

ALTERAÇÕES ANATÔMICAS EM ALGODOEIRO INFECTADO PELO VÍRUS DA DOENÇA AZUL ⁽¹⁾

JULIANA K. TAKIMOTO ^(2,3); RACHEL BENETTI QUEIROZ-VOLTAN ⁽⁴⁾;
JOSÉ ALBERTO CARAM DE SOUZA-DIAS ⁽²⁾; EDVALDO CIA ⁽⁵⁾

RESUMO

A doença azul do algodoeiro está associada a um vírus ainda pouco conhecido em suas características morfológicas e moleculares, tanto quanto a sua patologia e epidemiologia. O tipo de transmissão circulativa pelo afídeo vetor *Aphis gossypii* Glover, associado a recentes relatos de estudos moleculares, sustentam ser o agente etiológico uma espécie membro da família *Luteoviridae*. No presente trabalho, estudos anatômicos comparativos em plantas saudáveis e infectadas foram realizados com a finalidade de conhecer aspectos estruturais da interação vírus-espécie hospedeira, com potencial aplicação na área de diagnose e melhoramento genético. Os estudos anatômicos foram realizados em folhas de plantas infectadas, com área foliar reduzida, nervuras cloróticas e margem foliar voltada para baixo. O encurtamento dos entrenós, que resultam em um agrupamento de folhas, flores e frutos, e conseqüente redução da altura da planta, do número e tamanho dos frutos, são expressões fenotípicas da planta de algodão infectada, a qual serviu para o presente estudo. Nas plantas infectadas com o agente da doença azul havia maior acúmulo de calose e de cristais de oxalato de cálcio, cloroplastos íntegros distribuídos na região periférica das células do mesófilo e aparente alteração química no interior das células do parênquima paliçádico. Inclusões nos vasos do floema e, ocasionalmente no xilema, também foram observadas. O acúmulo de calose e a presença de inclusões no floema podem indicar uma relação ou preferência do vírus por esse tecido.

Palavras-chave: alterações anatômicas, *Gossypium hirsutum*, luteovírus, doença azul.

ABSTRACT

ANATOMICAL ALTERATIONS IN BLUE DISEASE INFECTED COTTON PLANT

Cotton blue disease is caused by a virus whose morphological and molecular characteristics is not well known and so demanding information its phytosanitary and epidemiological characteristics. Evidences of an aphid borne (*Aphis gossypii* Glover) circulative (persistent) type of transmission, associated with a recent molecular report, sustain for a virus species belonging to the *Luteoviridae* family. Aiming to understand virus-host pathogenesis as well as to contribute with diagnostic and breeding aspects of cotton blue disease, in the present work, structural studies were performed via anatomical comparative analysis of health and infected plant tissues. For the anatomical studies, leaves from infected cotton plants were chosen when showing typical symptoms, such as: stunting, reduced leaf area with chlorotic vein and edges curled downward; clustered leaves, flowers and fruits due to reduced stem internodes. The results revealed that infected tissues present an increase in callose accumulation and calcium oxalate crystals; integrity of chloroplasts, which were distributed on the peripheral mesophyll cells, revealed a chemical alteration in the interior of palisade parenchyma cells. Inclusions in phloem and occasionally also xylem vessels were observed. The callose accumulation and the presence of inclusions in the phloem vessels are indications of a preferential relationship of the virus to these tissues.

Key words: anatomical alterations, *Gossypium hirsutum*, luteovirus, blue disease.

⁽¹⁾ Parte da dissertação do primeiro autor submetida ao IAC para obtenção de título de Mestre em Agricultura Tropical e Subtropical, na área de Tecnologia de Produção Agrícola. Recebido para publicação em 5 de outubro de 2007 e aceito em 25 de setembro de 2008.

⁽²⁾ Centro de Pesquisa e Desenvolvimento em Fitossanidade, IAC, Caixa Postal 28, 13001-970 Campinas (SP). E-mail: ju_taki@yahoo.com.br (*) Autora correspondente.

⁽³⁾ Ex-bolsista CAPES.

⁽⁴⁾ Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento do Jardim Botânico, IAC.

⁽⁵⁾ Centro de Análise e Pesquisa Tecnológica do Agronegócio dos Grãos e Fibras, IAC.

