

Belém, PA / Novembro, 2024

Sintomas, etiologia e metodologia para diagnose de viroses da pimenteira-do-reino

Alessandra de Jesus Boari⁽¹⁾, Caterynne Melo Kauffmann⁽²⁾ e Ayane Fernanda Ferreira Quadros⁽³⁾⁽¹⁾Pesquisadora, Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA. ⁽²⁾Profissional autônoma, Brasília, DF. ⁽³⁾Profissional autônoma, Viçosa, MG.

Introdução

Os vírus são parasitas obrigatórios, ou seja, necessitam da planta viva para sua replicação ou multiplicação. Os vírus aqui descritos infectam sistemicamente as pimenteiras-do-reino (*Piper nigrum* L.). Plantas propagadas vegetativamente por meio de estacas, tubérculos, bulbos, etc., que estão infectadas por vírus, sempre gerarão mudas doentes. Comumente, uma planta de pimenteira-do-reino pode ser infectada por mais de uma espécie viral.

No Brasil, já foram relatadas três espécies virais causando doenças em pimenteiras-do-reino: piper yellow mottle virus (PYMoV), gênero *Badnavirus*, família *Caulimoviridae*; cucumber mosaic virus (CMV), gênero *Cucumovirus*, família *Bromoviridae*; e, recentemente, black pepper virus F (BPVF), gênero *Fabavirus*, família *Sesquiviridae* (Boari, 2008; Duarte et al., 2016; Kauffmann et al., 2023).

Mosqueado-amarelo

O mosqueado-amarelo da pimenteira-do-reino ocorre na Índia, China, Sri Lanka, Tailândia, Vietnã, Filipinas, Malásia, Indonésia e Brasil (Lockart et al., 1997; Silva et al., 2002). No Brasil, a primeira constatação dessa virose se deu em 1998, em Belém, PA (Albuquerque et al., 1999), com ocorrência posterior também reportada no

Espírito Santo, Minas Gerais e Amazonas. No Pará e Espírito Santo, as últimas informações disponíveis indicam que o vírus seja de ampla ocorrência em plantas de pimenteira-do-reino (Pantoja et al., 2009; Oliveira et al., 2010).

A doença é causada pelo vírus do mosqueado da pimenteira-do-reino (piper yellow mottle virus — PYMoV), que pertence ao gênero *Badnavirus*, família *Caulimoviridae*. Suas partículas são baciliformes (Figura 1) e seu genoma é composto por DNA de fita dupla de aproximadamente 7.622 pb (Lockhart et al., 1997; Bhat et al., 2012; Hany et al., 2014). O genoma completo de um isolado paraense apresentou alta identidade com isolados de PYMoV indianos de pimenteira-do-reino (Quadros et al., 2019), levando a inferir que esse vírus possa ter sido introduzido no Brasil por meio de sementes ou mudas provenientes da Índia, centro de origem da cultura.

Esse vírus é encontrado associado tanto a plantas sintomáticas quanto assintomáticas (Boari, 2008; Bhat et al., 2012) e pode infectar outras espécies de piperáceas, como: *Piper betle* (Lockhart et al., 1997), *Piper longum*, *Piper argyrophyllum*, *Piper attenuatum*, *Piper barberi*, *Piper colubrinum*, *Piper galeatum*, *Piper ornatum*, *Piper sarmentosum* e *Piper trichostachyon* (Bhat et al., 2014).

Foto: Elliot Watanabe Kitajima

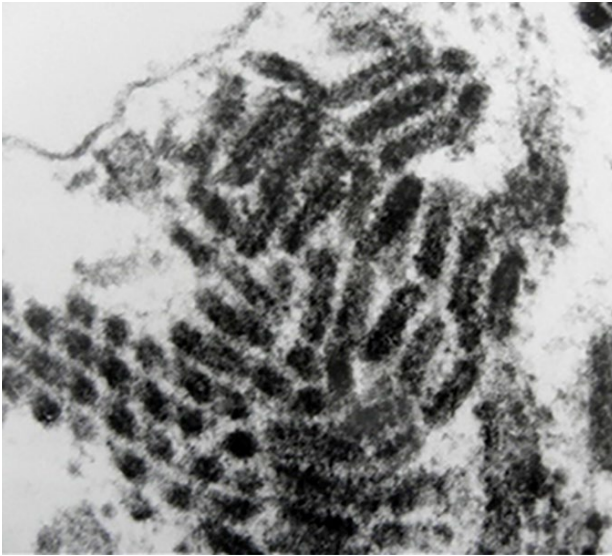


Figura 1. Corte ultrafino de folha de pimenteira-do-reino mostrando partículas baciliformes de piper yellow mottle virus (PYMoV).

