados pelo VMCF no feijoeiro

O mosaico comum do feijoeiro é uma das moléstias viróticas mais conhecidas e o sintoma principal, como o próprio nome indica, é o mosaico, já descrito por STEWART e REDDICK (1917). As características mais comuns do mosaico são áreas verdes claras no limbo da folha entremeando áreas verdes escuras que em geral acompanham as nervuras. Pode ocorrer também embolhamento nas áreas verdes escuras, enrolamento, retorcimento e diminuição do tamanho dos folíolos.

A expressão dos sintomas induzidos pelo VMCF no feijoeiro é muito variável dependendo da variedade, idade da planta e condições de ambiente sob as quais a planta é desenvolvida. (ZAUMEYER e WADE, 1935).

Um tipo de mosaico diferente do característico, apresentado pelo VMCF em feijoeiro, foi observado na variedade Jalo quando infectada com estirpes do vírus do VMCF que ocorrem no Estado de São Paulo (COSTA *et alii*, 1971). Segundo estes, as plantas infectadas sofrem forte paralização no crescimento, amarelecimento generalizado e folhas grossas curvadas para baixo. O crescimento novo formado após a infecção tem folhas pequenas e entre-nós curtos. Os sintomas não são definidos, a aparência da planta sugere outra moléstia. A produção é nula.

Os sintomas de mosaico no feijoeiro causado pelo VMCF, na maioria das vezes não são precedidos de lesões locais bem definidas nas folhas primárias, nas inocula-

ções artificiais. Dependendo da variedade e da estirpe do vírus eles podem aparecer sob forma de manchas cloróticas ou lesões circulares em forma de anéis escuros (FRANSEN, 1952; ZAUMEYER e GOTH, 1964).

Sintomas necróticos também são frequentemente induzidos pelo VMCF. Estes podem aparecer em forma de anéis, pontuações necróticas e necrose das nervuras. Estas lesões podem ser seguidas de necrose sistêmica, a qual reúne necrose vascular, descolaração do caule, morte apical e morte da planta. Este quadro de reação necrótica sistêmica, é conhecido por "black root disease", descrita por JENKINS (1940) o qual encontrou sintomas deste tipo em campo somente em plantas no florescimento ou na formação de vagens. Vários trabalhos posteriores também mostram a indução de necrose sistêmica, do tipo "black root", com inoculação do VMCF em variedades com tipo de resistência da var. "Corbett Refugee", tida como hipersensível (GROGAN e WALKER, 1948; ZAUMEYER e THOMAS, 1948; THOMAS e FISHER, 1954; QUANTZ, 1957, PETERSEN, 1958; SCHNEIDER e WORLEY, 1962; SAETTLER e TRUJILLO, 1972).

Lesões necróticas locais foram também induzidas em variedades hipersensíveis por QUANTZ (1957) e SCHNEIDER e WORLEY (1962) com inoculação do VMCF em folhas destacadas a 32°C. O aparecimento das lesões se deu 2 a 3 dias após a inoculação.

A necrose sistêmica causada pelo VMCF em feijoeiro é uma reação característica de variedades que não apresentam mosaico quando inoculadas com este vírus. Estas

variedades são tidas como hipersensíveis cujo caráter é governado por um par de gens dominantes. Estes gens em combinação com gens dominantes que conferem suscetibilidade dos tecidos à infecção pelo vírus, inibem a expressão de sintomas de mosaico e condicionam a expressão de necrose sistêmica através de um mecanismo de hipersensibilidade (ALI, 1950; PETERSEN, 1958). DRIJFHOUT (1978), trabalhando com várias estirpes de VMCF e diferentes variedades de feijoeiro, deduziu que a expressão dos sintomas do feijoeiro ao VMCF depende da combinação dos gens que governam os diferentes tipos de reação da planta com a estirpe do VMCF e também com as condições de ambiente sob as quais as plantas infectadas são submetidas.

Dos fatores de ambiente a temperatura tem grande influência na expressão dos sintomas por plantas infectadas com o VMCF. Sintomas de mosaico e outras características de variedades suscetíveis, em geral, se expressam melhor numa faixa de temperatura que varia de 20º a 28ºC, sendo mascarados em temperatura fora desta faixa (FAJARDO, 1930; ZAUMEYER e GOTH, 1963). Sintomas necróticos locais ou sistêmicos, característicos de variedades com hipersensibilidade, são mais favorecidos com temperaturas ao redor de 32ºC (GROGAN e WALKER, 1948; THOMAS e FISHER, 1954; QUANTZ, 1957, 1961; SCHNEIDER e WORLEY, 1962; ZAUMEYER e GOTH, 1964).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado na Seção de Virologia do Instituto Agronômico de Campinas (IAC). Foi conduzido, em sua maioria em casa de vegetação e somente no caso da triagem geral das variedades com os difernetes isolados do VMCS e VMCF, foram os testes conduzidos dentro e fora de casa de vegetação. Todas as inoculações foram feitas em plantas de feijoeiro crescendo em vasos cônicos de alumínio, de 15 cm de diâmetro de boca e 16 cm de altura, cheios de terra e composto orgânico em partes iguais. Na maioria dos casos, utilizou-se somente 2 plantas em cada vaso. Somente nos testes de inoculação com vetor e hipersensibilidade utilizou-se mais de 2 plantas por vaso, no máximo, quatro.

4.1. Obtenção de material

4.1.1. Isolados dos vírus VMCS e VMCF

Foram utilizados neste trabalho 5 isolados de vírus do VMCS e 3 do VMCF. Os 5 isolados do VMCS foram simbolizados como S_0 , S_1 , S_2 , S_3 e S_i . Com exceção do isolado

S_1 , todos os outros foram procedentes do Estado do Paraná. Os três primeiros foram provenientes de sementes infectadas, mostrando "mancha café", coletadas nas regiões de Londrina, Vila Velha e Florestal, respectivamente. O S_3 , originário de Maringá e o S_1 , utilizado nos testes como padrão, foram fornecidos pela Seção de Virologia do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC).

Os isolados de vírus do mosaico comum do feijoeiro também obtidos no Estado do Paraná. Foram escolhidos 3 isolados e simbolizados como F_1 , F_2 e F_3 , sendo o F_1 e F_3 de plantas infectadas das regiões de Paranavaí e Ivaiporã, respectivamente e o F_2 de sementes infectadas da região de São João do Caiuá.

A caracterização dos isolados do VMCS e VMCF foi feita pela observação da reação desenvolvida por estes em hospedeiros diferenciadores. Para isso foram utilizadas plantas de feijoeiro Manteiga, Preto G-1, Rosinha, Carioca e soja Santa Rosa nos quais foram inoculados, mecanicamente, os isolados de vírus dos dois complexos. Foi feita também observação da morfologia das partículas ao microscópio eletrônico.

Foi utilizado também para identificação de variedades hipersensíveis 1 isolado da estirpe Piracicaba também pertencente ao grupo do VMCF. Este também foi fornecido pela Seção de Virologia do IAC.

4.1.2. Variedades utilizadas

Foram utilizadas no trabalho 20 variedades

de feijoeiro, 6 delas fornecidas pelo IAPAR (Instituto Agrônomico do Paraná) e as demais obtidas de produtores de diversas regiões do Estado do Paraná ou de sementes comercializadas. Procurou-se obter junto ao agricultor, além de variedades de maior importância para o Paraná, também, outras, cuja reação ao VMCS ou VMCF era desconhecida, esperando que algumas destas pudessem ser importantes nos trabalhos de identificação dos dois complexos, ou mesmo, encontrar alguma fonte de resistência importante para os trabalhos voltados ao controle das duas viroses através dessa abordagem.

4.1.3. Insetos vetores

Nas inoculações com insetos vetores foram utilizados pulgões da espécie *Myzus persicae* Sulz., obtidos de colônias criadas e mantidas na Seção de Virologia (IAC). Foram multiplicados em plantas herbáceas selvagens das espécies *Raphanus raphanistrum* L., vulgarmente chamada "rabanete selvagem", e *Emilia sonchifolia* DC., chamada de serralha. Estas plantas, desenvolvidas em vasos, foram mantidas com os pulgões em gaiolas insetárias, construídas com tela de "nylon", fina o bastante para impedir a saída dos insetos, e com um tamanho de 0,8 x 0,5 m de base por 1,0 m de altura.

4.2. Triagem varietal com diferentes isolados de VMCS e VMCF

4.2.1. Inoculação mecânica

Todas as 20 variedades de feijoeiro obtidas

no Paraná foram inoculadas mecanicamente com todos os isolados dos dois complexos de vírus, VMCS e VMCF. Algumas variedades foram inoculadas em mais de uma época durante o ano: em época de temperatura elevada, de novembro a março, e época de temperatura moderada, de abril a outubro.

As inoculações foram feitas em plantas em vasos de alumínio obtidas com semeadura de 5 sementes por vaso. Das plantas emergidas selecionavam-se as duas melhores para inoculação. Para cada combinação de variedade e isolado foram utilizadas as plantas de 6 vasos, 3 mantidos fora e 3 dentro da casa de vegetação.

As inoculações foram feitas nas folhas primárias quando estas atingiam, em média, $2/3$ do seu tamanho normal. Os inóculos foram preparados utilizando-se folhas com sintomas característicos. Estes foram macerados em almofariz contendo solução de tampão fosfato a pH 7,0, 0,02M com adição de sulfito de sódio para atingir a mesma molaridade.

A suspensão do macerado contendo o vírus foi friccionada na face superior das folhas sobre as quais se havia espalhado pó de curburundum para servir de abrasivo e facilitar a introdução do vírus nas células. Após isto, o excesso da suspensão do inóculo e abrasivo eram lavados com água de torneira para evitar queima das folhas.

Para cada isolado em cada inoculação foram utilizados 2 vasos de cada variedade de fora da casa de vegetação e 2 dentro. Paralelamente, as plantas do terceiro vaso de cada variedade eram friccionadas somente com a so-

lução de tampão para servir de controle. Como todas as inoculações de todas variedades com todos isolados não foram feitas na mesma ocasião, em cada inoculação foi inoculado 1 vaso da variedade Rosinha para cada isolado que servia como padrão comparativo dos sintomas nas inoculações em diferentes épocas.

4.2.2. Inoculação com vetor

Das variedades inoculadas mecanicamente foram escolhidas para inoculação com vetor as que mostraram alta suscetibilidade ou reação de hipersensibilidade aos vírus inoculados. Estas foram inoculadas em época quente, de novembro a março.