1. INTRODUÇÃO

O algodoeiro, *Gossypium hirsutum* L., produz a fibra de origem vegetal mais consumida pela indústria têxtil mundial. No Brasil, continua sendo uma das culturas mais importante, gerando milhares de empregos diretos e indiretos em toda a sua cadeia produtiva. A recente evolução da cultura do algodão no Brasil está associada à sua expansão para o cerrado, fazendo com que os estudos se voltem para cultivares com características adaptadas ao clima e resistência à ramulose, uma doença de importância na região (FREIRE, 1998). Como as cultivares nacionais não eram resistentes a esta doença nem adequadas à colheita mecânica, foram introduzidas dos Estados Unidos e da Austrália, respectivamente, as cultivares DELTAPINE Acala 90 e CS-50. Estas cultivares possuíam qualidades de fibra e de produção (FREIRE et al., 1999), porém eram extremamente suscetíveis às viroses, principalmente à doença azul do algodoeiro (FREIRE, 1998). Esta doença até então não era problema, mas passou a causar enormes prejuízos em Mato Grosso, Goiás, Minas Gerais, São Paulo, no Paraná e Paraguai (FREIRE et al., 1999).

A doença azul do algodoeiro, também conhecida como 'cotton blue disease', foi relatada pela primeira vez na República Centro-Africana (CAUQUIL e FOLLIN, 1983) e, posteriormente, em diversas regiões da África: Tchad, República dos Camarões, Zaire, Benin; na região da antiga União Soviética: Azerbaijão; Turquestão, que corresponde aos atuais Turcomenistão, Uzbequistão, Tadjiquistão, Quirguistão e Cazaquistão; na Armênia; nas Filipinas, Tailândia e Paraguai (CAUQUIL, 1977; ARAÚJO, 2001). Segundo HALLIWELL e CAUQUIL (1981), existem semelhanças entre os sintomas das doenças constatadas nas Filipinas, em 1963, com os da Tailândia e Paraguai, em 1977. Embora exista similaridade de sintomas entre essas várias regiões estudadas, não foi confirmado ser o mesmo patógeno.

No Brasil, essa doença foi também denominada forma Ribeirão Bonito por COSTA e CARVALHO (1965), por considerarem uma forma mais severa do vírus do mosaico-das-nervuras, observada na safra de 1962/1963, na Fazenda Água Virtuosa, Município de Ribeirão Bonito (SP). Em estudos feitos na Argentina concluiu-se que, em função das características de sintomatologia e forma de transmissão do agente causal (vírus) pelo inseto vetor, o "maladie bleue" na África, o mosaico-das-nervuras Ribeirão Bonito no Brasil e o "enfermedad azul" (mal de misiones) na Argentina referiam-se à mesma doença (BONASIC-KRESIC et al. 2002).

Doenças do algodoeiro denominadas mosaico-comum, mosaico-das-nervuras, mosaico-

tardio, vermelhão e doença azul ocorrem com frequência e têm importância variada em praticamente todas as regiões produtoras do Brasil (FREIRE, 1998), particularmente, no Estado de São Paulo (GRIDI-PAPP et al, 1992). O agente causal do vermelhão e da doença azul é transmitido pelo mesmo vetor, o afídeo *Aphis gossypii* Glover. Êxito de 60%-100% na transmissão do agente da doença azul na África foi obtido por CAUQUIL e VAISSAYRE (1971) com essa mesma espécie.

Como a partícula viral da doença azul ainda não havia sido identificada, alguns estudos indicavam a possibilidade do agente causal ser uma espécie de *Luteoviridae* (BONASIC-KRESIC et al., 2002) e, mais recentemente, resultados em nível molecular indicaram pertencer ao gênero *Polerovirus* (CORREIA et al., 2005), desta mesma família.

Luteoviridae é dividida em três gêneros: *Luteovirus*, *Polerovirus* e *Enamovirus* (HARRISON, 1999), causadores de sintomas típicos de enrolamento, avermelhamento ou amarelecimento das folhas e paralisação do crescimento, confundindo-se muitas vezes com deficiências nutricionais, danos causados por insetos ou por queda de temperatura. A transmissão das espécies dessa família ocorre de maneira circulativa e não propagativa, cujo vírus se replica apenas na planta hospedeira (HARRISON, 1999; HERRBACH, 1999).

Neste trabalho objetivou-se estudar a anatomia de plantas de algodoeiro infectadas com o vírus da doença azul, visando identificar caracteres anatômicos que possam contribuir para sua diagnose.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido, em condições ideais de cultivo, em casa de vegetação, com plantas de *G. hirsutum* 'CNPA ITA 90', suscetível ao vírus da doença azul do algodoeiro.

