

MANUTENÇÃO DA INFECTIVIDADE DE TYMOVÍRUS EM EXTRATOS DE PLANTAS ¹

Maria Mércia Barradas ²

Fernando J. Sanhueza Salas ³

Ivan P. González Buitrón ⁴

Recebido em 16-9-91. Aceito em 20-9-92.

RESUMO: Quatro isolados do vírus do mosaico da berinjela (EMV - "eggplant mosaic virus" - grupo tymovírus) foram armazenados a partir de extratos foliares de hospedeiras com sintomas sistêmicos. Os vírus EMV-A1 (isolado de *Abelia*), EMV-Sc (isolado da Escócia), -ts (estirpe-padrão) e VNBT (vírus da necrose branca do tomateiro), que induzem sintomas em *Chenopodium amaranticolor*, *C. murale*, *C. quinoa* (Família Chenopodiaceae) *Datura stramonium*, *Lycopersicon esculentum* e *Nicotiana glutinosa* (Solanaceae), foram conservados em extratos destas plantas, à temperatura ambiente, em geladeira e em congelador. A infectividade dos vírus, em diferentes períodos de armazenamento, foi testada em plantas de datura e glutinosa, para se determinar a longevidade *in vitro*. Constatou-se que, quando guardados em baixas temperaturas, os extratos preservam por mais tempo a infectividade dos vírus. No caso de datura e glutinosa, por exemplo, resultados positivos foram obtidos até 413 e 282 dias de armazenamento, respectivamente, em congelador. Entretanto, com relação às espécies de *Chenopodium* testadas, mesmo alguns extratos recém-preparados conduziram a resultados negativos, confirmando a presença de inibidores de infecção viral nestas plantas. Das três espécies, é sugerida a utilização apenas de *C. quinoa* para o preparo de extratos visando preservar estes vírus e, assim mesmo, por um período relativamente curto (entre 53 e 80 dias). A avaliação geral dos resultados mostra que, para os tymovírus estudados neste trabalho, é possível conservar a infectividade através da técnica de armazenamento de extratos foliares de plantas sistemicamente infectadas.

Palavras-chave: tymovírus, armazenamento em extratos, Solanaceae, Chenopodiaceae

1 - Trabalho apresentado no XLII Congresso Nacional de Botânica, Goiânia-GO.

2 - Seção de Virologia Fitopatológica e Fisiopatologia (SVFF), Instituto Biológico (IB), Caixa Postal 7119, CEP 01064-970, São Paulo, SP. Bolsista do CNPq (Pesq.)

3 - Bolsista do CNPq (Aperf.)

4 - Bolsista do CNPq (IC)

ABSTRACT: Four isolates of EMV (eggplant mosaic virus - tymovirus group) were preserved in crude extracts from systemically-infected plants. EMV-A1 (*Abelia* strain), EMV-Sc (Scottish strain), EMV-ts (type-strain) and TWNV (tomato white necrosis virus) which induce symptoms in *Chenopodium amaranticolor*, *C. murale*, *C. quinoa* (Family Chenopodiaceae), *Datura stramonium*, *Lycopersicon esculentum* and *Nicotiana glutinosa* (family Solanaceae) plants were maintained in leaf extracts obtained from these species. The extracts were kept at room temperature, at about 5°C and at about -20°C. Sap containing viruses were periodically inoculated in test-plants (*datura* and *glutinosa*) in order to determine the longevity *in vitro*. It was verified that viruses remained infective for longer periods if extracts were kept at low temperatures as compared with those maintained at room temperature. In the case of sap juice from *datura* and *glutinosa* plants, EMV isolates remained infective respectively up to 413 and 282 days at about -20°C. However, many negative results were obtained with *Chenopodium* species even when freshly prepared leaf juice were used. This fact may be understood by the presence of virus inhibitors in these plants. Only *C. quinoa* is a valuable host to be used to preserve four EMV isolates, although for a short period (more than 53 and less than 80 days). The present paper reports the successful use of keeping infected leaf juices for preserving the infectivity of some tymoviruses.