A transmissão do PYMoV pode ser feita por cochonilhas, dentre elas das espécies *Planococcus citri*, *Ferrisia virgata* (Figura 2A) e *Planococcus minor* (Figuras 2B e 2C) (pertencente à ordem Homoptera, superfamília Ceccoidea, família Pseudococcidae (Bhat et al., 2003; Boari et al., 2010; Sousa et al., 2010). A transmissão do PYMoV por esses insetos tem maior importância na fase de viveiro. Essas cochonilhas podem ser encontradas alimentando-se em várias partes da planta como coleto, haste, região dos nós e raízes adventícias. Em geral, as cochonilhas se associam com a formiga *Solenopsis saevissima* (formiga-de-fogo) que, além de protegê-las, atuam como agentes de dispersão do vetor do vírus nos pimentais, principalmente à curta distância. Portanto, a observação de formigas nas plantas é um bom indicativo de que a cochonilha está presente.

Fotos: Alessandra de Jesus Boari



Figura 2. Cochonilhas transmissoras de piper yellow mottle virus (PYMoV): (A) *Ferrisia virgata*; (B) e (C) *Planococcus minor*.

Já à longa distância, o PYMoV é disseminado principalmente por meio de estacas infectadas, que são utilizadas na produção de mudas, podendo ser transmitido também através de enxertia. Porém não é comum em plantios comerciais, pois todas as mudas são produzidas a partir de estacas enraizadas (Boari, 2008). Além disso, pode ser transmitido por sementes de plantas infectadas (Hareesh; Bhat, 2010; Deeshma; Bhat, 2014).

Os sintomas causados pelo PYMoV variam com a cultivar de pimenteira-do-reino. Podem causar ondulações em apenas uma ou ambas as bordas do limbo foliar (Figura 3A), clorose das nervuras, manchas e pontos de coloração amarela, dispersas pelo limbo foliar (Figuras 3B e 3C) ou em faixas transversais que contrastam com as zonas de tecido verde, formando então um mosqueado típico. Áreas cloróticas podem surgir ao longo da nervura principal, ocasionalmente ocorrendo a formação de bolhas. Em plantas severamente infectadas, as folhas deformam, devido a ondulações em uma ou ambas as bordas do limbo. A planta infectada apresenta alteração no crescimento, a folhagem fica esparsa e a produção é afetada devido à redução do número de espigas e o menor número de espigas com menor número de frutos ocasionado pelo aborto das flores (Figura 4) (Duarte et al., 2000; Brioso et al., 2000; Boari, 2008).

Fotos: Alessandra de Jesus Boari



Figura 3. (A) Folhas de pimenteiras infectadas pelo piper yellow mottle virus (PYMoV) com sintomas de mosqueado-amarelo e ondulação do limbo foliar. (B) e (C) Pontos e manchas cloróticas causados pelo PYMoV em folhas de pimenteira-do-reino.



Foto: Alessandra de Jesus Boari

Figura 4. Cacho de pimenteira-do-reino com redução do número de frutos devido ao aborto de flores causados pelo piper yellow mottle virus (PYMoV).

Em viveiro, dependendo da cultivar, podem-se observar mudas que apresentam sintomas da virose (Figura 5), mas também é comum nessa fase as plantas serem assintomáticas, apesar de infectadas. Por esse motivo, a simples observação da ausência de sintomas não é indicada como critério para seleção de plantas saudáveis.



Foto: Alessandra de Jesus Boari

Figura 5. Mudas apresentando sintomas de clorose das nervuras e mosqueado-amarelo causados por piper yellow mottle virus (PYMoV).

O principal método de controle do mosqueado-amarelo é o uso de estacas ou mudas saudáveis provenientes de produtores credenciados pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (Mapa), além da eliminação das plantas sintomáticas. Na ausência de mudas livres de vírus, recomenda-se o uso das cultivares Bragantina e Guajarina, que aparentam ser tolerantes ao vírus, pois, mesmo

infectadas, não manifestam sintomas (Boari, 2008). Para implantação de novos pimentais, deve-se dar preferências por áreas distantes de pimentais com incidência da doença.

Mosaico

O mosaico da pimenteira-do-reino encontra-se presente em todos os estados produtores do Brasil, porém, estudos indicam que a sua incidência é menor do que o mosqueado-amarelo (Pantoja et al., 2009).