As plantas infectadas pelos vetores foram obtidas, inicialmente, diretamente de culturas desenvolvidas no Estado de São Paulo e, também, provenientes do Estado do Paraná, através do IAPAR. A partir dessas plantas sintomáticas, iniciou-se a colônia de pulgões virulíferos, *A. gossypii*, e mantidos em gaiolas com tela antiafídeo.

Plantas infectadas foram obtidas em casa de vegetação, sendo adicionados 10 indivíduos de pulgões virulentos por planta, através de transferências manuais feitas com o auxílio de pincel, permanecendo por quinze dias de alimentação de transmissão, possibilitando assim tempo suficiente para a inoculação do vírus.

Para a transmissão da doença através de enxertia, utilizaram-se como porta-enxerto, plantas de algodoeiro infectadas através de inoculação pelo afídeo vetor, e como enxerto, plantas saudas. A região de enxertia foi unida com o auxílio de um filme plástico (Parafilm®) e as plantas enxertadas foram recobertas por sacos plásticos, durante uma semana, para se evitar a perda de água.

As transmissões, por inoculação e por enxertia, foram realizadas em plantas 30 dias após a germinação, quando havia seis folhas totalmente expandidas e, com 90 dias, as folhas foram retiradas para estudo anatômico.

Para os estudos anatômicos, utilizaram-se amostras de 15 plantas com sintomas típicos dessa doença, sendo dez obtidas de plantas infectadas através de transmissão por afídeos vetores (cinco submetidas a 48 horas de alimentação, cinco, a um período de 15 dias), e cinco, através de enxertia de garfagem. Como controle, utilizaram-se dez plantas saudas da mesma idade. Em todas as folhas infectadas utilizadas nesse estudo verificava-se o sintoma visual da doença.

Segmentos de 0,25 cm² do limbo e de 0,5 cm do pecíolo e caule provenientes de plantas saudas e infectadas foram fixados em F.A.A. 50% (formaldeído-ácido acético-álcool etílico) (JOHANSEN, 1940) e deixados sob vácuo por 48 horas para penetração do fixador. Os fragmentos do limbo foram retirados da região mediana da nervura principal de folhas adultas.

Na preparação de lâminas permanentes, os segmentos foram desidratados em série alcoólica-etilica e incluídos em parafina, sendo cortados em micrótomo rotativo manual ajustado a 10 µm de espessura. Os cortes transversais e longitudinais foram corados com safranina-azul-de-alcã (GABRIELLI, 1992) e montados em adesivo Permount.

A presença de calose foi detectada com a utilização de um corante específico, o azul de anilina, em solução aquosa a 0,1% e solução de IKI, segundo THOMAS e ZIELINSKA (1983). Para evidenciar as inclusões, utilizou-se solução aquosa de azul de anilina 0,1%. Os cortes foram feitos à mão livre com o auxílio de uma lâmina de aço para os testes de calose e de inclusões. A presença de cristais de oxalato de cálcio em forma de drusas foi confirmada com o emprego de luz polarizada. Todas as lâminas foram examinadas mediante um microscópio ótico Leica DMLB acoplado a uma câmera de vídeo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As folhas saudas do algodoeiro observadas neste estudo são delgadas e, internamente, o mesofilo diferencia-se em parênquima paliçádico e esponjoso.

O tecido paliçádico localiza-se na face superior ou adaxial da lâmina e o parênquima lacunoso na face abaxial, sendo esta organização denominada dorsiventral. As células paliçádicas longas ocupam aproximadamente de um terço à metade da espessura da lâmina. O mesofilo caracteriza-se pela abundância de cloroplastos e também pela presença de glândulas lisígenas (ESAU, 1977). Os estômatos, presentes nas duas epidermes são mais numerosos na face abaxial. Na região das nervuras, as células abaixo da epiderme são colenquimatosas e, envolvendo o feixe vascular, ocorre um tecido parenquimatoso. Os feixes vasculares das nervuras são colaterais e semelhantes ao arranjo observado no pecíolo. O caule de uma planta sadia em estrutura primária possui vários feixes vasculares separados por tecido parenquimatoso. Na região central do caule, ocorre uma medula de células parenquimatosas com pequenos espaços entre si e, externamente, há o córtex, na região abaixo da epiderme. Com o crescimento secundário, diferencia-se o floema secundário com um grande número de fibras espessadas, enquanto o xilema secundário não se mantém fortemente lignificado. A estrutura do pecíolo assemelha-se à descrita para o caule. Nas células parenquimáticas dos feixes vasculares da nervura principal da folha, pecíolo e caule, ocorrem cristais de oxalato de cálcio na forma de drusas. Essas características também foram descritas por WEBBER (1938) e QUEIROZ-VOLTAN (1995) em tecidos saudos de algodoeiro.