As inoculações foram feitas nas folhas primárias das plantas novas nas mesmas condições daquelas utilizadas na inoculação mecânica. Estas foram realizadas utilizando pulgões não virulíferos, que foram deixados em jejum por uma hora e em seguida colocados em plantas de soja e de feijoeiro infectadas com o VMCS e VMCF, respectivamente, para a aquisição deste vírus. O período de aquisição do vírus foi de 15 a 20 minutos. Após a aquisição foram transferidos 10 a 15 insetos para cada planta sadia a ser infectada onde permaneceram por cerca de 1 hora e foram posteriormente mortos por pulverização com o inseticida Fosdrin.

Nos testes com o vetor foram inoculadas com cada isolado, de 4 a 6 plantas, 2 ou 3 em cada vaso respectivamente. Cada teste foi repetido duas vezes e foram feitos somente em condições de casa de vegetação. Os isolados

utilizados foram o S₂ do complexo VMCS e F₃ do VMCF. Plantas das mesmas variedades inoculadas com vetor foram também inoculadas em paralelo mecanicamente para comparação de sintomas entre os dois métodos.

4.3. Determinação do tipo de resistência

4.3.1. Inoculação da estirpe Piracicaba do VMCF em folhas primárias de plantas em vasos

Para determinar o tipo de resistência apresentada pelas variedades quando inoculadas com o VMCS e VMCF em testes preliminares foram, estas variedades, testadas com um isolado que induz necrose em feijoeiro com resistência de hipersensibilidade. As inoculações foram feitas mecanicamente, sendo inoculadas de 4 a 6 plantas de cada variedade e mantidas em casa de vegetação. Foram também inoculadas paralelamente com este isolado, 1 variedade suscetível como controle.

4.3.2. Inoculação de folhas primárias destacadas com a estirpe Piracicaba de VMCF e isolados do VMCS e VMCF

Plantas de variedades resistentes ao mosaico causados pelo VMCS e VMCF, a Rio Tibagi e Coco Bianchi, foram inoculadas mecanicamente com a estirpe Piracicaba do VMCF e isolados do VMCS e VMCF nas folhas primárias. Estas foram destacadas logo após a inoculação e colocadas em placas de "Petri" com algodão umedecido, para manter a umidade a nível de saturação no interior da mesma. Estas foram man-

tidas em sala de laboratório. As inoculações foram feitas em dois períodos com condições de temperatura diferentes: no primeiro a temperatura variou de 22°C a 26°C, no segundo, de 25°C a 32°C. Após 3 dias de inoculação foram feitas observações do aparecimento de sintomas locais.

4.4. Teste de interação entre isolados de vírus dos dois complexos e entre isolados do mesmo complexo

As interações foram feitas inoculando variedades de feijoeiro, com alta suscetibilidade ao VMCS e ao VMCF, com combinações de isolados de VMCS que induz mosaico fraco com o que induz mosaico forte. A inoculação foi feita pelo método mecânico já utilizado nos testes anteriores. Os isolados foram inoculados simultaneamente e com intervalo de 4 dias entre a inoculação do primeiro isolado para o segundo. Inoculação simultânea foi preparada misturando o inóculo de cada isolado antes da inoculação. Na inoculação com intervalo, o isolado de VMCF (F_1) e o isolado que induz mosaico fraco do VMCS (S_1) sempre foram inoculados antes do isolado que induz mosaico forte do VMCS (S_3).

4.5. Avaliação

As avaliações foram feitas comparando o tipo de sintomas e o grau de severidade.

No caso dos sintomas de mosaico avaliou-se o grau de severidade induzido por cada isolado em cada variedade. Para isto utilizaram-se valores numéricos que variaram de 0 a 5, onde 0, significou plantas sem sintomas ou

imunes, 1 significou sintomas de mosaico fraco ou indícios e 5, sintomas de mosaico severo onde as plantas mal se desenvolviam ou tinham seu crescimento nulo ou mesmo morte. Os valores 2, 3 e 4 significaram sintomas intermediários entre 1 e 5 em ordem crescente de severidade de 1 para 5.

Outros sintomas de tipos diferentes foram simbolizados com letras adequadas ou avaliados pelo número de plantas afetadas como no caso de reação de hipersensibilidade.

5. RESULTADOS

5.1. Caracterização dos isolados de VMCS e VMCF obtidos no Paraná

Os isolados do vírus do mosaico comum da soja e do mosaico comum do feijoeiro foram inicialmente inoculados em plantas testes em casa de vegetação para sua caracterização.

Isolados do VMCS. Os isolados S₀, S₁, S₂ e S₃, obtidos da soja quando inoculados em plantas testes de feijoeiro e de soja e comparados com a reação apresentada pelo isolado S_i do VMCS de Seção de Virologia, já identificado, comprovaram pertencer ao mesmo grupo de vírus (Tabela 1). A reação apresentada pelas variedades de feijão Manteiga, Preto G-1, Rosinha, Carioca e a variedade Santa Rosa de soja, foram característicos de VMCS. As plantas da variedade Manteiga apresentaram sintomas cloróticos (aracnóides) nas folhas primárias inoculadas, sem invasão sistêmica. Na variedade Carioca não houve reação positiva em nenhuma das inoculações. A var. Preto G-1 apresentou reação local necrô

TABELA 1 - Reação induzida por isolados do vírus do mosaico comum da soja obtidos no Paraná (S₀, S₂, S₃) e por um isolado identificado (S_i) do VMCS, quando inoculados comparativamente em plantas-teste de feijoeiro e soja.

Sigla do	Origem	Sintomas obtidos em plantas-teste inoculadas mecanicamente											
		Feijoeiros						Soja					
Isolado	Local	Variedade	Manteiga		Preto G-1		Rosinha		Carioca		Santa Rosa		
			L	St	L	St	L	St	L	St	L	St	
S ₀	Londrina	Santa Rosa	c	-	N	N*M	c	M	-	-	-	M	
S ₁	Vila Velha	Mineira	c	-	N	N*M	c	M	-	-	-	M	
S ₂	Florestal	Andrews	c	-	N	N*M	c	M	-	-	-	M	
S ₃	Maringá	Desconhecida	c	-	N	NM**	c	M	-	-	-	M	
S _i	S. Simão (SP)	Desconhecida	c	-	N	NM**	c	M	-	-	-	M	

c = sintomas cloróticos; L = sintomas locais; M = mosaico; N = necrose; St = sintomas sistêmicos; - = negativo, não houve sintomas; * = sintomas fracos; ** = sintomas fortes.

tica e necrose sistêmica, mosaico e deformações muito fortes nas folhas trifolioladas que mal se formavam e caíam. A var. Rosinha apresentou lesões locais cloróticas, mosaico e deformações fortes nas folhas trifolioladas. As plantas inoculadas com o isolado S_i apresentaram sintomas semelhantes aos isolados do Paranã, porém mais severos que os induzidos pelos isolados S_0 , S_1 e S_2 , causando na maioria dos casos morte das plantas. As plantas da Preto G-1 inoculadas com os isolados S_0 , S_1 e S_2 na maioria das vezes iniciavam com sintomas mais severos que os de S_i , mas não morriam e recuperavam desenvolvendo-se ou emitiam brotações novas com folhas miúdas e sintomas severos do tipo colherinha. Os sintomas na variedade de soja Santa Rosa, com os isolados S_0 , S_1 e S_2 foram característicos dos do VMCS, mas sempre mais fracos que os induzidos pelo isolado S_i nesta variedade, o que parece indicar serem estes isolados constituídos de estirpes mais fracas que as do isolado S_i . A produção de manchamento do hilo das sementes com estes isolados foi também de menor intensidade que a produzida pelo isolado S_i . Os sintomas induzidos pelo isolado S_3 foram igualmente severos aos do S_i .

Isolados do VMCF. Os isolados F_1 , F_2 e F_3 obtidos de feijoeiro foram também inoculados em plantas testes de feijoeiro, var. Manteiga, Preto G-1, Rosinha, Carioca e na var. Santa Rosa de soja e induziram reações típicas do VMCF (Tabela 2). Na var. Manteiga apareceram lesões cloróticas locais, clorose e epinastia nas folhas primárias. Na var. Carioca, que é resistente ao VMCF, não houve reação

em nenhuma inoculação com nenhum isolado. No feijão Preto G-1 e Rosinha os sintomas também foram característicos de VMCF para os três isolados, isto é, manchamento clorótico, às vezes, clorose das nervuras nas folhas primárias e mosaico típico do VMCF nas folhas trifolioladas. No caso do isolado F₂ o manchamento clorótico nas folhas primárias foi um pouco mais intenso do que os outros dois isolados, e nas folhas trifolioladas o mosaico também foi um pouco mais forte, com maior encurvamento dos bordos das folhas longitudinalmente ao limbo e maior formação de bolhas. A recuperação das plantas infectadas com o F₂ foi menos evidente que para os outros isolados. Os isolados F₁ e F₃ mostraram-se mais ou menos semelhante. Na variedade Santa Rosa apareceu eventualmente leve clorose nas folhas primárias, sem invasão sistêmica.

Exames ao microscópio eletrônico dos isolados do VMCS e do DMCF revelaram partículas alongadas com cerca de 730nm de comprimento, características deste grupo de vírus.

5.2. Comparação entre os complexos VMCS e VMCF na indução de sintomas nas diferentes variedades de feijoeiro através de inoculação mecânica

5.2.1. Sintomatologia induzida em inoculações dentro e fora de casa de vegetação

Não houve uma diferença pronunciada na sintomatologia induzida pelo VMCS e VMCF no feijoeiro entre, fora e dentro de casa de vegetação. Nas plantas inoculadas e

TABELA 2 - Reação induzida por isolados do vírus do mosaico comum do feijoeiro obtidos no Paraná (F₁ a F₃) quando inoculados em plantas-teste do feijoeiro e soja.

