

Cassava brown streak virus e Ugandan cassava brown streak virus, agentes causais da Doença das Estrias Marrons da Mandioca ("Cassava brown streak disease", CBSD)



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Mandioca e Fruticultura
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 221

Cassava brown streak virus e Ugandan cassava brown streak virus, agentes causais da Doença das Estrias Marrons da Mandioca ("Cassava brown streak disease", CBSD)

*Paulo Ernesto Meissner Filho
Eduardo Chumbinho de Andrade
Francisco Ferraz Laranjeira*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Mandioca e Fruticultura

Rua Embrapa - s/n, Caixa Postal 007
44380-000, Cruz das Almas, BA
Fone: (75) 3312-8048
Fax: (75) 3312-8097
www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura

Unidade responsável pelo conteúdo e edição:

Embrapa Mandioca e Fruticultura

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Francisco Ferraz Laranjeira Barbosa*
Secretária-executiva: *Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro*
Membro: *Áurea Fabiana Apolinário Albuquerque Gerum*
Cícero Cartaxo de Lucena
Clóvis Oliveira de Almeida
Eliseth de Souza Viana
Fabiana Fumi Cerqueira Sasaki
Leandro de Souza Rocha
Marcela da Silva Nascimento
Tullio Raphael Pereira de Pádua

Revisão gramatical: *Adriana Villar Tullio Marinho*

Normalização bibliográfica: *Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro*

Editoração eletrônica: *Anapaula Rosário Lopes e Lindauline Moreno*

Foto da capa: *James Peter Legg*

1ª edição

Versão online (2017).

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Mandioca e Fruticultura

Meissner Filho, Paulo Ernesto

Cassava brown streak virus e Ugandan cassava brown streak virus, agentes causais da Doença das Estrias Marrons da Mandioca ("Cassava brown streak disease", CBSD) / Paulo Ernesto Meissner Filho, Eduardo Chumbinho de Andrade, Francisco Ferraz Laranjeira. –Cruz das Almas, BA : Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2017.

23 p. il. ; 21 cm. - (Documentos/ Embrapa Mandioca e Fruticultura,2017).

ISSN 1809-4996, 221.

1. Mandioca. 2. Doença de planta. 3. Virus. I. Meissner Filho, Paulo Ernesto. II. Oliveira, Andrade, Eduardo Chumbinho de. III. Laranjeira, Francisco Ferraz. IV. Título. V. Série.

Autores

Paulo Ernesto Meissner Filho

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia,
pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura,
Cruz das Almas, BA, Brasil.

Eduardo Chumbinho de Andrade

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia,
pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura,
Cruz das Almas, BA, Brasil.

Francisco Ferraz Laranjeira

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia,
pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura,
Cruz das Almas, BA, Brasil.

Apresentação

O Brasil é o quarto produtor mundial de mandioca. No país, a espécie é cultivada principalmente por agricultores familiares. Sua alta capacidade de produção de energia, 250 mil cal/ha/dia, bem superior às geradas pelo arroz e pelo trigo, a transforma na base da alimentação de milhares de pessoas, especialmente das mais carentes. Estima-se que essa atividade gera aproximadamente um milhão de empregos diretos e um valor da produção de mais de 10 bilhões de reais no país. Destaca-se também pela capacidade de produzir em diferentes ambientes, em solos pobres, com pouca disponibilidade de água e ainda permite ser armazenada no solo. O Brasil é considerado o principal centro de diversidade da cultura. A imensa variabilidade genética existente reflete-se em uma multiplicidade de aplicações, algumas com grande potencial econômico. Os diferentes tipos de amidos existentes na espécie, por exemplo, permitem seu uso em diversos setores da indústria, como a de papel e celulose, cosméticos e farmacêutica, e principalmente a alimentícia. Todas essas qualidades, associadas ao amplo acesso à diversidade genética da cultura pela Embrapa e outras instituições públicas, tornam a mandioca de grande importância estratégica para o Brasil.

A doença das Estrias Marrons da Mandioca (CBSD sigla em inglês) está presente em alguns países africanos sendo considerada um dos maiores desafios para a segurança alimentar no mundo. A Embrapa,

de maneira preventiva, vem envidando esforços para desenvolver tecnologias que permitam mitigar os efeitos dessa enfermidade caso ela passe a ocorrer no Brasil. Porém, antes disso, são estratégicos os esforços de evitar a entrada dessa doença no país. Para isso é fundamental conhecer bem os aspectos como o agente causador, hospedeiros, sintomas da doença, distribuição geográfica e impacto dos vírus causadores da CBSD, vias de introdução e disseminação dos vírus, manejo de risco e medidas de prevenção, além de protocolos de identificação dos agentes causadores.