Externamente, as plantas infectadas comparadas às saudas revelam folhas menores, com bordos reflexos, nervuras cloróticas e área foliar reduzida (Figura 1). As folhas conglomeram-se juntamente com as flores e frutos em consequência do encurtamento dos entrenós, reduzindo a altura da planta. Há também reduções no número e no tamanho dos frutos, evidenciando prejuízos em produtividade e, conseqüentemente, econômicos.

Uma alteração química no conteúdo das células do mesofilo foi observada quando se compararam cortes anatômicos de folhas saudas (Figuras 2A, 2C e 2E) com folhas de plantas com a doença azul, obtidas a partir de 15 dias de aquisição e inoculação com o vetor virulífero (Figuras 2B, 2D e 2F). O corante reagia diferentemente nestas amostras, formando um precipitado de coloração azulada ou avermelhada no interior das células das folhas infectadas, o qual era ausente nas saudas. Os cloroplastos dos tecidos infectados mantiveram-se íntegros na região periférica das células do parênquima paliçádico e, em algumas células, eles não ficaram visíveis na região central, havendo uma forte reação do corante com o conteúdo celular (Figura 2B).



Figura 1. *Gossypium hirsutum* L. 'CNPA ITA 90'. A: planta infectada com a doença azul proveniente do campo; B: plantas desenvolvidas em casa de vegetação: a- planta sadia; b- planta infectada através de inoculação por afídeo.

Porém, nas folhas provenientes de plantas submetidas à inoculação com inseto vetor virulífero, por um período de 48 horas (Figura 2G), bem como as inoculadas por enxertia (Figura 2H), não ocorreram reações tão intensas, sendo possível visualizar a integridade dos cloroplastos. Esta diferença observada pode estar relacionada com o estágio de avanço da doença.

O estudo do efeito causado pelos vírus na anatomia das plantas tem sido largamente investigado em outras espécies com diversas doenças virais por diversos autores (ESAU, 1957; ESAU, 1960a,b; McWHORTHER, 1965; JENSEN, 1969; SHEPARDSON et. al., 1980; BOKX, 1987), principalmente em relação ao sistema vascular. Nesses trabalhos foram observados diversos tipos de alterações, como: aumento no acúmulo de calose, hiperplasia das células, hipertrofia do mesófilo, destruição dos cloroplastos, degeneração do floema, acúmulo anormal de amido, colapso das células, necrose e presença de inclusões. As inclusões, visíveis ao microscópio ótico, são descritas como amorfas, paracristalinas, cristalina ou a combinação destas, podendo ocorrer nos tecidos do floema, do xilema, no córtex, na epiderme e no mesófilo de diferentes partes das plantas. As inclusões têm sido muito úteis na diagnose rápida de doenças causadas por vírus e na sua caracterização (ESAU, 1957; ESAU, 1960a, McWHORTHER, 1965; CHRISTIE e EDWARDSON, 1985).

Foi possível observar ainda nos tecidos de plantas infectadas, inclusões com formato ovóide alongado e afilados, principalmente na região do

floema (Figuras 3B e 3C), podendo ocorrer mais raramente no xilema. Essas inclusões foram visualizadas nos tecidos do pecíolo, da nervura principal e do caule e assemelhavam-se às inclusões descritas por ESAU (1960a). Tendo em vista a característica anucleada das células maduras do floema, as estruturas observadas não eram núcleos, e estavam ausentes nas plantas sadias (Figura 3A). A presença de inclusões no floema indica a provável presença deste vírus neste tecido.

As drusas, formas de cristais de oxalato de cálcio, estavam presentes em menores proporções nas plantas sadias (Figura 2E), comparada com as plantas com a doença azul (Figura 2F e 3D). Os cristais são produtos de reserva ou metabólitos resultantes das atividades celulares e parecem estar relacionados com a resposta da planta à infecção causada pelo patógeno, sendo observados também em células parênquimáticas dos tecidos vasculares de algodoeiro com o murchamento avermelhado (QUEIROZ-VOLTAN, 1995).