Siglas dos Isolados	Local	Sintomas obtidos em plantas-teste inoculadas mecanicamente													
		Feijoeiros						Soja							
		Manteiga	Preto G-1	Rosinha	Carjoca	Santa Rosa	L	St	L	St	L	St			
F ₁	Paranavaí	c	Mc	c	M	c	M	c	M	-	-	-	-	-	-
F ₂	S. João do Caiuá	c	Mc	c	M	c	M	c	M	-	-	-	-	-	-
F ₃	Ivaiporã	c	Mc	c	M	c	M	c	M	-	-	-	-	-	-

c = sintomas cloróticos; L = sintomas locais; M = mosaico; Mc mosaico clorótico característico do vírus do VMCF em feijoeiro do grupo Manteiga; St = sintomas sistêmicos;

- = negativo, não houve sintomas.

mantidas fora de casa de vegetação apenas em alguns casos, principalmente as plantas inoculadas com os isolados S₃ e S₁, apresentaram uma sintomatologia pouco mais severa que as inoculadas com os mesmos isolados e mantidas dentro de casa de vegetação. Em geral, nas plantas fora de casa de vegetação, ocorria também um certo mascaramento dos sintomas, principalmente quando estes eram fracos, tornando a avaliação um pouco difícil. Devido à não observação de diferenças consistentes na sintomatologia ou reação apresentadas pelas plantas, dentro e fora de casa de vegetação, os resultados foram apresentados englobadamente.

5.2.2. Sintomatologia induzida com inoculações em épocas de temperatura ambiente relativamente moderada

A época do ano considerada de temperatura moderada refere-se ao período compreendido de abril a outubro. Nas inoculações realizadas neste período, em geral, não houve uma diferença evidente, nos sintomas de mosaico, em relação às inoculações realizadas nas épocas de temperaturas mais elevadas, compreendida de novembro a março. Houve uma diferença mais pronunciada, apenas na frequência de sintomas necróticos os quais, neste período de abril a outubro apareceram raramente apenas em uma variedade em poucas plantas. Os resultados deste período estão representados na Tabela 3.

Diferenças entre VMCS e VMCF. Em geral, quanto ao tipo de sintomas induzidos pelos dois complexos as di

TABELA 3 - Reações obtidas em variedades de feijoeiro inoculadas mecanicamente com isolados do VMCS e VMCF no período de abril a outubro.

Variedades	Tipos de sintomas locais (L) e sistêmicos (St) e grau de severidade dos sintomas de mosaico															
	Isolados do VMCS						Isolados do VMCF									
	S ₀	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅					
	L	St	L	St	L	St	L	St	L	St	L	St	L	St	L	St
Aeté 1/38	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0
Aroana	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0
Bolinha (preto)	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0
Carnaval	cn	0	c ^a	mc	cn	mc	c ^a	0	mc	0	cn	1	cn	2	c ^a	1
Goiano Precocó	mc	0	c ^a	0	mc ^a	0	mc ^a	0	mc ^a	0	c ^a	2	cn	3	c	2
Graxa	/	/	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0
Jalinho	c	4	-	3	c	4	c	5	c	5	-	2	c	2	c	1
Jalo	mc	0	mc	0	cm	0	mc	0	mc	0	c	3	c	4	c	4
Mãezinha	c	4	c	3	c	4	c	5	c	5	c	2	c	2	c	2
Moro	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0
Olho de Pombo	/	/	-	2	-	4	-	5	-	5	-	1	-	1	-	1
Painço	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0
Paulista	/	/	c	2	c	4	c	4	c	4	c	2	c	2	c	2
Finto Nacional	/	/	c	3	c	4	c	5	c	5	c	1	c	2	c	2
Rio Tibagi	-	0	-	0	-	N	-	N	-	0	-	0	-	0	-	N
Rosinha	c	4	c	3	c	4	c	5	c	5	c	1	c	2	c	1
Roxinho	-	3	-	1	mc	3	mc	1	-	1	-	1	-	2	-	1
Vinagrinho	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0

0 = Nenhum sintoma; 1 = sintomas de mosaico fraco; 5 = severidade máxima dos sintomas ou morte das plantas; 2, 3 e 4 = sintomas intermediários entre 1 e 5; a = clorose nas nervuras com aspecto ariscoide; c = sintomas cloróticos; mc = manchas cloróticas; cn = clorose nas nervuras; N = necrose, não houve sintomas; / = não inoculadas.

ferenças foram muito poucas. Porém, houve uma diferença bastante pronunciada no que se refere a severidade dos sintomas induzidos, sendo estes bem mais fortes nas plantas inoculadas com o VMCS que nas inoculadas com o VMCF. Quanto aos sintomas locais nas folhas primárias inoculadas das variedades suscetíveis houve uma tendência de o VMCS induzir lesões cloróticas em manchas mais individualizadas que o VMCF o qual induzia uma clorose mais difusa no limbo foliar (Figura 1). Lesões locais em forma de anéis escuros apareceram também com maior frequência nas folhas inoculadas com o VMCS que com o VMCF. Quanto ao tipo de mosaico, o induzido pelo VMCF tendia a ser um pouco mais evidente, apresentando um contraste, entre as áreas verdes-escuras e verdes-claras, mais nítido do que o causado pelo VMCS. Como isto não ocorreu em muitos casos, esta diferença não pode ser generalizada. Porém, quanto à maior severidade dos sintomas com o VMCS em relação ao VMCF, foi constante em todos os testes realizados. A redução no tamanho das plantas e das folhas foi sempre mais drástica nas inoculadas com o VMCS. Este causou também, maior deformação, embolhamento e curvamento dos bordos nas folhas para baixo dando o sintoma denominado de "mosaico em colherinha". Os sintomas induzidos pelos isolados dos dois complexos nas variedades suscetíveis e o grau de severidade desses estão ilustrados na figura 2.

Diferenças entre isolados do VMCS. Entre os isolados deste complexo, o S₃ induziu sintomas mais severos, semelhantes aos induzidos pelo S₁. As plantas tinham seu crescimento limitado, entre-nós e pecíolos curtos, fo-

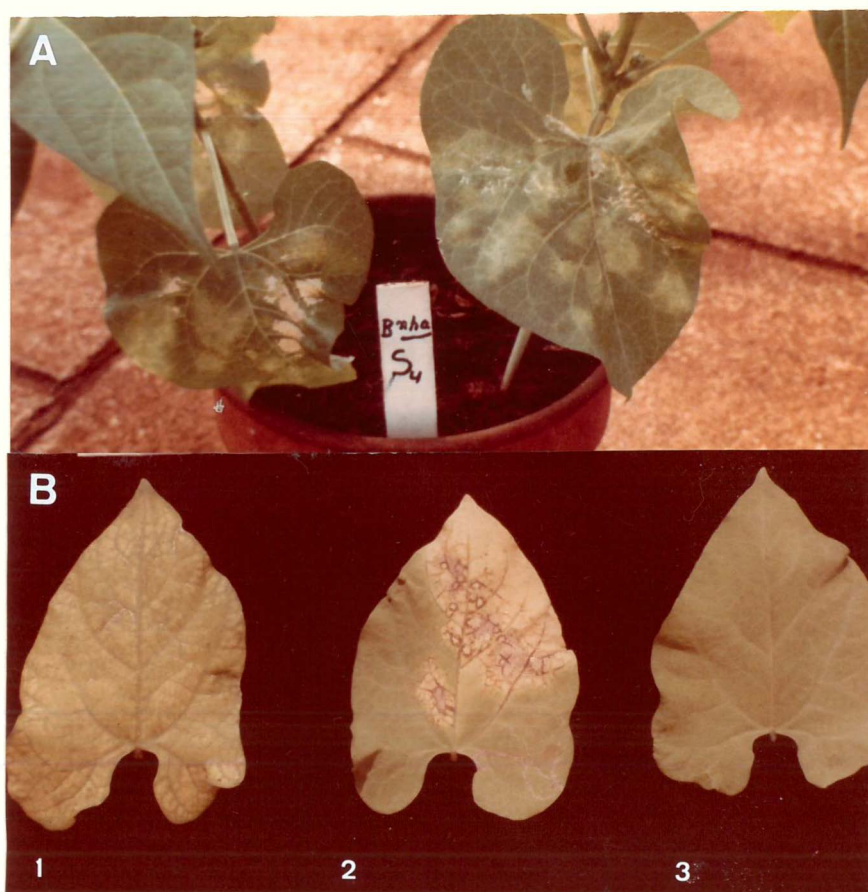


FIGURA 1. Sintomas locais em folhas primárias causados pelos isolados do VMCS e VMCF em feijoeiro que reagem com mosaico. A e B₂ - Sintomas induzidos pelo VMCS; B₁ - Sintomas induzidos pelo VMCF; B₃ - Controle.

lhas miúdas com mosaico e fortemente deformadas. Em muitos casos, o S_3 e S_i causaram morte das plantas ou então morte do broto apical no início do crescimento com brotações laterais que também não se desenvolviam, permanecendo, as folhas, miúdas e com mosaico (Figura 2E). As plantas que não morriam permaneciam verdes por longo tempo, às vezes, mais tempo que uma planta sadia mas sem produção de vagens. Os outros isolados do VMCS, S_0 , S_1 e S_2 também causaram mosaico forte, mas as plantas tinham um desenvolvimento melhor que as inoculadas com o S_3 e S_i (Figura 2C). Nessas, somente as folhas eram mais afetadas, com redução no seu tamanho, forte embolhamento ao longo da nervura principal e curvamento dos bordos para baixo, apresentando uma sintomatologia típica de "mosaico em colheirinha". As vagens também tinham seu número e tamanho reduzidos com uma produção de grãos quase nula. Estas, às vezes, apresentavam um manchamento verde escuro ao longo de suas suturas. Entre estes três isolados, S_0 , S_1 e S_2 , as diferenças nos sintomas induzidos foram muito poucas, apenas o S_1 mostrou-se levemente mais fraco em todas as inoculações.

Diferenças entre isolados do VMCF. Entre os três isolados deste complexo (F_1 , F_2 e F_3), o F_2 induziu sintomas pouco mais fortes que os outros dois os quais se mostraram semelhantes neste aspecto (Figura 2AB). Os três isolados induziram, essencialmente, mosaico, apenas as plantas inoculadas com o F_2 tiveram uma pequena redução no seu tamanho e poucas deformações nas folhas. A produção de vagens também foi pouco afetada; algumas dessas, em alguns ca



FIGURA 2. Grau de severidade dos sintomas de mosaico induzidos por isolados do VMCS e VMCF. A - Grau 1 representativo dos isolados F₁ e F₃ do VMCF; B - Grau 2, representativo do isolado F₂ do VMCF; C - Grau 3, representativo dos isolados S₀, S₁ e S₂ do VMCS; D e E - Graus 4 e 5 representativos dos isolados S₃ e S₁ do VMCS.

sos, também apresentaram descoloração verde escura ao longo de suas suturas. A formação dos grãos em raros casos foi seriamente afetada com estes isolados.