Key-Words: tymoviruses, storage in leaf juices, Solanaceae, Chenopodiaceae

Introdução

Os tymovírus constituem um grupo de fitovírus que apresentam forma isométrica (25-30 nm de diâmetro), são bastante estáveis, atingem elevada concentração nas hospedeiras, são facilmente transmitidos por inoculação mecânica e, na natureza, transmitem-se por coleópteros (Koenig & Lesemann, 1979, 1981; Francki *et al.*, 1985; Hirth & Givord, 1988; Brunt *et al.*, 1990). A denominação tymovírus deriva do nome do vírus-padrão: vírus do mosaico amarelo do nabo ("turnip yellow mosaic VÍRUS"). O primeiro agente deste tipo isolado no Brasil, o vírus da necrose branca do tomateiro (VNBT), foi caracterizado como um isolado do vírus do mosaico da berinjela (EMV = "Eggplant Mosaic Vírus"), por Barradas (1983).

O estudo da estabilidade *in vitro* de vírus de plantas vem sendo realizado, na Seção de Virologia Fitopatológica e Fisiopatologia do Instituto Biológico, desde 1973, com a organização de uma viroteca, através da técnica de preservação de vírus em tecidos foliares desidratados com CaCl₂ anidro (Barradas & Silberschmidt, 1973; Barradas, 1978, 1986).

Na seqüência de estudos sobre o armazenamento de vírus, deu-se início a experimentos para testar a manutenção da infectividade (longevidade *in vitro*) de alguns tymovírus em extratos foliares. Pretende-se, com esta solução alternativa, colaborar para diminuir as atividades de rotina, referentes às repicagens periódicas dos vírus em plantas hospedeiras.

Material e Métodos

O material empregado (vírus e espécies hospedeiras) encontra-se relacionado nas tabelas 1 e 2.

Os extratos foram preparados a partir de folhas de plantas com infecção sistêmica, na proporção de 1g de folhas para 20ml de água destilada. Utilizou-se água destilada no preparo do extrato porque já se havia mostrado que não há necessidade do emprego de tampão para inóculos de vírus deste grupo, que são muito estáveis (Barradas, 1988). Os extratos brutos assim obtidos foram filtrados em gaze, e conservados em três diferentes condições: à temperatura ambiente (A); em geladeira, a aproximadamente 5+C (G); e em congelador, a aproximadamente -20+C (C). Para o armazenamento, amostras de 1,5 ml de cada extrato foram acondicionadas em recipientes de vidro, com tampa de borracha. A infectividade dos tymovírus, nos extratos, foi detectada através de teste biológico, por inoculação mecânica em plantas de datura e glutinosa, que respondem com sintomas locais (4-7 dias após a inoculação) e/ou sistêmicos (7-15 dias após a inoculação), conforme Barradas (1983) e Barradas & Colariccio (1986). Os ensaios de infectividade foram realizados imediatamente após o preparo dos extratos (tempo zero) e em diferentes períodos de armazenamento. Para cada vírus e período de armazenamento testados, foram utilizadas 15 plantas-teste (6 daturas e 9 glutinosas), sendo 5 para cada condição de temperatura.

As plantas inoculadas foram mantidas em casas-de-vegetação, sem controle de temperatura, para observação dos sintomas. Os controles constaram de plantas inoculadas com extratos de folhas de plantas sadias, preservados nas mesmas condições.

Tabela 1 - Vírus empregados nas inoculações

Sigla	Nome	Isolado
VNBT	Vírus da necrose branca do tomateiro	SVFF
EMV-AI ¹	“Eggplant mosaic virus” (vírus do mosaico da berinjela)	“ <i>Abelia</i> latent strain” (estirpe latente isolada de <i>Abelia</i>)
EMV-Sc ²	“Eggplant mosaic virus” (vírus do mosaico da berinjela)	“Scottish (estirpe isolada na Escócia)
EMV-ts ³	“Eggplant mosaic virus” (vírus do mosaico da berinjela)	“Type-strain” (estirpe padrão)

1 e 3 = fornecidos pela Dra. Renate Koenig (Alemanha)

2 = fornecido pelo Dr. B.D Harrison (Escócia)

Tabela 2 - Espécies hospedeiras utilizadas

Espécie/Família	Nome vulgar	Local	Sintoma *Sistêmico
<i>Chenopodium amaranticolor</i> Coste & Reyn. Quenopodiácea	quenopódio	MC,PN	MC,PN
<i>Chenopodium murale</i> L. Quenopodiácea	—	PN	MC,PN,Na,RF
<i>Chenopodium quinoa</i> Willd. Quenopodiácea	quinoa	MC	MC,DF
<i>Datura stramonium</i> L. Solanácea	datura	MC,PN	CN,Mo
<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. Solanácea	tomateiro	—	CN,MoBr,FN
<i>Nicotiana glutinosa</i> L. Solanácea	glutinosa	MC,MA, PN	CN,MoBr,PN, DF,LP

* os sintomas aqui descritos foram baseados em Barradas (1983), que os descreveu para o VNBT. Quanto aos sintomas induzidos pelos outros três isolados do EMV, posteriormente se verificou que são muito semelhantes a estes.