A doença é causada pelo vírus do mosaico do pepino (cucumber mosaic virus — CMV), pertencente ao gênero *Cucumovirus*, família *Bromoviridae*, que possui partículas esféricas, com cerca de 30 nm de diâmetro. No mundo, o CMV apresenta inúmeras estirpes distribuídas em dois subgrupos, I (Ia e Ib) e II, baseado no teste de PCR-RFLP (Palukaitis et al., 1992). O subgrupo I foi dividido em dois subgrupos (Ia e Ib) com base na análise filogenética no 3'UTR do RNA (Roossinck et al., 1999). Especificamente no estado do Pará, o sequenciamento do gene da capa proteica de isolados obtidos em pimenteiras-do-reino demonstrou a ocorrência do subgrupo Ia (Duarte et al., 2016).

O CMV apresenta uma ampla gama de hospedeiros pertencentes a, aproximadamente, mil espécies vegetais cultivadas (Palukaitis et al., 1992), como bananeira, tomateiro, pimenteira, alface, alfavaca, picão, feijão-de-metro, jambu, trapoeraba, maria-pretinha e camapu (Boari et al., 2000; Eiras et al., 2004; Boari et al., 2017).

O vírus infecta sistemicamente a planta e sua transmissão ocorre por pulgões, destacando-se as espécies *Aphis spiricolae*, *Aphis gossypii* e *Myzus persicae* (Palukaitis et al., 1992). Não existem estudos sobre a eficiência da transmissão do CMV por pulgões entre plantas de pimenteira-do-reino. No entanto, a utilização de estacas infectadas para propagação é a principal forma de disseminação do vírus.

Os sintomas causados pelo CMV em pimenteiras também podem variar com a cultivar, mas em plantas da cultivar Cingapura é comum observar deformação, clorose, mosaico e redução do limbo foliar, espigas pequenas e com falhas, resultando em considerável perda de produção (Figura 6) (Pantoja et al., 2009). Sucessivas gerações de mudas provenientes de plantas infectadas promovem o definhamento ou enfezamento da planta devido ao processo de degenerescência. As plantas apresentam folhagem esparsa e internódios curtos. Muitas vezes, os sintomas ocorrem somente em parte da planta, permanecendo o restante da folhagem com aspecto sadio.

Foto: Alessandra de Jesus Boari



Figura 6. Sintomas de mosaico, redução do limbo foliar e cacho com frutos abortados de pimenteira-do-reino da cultivar Cingapura causados pelo cucumber mosaic virus (CMV).

O CMV afeta o desenvolvimento das gavinhas, que são estruturas importantes para a sustentação das plantas no tutor, deixando-as arriadas (Figura 7), comprometendo assim a produção.

Foto: Alessandra de Jesus Boari



Figura 7. Planta infectada pelo cucumber mosaic virus (CMV) sem sustentação da planta junto ao tutor, devido à falta de desenvolvimento das gavinhas.

Como principais medidas, recomenda-se utilização de mudas sadias provenientes de viveiristas credenciados pelo Mapa ou estacas de matrizeiros sadios, erradicação das plantas infectadas, eliminação de plantas hospedeiras do CMV nas proximidades dos pimentais e estabelecimento de novos plantios distantes de áreas que já apresentam plantas sintomáticas.

O uso de defensivos agrícolas para o controle dos insetos vetores do CMV é ineficiente por se tratar de um vírus transmitido por picada de prova (o inseto vetor leva 30 segundos para adquirir o vírus e 30 segundos para transmiti-lo). Além disso, gera a contaminação tanto para homens quanto para o meio ambiente. A detecção de resíduos de defensivos agrícolas em frutos de pimenta pode depreciar o valor do produto pelas empresas importadoras.

Mosaico-amarelo

Recentemente, por meio do sequenciamento de alta performance, foi relatada uma nova espécie de vírus em plantas de pimenteiras-do-reino, denominado black pepper virus F (BPVF), pertencente ao gênero *Fabavirus*, da família *Sesquiviridae*. Esse vírus causa a doença mosaico-amarelo e foi detectado no Brasil, em plantios localizados em diferentes municípios no estado do Pará. Suas partículas são isométricas de 28 nm (Figura 8), e possui dois RNAs genômicos de 6.327 e 3.620 nt (Kauffmann et al., 2019, 2022).