É sobre esse tema de grande importância estratégica para a mandiocultura brasileira que trata essa publicação.

Dr. Alberto Duarte Vilarinhos
Chefe Geral
Embrapa Mandioca e Fruticultura

Sumário

Introdução.....	9
Capítulo I – Doença das estrias marrons da mandioca (“Cassava brown streak disease”, CBSD).....	10
Dados sobre os vírus causadores da “Cassava brown streak disease” (CBSD)	10
Capítulo II – Protocolo para a diagnose dos vírus causadores da Doença das estrias marrons da mandioca por RT-PCR.....	16
RT-PCR para a detecção do CBSV e do UCBSV.....	17
Referências	20

Cassava brown streak virus e Ugandan cassava brown streak virus, **agentes causais da Doença das Estrias Marrons da Mandioca (“Cassava brown streak disease”, CBSD)**

Paulo Ernesto Meissner Filho

Eduardo Chumbinho de Andrade

Francisco Ferraz Laranjeira

Introdução

O cultivo da mandioca tem importância destacada na agricultura brasileira. O Brasil produziu 23 milhões de toneladas de mandioca em 2015, numa área de 1,5 milhões de hectares, distribuídos em todos os Estados brasileiros (IBGE, 2015). Todas as microrregiões do país produzem e fornecem a mandioca e seus derivados (farinha e fécula) para os mercados locais. Isso confere não apenas um caráter econômico regional a essa cultura, mas também de grande importância em termos de segurança alimentar, pois, para muitas famílias, é a principal fonte de renda e de carboidratos (SOUZA et al., 2006).

A Doença das Estrias Marrons da Mandioca (“Cassava brown streak disease,” CBSD) foi descrita pela primeira vez na Tanzânia em 1935, permanecendo endêmica na região litorânea do leste da África (Tanzânia, Moçambique e Quênia) (LEGG; HILLOCKS, 2003). Entretanto, a partir de 2004, observou-se uma rápida disseminação da CBSD para Malawi, Uganda, Burundi, Ruanda e a República Democrática do Congo, sendo reportada também em Angola, Sudão do Sul, Zâmbia e na Ilha Mayotte (ABARSHI et al., 2012; ALICAI et al., 2007; KAWEEESI et al., 2014; LEGG; HILLOCKS, 2003; PATIL et al., 2015; ROUX-CUVELIER et al., 2014).

Duas espécies de vírus são responsáveis pela CBSD: o *Cassava brown streak virus* (CBSV), presente nos países do leste africano, e o *Ugandan cassava brown streak virus* (UCBSV) (MONGER et al., 2001; MBANZIBWA et al., 2011).

No cenário atual, a CBSD é considerada um dos maiores desafios para segurança alimentar no mundo e um dos maiores problemas da cultura da mandioca (LEGG et al., 2014; KAWEEESI et al., 2014, PATIL et al., 2015). Mais detalhes sobre os danos causados por essa virose e sua distribuição serão abordados no item desse documento que trata sobre a sua distribuição geográfica e seu impacto da CBSD.

Esse documento visa fornecer subsídios para a adoção de medidas de vigilância fitossanitária e a realização de campanhas de prevenção e conscientização sobre essa praga. O documento é dividido em dois capítulos. O Capítulo I contém informações relevantes sobre essa praga, enquanto o Capítulo II descreve alguns procedimentos que podem ser utilizados para o seu diagnóstico.

Capítulo I – Doença das Estrias Marrons da Mandioca (“Cassava brown streak disease”, CBSD)

Dados sobre os vírus causadores da “Cassava brown streak disease” (CBSD)

Identidade das pragas

Nome: *Cassava brown streak virus* (CBSV) e *Ugandan cassava brown streak virus* (UCBSV)

Posição taxonômica:

- Vírus de RNA fita simples sentido positivo (+ ssRNA)
- Ordem: não atribuída

- Família: *Potyviridae*
- Gênero: *Ipomovirus*

Diversidade genética dos vírus causadores da CBSD

Os agentes causais da CBSD, o *Cassava brown streak virus* (CBSV) e o *Ugandan cassava brown streak virus* (UCBSV), pertencem à família *Potyviridae* e ao gênero *Ipomovirus* (KING et al., 2012).