CN= clareamento de nervuras; DF= deformação foliar; FN= faixa-de-nervura; LP= "line patterns", MC= manchas cloróticas; Mo= mosaico; MoBr= mosaico com manchas brancas; MA= manchas anulares; Na= nanismo; PN= pontos necróticos; RF= redução da área foliar

Resultados e Conclusões

Os resultados estão mostrados nas tabelas 3-6. As tabelas 3 e 4 apresentam um resumo dos testes de infectividade do vírus em extratos foliares de solanáceas e quenopodiáceas, respectivamente. Nos extratos mantidos à temperatura ambiente, os vírus perdem a infectividade mais rapidamente que naqueles conservados em geladeira ou em congelador (Tabela 3). Além disso, comparando-se os resultados obtidos nestas duas últimas condições mencionadas, constata-se que maiores períodos de manutenção de infectividade são conseguidos com os extratos preservados

Tabela 3 - Conservação de tymovírus em extratos foliares de Solanáceas

Vírus	Espécie Armazenada	Tipo de Armazenamento	Período Máximo de Armazenamento com Resultado Positivo (dias)	Período Máximo de Armazenamento Testado (dias)	Resultados
EMV-AL	DS	A	304	413	-
		G	240		-
		C	413		+
	LE	A	44	84	-
		G	84		+
		C	84		+
	NG	A	240	282	-
		G	126		-
		C	282		+
EMV-SC	DS	A	304	413	-
		G	413		+
		C	413		+
	LE	A	44	84	-
		G	84		+
		C	84		+
	NG	A	140	282	-
		G	126		-
		C	282		+
EMV-TS	DS	A	79	413	-
		G	413		+
		C	413		+
	LE	A	44	84	-
		G	84		+
		C	84		+
	NG	A	126	282	-
		G	140		-
		C	282		+
VNBT	DS	A	79	413	-
		G	304		-
		C	413		+
	LE	A	44	84	-
		G	84		+
		C	84		+
	NG	A	240	282	-
		G	140		+
		C	282		+

A - Temperatura ambiente

G - Geladeira (aproximadamente 5°C)

C - Congelador (aproximadamente -20°C)

DS - *Datura stramonium*LE - *Lycopersicon esculentum*NG - *Nicotiana glutinosa*

Tabela 4 - Conservação de tymovírus em extratos foliares de Quenopodiáceas

Vírus	Espécie Armazenada	Teste de Infectividade do Extrato recém-preparado	Tipo de Armazenamento	Período de Armazenamento Testado (dias), com alguns Resultados Positivos	Período Máximo de Armaz. Testado (dias), com Result. Negativos
EMV-AI	Ca	-	A G C	* * *	30
	Cm	+	A G C	** 30 **	71
	Cq	+	A G C	53 53 53	80
EMV-Sc	Ca	-	A G C	* * *	30
	Cm	-	A G C	* * *	71
	Cq	+	A G C	53 53 53	80
EMV-Ts	Ca	+	A G C	** ** **	30
	Cm	+	A G C	** ** 30	71
	Cq	+	A G C	53 53 53	80
VNBT	Ca	-	A G C	* * *	30
	Cm	-	A G C	* * *	71
	Cq	+	A G C	53 53 53	80

A = Temperatura ambiente

G = Geladeira (3 a 5°C)

C = Congelador (-18 a -20°C)

Ca = *Chenopodium amaranticolor*Cm = *Chenopodium murale*Cq = *Chenopodium quinoa*