Em plantas infectadas pelo vírus da doença azul do algodoeiro também se constatou uma concentração maior de calose (Figura 3F), comparada às plantas sadias (Figura 3E). Este maior acúmulo de calose parece estar relacionado à infecção do vírus no floema (ESAU, 1977). A calose é um polissacarídeo aparentemente amorfo que, por hidrólise, produz glicose. É um constituinte da parede nas áreas crivadas dos elementos crivados (ESAU, 1977), porém acumula-se anormalmente em tecidos infectados.

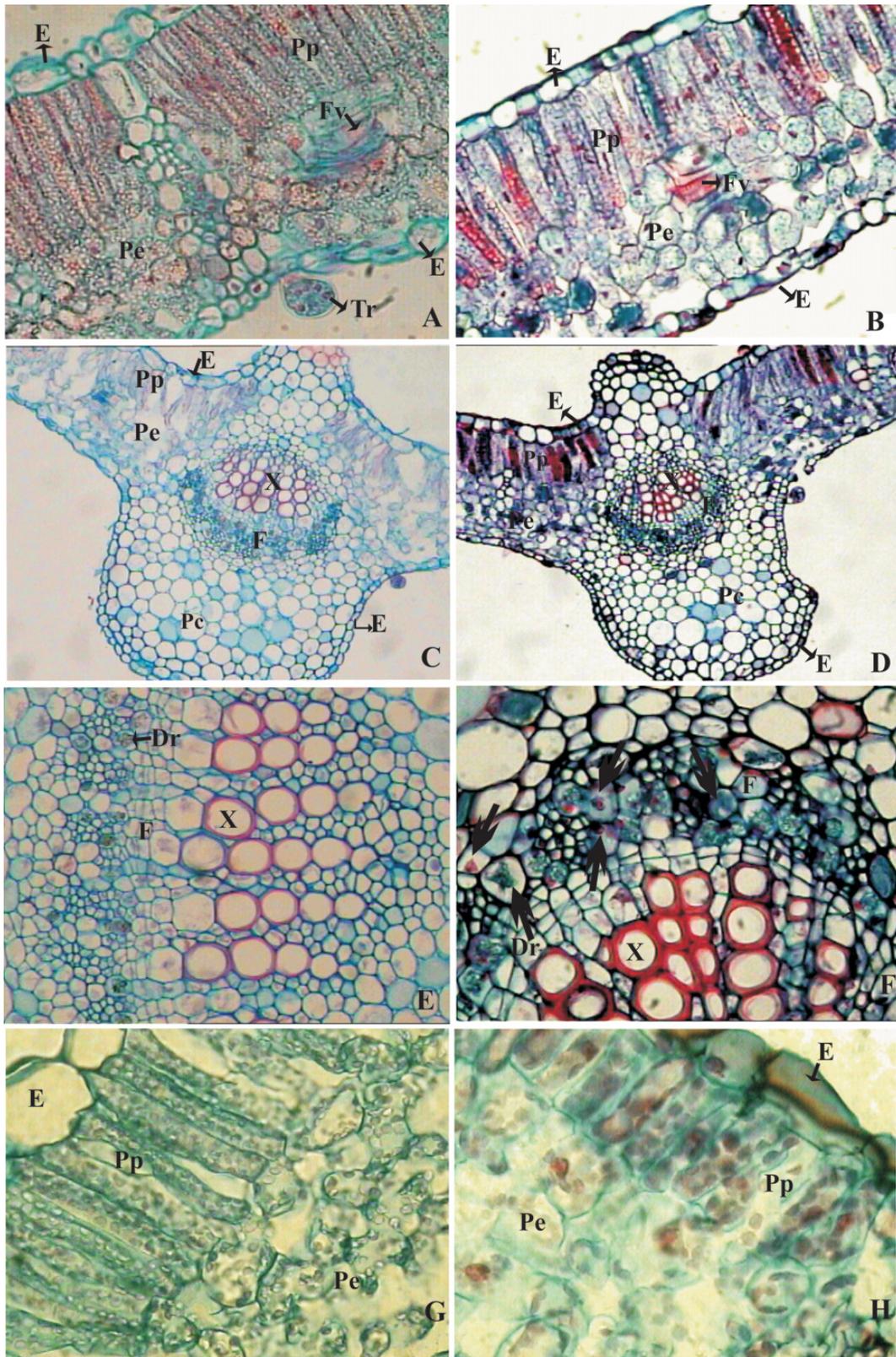


Figura 2. Cortes transversais de folha de *Gossypium hirsutum* L. 'CNPA ITA 90'. A: mesofilo sadio (150x); B: mesofilo infectado, pulgão 15 dias (150x); C: nervura principal