Diferenças entre variedades. As variedades de feijoeiro ensaiadas se distribuíram em três grupos principais quanto à reação aos dois complexos de vírus VMCS e VMCF: (1) variedades suscetíveis ao VMCS e VMCF, com reação local clorótica e sistêmica de mosaico; (2) variedades resistentes ao VMCS mas suscetíveis ao VMCF; (3) variedades com resistência de hipersensibilidade aos dois complexos de vírus com reação local necrótica, necrose sistêmica ou com ambas, dependendo do método de inoculação e temperatura.

As variedades de feijoeiro do primeiro grupo, suscetíveis aos dois complexos, com exceção da var. Roxinho, reagiram de maneira semelhante frente aos diferentes isolados, embora com ligeira variação na severidade dos sintomas quando infectadas com o mesmo isolado. Este comportamento se deu tanto para o VMCS como para o VMCF. Os sintomas nessas variedades iniciavam-se com lesões locais nas folhas primárias em formas de manchas cloróticas de diversos tamanhos ou clorose difusa no limbo ou, às vezes, acompanhando as nervuras dando um aspecto arocnoide. Aparecia também um manchamento de coloração parda ao redor das áreas cloróticas ou entremeadas com estas, ou eventualmente em forma de anéis. Estes sintomas locais não foram constantes, e na tabela 3 foram descritos os mais frequentes, tanto para as variedades deste grupo como para as dos outros grupos. Quanto aos sintomas sistêmicos predominou o "mosaico em

colherinha". Dentre as variedades deste grupo as variedades Mãezinha e Jalinho foram as que mostraram sintomas mais fortes que as outras e logo no início do ciclo, a todos isolados do VMCS e VMCF. Estas duas variedades e também a var. Pinto Nacional, às vezes, apresentavam morte do broto apical das plantas e, eventualmente, morte das mesmas quando inoculadas com os isolados S_3 e S_1 . Nesta última variedade os sintomas foram mais tardios. A var. Olho de Pombo também apresentou morte apical com esses dois isolados do VMCS mas somente fora de casa de vegetação. Este caso foi uma das poucas variações nas reações das plantas inoculadas com o VMCS e VMCF fora e dentro de casa de vegetação.

A var. Roxinho teve um comportamento diferente das outras variedades suscetíveis, diante dos diferentes isolados. Nesta os sintomas induzidos pelo VMCS e VMCF apareciam mais tardiamente que nas outras variedades, com algumas manchas cloróticas nas folhas primárias, mais evidentes com os isolados S_0 , S_2 e F_2 . Nas plantas inoculadas com os isolados S_0 e S_2 os sintomas iniciavam-se antes que o F_2 . Das folhas primárias os sintomas seguiam-se nas trifolioladas com clorose nas nervuras ou generalizando-se para todo o limbo da folha (Figura 3). Juntamente com as cloroses margeando estas também apareciam manchas pardas escuras. Estes sintomas eram mais pronunciados nas folhas mais velhas diminuindo para as partes mais novas da planta onde o mosaico e deformações das folhas passavam a predominar. Isto acontecia quando as plantas já atingiam seu desenvolvimento máximo. Nas plantas inoculadas com os isolados S_0 e S_2 , ini-



FIGURA 3. Sintomas induzidos na variedade Roxinho do feijoeiro pelo isolado S₂ do VMCS.

cialmente os sintomas de manchamento foram mais fortes com o S₂, posteriormente, quando às plantas atingiam seu maior desenvolvimento, os sintomas de mosaico foram mais fortes com o isolado S₀. Além de mosaico as plantas apresentaram também, formação de bolhas enrolamento e retorcimento das folhas aproximando-se dos sintomas tipo "colherinha". Com o isolado F₂ os sintomas foram mais fracos que os do S₀ e S₂. Os outros isolados não apresentaram mosaico evidente apenas manchas cloróticas ou clorose nas nervuras.

Variedades do segundo grupo, resistentes ao VMCS e suscetíveis ao VMCF foram as do grupo Manteiga: Carnaval, Goiano Precoce e Jalo as quais não reagiram com mosaico ao VMCS. Quanto aos sintomas locais nas folhas primárias, estes foram bem evidentes para os dois complexos os quais apareciam como uma clorose forte em forma de manchas ou difusa no limbo, às vezes, acompanhando as nervuras dando um aspecto arácnide. Na var. Goiano Precoce, as áreas cloróticas em manchas individualizadas nas plantas inoculadas com o VMCS foram bem evidentes (Figura 1A). Quanto aos sintomas sistêmicos, nas inoculações com o VMCS, somente a var. Carnaval apresentou algumas manchas cloróticas de 0,5 a 1,0 cm de diâmetro nas folhas trifolioladas e somente aos isolados S₁ e S₂, mais evidentes neste segundo. Estas manchas não progrediam e desapareciam com a maturação das folhas. Recuperação do vírus destas manchas para var. Rosinha foi positiva.

As três variedades do segundo grupo, quando inoculadas com isolados de VMCF foram todas invadidas sistematicamente, mas somente a Carnaval mostrou um mosaico mais

característico de mosaico comum do feijoeiro. Na variedade Jalo houve uma reação forte, semelhante à já descrita por COSTA *et alii* (1971) em variedades deste grupo. Esta apresentou-se com forte clorose e epinastia das folhas primárias, e nas folhas trifolioladas: clorose, forte enrugamento e curvamento do limbo para baixo. Ocorria, também, diminuição do tamanho das folhas, dos pecíolos e entre-nós, tornando as plantas um aspecto de enfezamento e raramente produzindo vagens. Na var. Goiano Precoce os sintomas foram parecidos com os da var. Jalo, apenas com menos severidade. Naquelas, as plantas tinham um desenvolvimento melhor e chegaram a produzir vagens e grãos.

As variedades do terceiro grupo, que se mostraram resistentes ao VMCS e ao VMCF não apresentaram nenhum sintoma de mosaico nas inoculações realizadas no período de abril a outubro, quando a temperatura ambiente não foi muito elevada, somente a var. Rio Tibagi apresentou, em algumas plantas, necrose sistêmica. Este sintoma aparecia já com a planta bem desenvolvida, próximo a época de florescimento. Iniciava-se com necrose das nervuras das folhas mais novas, posteriormente necrose do ápice e haste da planta e na maioria dos casos ocorria morte da mesma. Sintomas locais não foram observados.

5.2.3. Sintomatologia induzida com inoculações em épocas de temperatura ambiente relativamente elevada

Nas inoculações realizadas em época de tem-

peratura mais elevada, compreendida no período de novembro a março, os sintomas de mosaico induzidos pelo VMCS e VMCF no feijoeiro foram semelhantes aos induzidos no período anterior. Apenas a frequência de sintomas necróticos, locais ou sistêmicos, nas variedades hipersensíveis, foram mais frequentes neste período (Tabela 4). Neste período de novembro a março apareceu maior índice de necrose com maior número de isolados. O número de plantas afetadas também foi maior e os sintomas apareceram logo no início de crescimento das mesmas, acarretando morte em todas as que foram invadidas sistemicamente (Figura 4A). Os sintomas locais nas folhas primárias, que não haviam aparecido no período anterior, também apareceram neste, embora, não em todos os casos em que ocorreu invasão sistêmica (Figura 4AB). Entre as variedades resistentes inoculadas neste período a Coco Bianchi reagiu com necrose sistêmica a todos isolados do VMCS inoculados; com o isolado S₂ houve quase 100% de infecção. Entre seis plantas inoculadas com cada isolado desta variedade, cinco mostraram necrose sistêmica ao isolado S₂; duas ao S₁; duas ao S₁ e uma ao S₃. Esta quando inoculada com isolados do VMCF não reagiu com nenhum sintoma. A variedade Graça apresentou necrose sistêmica somente nas plantas inoculadas com o isolado S₂; com os isolados S₁, S₃, S₁ e F₃ esta variedade mostrou apenas pontuações necróticas nas folhas primárias ou algumas nervuras necróticas nestas; com os isolados F₁ e F₂ não houve reação alguma. A var. Rio Tibagi só não reagiu com necrose sistêmica aos isolados S₁ e S₁ do VMCS. Nesta variedade os isolados S₂ e S₀ infectaram com necrose sistêmica

TABELA 4 - Reações obtidas em variedades de feijoeiro inoculadas mecanicamente com isolados do VMCS e VMCF no período de novembro a março.

Variedades	Tipos de sintomas locais (L) e sistêmica (St) e grau de severidade dos sintomas de mosaico														
	Isolados do VMCS						Isolados do VMCF								
	S ₀		S ₁		S ₂		S ₃		S ₄		S ₅				
L	St	L	St	L	St	L	St	L	St	L	St	F ₁	F ₂	F ₃	
Bolinha (preto)	-	0	-	0	-	N	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Carnaval	c	0	c	0	c	0	c	0	c	0	c	1	c	2	c
Chumbinho	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Coco Bianchi	/	-	N	N	-	N	-	N	-	N	-	0	-	0	-
Golano Precocce	mc	0	mc ⁿ	0	mc ⁿ	0	mc ⁿ	0	mc ⁿ	0	mc ⁿ	0	c ^a	1	c
Graxs	/	Npn	0	Npn	N	Npn	0	Npn	0	Npn	0	0	-	0	-
Nãezinha	c	4	c	3	c	3	c	5	c	5	c	1	c	2	c
Pinto Nacional	/	N	c	3	c	4	c	5	c	5	c	2	c	2	c
Rio Tibagi	-	N	Nn	0	Nn	N	Nn	N	-	0	-	0	-	0	-
Rosinha	c	3	c	3	c	3	c	4	c	4	c	1	c	2	c
Roxinho	mc	3	-	1	mc	1	-	1	mc	1	-	1	2	-	1

0 = Nenhum sintoma; 1 = sintomas de mosaico fraco; 5 = severidade máxima dos sintomas ou morte das plantas; 2, 3 e 4 = sintomas intermediários entre 1 e 5; a = clorose nas nervuras com aspecto aranoide; c = sintomas cloróticos; cn = clorose nas nervuras; mc = manchas cloróticas; N = necrose; Nn = necrose nas nervuras; Npn = lesões necróticas em pontuações e nas nervuras; - = negativo, não houve sintomas; / = não inoculadas.