* = não determinado, visto que o teste inicial já havia sido negativo

** = inferior a 30 dias.

em congelador. Observa-se que os períodos máximos de armazenamento testados foram 30, 71, 80, 84, 282 e 413 dias, para *C. amaranticolor*, *C. murale*, *C. quinoa*, *L. Esculentum*, *N. Glutinosa* e *D. Stramonium*, respectivamente (Tabelas 3 e 4). Nos três primeiros casos, os resultados foram negativos e, nos três últimos, positivos (considerando-se os tratamentos C e G). Não foi possível efetuar novos testes, pois os extratos haviam terminado. Os resultados, com relação a estas três últimas espécies, indicam que a infectividade dos vírus pode se manter, em extratos guardados na geladeira ou no congelador, por períodos maiores que aqueles assinalados na tabela 3 (84, 282 e 413 dias). Observa-se ainda, com relação aos extratos de solanáceas, que o número de plantas que responde positivamente ao ensaio de infectividade diminui com o tempo de armazenamento (Tabela 5). Quanto aos extratos de *Chenopodium*, a maioria dos testes de infectividade apresentou resultados negativos, com exceção de *C. quinoa*, mesmo para os extratos recém-preparados (Tabela 3) o que sugere a ocorrência de inibidores virais, substâncias estas já detectadas em diversas espécies do gênero (Smookler, 1971; Alberghina, 1976; Vicente *et al.*, 1977).

Tabela 5 - Número de plantas - família Solanácea - que respondem à inoculação com o extrato armazenado por diferentes períodos (Número de plantas inoculadas = 15)

Extrato	Vírus	Nº de plantas com sintomas, de acordo com o tempo de armazenamento do extrato (dias)					
		zero	84	140	240	282	413
datura	VNBT	15	15	8	4	3	3
	EMV-AI	15	15	9	5	3	3
	EMV-Sc	13	14	4	5	3	3
	EMV-ts	15	13	6	5	5	3
glutinosa	VNBT	15	9	9	5	3	*
	EMV-AI	14	14	8	4	4	*
	EMV-Sc	15	8	6	4	3	*
	EMV-ts	13	8	8	4	4	*
tomateiro	VNBT	14	11	*	*	*	*
	EMV-AI	14	11	*	*	*	*
	EMV-Sc	15	11	*	*	*	*
	EMV-ts	15	12	*	*	*	*

(a) = total de plantas, nos três tratamentos (A, G, C)

(b) = não estão apresentados resultados de vários testes feitos em período intermediários a estes mostrados

* = teste não realizado.

Com o objetivo de tentar favorecer a indução de sintomas, em plantas de datura e glutinosa, os extratos provenientes de *C. amaranticolor*, tanto os recém-preparados como aqueles mantidos em congelador (28 dias), foram diluídos 100 vezes e inoculados nestas espécies. No primeiro caso, surgiram pouquíssimas lesões locais nas plantas e, no segundo, o resultado foi negativo, indicando que o inibidor precisa ser mais diluído, para ter seu efeito minimizado e/ou que este inibidor age sobre as plantas hospedeiras (datura e glutinosa), impedindo a infecção (Vicente *et al.*, 1977). Já é fato bastante conhecido que os inibidores não impedem a ação dos vírus na própria planta onde ocorrem, mas sim em outras espécies, sem relação taxonômica com a planta original. É possível que resultados positivos tivessem sido obtidos, no caso de extratos de *C. amaranticolor* e *C. murale*, se a infectividade tivesse sido testada nas mesmas espécies, ou em espécies próximas. Assim, não é adequado tentar conservar vírus em extratos de plantas que contêm inibidores, pois sempre haverá dificuldades relacionadas aos testes de infectividade, considerando que deverão ser realizados, preferencialmente, nas mesmas espécies empregadas no preparo dos extratos.

De acordo com a tabela 6, onde se procurou incluir todos os tymovírus conhecidos, os maiores valores de longevidade *in vitro* (LIV) não ultrapassam 180 dias, para extratos conservados em geladeira ou em congelador, e foram determinados para os vírus APLV, DMV e OYMV. Quando o armazenamento é feito à temperatura ambiente, o período de preservação dos tymovírus é menor, variando de 1 a 100 dias, dependendo do agente. Com relação ao EMV, Gibbs & Harrison (1973) relatam que a LIV, à temperatura ambiente, é de apenas 7 dias (Tabela 6), sem informar a espécie usada no preparo de extrato. Os resultados aqui expostos (Tabela 3) demonstram que os quatro isolados do EMV estudados suportam períodos mais longos de armazenamento, à temperatura ambiente, sem perder a infectividade (pelo menos 44, 77 e 126 dias, para tomateiro, datura e glutinosa, respectivamente).