sadia (150x); D: nervura principal infectada, pulgão 15 dias (150x); E: nervura principal sadia (600x); F: nervura principal infectada, pulgão 15 dias (600x); G: limbo foliar, pulgão 48h (600x); H: limbo foliar, enxertia (1000x). E= epiderme; Dr= drusa; F= floema; Fv= feixe vascular; Pc= parênquima cortical; Pe= parênquima esponjoso; Pp= parênquima paliçádico; X= xilema. As setas indicam as inclusões.

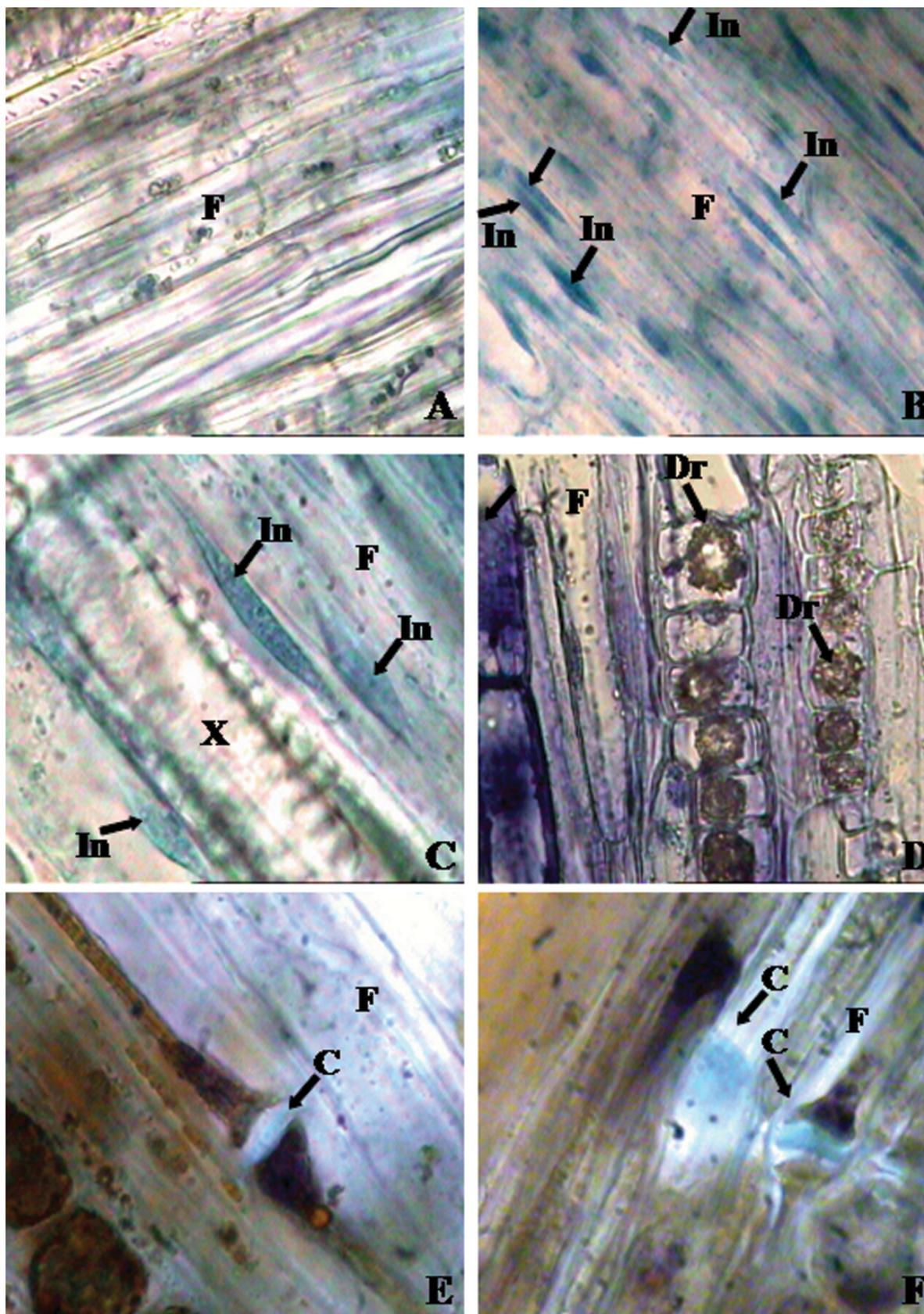


Figura 3. Cortes longitudinais de caule de *Gossypium hirsutum* L. 'CNPA ITA 90'. A e E: sadio (2000x); B: infectado (800x); C: infectado (2000x); D: infectado, drusas no floema (800x); F: infectado (2000x). C= calose; F= floema; In= inclusões; X= xilema.