Foto: Elliot Watanabe Kitajima

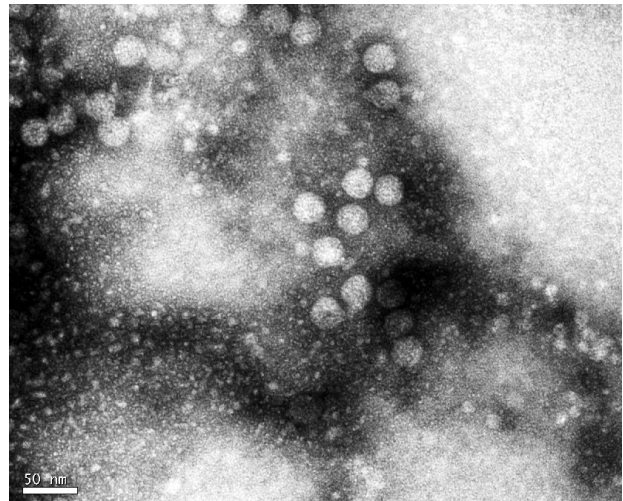


Figura 8. Imagem de microscópio eletrônico de transmissão de uma preparação semipurificada do black pepper virus F (BPVF) isolada de pimenta-do-reino infectada, mostrando partículas virais isométricas de aproximadamente 30 nm.

Sua disseminação ocorre por meio de estacas infectadas, entretanto, não se sabe se é transmitido por algum inseto vetor ou por sementes. Em amostras de pimenteiras-do-reino, o teste de transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) identificou o vírus tanto em plantas com sintomas quanto em plantas assintomáticas, demonstrando uma incidência superior a 50% (Kauffmann et al., 2019, 2023).

Os sintomas causados pela nova espécie de vírus pertencente ao gênero *Fabavirus* são o mosaico (Figura

9), a redução do limbo foliar e a clorose das nervuras. Além disso, o vírus pode causar o abortamento das flores nos cachos, causando redução do número de frutos.

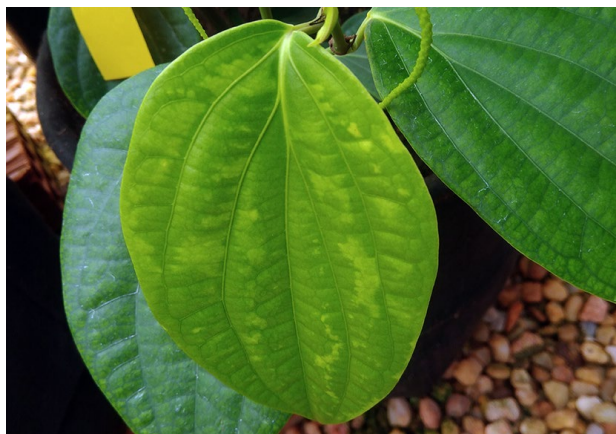


Foto: Alessandra de Jesus Boari

Figura 9. Folha de pimenteira-do-reino infectada por black pepper virus F (BPVF) com sintomas típicos de mosaico foliar.

Como método de manejo, recomenda-se o uso de estacas e mudas provenientes de matrizeiros saudáveis oriundos de viveiristas credenciados pelo Mapa.

Outros

Além desses vírus, foi identificado, por meio do sequenciamento de alta performance, em amostras de pimenteiras-do-reino oriundas de cultivos no estado do Pará, uma nova espécie de vírus pertencente ao gênero *Cheravirus* (não relatado). No entanto, ainda não há informações sobre os seus efeitos na cultura.

Método de diagnose de viroses da pimenteira-do-reino

A diagnose de vírus de planta é muito importante para o estabelecimento de estratégias de manejo das doenças, principalmente para a seleção de matrizeiros livres de vírus. Considerando que nem sempre a planta infectada por vírus manifesta sintomas aparentes, torna-se necessário o uso de testes moleculares para uma detecção precisa. Atualmente, no caso da cultura da pimenteira-do-reino, o método de diagnose mais utilizado e recomendado é o teste molecular da reação em cadeia da polimerase (PCR), para detecção de vírus constituído de DNA (PYMoV), e a transcrição reversa seguida da PCR (RT-PCR), para os vírus que possuem RNA (CMV e BPVF). Esses testes detectam o ácido nucleico viral e também podem ser utilizados para obtenção da sequência genômica e posterior estudo de diversidade genética.

Para a realização do teste, é necessário ter pelo menos uma parte do genoma viral conhecida para o desenho e obtenção do par de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) que serão utilizados na síntese de DNA.

Inicialmente, é realizada a extração do ácido nucleico a partir de folhas da pimenteira-do-reino, podendo ser feita com kits comerciais ou métodos alternativos. No caso dos vírus constituídos de RNA, primeiramente é realizada a transcrição reversa para produção do DNA complementar (cDNA) utilizando a enzima transcriptase reversa e, posteriormente, são realizados os múltiplos ciclos por PCR, que visam à produção de um grande número de cópias do fragmento alvo do DNA. Os produtos da PCR são analisados por meio da eletroforese em gel de agarose a 0,9% corados com GelRed ou brometo de etídio.