Consultando a literatura (Tabela 6), chama a atenção o fato de que a maioria dos trabalhos não menciona a planta utilizada no preparo dos extratos, o que é uma falha, pois os dados obtidos no presente trabalho (Tabelas 3 e 4) confirmam que, de acordo com a espécie botânica empregada, a longevidade *in vitro* dos vírus varia.

Técnicas de preservação de vírus são bastante úteis no estudo destes patógenos, principalmente quando se quer diminuir a frequência das repicagens sucessivas em plantas hospedeiras, procedimento que pode favorecer a contaminação e exige muita mão-de-obra. Daí a importância da conservação em extratos foliares, técnica usada neste trabalho, bastante simples, e que, pelo menos para os tymovírus aqui relatados, conduziu a bons resultados, quando comparados aos dados da literatura (Tabela 6).

O armazenamento a -20°C de extratos foliares de plantas com infecção sistêmica, como um processo de preservação de fitovírus, é muito utilizado para os vírus que se transmitem por inoculação mecânica e que são relativamente estáveis (Noordam, 1973; Purcifull *et al.*, 1975; Hill, 1984). Uma condição indispensável

Tabela 6 - Informações sobre a longevidade *in vitro* de vírus do grupo tymovírus (Dados obtidos da literatura)

Vírus	Sigla	Longevidade <i>in vitro</i> (dias)		Planta usada no Preparo do Extrato	Referência Bibliográfica
"Andean potato latent v." (vírus latente da batata dos Andres)	APLV	2-7 180	(A) (G,C)	-	Gibbs et al., 1966
"Belladonna mottle v." (vírus do mosqueado da beladona)	BMV	5-21	(A)	-	Paul, 1971
"Cacao yellow mosaic v." (vírus do mosaico amarelo do cacauero)	CaYMV	16-32 100	(A) (G)	<i>Theobroma cacao</i>	Brunt, 1970
"Clitoria yellow vein v." (vírus da nervura amarela de <i>Clitoria</i>)	CIYVV	21	(A)	<i>Nicotiana clevelandii</i>	Bock & Guthrie, 1977
"Desmodium yellow mottle v." (vírus do mosqueado amarelo de <i>Desmodium</i>)	DeYMV	38-44	(A)	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Scott, 1976
"Dulcamara mottle v." (vírus do mosqueado de dulcamara)	DMV	2-7 180	(A) (G,C)	-	Gibbs et al., 1966
"Eggplant mosaic v." (vírus do mosaico da berinjela)	EMV	7	(A)	-	Gibbs & Harrinson, 1973
"Erysimum latent v." (vírus latente de <i>Erysimum</i>)	EryLV	20	(A)	<i>Sinapis alba</i>	Shukla & Gough, 1980
"Kennedy yellow mosaic v." (vírus do mosaico amarelo de <i>Kennedy</i>)	KYMV	10-100	(A)	<i>Pea sativum</i>	Gibbs, 1978
"Mellon rugose mosaic v." (vírus do mosaico rugoso do melão)	MRMV	-	-	-	Jones et al., 1986
"Okra mosaic v." (vírus do mosaico do quiabeiro)	OkMV	7-9	(A)	<i>Hibiscus esculentus</i>	Givord & Koenig, 1974
"Ononis yellow mosaic v." (vírus do mosaico amarelo de <i>Ononis</i>)	OYMV	14 180	(A) (G,C)	-	Gibbs et al., 1966
"Passion fruit yellow mosaic v." (vírus do mosaico amarelo do maracujá)	PYMV	8	(A)	-	Crestani et al., 1986
"Peanut yellow mottle v." (vírus	PeYMV	22	(A)	-	Lana, 1980

Cont. Tabela 6.