A metodologia de contagem de caloses em cortes de tecidos de floema era uma técnica recomendada na detecção do luteovírus em batatas com PLRV na ausência do ELISA (THOMAS e ZIELINSKA, 1983; BOKX, 1987).

As diferenças histo-patológicas observadas neste trabalho demonstram que as plantas de algodão 'CNPA ITA 90' infectadas com a doença azul revelam: (1) maior acúmulo de calose; (2) maior quantidade de drusas; (3) os cloroplastos parecem estar íntegros na região periférica e (4) evidência de alteração química no interior da célula do parênquima paliçádico, e inclusões nos vasos do floema e, ocasionalmente, no xilema. O acúmulo de calose e a presença de inclusões no floema indicam que este vírus esteja relacionado a esse tecido.

Desde 2002, BONASIC-KRESIC et al. (2002) e TAKIMOTO (2003) suspeitavam que o agente causal da doença azul fosse um vírus da família Luteoviridae, com a infecção restrita ao floema, isto é, a replicação das partículas virais somente ocorre neste tecido, onde permanecem.

Posteriormente, CORREA et al. (2005), através de sequenciamento do RNA viral, indicaram a presença de um *Polerovirus* (família Luteoviridae) associado à doença, para o qual propuseram o nome de *Cotton leafrol dwarf virus* (CLRDV).

A recomendação para controle da doença azul do algodoeiro via barreira química feita com aplicação de inseticidas sistêmicos, atuantes desde a fase inicial da planta até a maturidade (floração), encontra sustentação, pois a relação de restrição do vírus a células de floema está associada à dependência de o inseto vetor reconhecer a planta de algodão como hospedeira.

Somente a partir desse reconhecimento é que o pulgão procede com as necessárias horas de alimentação para a aquisição, bem como para a transmissão do vírus, ficando assim mais vulnerável à ação inseticida sistêmica da planta.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a colaboração dos pesquisadores do Programa de Algodão do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), Walter Jorge dos Santos e Wilson Paes de Almeida no fornecimento de plantas de algodão infectadas, e aos pesquisadores do Instituto Nacional de Tecnología Agropecuária da Argentina (INTA), Sergio Lenardon (IFFIVE) e Ivan Bonacic-Kresic (LRPV), pela atenção e informações gentilmente fornecidas.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, A.E. **Quando a doença é azul**. *Cultivar*, Pelotas, n.25, p.46-47, 2001.
- BOKX, J.A. de. Biological proprieties. In: Bokx, J.A. de, van der Want, J.P.H. (Eds). **Viruses of potatoes and seed-potato production**. Netherlands: Pudoc Wageningen, 1987. p.58-83.
- BONASIC-KRESIC, I.; CAMPAGNAC, N.A.; POISSON, J.A.; OJEDA, A.D. **Informe sobre Enfermedad Azul del Algodonero en la República Argentina (Resumen)** [online]. Argentina: INTA, [199?]. Disponível na Internet: <http://saenzpe.inta.gov.ar/Fito/enf_azul.htm> Acesso em: 05 de maio de 2002.
- CAUQUIL, J. Etudes sur une maladie d'origine virale du cotonnier: la maladie bleue. *Coton et fibres tropicales*, Paris, v.32, n.3, p.259-278, 1977.
- CAUQUIL, J.; VAISSAYRE, M. La maladie bleue du cotonnier en Afrique: transmission de cotonnier à cotonnier par *Aphis gossypii* Glover. *Coton et fibres tropicales*, Paris, v.6, n.4, p.463-466, 1971.
- CAUQUIL, J.; FOLLIN, J.C. Presumed virus and mycoplasma-like organism diseases in subsaharan Africa and in the rest of the world. *Coton et fibres tropicales*, Paris, v.38, n.4, p.309-315, 1983.
- CHRISTIE, R.G.; EDWARDON, J.R. Light microscopy of plant virus induced inclusions. *Acta horticulturae*, Ithaca, n.164, p.119-129, 1985.
- CORREA, R.L.; SILVA, T.F.; SIMÕES-ARAÚJO, J.L.; BARROSO, P.A.V.; VIDAL, M.S.; VASLIN, M.F.S. Molecular characterization of a virus from the family *Luteoviridae* associated with cotton blue disease. *Archives of Virology*, Vienna, v.150, n.7, p.1357-1367, 2005.
- COSTA, A.S.; CARVALHO, A.M.B. Moléstias de vírus. In: CULTURA e Adubação do Algodoeiro. São Paulo: Instituto Brasileiro de Potassa Experimentações e Pesquisas, 1965. p.440-443.
- ESAU, K. Phloem degeneration in *Gramineae* affected by the *Barley yellow-dwarf virus*. *American Journal of Botany*, Columbus, v.44, n.3, p.245-251, 1957.
- ESAU, K. Cytologic and histologic symptoms of beet yellows. *Virology*, New York, v.10, n.1, p.73-85, 1960a.
- ESAU, K. The development of inclusions in sugar beets infected with the *Beet-yellows virus*. *Virology*, New York, v.11, n.2, p.317-328, 1960b.
- ESAU, K. **Anatomy of seed plants**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1977. 550p.
- FREIRE, E.C. Doença azul do algodoeiro. **Fibras e Óleos**, Campina Grande, v.28, p.4, 1998.
- FREIRE, E.C.; FARIAS, F.J.C. DE ; AGUIAR, P.H. Algodão de alta tecnologia no Cerrado. In: CIA, E., FREIRE, E.C.; SANTOS, W.J. (Ed.). **Cultura do Algodoeiro**. Piracicaba. POTAFOS. 1999. p.133-179.