O sequenciamento completo dos genomas de isolados do CBSV e do UCBSV mostrou que eles possuem o mesmo número de regiões codificadoras de proteínas (genes), e elas estão posicionadas de maneira idêntica no genoma. A identidade da sequência de nucleotídeos entre o genoma dos isolados do CBSV e do UCBSV é de 71%, enquanto que a identidade da sequência de aminoácidos de sua poliproteína é de 74% (Monger et al., 2010). Pelos critérios atuais estabelecidos pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV) para a demarcação de espécies de vírus na família *Potyviridae*, são consideradas espécies distintas, vírus cuja identidade da sequência de nucleotídeos seja inferior a 76%, para os quais a identidade de aminoácidos da sua poliproteína seja inferior a 80%, que sua poliproteína possua diferentes pontos de clivagem, que ocorram diferenças no círculo de hospedeiros ou nos hospedeiros principais do vírus, que apresente diferenças na morfologia das inclusões produzidas e nas suas propriedades antigênicas (KING et al., 2012). Dessa forma, os valores de identidade nas sequências de nucleotídeos e aminoácidos observados entre os isolados de CBSV e UCBSV estudados foram suficientes para caracterizá-los como espécies distintas.

Hospedeiros dos vírus causadores da CBSD

A CBSD infecta em condições naturais a mandioca cultivada e a *Manihot glaziovii*. Em condições experimentais, usando a inoculação mecânica, o vírus foi transmitido para *Nicotiana benthamiana* e outras espécies das famílias *Solanaceae*, *Euphorbiaceae* e *Amaranthaceae* (PATIL et al., 2015).

Sintomas da CBSD

A severidade da CBSD varia bastante com a cultivar avaliada e com o ambiente no qual seu hospedeiro é cultivado. Algumas cultivares apresentam sintomas fortes nos brotos e nas raízes, enquanto em outras os sintomas fortes estão presentes apenas nas folhas, mas outras variações na sintomatologia apresentada têm ocorrido. Quando os sintomas visuais aparecem apenas no final do ciclo, torna-se difícil identificar a ocorrência da doença. Em algumas cultivares, as plantas infectadas não manifestam sintomas, a infecção fica latente. O CBSV e o UCBSV foram encontrados ao mesmo tempo em plantas com CBSD (KAWEEESI et al., 2014).

A CBSD provoca manchas cloróticas nas folhas entre as nervuras (Figuras 1), estrias marrons nas hastes e constrições nas raízes (Figura 2), sendo que infecções severas levam à necrose das hastes, ocorrendo morte descendente dos brotos. Nas raízes causa necrose corticosa amarelada e amarronzada (Figura 3) (MARUTHI et al., 2005). Os sintomas da CBSD são mais fortes em condições de temperaturas mais baixas (RWE GASIRA, 2009).



Foto: James Peter Legg

Figura 1. Sintomas foliares da CBSD em mandioca

Foto: James Peter Legg



Figura 2. Sintoma de estrias marrons nas hastes da mandioca causada pela CBSD

Foto: James Peter Legg



Figura 3. Sintomas da podridão da CBSD nas raízes da mandioca



Distribuição geográfica e impacto dos vírus causadores da CBSD

A CBSD, até o momento, está restrita à África. Na figura 4, é mostrada a sua distribuição atual (CALVERT et al., 2012; HOWELER, 2012; KITAJIMA, 2015; SBV, 2011).



Fonte: MISOSOAFRICAPT, 2012.

Figura 4. Distribuição da Doença das estrias marrons da mandioca ("Cassava brown streak disease", CBSD) na África (●)

As perdas causadas pela CBSD resultam tanto da redução da produção das plantas infectadas quanto na queda da qualidade das raízes produzidas. Estudos demonstraram que a infecção pela CBSD pode acarretar perdas na produção superiores a 80% (CAMPO et al., 2011). Além dos danos diretos, a CBSD induz o surgimento de áreas necróticas nas raízes que, quando maduras, podem tornar-se impróprias para o consumo. Essa situação obriga o produtor a antecipar a colheita para evitar a deterioração das raízes, reduzindo ainda mais a produção (GONDWE et al., 2002). Estimativas do dano econômico nos países afetados pela CBSD atingem pelo menos US\$ 75 milhões (MANYONG et al., 2012).