do mosqueado amarelo do amendoim)					
"Plantago mottle P1MV v." (vírus do mosqueado de Plantago)	P1MV	-	-	-	Granett, 1973
" <i>Physalis</i> mosaic PMV v." (vírus do mosaico de <i>Physalis</i>)	PMV	-	-	-	Peters & Derks, 1974
" <i>Poinsettia</i> mosaic v." (vírus do mosaico de <i>Poinsettia</i>)	PoMV	8-10	(A)	<i>Euphorbia cyathophora</i>	Koenig et al., 1986
" <i>Sorophularia</i> mottle v." (vírus do mosqueado de <i>Scrophularia</i>)	ScrMV	30	(A)	<i>Datura stramonium</i>	Bercks, 1973
"Turnip yellow mosaic v." (vírus do mosaico amarelo do nabo)	TYMV	algumas semanas (A.G.)		<i>Brassica pekinensis</i>	Matthews, 1980
"Wild cucumber mosaic v." (vírus do mosaico do pepino selvagem)	WCMV	28	(A)	<i>Cucurbita pepo</i>	Van Regenmortel 1972
" <i>Voandzeia</i> necrotic mosaic v." (vírus do mosaico necrótico de <i>Voandzeia</i>)	VNMV	1 10	(A) (G,C)	<i>Voandzeia subterranea</i>	Fauquet et al., 1984

- = dados não encontrados

A = temperatura ambiente

G = temperatura variando de 0 a 5°C

C = temperatura variando de -15 a -20°C

para que a infectividade dos vírus assim armazenados se mantenha consiste no fato de descongelar a amostra apenas uma vez, no momento do ensaio (Noordam, 1973; Hill, 1984). Por isso, é importante preparar diversas amostras, para que períodos diferentes de armazenamento possam ser testados, como foi feito neste trabalho.

1 - A técnica de manutenção de fitovírus, em extratos foliares, pode ser considerada um processo alternativo de preservação, pelo menos para vírus bastante estáveis, como é o caso do grupo em questão (tymovírus).

2 - Os tymovírus estudados mantêm sua infectividade por um período de até 413 dias, em alguns casos, quando conservados em extratos de solanáceas, porém o mesmo não ocorre com extratos preparados a partir de quenopodiáceas.

3 - O armazenamento de extratos a baixas temperaturas é mais eficiente na manutenção da infectividade destes fitovírus do que à temperatura ambiente.

4 - O período máximo de preservação (LIV) que estes tymovírus suportam depende da espécie hospedeira empregada no preparo do extrato.

Referências Bibliográficas

- ALBERGHINA, A. 1976. The inhibitory activity of extracts of *Chenopodium amaranticolor* leaves on the infection by tobacco necrosis virus. *Phytopath. Z.*, Berlin, 87: 17-27.
- BARRADAS, M.M. 1978. Organização de uma coleção de vírus fitopatogênicos em tecidos desidratados com cloreto de cálcio. *Biológico*, São Paulo, 44(9): 221-230.
- BARRADAS, M.M. 1983. Caracterização do vírus da necrose branca do tomateiro (VNBT) e sua identificação como um tymovírus. Tese de Doutorado/ Instituto de Biociências/USP. São Paulo, 161p.
- BARRADAS, M.M. 1986. Manutenção da coleção de vírus fitopatogênicos da Seção de Virologia Fitopatológica e Fisiopatologia (SVFF). *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 12 (1/2): 25 (Resumo).
- BARRADAS, M.M. 1988. Efeito de diferentes tampões na infectividade do vírus da necrose branca do tomateiro (VNBT). p. 175. In: Resumos do 4º Encontro Nacional de Virologia, 258 p. (São Lourenço, MG, 26 a 30 de Outubro de 1988).
- BARRADAS, M.M. & K.M. SILBERSCHMIDT. 1973. Conservação de vírus vegetais em tecidos secos de folhas. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 44 (4): 375-379.
- BARRADAS, M.M. & A. COLARICCIO. 1986. Inclusões citoplasmáticas em plantas de *Datura stramonium* inoculadas com diferentes isolados do vírus do mosaico da berinjela (tymovirus). *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 53 (1/4): 75-79.
- BERCKS, R. 1973. Scrophularia mottle virus. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, Wales, nº 11.
- BOCK, K.L. & E.J. GUTHRIE. 1977. Clitoria yellow vein virus. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, Wales, nº 171.
- BRUNT, A.A. 1970. Cacao yellow mosaic virus. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, Wales, nº 11.
- BRUNT, A.; K. CRABTREE; A. GIBBS. 1990. *Viruses of Tropical Plants*. Wallingford, C.A.B. International, 707p.
- CRESTANI, O.A.; E.W. KITAJIMA; M.T. LIN; V.L.A. MARINHO. 1986. Passion fruit mosaic virus, a new tymovirus found in Brazil. *Phytopathology*, St. Paul, 76 (9): 951-955.
- FAUQUET, C.; A. MONTSARRAT; J.C. THOUVENEL. 1984. Voandzeia necrotic mosaic virus. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, Wales, nº 279.
- FRANCKI, R.I.B.; R. MILNE; T. HATTA. 1985. *Atlas of Plant Viruses. Vol. 1*. Boca Raton, CRC Press, 222p.
- GIBBS, A.J. 1978. Kennedyya yellow mosaic virus. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, Wales, nº 193.
- GIBBS, A.J. & B.D. HARRISON. 1973. Eggplant mosaic virus. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, Wales, nº 124.
- GIBBS, A.J.; E. HECHT-POINAR; R.D. WOODS; R.K. MCKEE. 1966. Some properties of three related viruses: Andean potato latent, dulcamara mottle and ononis yellow mosaic. *J.gen.Microbiol.*, London, 44: 177-193.