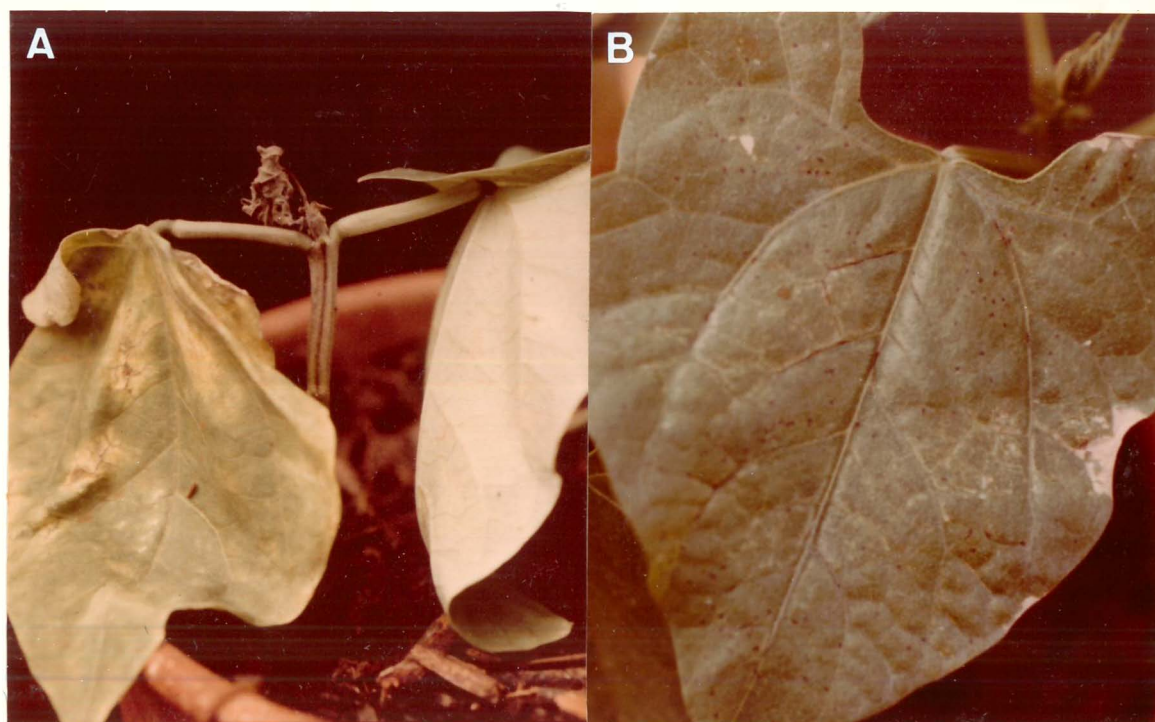


FIGURA 4 - Sintomas induzidos pelo VMCS e VMCF em variedades de feijoeiro hipersensíveis: A - tipo de sintomas necróticos nas folhas primárias e invasão sistêmica com necrose apical; B - pontuações necróticas locais nas folhas primárias da variedade Graxa.

ca a mesma porcentagem de plantas neste período, quatro plantas entre oito inoculadas; o isolado F₃ infectou, sistemicamente, somente uma planta em oito inoculadas. A var. Bolinha (preto) foi a que menos reagiu com necrose, sendo invadida, sistemicamente, somente com o isolado S₂.

5.3. Comparação na indução de sintomas pelo VMCS e VMCF por inoculação mecânica e por vetor

5.3.1. Indução de mosaico

As variedades de feijoeiro suscetíveis ao VMCS e VMCF, Mãezinha e Rosinha, inoculadas mecanicamente e por vetor com os isolados S₂ (VMCS) e F₃ (VMCF) não mostraram diferenças no tipo de sintoma induzido pelos dois métodos de inoculação com nenhum dos dois vírus. No entanto houve uma considerável diferença na porcentagem de transmissão dos mesmos, a qual, foi praticamente 100% com inoculação mecânica, enquanto que com inoculação por vetor, a porcentagem foi bem menor. Entre os dois complexos de vírus, nas inoculações com vetor, houve também uma maior transmissão do VMCF que do VMCS (Tabela 5).

5.3.2. Indução de necrose sistêmica

As variedades hipersensíveis ao VMCS e VMCF, foram inoculadas mecanicamente e com vetor, com os isolados S₂ e F₃, os quais têm demonstrado induzir necrose sistêmica com maior frequência. Os resultados obtidos estão representados na Tabela 6. Neste teste os sintomas de necrose sistêmica foram mais frequentes que nos testes anteriores, mesmo

TABELA 5 - Frequência na manifestação de mosaico em variedades de feijoeiro suscetíveis quando inoculadas com o VMCS e VMCF mecanicamente e pelo pulgão *Myzus persicae*.

variedades	Número de plantas infectadas de 12 inoculadas com os vírus abaixo pelos métodos indicados			
	VMCS		VMCF	
	Mecânica	Vetor	Mecânica	Vetor
Mãezinha	11	3	12	7
Rosinha	11	5	12	7
TOTAL	22	8	24	14
PORCENTAGEM DE TRANSMISSÃO				
	96	33	100	58

com inoculação mecânica. O tipo de necrose sistêmica induzido pelo VMCS e VMCF foram semelhantes em todas variedades nos dois métodos de inoculação, enquanto a frequência deste sintoma variou entre os dois complexos e entre os métodos de inoculação. Assim, a frequência de necrose sistêmica induzida pelo VMCS foi maior com inoculação mecânica que com vetor enquanto que, com o VMCF a frequência deste sintoma foi bem maior quando a inoculação foi com vetor. No total dos dois métodos o VMCS induziu mais necrose sistêmica

TABELA 6 - Frequência de reação necrótica sistêmica em feijoeiros hipersensíveis inoculados com o VCMS e VCMF, mecanicamente e pelo pulgão vetor *Myzus persicae*.

variedade	Número de plantas inoculadas (INO) e infectadas (INF) com relação de hipersensibilidade sistêmica							
	VMCS (S ₂)				VMCF (F ₂)			
	Mecânica		Vetor		Mecânica		Vetor	
	INO	INF	INO	INF	INO	INF	INO	INF
Aeté 1/38	11	0	11	1	9	0	12	2
Aroana	12	5	12	1	12	0	11	4
Bolinha (preto)	12	2	12	2	12	0	12	1
Coco Bianchi	4	2	6	3	5	0	6	1
Graxa	8	4	12	8	12	5	12	5
Moro	12	6	12	3	12	0	12	5
Painão	12	2	12	2	10	0	12	2
Rio Tibagi	12	9	12	4	12	1	11	4
Vinagrinho	12	1	12	1	12	0	12	3
TOTAL	95	31	101	23	95	6	100	27
PORCENTAGEM		33		23		6		27

ca que o VMCF. As variedades Rio Tibagi, Graxa, Moro e Coco Blanche foram as que mais apresentaram reação de hipersensibilidade, com os dois complexos, nas inoculações realizadas. Na maioria das variedades inoculadas apareceram poucas lesões locais necróticas nas folhas primárias, mas estas foram mais frequentes em plantas inoculadas com o VMCS e com inoculação mecânica. A var. Moro foi a que apresentou sintomas locais necróticos mais evidentes e com maior frequência quando inoculada com o VMCS, tanto com inoculação mecânica como com vetor. Em nenhum caso houve necrose local severa ou bastante pronunciada nas folhas primárias neste teste.

5.4. Determinação do tipo de resistência apresentada pelas variedades de feijoeiro ao VMCS e VMCF por inoculação de isolados que induzem necrose sistêmica

5.4.1. Indução de necrose sistêmica com a estirpe Piracicaba do VMCF

Todas variedades de feijoeiro que reagiram com necrose sistêmica ao VMCS e VMCF foram inoculadas neste teste, com o isolado da estirpe Piracicaba. Os resultados estão apresentados na Tabela 7. Estas reagiram com severa necrose sistêmica. Após 4 dias da inoculação, a maioria das variedades já apresentavam sintomas locais nas folhas primárias com abundantes pintas necróticas que evoluíam para as nervuras destas folhas. Após 10 ou 12 dias da inoculação as plantas já se apresentavam totalmente invadidas sistemicamente com necrose forte nas folhas novas trifolioladas, pe-

cíolos, broto apical e haste. Aos 20 dias da inoculação a maioria das plantas estavam mortas. A var. Vinagrinho, além de necrose sistêmica, também apresentou forte enrugamento dos folíolos e enrolamento dos bordos para baixo.

TABELA 7. Reação das variedades de feijoeiro resistentes ao VMCF inoculadas com a estirpe Piracicaba para determinação do tipo de resistência.

variedades	Sintomas induzidos pela estirpe		Reação
	Piracicaba inoculada mecanicamente		
	Locais (folhas primárias)	Sistêmicos (folhas trifolioladas)	
<u>Resistentes</u>			
Aroana	Nn	N	H
Bolinha (preto)	Nn	N	H
Graxa	Nn	N	H
Moro	Nn	N	H
Painão	Nn	N	H
Rio Tibagi	Nn	N	H
Vinagrinho	N	N	H
<u>Suscetível</u>			
Rosinha (controle)	cn	mc, r	S

cn = clorose nas nervuras; H = reação de hipersensibilidade; mc = manchas cloróticas; N = necrose; Nn = necrose nas nervuras; r = sintomas rugoso; S = suscetível

A var. Rosinha, que é suscetível ao VMCS e VMCF, foi também inoculada com a estirpe Piracicaba como controle do teste anterior e não reagiu com necrose sistêmica. Esta apresentou pintas necróticas claras nas folhas primárias mas somente aos 8 dias após a inoculação. Aos 12 dias da inoculação apareceram os sintomas sistêmicos com faixas cloróticas acompanhando as nervuras, assemelhando-se a mosaico, forte enrugamento do limbo e enrolamento dos bordos para baixo.