Vias de introdução e disseminação dos vírus causadores da CBSD

Na natureza, as moscas-brancas *Bemisia tabaci* e *Aleurodicus dispersus* transmitem os dois vírus causadores da CBSD de forma semi-persistente, após acesso de aquisição e de inoculação de cerca de 48 horas. Esses vírus não persistem no inseto por mais de 24 horas. A disseminação desses vírus pelo inseto não é muito eficiente, sendo ele responsável pela sua dispersão a pequenas distâncias. As manivas infectadas também transmitem a CBSD no campo e é a forma pela qual ela é disseminada a longas distâncias (KAWEESI et al., 2014; PATIL et al., 2015; RAJABU, 2013). O trânsito de manivas permite a disseminação da praga a longas distâncias, sendo assim, cuidado especial deve ser adotado para evitar sua introdução em regiões nas quais ela não ocorre. As ferramentas de corte utilizadas em plantas infectadas podem transmitir o vírus para outras plantas localmente. Os vírus causadores da CBSD aparentemente não são transmitidos pela semente botânica da mandioca, assim como também não ocorre sua transmissão pelos restos culturais de plantas infectadas (RAJABU, 2013; REWEGASIRA, 2009).

Manejo de riscos e medidas de prevenção

Apesar dessa virose não estar presente no Brasil e de causar prejuízos econômicos nos países onde ela ocorre, ela não consta da lista brasileira de Pragas Quarentenárias Ausentes (PQA). Em função disso, a Embrapa Mandioca e Fruticultura enviou ao Ministério da Agricultura,

Pecuária e Abastecimento (MAPA) um parecer técnico pedindo sua inclusão na lista brasileira de PQA para que sejam adotadas medidas quarentenárias visando evitar a introdução do vírus no país.

Por outro lado, qualquer espécie vegetal, para ser importada pelo Brasil, deve estar na lista de produtos vegetais de importação autorizada ou então passar por uma Análise de Risco e Pragas (ARP).

Caso sejam detectadas plantas com sintomas semelhantes ao CBSD no Brasil, o Departamento de Sanidade Vegetal (DSV) do MAPA deve ser acionado e adotará as medidas cabíveis para contenção de sua disseminação. Cabe lembrar que esse vírus é disseminado pela mosca-branca, pelas manivas-semente e por ferramentas de corte usadas no cultivo. Além dos cuidados com a introdução de mudas de mandioca de outros países, no caso da presença da CBSD na região, é importante a desinfestação de ferramentas de corte (LEGG; HILLOCKS, 2003; LEGG et al., 2011; PATIL et al., 2015; RWEGASIRA, 2009).

Em estudos epidemiológicos com simulações realizados, Campo et al. (2011) consideraram que o sul e a região central do Brasil possuem condições ambientais muito favoráveis para o desenvolvimento e dispersão da CBSD, caso ela seja introduzida.

Capítulo 2 – Protocolo para o diagnóstico dos vírus causadores da Doença das Estrias Marrons da Mandioca (“Cassava brown streak disease”, CBSD) por RT-PCR

A CBSD, causada pelo vírus das estrias marrons da mandioca (*Cassava brown streak virus*, CBSV) e pelo Uganda vírus das estrias marrons da mandioca (*Ugandan cassava brown streak virus*, UCBSB) pode ser detectada pelos sintomas produzidos em mandioca, pelos sintomas produzidos em plantas indicadoras inoculadas mecanicamente com

as amostras em análise, por testes sorológicos como o ELISA ou por métodos moleculares como RT-PCR e RT-PCR em tempo real (KAWEESI et al., 2014, MBEWE et al., 2015, MONGER et al, 2001, PATIL et al, 2015). Os dois vírus podem ser detectados em todos os tecidos da planta de mandioca, exceto nas partes necrosadas, sendo mais facilmente detectados nas raízes e em tecidos com sintomas mais fortes (MUSA, 2012). Nesse documento será detalhada a detecção do CBSD por Transcrição reversa – reação em cadeia da polimerase (RT-PCR). Dentre os métodos existentes, é o mais adequado para os propósitos de vigilância fitossanitária.

Amostras suspeitas de conterem o CBSD devem ser enviadas para Laboratórios de Diagnóstico Fitossanitário (LDF). Na página de internet do MAPA, há uma listagem dos LDF com seus endereços, telefones e *e-mails* para contato e as análises que realizam.

A RT-PCR permitiu a detecção dos vírus causadores da CBSD em 90% das amostras que apresentavam sintomas, indicando que a sintomatologia é uma boa ferramenta para a identificação de plantas com suspeitas de infecção (MBEWE et al., 2015).