GABRIELLI, A.C. Contribuição ao estudo anatômico da raiz de *Pyrostegia venusta* (ker) Miers-Bignoniaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.15, n.2, p.95-104, 1992.

GRIDI-PAPP, I.L.; CIA, E.; FUZATTO, M.G.; SILVA, N.M.; FERRAZ, C.A.M.; CARVALHO, N. de; CARVALHO, L.H.; SABINO, N.P.; KONDO, J.I.; PASSOS, S.M.G.; CHIAVEGATO, E.J.; CAMARGO P.P.; CAVALIERI, P.A. Doenças do algodoeiro. In: **MANUAL do Produtor de Algodão**. São Paulo: Bolsa de Mercadorias & Futuros. 1992. p.89-104.

HALLIWELL, R.S.; CAUQUIL, J. Virus and mycoplasma like organisms. In: WATKINS, G.M., (Ed.). 2nd ed. **Compendium of cotton diseases**. Minnesota. American Phytopathology Society, 1981. p.56-59.

HARRISON, B.D. Steps in the development of luteovirology. In: SMITH, H.G.; BARKER, H. (Eds.). **The Luteoviridae**. Wallingford: CABI, 1999. p.1-14.

HERRBACH, E. Vector-virus interactions. In: Smith, H.G.; Barker, H. (Eds.). **The Luteoviridae**. Wallingford: CABI, 1999. p.85-146.

JENSEN, S.G. Occurrence of virus particles in the phloem tissue of BYDV-infected barley. **Virology**, New York, v.38, n.1, p.83-91, 1969.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523p.

McWHORTHER, F.P. Plant virus inclusions. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.3, p.287-309, 1965.

PAIVA, F. de A. Doenças. In: **Algodão: informações técnicas**. Dourados: Embrapa, 1998. p.141-143. (Circular técnica, n. 7)

QUEIROZ-VOLTAN, R.B. Alterações anatômicas em plantas de algodoeiro com sintomas de murchamento avermelhado. **Bragantia**, Campinas, v.54, n.1, p.39-46, 1995.

SHEPARDSON, S.; ESAU, K.; McCRUM, R. Ultrastructure of potato leaf phloem infected with *Potato leafroll virus*. **Virology**, New York, v.105, n.2, p.379-392, 1980.

TAKIMOTO, J.K. **Estudo da relação vetor-patógeno-hospedeiro para a doença azul do algodoeiro**. 2003. 97f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agronômico - IAC, Campinas.

THOMAS, P.E.; ZIELINSKA, L. Use of IKI leafroll test to reduce net necrosis storage losses of potatoes. **American Potato Journal**, Orono, v.60, n.5, p.309-320, 1983.

WEBBER, I. E. Anatomy of the leaf and stem of *Gossypium*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v.57, n.4, p.269-286, 1938.