5.4.2. Indução de lesões necróticas com a estirpe Piracicaba e isolados do VMCS e VMCF em folhas primárias destacadas

Folhas primárias destacadas das var. Rio Tibagi e Cocco Blanchi foram inoculadas em diferentes condições de temperatura com o vírus da estirpe Piracicaba, com os isolados do VMCS, S₁, S₂ e S₃ e com os isolados do VMCF, F₁, F₂ e F₃. Em geral, a indução de sintomas pelos isolados do VMCS foi semelhante à estirpe Piracicaba, ambos induziram lesões necróticas em forma de pintas nas duas condições de temperatura utilizada, 22°C a 26°C e de 25°C a 32°C. Nesta segunda faixa de temperatura, mais elevada, o isolado S₂ e S₃ induziram numerosas pintas necróticas em um número superior à estirpe Piracicaba (Figura 5). O isolado S₁ induziu apenas algumas pintas, menos que a estirpe Piracicaba. Na faixa de temperatura mais baixa o número de lesões foi menor que na faixa de temperatura mais elevada para todos isolados que induziram este sintoma. Os isolados do

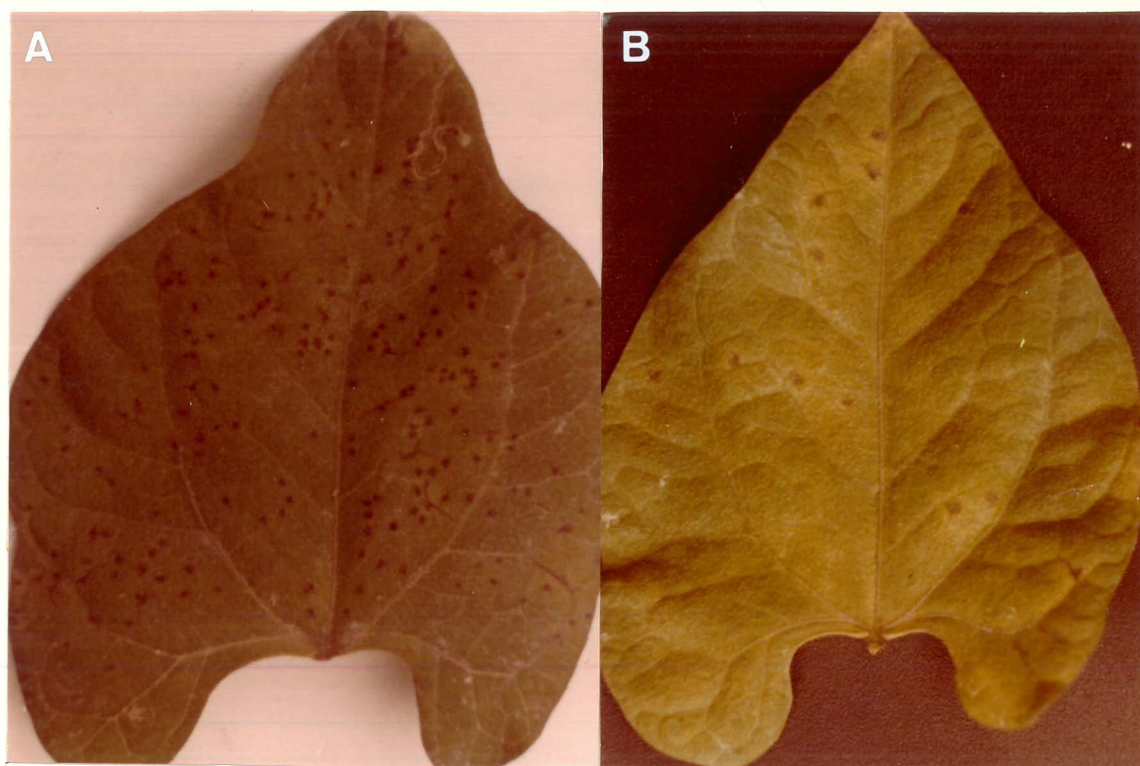


FIGURA 5 - Sintomas induzidos pelo VMCS e pela estirpe Piracicaba do VMCF com inoculação mecânica em folhas primárias destacadas. A - lesões induzidas pelo VMCS, isolado S₃ ; B - lesões induzidas pela estirpe Piracicaba.

VMCF não induziram nenhuma lesão em nenhuma das condições de temperatura.

5.5. Avaliação do efeito de interação entre isolados do VMCS e VMCF em feijoeiro

Com o objetivo de verificar a ocorrência de variações na sintomatologia normal induzida pelo VMCS ou pelo VMCF no feijoeiro com interação dos dois complexos de vírus, foram inoculadas três variedades suscetíveis de feijoeiro com inoculações simultâneas dos dois complexos ou com intervalo entre a inoculação de um vírus e outro. As combinações de isolados e resultados estão na tabela 9. Não houve diferença no tipo de sintoma apresentado em nenhuma combinação mas sim na severidade. Em geral nas inoculações duplas, simultâneas ou com intervalo entre inoculações, os sintomas foram intermediários entre os normalmente induzidos por cada isolado, componente da mistura, quando em inoculações simples.

TABELA 8 - Reação induzida por isolados do VMCF e VMCS quando inoculados com inóculo simples ou em mistura em plantas de feijoeiro.

Isolados ou Misturas	Grau de severidade dos sintomas de mosaico induzido em plantas das variedades abaixo		
	Mãezinha	Preto	Rosinha
F ₁ + S ₃ **	4	3	4
F ₁ + S ₃ ***	3	2	5
F ₁	2	2	2
S ₃	5	5	5
S ₁ + S ₃ **	4	/	/
S ₁	4	/	/

F₁ = isolado do VMCF; S₁ e S₃ = isolados do VMCS; F₁ + S₃ e S₃ + S₁ = misturas de isolados; * = graus de severidade, onde 2, 3 e 4 significa severidade intermediária a 1 e 5, onde 1 significa sintomas fracos e 5 sintomas muito fortes; ** = isolados inoculados em mistura simultaneamente; *** = segundo vírus (S₃) inoculado 4 dias após o primeiro; / = não inoculados.

6. DISCUSSÃO

O VMCS é semelhante ao VMCF morfológicamente e em suas propriedades físicas. Serologicamente, foram também considerados relacionados (QUANTZ, 1961; ROSS, 1967), sendo, portanto, considerados como pertencentes ao mesmo grupo. Entretanto o efeito dos dois vírus, quando inoculados no feijoeiro, pode ser bastante diversos.

Os resultados do presente trabalho mostram que o VMCS causa sintomas de mosaico no feijoeiro bem mais severos que o VMCF, concordando com os resultados já obtidos por COSTA *et alii* (1978). Este sintoma de mosaico severo, que aparece em forma de colherinha, e a maior redução no tamanho das folhas, do que a geralmente observada com infecção pelo VMCF, constituem características que podem auxiliar na distinção de um complexo de vírus do outro em condições de ambiente controladas.

Outra variação na sintomatologia induzida pelos dois complexos, VMCS e VMCF que também os distingue é a indução de necrose sistêmica em variedades de feijoeiro

hipersensíveis, a qual foi mais frequentemente induzida pelo VMCS que pelo VMCF.

Não obstante a maior severidade dos sintomas de mosaico e a maior frequência de necrose sistêmica nas plantas inoculadas com o VMCS do que nas infectadas com o VMCF, a distinção dos dois vírus, com base nos sintomas, é difícil de ser feita em condições de campo. Isso se verifica por causa das variações de ambiente e ocorrência de estirpes diferentes de cada um dos vírus que influenciam grandemente a manifestação dos sintomas. Portanto a distinção destas duas viroses nessas condições não pode ser definitiva necessitando de testes em laboratório ou em casa de vegetação com inoculações em hospedeiros diferenciadores.

A distinção do VMCS ou VMCF em feijoeiro, através da sintomatologia, em condições de campo pode, no entanto, ser feita com alguma segurança, em casos de ocorrência de estirpes do VMCS que causam mosaico bastante severo, em variedades bastante sensíveis. Este caso tem sido observado com os isolados S_3 e S_i inoculados nas variedades Jalinho, Mãezinha, Olho de Pomba e Pinto Nacional. Estas reagiram a estes isolados com mosaico muito severo, às vezes, acompanhado de morte apical e da planta. Estes sintomas não têm sido observados com isolados do VMCF.

A maior severidade dos sintomas induzidos pelos isolados S_3 e S_i , na maioria das variedades suscetíveis, e o comportamento da variedade Roxinho, que reagiu com mosaico evidente somente aos isolados F_2 e S_2 , mostram a existência de diferentes estirpes tanto do VMCS nos isolados

utilizados neste trabalho.

Em algumas variedades do grupo Manteiga, a reação induzida pelo VMCF concorda com a descrita por COSTA *et alii* (1971), mostrando sintomas não característicos do mosaico causado por este vírus nas variedades suscetíveis.

A var. Carnaval quando inoculada com o VMCF mostrou sintomas característicos deste vírus, enquanto que quando inoculada com os isolados S₁ e S₂ do VMCS apresentou manchas cloróticas de aspecto aracnoide nas folhas primárias e algumas manchas cloróticas sistêmicas individualizadas nas folhas trifolioladas. Estes sintomas foram semelhantes aos descritos por COSTA (1971) em feijoeiro Manteiga causados por um vírus isolado de feijoeiro e de plantas de soja, e também pelo VMCS. As outras variedades deste grupo, quando inoculadas com o VMCS, mostraram-se resistentes à invasão sistêmica, mostrando apenas lesões locais cloróticas, também concordando com os resultados obtidos por COSTA *et alii* (1978) com as variedades Manteiga e Goiano Precoce. Esta resistência ao VMCS e não ao VMCF e as lesões locais nas folhas primárias que são mais individualizadas com o VMCS que as causadas pelo VMCF, faz destas variedades boas diferenciadoras dos dois complexos de vírus como acontece com a variedade Manteiga que já vem sendo utilizada para este fim na Seção de Virologia do IAC.

Nos testes de interação entre isolados dos dois complexos verificou-se que a severidade dos sintomas induzidos pela mistura foi geralmente intermediária em relação à dos sintomas produzidos por seus componentes sim-

ples, mas não diferiram quanto ao tipo de mosaico. Isto não forneceu nenhuma indicação para fins de diagnóstico, da ocorrência dos dois complexos de vírus simultaneamente nas mesmas plantas, em condições de campo. No entanto estes resultados mostraram que existem interrelações entre os dois vírus, como já tinha sido verificado por QUANTZ (1961) em testes de premunização.

A reação de necrose ou morte apical acompanhada de mosaico severo nas variedades Jalinho, Mãezinha, Olho de Pomba e Pinto Nacional, induzida pelos isolados S_3 e S_1 , não constitui o mesmo tipo de necrose das variedades hipersensíveis, ou seja, esta não é controlada pelo mesmo mecanismo genético que controla a hipersensibilidade ao VMCF pois, de acordo com DRIJFHOUT (1978), as variedades que possuem reação de hipersensibilidade governada por gens dominantes não reagem com mosaico. Esta necrose ou morte apical pode ser devida, simplesmente à alta severidade do mosaico o qual levou a planta à morte. Isto é sugerido pelo fato de estes sintomas ocorrerem somente com os isolados que induzem mosaico severo, enquanto nas variedades resistentes hipersensíveis a necrose sistêmica foi induzida com maior frequência com isolados menos severos. Outro fator distinto é que, nas variedades resistentes hipersensíveis, a necrose não ocorreu somente no broto apical e nas hastes, mas se caracterizou também por necrose das nervuras das folhas trifolioladas novas e também nas primárias. Nestas plantas a necrose foi mais severa e rápida, morrendo a parte apical enquanto as folhas primárias ainda permaneciam verdes, morren-

do posteriormente com a necrose total do caule. Nas variedades suscetíveis não tem ocorrido necrose das nervuras das folhas. Esta última característica também a diferencia dos sintomas de necrose sistêmica juntamente com mosaico, obtidos por COSTA *et alii* (1978) em feijoeiro Preto inoculado com o VMCS.