O ELISA também tem sido usado na detecção do CBSV, mas não permite a distinção entre o CBSV e o UCBSV (PATIL et al., 2015).

RT-PCR para a detecção do CBSV e do UCBSV

Extração do RNA

Na literatura, já foram testados diferentes procedimentos para a extração de RNA de amostras suspeitas de conterem CBSD, utilizando dodecil sulfato de sódio (SDS)/fenol, CTAB e isotiocianato de guanidina (MONGER et al., 2001). Nesse documento, será descrito um procedimento no qual o RNA é extraído de folhas de mandioca utilizando Brometo de Cetrimônio (CTAB) com algumas modificações, o que apresentou melhores resultados, segundo os autores consultados.

Extração do RNA, conforme Monger et al. (2001) e Legg et al. (2003):

- 1) Macerar 0,1 a 0,3 g de folhas de mandioca em nitrogênio líquido, em um almofariz com pistilo, até a obtenção de um pó;
- 2) Antes que ele descongele, adicionar 1 a 3 mL de tampão de extração CTAB (p/v);

O tampão de extração CTAB é preparado pela mistura de 2% de CTAB, 2% de polivinilpirrolidona 40 (PVP 40), 100 mM de Tris-HCl pH 8,0, 20 mM de etilenodiaminatetraacetato (EDTA), 1,4 M de NaCl, sendo autoclavado antes do seu uso;

- 3) Agitar no vortex;
- 4) Transferir 800 μL da suspensão formada para um microtubo plástico de 1,5 mL e incubar a 65°C por 15 minutos;
- 5) Após a incubação, adicionar 600 μL de clorofórmio/álcool isoamílico (24:1) aos tubos contendo a suspensão (macerado + tampão CTAB) e misturar invertendo os tubos;
- 6) Centrifugar a 18.516 xg por 10 min, à temperatura ambiente;
- 7) Remover a fase aquosa da parte superior do tubo (sobrenadante) e repetir a adição de clorofórmio/álcool isoamílico (24:1);
- 8) Transferir 300 μL da fase aquosa (sobrenadante) para um novo microtubo de 1,5 mL e adicionar 0,5 volume de NaCl a 5 M e dois volumes de etanol gelado;
- 9) Misturar bem e incubar por 30 min a -20°C;
- 10) Centrifugar a 4.629 xg por 10 min para sedimentar o RNA;
- 11) Remover o etanol e ressuspender o pelete em 0,5 a 1,0 mL de LiCl a 2 M. Incubar a 4°C por uma noite;
- 12) Centrifugar a 18.516 xg por 30 min a 4°C;
- 13) Descartar o LiCl e lavar o pelete com 500 μL de etanol 70%;
- 14) Descartar o etanol e deixar o pelete secar e
- 15) Ressuspender o pelete em 50 a 100 μL de água Ultrapura tratada com Dietilpirocarbonato (DEPC).

Transcrição reversa – reação em cadeia da polimerase (RT-PCR)

A transcrição reversa (RT) consiste de duas etapas consecutivas, que são realizadas conforme foi descrito por Mbanzibwa et al. (2011).

= > *Primeira etapa – síntese do cDNA*

- 1) Adicionar em um microtubo: 5 μg de RNA total, 2 pmol de oligo(dT)₂₅ e água livre de nucleases completando o volume para 12 μL ;
- 2) Incubar a amostra por 3 min a 95 °C e depois colocar o tubo imediatamente no gelo;
- 3) Adicionar ao microtubo: 4 μL do tampão 5x da reação, 2 μL de ditionitrotol (DTT) 0,1 M, 1 μL da mistura de dNTPs a 10 mM, 1 μL (200 U) da enzima transcriptase reversa (M-MLV);
- 4) A reação final é incubada a 37 °C por 1 h e, em seguida, a 70 °C por 15 min.