- GIVORD, L. & L. KOENIG. 1974. Okra mosaic virus. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, Wales, nº 128.
- GRANETT, A.L. 1973. Plantago mottle virus, a new member of the tymovirus group. *Phytopathology*, St. Paul, 63: 1313-1316.
- HILL, S.A. 1984. *Methods in Plant Virology*. Oxford, Blackwell Sc. Publ., 167p.
- HIRTH, L. & L. GIVORD. 1988. Tymoviruses. p. 163-212, *In: The Plant Viruses*, vol. 3 (KOENIG, R., ed.). Plenum Publishing Corporation.
- JONES, P.; S.B. ANGOOD; J.M. CARPENTER. 1986. Melon rugose virus, the cause of a disease of watermelon and sweet melon. *Ann.appl.Biol.*, Wellesbourne, 108: 303-307.
- KOENIG, L. & D.-E. LESEMANN. 1979. Tymovirus group. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, Wales, nº 214.
- KOENIG, L. & D.-E. LESEMANN. 1981. Tymoviruses. p.33-60, *In: Comparative Diagnosis of Viral Diseases*, vol. IV (KURSTAK, E., ed.). Elsevier, North-Holland Biomedical Press.
- KOENIG, L.; D.-E. LESEMANN; R.W. FULTON. 1986. Poinsettia mosaic virus. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, Wales, nº 311.
- LANA, A.F. 1980. Properties of a virus occurring in *Arachis hypogea* in Nigeria. *Phytopath. Z.*, Berlin, 97: 169-178.
- MATTHEWS, R.E.F. 1980. Turnip yellow mosaic virus. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, Wales, nº 230.
- NOORDAM, D. 1973. *Identification of Plant Viruses. Methods & Experiments*. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 207p.
- PAUL, H.L. 1971. Belladonna mottle virus. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, Wales, nº 52.
- PETERS, D. & A.F.L.M. DERKS. 1974. Host range and some properties of *Physalis* mosaic virus, a new virus of the turnip yellow mosaic virus group. *Neth. J.Pl.Path.*, Wageningen, 80: 124-132.
- PURCIFULL, D.E.; S.R. CHRISTIE; D.L. BATCHELOR. 1975. Preservation of plant virus antigens by freeze-drying. *Phytopathology*, St. Paul, 65 (11): 1202-1205.
- SCOTT, H.A. 1976. Desmodium yellow mottle virus. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, Wales, nº 168.
- SHUKLA, D.D. & K.H. GOUGH. 1980. Erysimum latent virus. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, Wales, nº 222.
- SMOOKLER, M.M. 1971. Properties of inhibitors of plant virus infection occurring in leaves of species in the Chenopodiales. *Ann.appl.Biol.*, Wellesbourne, 69: 157-168.
- VAN REGENMORTEL, M.H.V. 1972. Wild cucumber mosaic virus. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, Wales, nº 105.
- VICENTE, M.; A. NORONHA; E. COLAMARINO. 1977. Modo de ação de um inibidor de virus fitopatogênicos extraído das folhas de *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn. *Arq.Inst.Biol.*, São Paulo, 44 (4): 229-234.