A seguir será descrita a metodologia de diagnose para cada espécie de vírus da pimenteira-do-reino utilizada no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental.

Extração do ácido nucleico

Existem diferentes protocolos e kits comerciais para a extração de ácido nucleico viral. Para extração de ácido nucleico de pimenteira-do-reino, optou-se pelo uso do protocolo de Gibbs e Mackenzie (1997) modificado conforme descrito a seguir, pois ele permite tanto a detecção de vírus de DNA como de RNA.

- Macere 50–100 mg de folha fresca em 800 μ l de tampão CTAB (CTAB 2% (p/v); 1,4 M de NaCl; 0,1 M Tris-HCl, pH 8,0) e 10 μ l de β -mercaptoetanol. Passe o macerado para um microtubo de 2 mL.
- Incube a 55 °C por 15–30 minutos.
- Adicione 800 μ l de clorofórmio:isoamílico (24:1). Agite bem (vórtex) para obter a emulsão.
- Centrifugue a 14.000 rpm por 10 minutos.
- Cuidadosamente remova 700 μ l da fase aquosa (superior) para um novo microtubo de 2 mL.
- Repita a limpeza com clorofórmio:álcool isoamílico (700 μ l).
- Remova 600 μ l da fase aquosa para um novo microtubo de 1,5 mL.
- Adicione 1/10 do volume (60 μ l) de NH_4OAc (acetato de amônio 7,5 M) e 1 volume de isopropanol (600 μ l). Misture bem e coloque os tubos no freezer a -20 °C por 30 minutos ou mais.
- Centrifugue à velocidade máxima (+14.000 rpm) por 10 minutos.

- Descarte o sobrenadante cuidadosamente para não perder o pellet.
- Adicione 1 mL de álcool etílico 70%.
- Seque o pellet na bancada com o tubo aberto ou de preferência a vácuo.
- Adicione 50–100 µl de água ultrapura.
- Armazene os tubos devidamente identificados a -20 °C (armazenamento por curtos períodos) ou -80 °C (armazenamento por longos períodos).

Primers

Os *primers* utilizados para cada espécie viral estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. *Primers* utilizados para identificação de cada espécie viral.

Vírus	Primer	Tamanho do fragmento (pb)
PYMoV	PYMoV – F 5' TAACAGGACTAGGGATGG 3' e PYMoV – R 5' CAGCTGGTCTTCTTGATAATA 3'	450
CMV	CMV – R 5' GCCGTAAGCTGGATGGACAA 3' CMV – F 5' TATGATAAGAAGCTTGTTCGCG 3'	486
BPVF	Faba – R 5' CAGTTGGTGCCAAGAGACCA 3' Faba – F 5' CTGACAAAGCATGACCCACG 3'	700

Vírus de RNA

Para diagnose de vírus constituídos de RNA, há duas opções para síntese de cDNA por transcrição reversa (RT): fazer a transcrição reversa separadamente utilizando *primer reverse* (R) específico para cada vírus (CMV e BPVF) ou usar primers hexâmetros (tamanho de 6 nucleotídeos) para síntese do cDNA, podendo detectar os 2 vírus (CMV e BPVF) a partir de uma única reação de RT.

Exemplo 1: ao realizar o RT convencional utilizando a enzima M-MLV ou AMV e *primer* específico para a espécie viral, a reação pode ser feita conforme descrito a seguir, utilizando os componentes apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Componentes utilizados na reação de transcrição reversa para diagnose de vírus de RNA.

Componente	Quantidade (µl)
<i>Primer reverse</i> (10 µM)	0,5
Água ultrapura	11,0
Ácido nucleico total	3,0

Incube a 70 °C por 5 minutos, coloque o microtubo com a reação imediatamente no gelo por pelo menos 1 minuto e, em seguida, adicione os reagentes apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Reagentes utilizados na reação de transcrição reversa para diagnose de vírus de RNA.

Reagente	Quantidade (µl)
Tampão da enzima transcriptase reversa MMLV	5,00
Enzima MMLV	0,25
dNTP	0,25
Total da reação	20,00

Para detecção simultânea do CMV e BPVF, podem ser adicionados os *primers reverse* dos dois vírus (CMV-R e Faba R) no mesmo tubo da reação de transcrição reversa e, posteriormente, na reação da PCR. Na análise em gel de agarose, serão observadas duas bandas, uma de cerca de 500 pb (CMV) e outra de 700 pb (BPVF).