A reação de necrose sistêmica ocorrida em certas variedades resistentes hipersensíveis de feijoeiro, causada pelo VMCS e VMCF, é semelhante à moléstia denominada "black root" (JENKINS, 1940; GROGAN e WALKER, 1948) a qual aparece em variedades resistentes hipersensíveis ao VMCF. Esta reação é tida como governada por um par de gens dominantes para hipersensibilidade, combinado com um gen dominante para suscetibilidade ALI (1950).

O paralelismo no tipo de necrose sistêmica produzida pelo VMCS nas mesmas variedades que reagem com este sintoma ao VMCF, sugere que estas reações induzidas pelos vírus sejam controladas pelo mesmo mecanismo.

O VMCS mostrou tendência para induzir reação em feijoeiros hipersensíveis sob condições de casa de vegetação bastante semelhante à provocada pela estirpe Piracicaba do VMCF (COSTA, 1978), embora a invasão necrótica sistêmica fosse mais frequente neste último. Em folhas destacadas sob condições normais de laboratório também a produção de necrose foi paralela entre os dois vírus, sendo as lesões até mais numerosas, em alguns casos, com o VMCS. Esses fatos sugerem que o VMCS pode também servir para identificar variedades de feijoeiro resistentes hipersensíveis ao

VMCF à temperatura ambiente, indicando se essa resistência é do tipo dominante (hipersensibilidade) ou recessiva como descritas por ALI (1960). Por outro lado, em condições de campo, essa semelhança na reação de necrose sistêmica, induzida em variedades hipersensíveis pode confundir a ocorrência destes dois vírus. Porém, em variedades suscetíveis, a distinção destes se torna mais fácil pois o VMCS causa mosaico forte do tipo "colherinha" e os sintomas da estirpe "Piracicaba" se pronunciam com forte rugosidade e clorose.

Nas inoculações do VMCF com vetor a indução de necrose sistêmica em feijoeiros hipersensíveis foi bem maior que na inoculação mecânica, fato esse, já observado por COSTA (1971). No entanto, estes resultados contrariam os de GROGAN e WALKER (1948), que obtiveram menos necrose sistêmica com o vetor do que com inoculações mecânica. Com o VMCS a indução de necrose sistêmica, nestas mesmas variedades inoculadas com o VMCF, foi menor com inoculação pelo vetor que mecanicamente. Interpretando estes resultados com base nos das inoculações em variedades que reagem com mosaico (Tabela 5), deduz-se que o VMCS induziu necrose sistêmica com menor frequência nas inoculações com o vetor devida a uma menor eficiência na sua transmissão. Como se observa, nas variedades suscetíveis, o aparecimento de mosaico foi menor com vetor que com inoculação mecânica para os dois vírus. Observa-se também nestas, que na inoculação com vetor a porcentagem de mosaico foi maior com o VMCF que com o VMCS, indicando que houve uma maior eficiência na transmissão do primeiro que do segundo vírus. Isto justifica a maior

indução de necrose sistêmica do VMCF nas variedades resistentes hipersensíveis, quando inoculadas com vetor, que nas inoculadas mecanicamente. Em outras palavras o menor índice de necrose sistêmica induzida pelo VMCS com vetor, significa que houve baixa eficiência na transmissão do vírus pelo vetor e não uma menor capacidade desse de induzir necrose sistêmica.

Em testes de laboratório houve também diferenças entre o VMCS e VMCF com inoculação destes em folhas destacadas das variedades Rio Tibagi e Coco Blanchi. Nestas o VMCS induziu lesões necróticas mesmo em temperaturas relativamente baixas, variando de 22 a 26°C enquanto o VMCF não induziu nenhuma lesão, mesmo a temperaturas mais elevadas, variando de 25°C e 32°C, que são mais favoráveis para expressão deste sintoma. Estes resultados mostram a maior facilidade do VMCS de induzir sintomas necróticos em relação ao VMCF. Embora se tenha demonstrado que estirpes deste último complexo sejam capazes de induzir lesões necróticas em folhas destacadas (QUANTZ, 1961; SCHNEIDER e WORLEY, 1962; DRIJFHOUT, 1968) estas foram induzidas em temperaturas altas, cerca de 32°C ou mais.

Esta diferença de indução de lesões necróticas em folhas destacadas entre o VMCS e VMCF sugere a possibilidade de utilização destes testes em trabalhos de identificação destas viroses ou estirpes do vírus causadores baseando-se na expressão deste sintoma em temperaturas diferentes. A var. Rio Tibagi mostrou-se bastante sensível a este tipo de reação, podendo, no entanto, outras variedades, que se mostrarão

hipersensíveis neste trabalho, serem também promissoras para este tipo de teste, havendo a necessidade de testá-las.

7. CONCLUSÕES

Existem diferenças na sintomatologia induzida em feijoeiros pelos isolados do VMCS e VMCF obtidos nas diferentes regiões do Paraná, indicando a ocorrência de estirpes destes dois complexos de vírus nas respectivas lavouras de soja e feijão do Estado.

O mosaico induzido pelo VMCS em feijoeiro é mais severo que o induzido pelo VMCF, sendo o responsável pelo sintoma chamado de "mosaico em colherinha". Porém, como esta diferença é apenas quantitativa, a diagnose destes dois vírus somente pela sintomatologia, em condições de campo, é difícil. Em condições de casa de vegetação, as variedades Carnaval e Goiano Precoce podem ser utilizadas para diferenciação dos dois complexos, VMCS e VMCF, assim como outras variedades deste grupo que já vem sendo utilizadas.

A var. Roxinho possui fator que controla sua reação aos isolados do VMCS e VMCF diferentes das demais variedades suscetíveis, enquanto, entre estas, as variedades Jalinho e Mãezinha mostram mosaico mais severos aos dois vírus.

O VMCS é mais eficiente que o VMCF tanto na indução de necrose sistêmica em variedades hipersensíveis, como na de lesões necróticas em folhas primárias destacadas destas variedades, podendo ser utilizado para identificação de variedades hipersensíveis ao VMCF em condições de temperaturas mais baixa que a exigida pelo próprio VMCF.

O VMCF, quando inoculado com vetor, induz necrose sistêmica em variedades hipersensíveis com maior frequência que quando inoculado mecanicamente.

Todas variedades de feijoeiro testadas que não reagiram com mosaico ao VMCS e VMCF possuem resistência a estes condicionada à hipersensibilidade.

Não há correlação entre capacidade de indução de mosaico forte em variedades suscetíveis com capacidade de indução de necrose sistêmica em variedades hipersensíveis, ou seja, isolados que induzem mosaico mais forte não são os mais eficientes na indução de necrose sistêmica.

A expressão dos sintomas de mosaico é pouco influenciada pelas variações de temperatura que ocorrem durante o ano, enquanto que os sintomas de necrose em variedades hipersensíveis estão condicionados mais a temperaturas ambientes elevadas.

Existe interrelação de premunização entre o VMCS e o VMCF.

8. SUMMARY .

COMPARATIVE REACTION OF BEAN VARIETIES INOCULATED WITH BEAN COMMON MOSAIC AND SOYBEAN MOSAIC VIRUSES

Greenhouse tests were carried out to compare the symptoms induced on bean varieties commonly cultivated in the State of Parana when inoculated with isolates of the bean common mosaic virus (BCMV) and soybean mosaic virus (SMV). They aimed at determining symptom differences that could permit field diagnosis of the causal virus.

The 20 bean varieties tested could be placed in 3 groups on the basis of their reaction: (1) susceptible to both virus isolates and developing mosaic symptoms (Jalinho, Mãezinha, Paulista, Pinto Nacional, Rosinha and Roxinho); (2) susceptible to the BCMV isolates and resistant to SMV (Carnaval, Goiano Precoce and Jalo); (3) resistant (hypersensitive) to the 2 viruses, but occasionally developing systemic necrosis when invaded (Aetê 1/38, Aroana, Bolinha (preto), Chumbinho, Coco Blanchi, Graxa, Moro, Olho de Pomba, Painão, Rio Tibagi e Vinagrinho).

Among the bean varieties of the 1st group, Jalinho and Mãezinha showed most severe mosaic symptoms generally accompanied by necrosis in case of isolates S_3 and S_1 . Roxinho showed late mosaic symptoms when infected with S_0 and S_2 isolates of SMV and F isolate of BCMV. Other minor differences were noted.

The hypersensitive reaction of varieties from the group 3 was recorded only when greenhouse temperatures were high (November through March). Rio Tibagi, however, showed systemic invasion throughout the year.

Soybean mosaic virus isolates generally induced stronger mosaic symptoms on susceptible bean varieties than CBMV. Infected plants could be distinguished from those inoculated with the BCMV by the tendency to develop cupping mosaic symptoms. SMV isolates also showed a greater tendency to induce systemic invasion of hypersensitive bean varieties than BCMV isolates.

Transmission tests with the aphid vector *Myzus persicae* and the BCMV indicated that systemic invasion of hypersensitive plants was more frequent than in mechanical transmission tests. The results were reversed in case of the SMV, but this is attributed to poor insect transmission rather than to the method of inoculation.

Detached leaves of the bean varieties Rio Tibagi and Coco Bianchi placed in Petri dishes and kept at room temperature develop numerous local necrotic lesions when inoculated with the SMV but not with the BCMV.

Tests with mixture of isolates of SMV and

BCMV inoculated simultaneously or at 4-day interval on adequate test plants indicated that severity of the mosaic symptoms induced is intermediary to that induced by the 2 components, this indicating an interrelationship between the 2 viruses.

It is concluded that although differences exist between symptoms produced on Parana bean varieties by isolates from the 2 virus groups, these are not frequently enough to permit positive field diagnosis of the infecting virus. Laboratory and greenhouse tests on indicator plants are necessary to complement field observation and permit a reliable identification of the virus.