Exemplo 2: ao utilizar o kit *High capacity cDNA reverse transcription* (Applied Biosystems) a reação é feita conforme descrito a seguir, com os componentes descritos na Tabela 4.

Tabela 4. Componentes utilizados na reação com o kit *High capacity cDNA reverse transcription*.

Componente	Quantidade (µl)
10X RT Buffer	2,0
25X dNTP Mix (2,5 mM)	0,8
10X RT Random primers	2,0
MultiScribe reverse transcriptase	1,0
Água ultrapura	4,2
Ácido nucleico total	10,0
Reação total	20,0

No termociclador, os microtubos com a reação serão incubados por 10 minutos a 25 °C, 37 °C /50' e 85 °C/10'. Armazene o cDNA a -20 °C.

Na reação de PCR para detectar os vírus CMV e BPVF separadamente, as reações consistirão conforme descrito a seguir, com os componentes constantes na Tabela 5.

Tabela 5. Componentes da reação de PCR para detectar os vírus CMV e BPVF.

Componente	Quantidade (µl)
10X Buffer	2,50
25X dNTP Mix (2,5 mM)	0,50
MgCl ₂ (50mM)	0,75
Primer F (10 µM)	0,25
Primer R (10 µM)	0,25
Taq Polimerase (5 U/µl)	0,25
Água ultrapura	17,50
cDNA	3,00
Reação total	25,00

No termociclador, a reação consiste de 5 minutos a 94 °C, seguindo 30 ciclos a 94 °C por 30 segundos, 54 °C por 30 segundos e 72 °C, e extensão de 72 °C por 2 minutos. Os produtos do PCR são analisados por meio da eletroforese em gel de agarose a 0,9%, corado com GelRed (Biotion) e fotografado utilizando o fotodocumentador. Armazene o produto do PCR a -20 °C para posterior análise em gel de agarose.

Virus de DNA

Por ser um vírus constituído de DNA, é realizado apenas a PCR para o PYMoV, com os componentes descritos na Tabela 6.

Tabela 6. Componentes da reação de PCR para o vírus de PYMoV.

Componente	Quantidade (µl)
10X Buffer	2,50
25X dNTP Mix (2,5 mM)	0,50
MgCl ₂ (50mM)	0,75
Primer F (10 µM)	0,25
Primer R (10 µM)	0,25
Taq Polimerase (5 U/µl)	0,25
Água ultrapura	15,50
cDNA	5,00
Reação total	25,00

O PYMoV é um vírus restrito aos vasos do floema e, portanto, possui baixa concentração nas amostras foliares. Uma estratégia para aumentar a eficiência da análise por PCR é primeiramente aumentar a concentração do DNA viral utilizando o kit de amplificação de círculo rolante (*Rolant*

Circle Amplification – RCA) (TempliPhi Kit – GE) e, posteriormente, o produto ser utilizado na PCR. Atualmente, o kit de RCA é muito dispendioso, justificando-se o seu uso em casos especiais, como na seleção de matrizes livres de vírus.

Para amplificação do DNA utilizando o TempliPhi Kit (GE), adicione em um microtubo de 5 µl de *Sample Buffer* e 2 µl do ácido nucleico extraído, e incube-o por 3 minutos a 94 °C e no gelo por 5 minutos. Em seguida, adicione 5 µl de *Reaction Buffer* e 0,2 µl de *Enzime Mix*. Incube por 18 horas a 28 °C e, em seguida, por 65 °C por 10 minutos para inativação enzimática.

O produto do RCA deve ser diluído em um microtubo na proporção 1:10 (1 µl de DNA proveniente do RCA para 9 µl de água ultrapura). Dessa diluição, 1 µl é utilizado na reação de PCR já descrita.

Referências

ALBUQUERQUE, F. C.; TRINDADE, D. R.; POLTRONIERI, L. S.; DUARTE, M. L. R.; BRIOSO, P. S. T.; REZENDE, J. A. M.; KITAJIMA, E. W. Evidências preliminares da ocorrência do vírus do mosqueado da pimenteira-do-reino (*Piper yellow mottle virus* – PYMoV) no Brasil. **Summa Phytopathologica**, v. 25, n. 1, p. 36, jan./mar. 1999.

BHAT, A. I.; DEVASAHAYAM, S.; SARMA, Y. R.; PANT, R. P. Association of a Badnavirus in black pepper (*Piper nigrum* L.) transmitted by mealbug. **Current Science**, v. 84, n. 12, p. 1547-1550, 2003.

BHAT, A. I.; SHINA, S.; REVATHY, K. A.; DEESHMA, K. P.; SAJI, K. V. Sequence diversity among badnavirus isolates infecting black pepper and related species in India. **Virus Disease**, v. 25, n. 3, p. 402-407, 2014.

BHAT, A. I.; SILJO, A.; DEVASAHAYAM, S. Occurrence of symptomless source of *Piper yellow mottle virus* in black pepper (*Piper nigrum* L.) varieties and a wild *Piper* species. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 45, n. 9, p. 1000-1009, 2012.

BOARI, A. de J. **Avaliação do banco ativo de germoplasma de pimenteira-do-reino quanto a virose e elaboração de estratégia de controle**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2008. 22 p. il. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 343).

BOARI, A. de J.; OLIVEIRA, A. C. S. de ; PRADO, E.; PANTOJA, K. de F. C.; SOUSA, C. M. de. *Ferrisia virgata* (Cockerell): vetora do *Piper yellow mottle virus* da pimenteira do reino. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 50., 2010, Guarapari. **Cinquenta anos contribuindo para a saúde da população brasileira**: anais. Botucatu: ABH, 2010. 1 CD-ROM.



BOARI, A. J.; QUADROS, A. F. F.; BATISTA, I. C. A.; CARVALHO, T. P. Diversidade de Cucumber mosaic virus em hortaliças no estado do Pará. **Summa Phytopathologica**, v. 43, p. 125, 2017. Supplement. Resumos do Congresso Paulista de Fitopatologia, 40., 2017, Campinas.

BOARI, A. J.; MACIEL-ZAMBOLIM, E.; CARVALHO, M. G.; ZERBINI, F. M. Caracterização biológica e molecular de isolados do *Cucumber mosaic virus* (CMV) provenientes de oito espécies vegetais. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25, n. 1, p. 49-58, 2000.

BRIOSO, P. S. T.; POZZER, L.; SILVA, S.; KITAJIMA, E. W.; POLTRONIERI, L. S.; DUARTE, M. L. R. Amplificação de fragmento específico do PYMoV a partir de pimenta do reino. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25, p. 438, ago. 2000. Suplemento. Edição do Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 33., 2001, Belém. Palestras e resumos.

DEESHMA, K. P.; BHAT, A. I. Further evidence of true seed transmission of *Piper yellow mottle virus* in black pepper (*Piper nigrum* L.). **Journal of Plantation Crops**, v. 42, n. 3, p. 289-293, 2014.

DUARTE, M. de L. R.; ALBUQUERQUE, F. C. de; POLTRONIERI, L. S.; TRINDADE, D. R.; KITAJIMA, E. W.; BRIOSO, P. S. T. **Mosqueado amarelo da pimenta-do-reino**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2000. 20 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 62).

DUARTE, M. de L. R.; BOARI, A. J.; BENCHIMOL, R. L. Doenças da pimenta-do-reino. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016. v. 2, p. 583-593.

EIRAS, M.; BOARI, A. J.; COLLARICCIO, A. L. R.; CHAVES, R.; BRIONES, M. R. S.; FIGUEIRA, A. R.; HAKAKAVA, R. Characterization of isolates of the *Cucumovirus Cucumber mosaic Cucumovirus* present in Brazil. **Journal Plant Pathology**, v. 86, n. 1, p. 61-69, 2004.

GIBBS, A.; MACKENZIE, A. A primer pair for amplifying part of the genome of all potyvirids by RT-PCR. **Journal of Virology Methods**, v. 63, n. 1-2, p. 9-16, 1997.

HANY, U.; ADAMS, I. P.; GLOVER, R.; BHAT, A. I.; BOONHAM, N. The complete sequence genome of *Piper yellow mottle virus* (PYMoV). **Archives of Virology**, v. 159, n. 2, p. 385-388, 2014.

HAREESH, P. S.; BHAT, A. I. Seed transmission of *Piper yellow mottle virus* in black pepper (*Piper nigrum* L.). **Journal of Plantation Crops**, v. 38, n. 1, p. 62-65, 2010.

KAUFFMANN, C. M.; BOARI, A. J.; KITAJIMA, E. W.; BLAWID, R.; NAGATA, T. Detecção de uma nova espécie de Fabavirus em pimenteira-do-reino por sequenciamento de alto desempenho. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 51., 2019, Recife. **Anais [...]**. Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2019. p. 814.