9. LITERATURA CITADA

- ALI, M.A., 1950. Genetics of resistance of the common mosaic virus (bean virus 1) in the bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Phytopathology 40: 69-79.
- BILIK, L.H. e R.M. LEGUNKOVA, 1966. Electron microscope studies on the soybean mosaic virus. Mykrobiol. Zh. 28 (4): 39-42. (Abstr.). Rev. Appl. Mycol. 45: 213, 1967.
- BRANDES, J. e C. WETTER, 1959. Classification of elongated plant viruses on the basis of particle morphology. Virology 8: 99-115.
- BRASIL, Comissão de Financiamento da Produção, 1975. Preços mínimos - Regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul: Safra 1975 /76. Brasília, Ministério da Agricultura. 188p.
- CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, Londrina, 1979. Dados não publicados.
- CLINTON, G.P., 1916. Report of the botanist for 1915. Connecticut (New Haven) Expt. Sta. Ann. Rept. 1915: 446-447.
- CONOVER, R.A., 1948. Studies of two viruses causing mosaic diseases of soybean. Phytopathology 38: 724-735.
- COSTA, A.S., 1978. Estirpe do vírus do mosaico comum do feijoeiro útil para identificar cultivares com resistência

- do tipo hipersensibilidade. I Congresso Paulista de Fito patologia, Botucatu-SP, 18 a 20 de Janeiro, 1978.
- COSTA, A.S.; C.L. COSTA; L.D. ALMEIDA e E. BULIZANI, 1971. Reação anômala de três seleções de feijoeiro (Iuba 1, 2 e 3) à infecção pelo vírus do mosaico-comum. I Simpósio Brasileiro de Feijão, Campinas, agosto de 1971.
- COSTA, A.S. e V. de COSTA LIMA NETO, 1975. Relatório das investigações sobre viroses de soja. Acordo Ministério da Agricultura - Secretaria de São Paulo, FAPESP. (Não publicado).
- COSTA, A.S.; V. COSTA LIMA NETO; L.D. ALMEIDA e E. BULISANI, 1978. Suscetibilidade de certos grupos de feijoeiro à infecção sistêmica pelo vírus do mosaico comum da soja. Fitopatologia Brasileira, Brasília, D.F., 3(1): 27-37.
- COSTA, A.S.; E.W. KITAJIMA; S. MIYASAKA e L.D. ALMEIDA. 1972. Moléstias causadas por vírus. In Anais do I Simpósio Brasileiro do Feijão, 22-29 de agosto de 1971. Campinas, SP. p.382-384.
- COSTA, A.S.; S. MIYASAKA; R.A.S. KIIHL e J.D. DEMMATÊ, 1970. Doenças de vírus da soja em São Paulo. Trabalho apresentado no I Simpósio Brasileiro da Soja. Campinas-SP, 34 pp. mimeografado.
- DEBROT, E.A. and C.E.B. de ROJAS, 1967. Identificación del virus de mosaico de la soya em Venezuela. Agron. Trop. 17: 75-86.
- DRIJFHOUT, E., 1978. Genetic interaction between *Phaseolus vulgaris* and bean common mosaic virus with implications for strain identification and breeding for resistance.

Centre for Agricultural Publishing and Documentation.
Wageningen. 98pp.

- DUNLEAVY, J.M.; S.S. QUINIONES e C.J. KRASS, 1970. Poor seed quality and rugosity of leaves of virus - infected Hood soybeans. Phytopathology 60: 883-886.
- FAJARDO, F.G., 1930. Studies on the mosaic disease of the (*Phaseolus vulgaris*). Phytopathology 20:469-494.
- FRANSEN, N.O., 1952. Untersuchungen zur Virusresistenzzüchtung bei *Phaseolus vulgaris* L. I. Phytopathologische Untersuchungen. Z. für Pflanzenzüchtung. 31: 381-420.
- GHABRIAL, S.A.; C.M. PICKARD e R.E. STUCKEY, 1977. Identification and distribution of virus diseases of soybean in Kentucky. Plant Dis. Repr. 61(8): 690-694.
- GALVEZ, G.E., 1963. Host range, purification and electron microscopy of soybean mosaic virus. Phytopathology 53: 388-393.
- GARDNER, M.W. e J.B. KENDRICK, 1921. Soybean mosaic. J. Agr. Res. 22: 111-114.
- GROGAN, R.G. e J.C. WALKER, 1948. The relation of common mosaic to black root of bean. J. Agr. Res. 77: 315-331.
- HAN, H. e D. MURAYAMA, 1970. Studies on soybean mosaic virus. I. Abstract In: Sinclair J.B. and O.D. Dhingra eds. An annotated bibliography of soybean disease. 1882 - 1974. p.94. INTSOY. International Agricultural Publications. Series nº 7. Univ. Illinois, Urbana - Champaign.
- HEINZE, K. e F. HÜHLER, 1940. Die Mosaikkrankheit der Sojabohne und ihre Übertragung durch Insekten. Phytopathol. Z. 13: 207-242.

- IIZUKA, N., 1973. Seed transmission of viruses of soybean. Abstract In: Sinclair J.B. and O.D. Dhingra eds. An annotated bibliography of soybean diseases, 1882 - 1974. p.110. INTSOY. International Agricultural Publications. Series n° 7. Univ. Illinois, Urbana - Champaign.
- JENKINS, W.A., 1940. A new diseases of snap bean tissues affected with black root. J. Agr. Res. 62: 683-690.
- JOHNSON, H.W.; D.W. CHAMBERLAIN e S.G. LEHMAN. 1954. Diseases of soybeans and methods of control. USDA, Circular n° 931, 40pp.
- KENDRICK, J.B. e M.W. GARDNER, 1924. Soybean mosaic seed transmission and effect on yield. J. Agr. Res. 27: 91-98.
- KENNEDY, B.W. and R.L. COOPER, 1967. Association of virus infection with motting of soybean seed coats. Phytopathology 57: 35-37.
- KOSHIMIZU, Y. e N. IIZUKA, 1963. Studies on soybean virus diseases in Japan. Abstract In: Sinclair J.B. and O.D. Dhingra eds. An annotated bibliography of soybean disease, 1882-1974. pp.133-134. INTSOY. International Agricultural Publications. Series n° 7. Univ. Illinois, Urbana-Champaign.
- MILBRATH, G.M. e M.M. SOONG, 1976. A local lesion assay for soybean mosaic virus using *Phaseolus vulgaris* L. cv. Top. Crop. Phytopathol. Z. 87: 255-259.
- NELSON, R., 1922. Transference of the bean mosaic virus by *Macrosiphum solanifolli*. Science 56: 342-344.
- PETERSEN, H.J., 1958. Beiträge zur Genetik von *Phaseolus*

- vulgaris* L. auf Infektion mit *Phaseolus virus* 1 Stamm Voldagsen. Z. für Pflanzenzüchtung 39: 187-224.
- PIERCE, W.N., 1934. Viroses of the bean. Phytopathology 24: 87-115.
- PIERCE, W.R., 1935. The identification of certain viruses affecting leguminous plants. J. Agr. Res. 51: 1017-1039
- PHATAK, H.C., 1974. Seed-borne plant viruses. Identification and diagnosis in seed health testing. Seed Sci. e Technol. Copenhagen 2: 3-155.
- PORTO, M.D.M. e D.J. HAGEDORN, 1975. Seed transmission of a Brazilian isolate of soybean mosaic virus. Phytopathology 65: 713-716.
- QUANTZ, L., 1957. Ein Schalentest zum Schnellnachweis des gewöhnlichen Bohnenmosaikvirus (*Phaseolus virus* 1) Nachrichtenblatt für den Deutschen Pflanzenschutzdienst.(Stuttgart) 9: 71-74.
- QUANTZ, L., 1961. Untersuchungen über das gewöhnliche Bohnenmosaikvirus und das Sojamosaikvirus. Phytopathol. Z. 43: 79-101.
- QUINIONES, S.A. e J.M. DUNLEAVY, 1970. Identity of a soybean mosaic virus isolated from *Glycinis max* variety Hood. Plant. Dis. Repr. 54: 300-305.
- ROSS, J.P., 1967. Purification of soybean mosaic virus of antiserum production. Phytopathology 57: 465-467.
- ROSS, J.P., 1969b. Effect of time and sequence of inoculation of soybeans with soybean mosaic and bean pod mottle viruses on yields and seed characters. Phytopathology 59: 1404-1408.

- SAETTLER, A.W. e G.E. TRUJILLO, 1972. Monroe bean as a local lesion host for bean common mosaic virus. Phytopathology 62: 489-490.
- SCHNEIDER, J.R. e R.F. WORLEY, 1962. A local lesion assay for common bean mosaic virus. (Abstr.) Phytopathology, 52: 166.
- SMITH, K.M., 1972. A Textbook of Plant Virus Disease. 3rd ed. Academic Press. New York and London. 684pp.
- STEWART, V.B. e D. REDDICK, 1917. Bean mosaic. Phytopathology, 7: 61.
- THOMAS, H.R. e H.H. FISHER, 1954. A rapid method of testing snap beans for resistance to common mosaic virus. Plant Dis. Repr. 38: 410-411.
- VALIELA, M.V.F., 1969. Introducción a la fitopatología. Volume I. Virus. Colección Científica INTA, Buenos Aires, 1010pp.
- VASCONCELOS, F.A.T., 1963. Contribuição para o estudo do mosaico da soja. Anais do Instituto Superior de Agronomia 26: 181-221.
- WALTERS, W.J., 1963. Leguminous hosts of soybean mosaic virus. Plant Dis. Repr. 47: 726-728.
- ZAUMEYER, W.J. e R.W. GOTH, 1963. Two new types of local lesions produced on beans by the common bean mosaic virus. Phytopathology. 53: 490-491.
- ZAUMEYER, W.J. e R.W. GOTH, 1964. A new severe symptom-inducing strain of common bean mosaic virus. Phytopathology 54: 1378-1385.

ZAUMEYER, W.J. e C.W. KEARNS, 1936. The relation of aphids to the transmission of bean mosaic. Phytopathology 26:614-629.

ZAUMEYER, W.J. e H.R. THOMAS, 1948. Shiny pod (greasy pod) virus and its identity with black root virus. (Abstr.) Phytopathology, 38: 29.

ZAUMEYER, W.J. e B.L. WADE, 1935. The relationship of certain legume mosaics to bean. J. Agr. Res. 51:715-749.