KAUFFMANN, C. M.; BOARI, A. de J.; SILVA, J. M. F.; BLAWID, R.; KITAJIMA, E. W.; NAGATA, T. Detection, characterization, and occurrence of black pepper virus F in black pepper plants in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 48, n. 3, p. 347-351, 2023. Doi: <https://doi.org/10.1007/s40858-023-00569-6>

LOCKHART, B. E. L.; KIRATIYA-ANGUL, K.; JONES, P.; ENG, L.; SILVA, P. D.; OLSZEWSKI, N. E.; LOCKHART, N.; DEEMA, N.; SANGALANG, J. Identification of *Piper yellow mottle virus*, a mealybug-transmitted badnavirus infecting *Piper* spp. in Southeast Asia. **European Journal of Plant Pathology**, v. 103, n. 4, p. 303-311, 1997.

OLIVEIRA, A. C. S.; BOARI, A. de J.; SOUSA, C. M. de; PANTOJA, K. de F. C.; SOUZA, C. do A. Detecção de *Piper yellow mottle virus* da pimenteira do reino nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo e Amazonas. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 2, p. S952-S956, jul. 2010. Suplemento. Edição dos anais do 50º Congresso Brasileiro de Olericultura, 2010, Guarapari.

PALUKAITIS, P.; ROOSSINCK, M. J.; DIETZGEN, R. G.; FRANCKI, R. I. B. *Cucumber mosaic virus*. **Advances in Virus Research**, v. 41, p. 281-348, 1992.

PANTOJA, K. de F. da C.; BOARI, A. de J.; OLIVEIRA, A. C. S. de; SOUSA, C. M. de; SOUZA, C. A. Levantamento de viroses em pimenteira-do-reino no estado do Pará. In: SEMINÁRIO CIENTÍFICO DA UFRA, 7.; SEMINÁRIO [DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA] DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 13.; SEMINÁRIO DE PESQUISA DA UFRA, 1., 2009, Belém, PA. **Pesquisa e desenvolvimento tecnológico na formação do jovem cientista: anais**. Belém, PA: UFRA: Embrapa Amazônia Oriental, 2009. 1 CD-ROM.

QUADROS, A. F. F.; KAUFFMANN, C. M.; BOARI, A. de J.; BLAWID, R.; NAGATA, T. Genoma completo do *Piper yellow mottle virus* da pimenta-do-reino no Pará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 51., 2019, Recife. **Anais [...]**. Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2019.

ROOSSINCK, M. J.; ZHANJ, L.; HELLWALD, K.-H. Rearrangements in the 5' non-translated region and phylogenetic analyses of *Cucumber mosaic virus* RNA 3 indicate radial evolution of three subgroups. **Journal of Virology**, v. 73, n. 8, p. 6752-6758, 1999. Doi: <https://doi.org/10.1128/jvi.73.8.6752-6758.1999>



Acesse

SILVA, D. P. P. de; JONES, P.; SHAW, M. W. Identification and transmission of *Piper yellow mottle virus* and *Cucumber mosaic virus* infecting black pepper (*Piper nigrum*) in Sri Lanka. **Plant Pathology**, v. 51, n. 5, p. 537-545, 2002.

SOUSA, C. M.; BOARI, A. de J.; PRADO, E.; PANTOJA, K. F. C.; SOUSA, A. S. *Planococcus minor* Maskell: virus-vector to *Piper yellow mottle virus* on black pepper. **Virus Reviews and Research**, v. 15, supl. 1, p. 306, Oct. 2010.

Embrapa Amazônia Oriental

Tv. Dr. Enéas Pinheiro, s/n
66095-903 Belém, PA
Fone: (91) 3204-1000
www.embrapa.br/amazonia-oriental
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Bruno Giovany de Maria*

Secretário-executivo: *Narjara de Fátima Galiza da Silva Pastana*

Membros: *Adelina do Socorro Serrão Belém, Alessandra Keiko Nakasone, Andrea Liliane Pereira da Silva, Anna Christina Monteiro Roffé Borges, Clívia Danúbia Pinho da Costa Castro, Delman de Almeida Gonçalves, Jamil Chaar El Husny, Marivaldo Rodrigues Figueiró e Vitor Trindade Lôbo*

Circular Técnica 54

ISSN 1517-2244 / e-ISSN 1983-0505
Novembro, 2024

Edição executiva e revisão de texto: *Narjara de Fátima Galiza da Silva Pastana*

Normalização bibliográfica: *Andréa Liliane Pereira da Silva* (CRB-2/1166)

Projeto gráfico: *Leandro Sousa Fazio*

Diagramação: *Vitor Trindade Lôbo*

Publicação digital: PDF



Ministério da
Agricultura e Pecuária

Todos os direitos reservados à Embrapa.