= > *Segunda etapa – PCR*

- 1) Adicionar sequencialmente, em um microtubo: 2,5 μL do cDNA, 5 μL do tampão 10x da PCR (200 mM Tris-HCl, pH 8.4, 500 mM KCl), 3 μL de MgCl₂ 25 mM, 1 μL de dNTPs (2,5 mM cada), 0,5 μL (1 U) da Taq Platinum DNA polimerase (Invitrogen), 0,5 μM de cada um dos oligonucleotídeos: CBSDDR (5'-GGA TAT GGA GAA AGR KCT CC-3') e CBSDDF2 (5'-GCT MGA AAT GCY GGR TAY ACA A-3'), o volume da reação é completado para 50 μL adicionando-se água livre de nuclease.
- 2) Para a amplificação é utilizada uma desnaturação inicial a 94 °C por 3 minutos, seguida de 35 ciclos que envolvem as etapas sequenciais de desnaturação a 94 °C por 30 segundos, anelamento do oligonucleotídeo a 51 °C por 30 segundos, e extensão a 72 °C por 30 segundos. Finalmente, a amostra é incubada a 72 °C por 10 minutos.
- 3) Os amplicons produzidos são analisados por eletroforese em gel de agarose a 2 %. Utilizando os primers CBSDDR e o CBSDDF2, são produzidos amplicons de 438-440 nucleotídeos para o UCBSV e de 344 nucleotídeos para o CBSV.

Referências

ABARSHI, M. M.; MOHAMMED, L. U.; JEREMIAH, S. C.; LEGG, J. P. L.; LAVA KUMA, P.; HILLOCKS, R. J.; MARUTHI, M. N. Multiplex RT-PCR assays for the simultaneous detection of both RNA and DNA viruses infecting cassava and the common occurrence of mixed infections by two cassava brown streak viruses in East Africa. **Journal of Virological Methods**, v. 179, p.176-184, 2012.

ALICAI, T.; OMONGO, C. A.; MARUTHI, M. N.; HILLOCKS, R. J.; BAGUMA, Y.; KAWUKI, R.; BUA, A.; OTIM-NAPE; G. W.; COLVIN, J. Re-emergence of cassava brown streak disease in Uganda. **Plant Disease**, v. 91, p. 24–29, 2007.

CAMPO, B. V. H.; HYAMAN, G.; BELLOTI, A. Threats to cassava production: known and potential geographic distribution of four key biotic constraints. **Food Sec.** v. 3, p. 329-345, 2011.

CALVERT, L.; CUERVO, M.; LOZANO, I. Cassava viral diseases of South America. p. 303-312. In: OSPINA, B.; CEBALLOS, H. **Cassava in the third millennium: modern production, processing, use and marketed system**. Cali, Colômbia: CIAT, 2012. p.309-318.

GONDWE, F. M. T.; MAHUNGU, N. M.; HILLOCKS, R. J.; RAYA, M. D.; MOYO, C. C.; SOKO, M. M.; CHIPUNGU, E. P.; BENESI, I. R. M. Economic losses experienced by small-scale farmers in Malawi due to cassava brown streak virus disease. In: LEGG, J. P.; HILLOCKS, R. J. (ed.). **Cassava Brown Streak Virus Disease: past, present, and future**. Proceedings of an International Workshop, Mombasa, Kenya, 27–30 October, pp. 28–36., Aylesford UK: Natural Resources International Limited. 2002.

HILLOCKS, R. J.; RAYA, M. D.; MTUNDA, K.; KIOZIA, H. Effects of brown streak virus disease on yield and quality of cassava in Tanzania. **Journal of Phytopathology**, v. 149, p. 389-394, 2001.

HOWELER, R. H. (ed.). **The cassava handbook: A reference manual based on the Asian regional cassava training course held in Thailand.** Cali, Colômbia: CIAT 2012. 810p.

IBGE. **Produção Agrícola Municipal**, 2015. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_pdf/dados/brasil/mandioca/b1_mandioca.pdf>. Acesso em: 23 mar. 2017.

KAWEESI, T.; KAWUKI, R.; KYALIGONZA, V.; BAGUMA, Y.; TUSLIME, G.; FERGUSON, M. E. Field evaluation of selected cassava genotypes for cassava brown streak disease based on symptom expression and virus load. **Virology Journal**, v. 11, n. 216, p. 1-14, 2014.

KING, A. M. Q.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B.; LEFKOWITZ, E. J. **Virus Taxonomy. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Virus.** London: Academic Press, 2012. 1327p.

KITAJIMA, E. W. **Lista de vírus de planta presentes no Brasil.** Disponível em: <http://www.sbv.org.br/site/destaques_det.php?id=59>. Acesso em: 17 abr. 2017.

LEGG, J. P.; HILLOCKS, R. J. (Ed.). **Cassava brown streak virus disease: past, present and future.** Proceedings of an International Workshop, Mombasa. Kenya, 27-30, 2002. Aylesford, UK: Natural Resources International Limited, 2003. 100p. il.

LEGG, J. P.; JERMAH, S. C.; OBIERO, H. M.; MARUTHI, M. N.; NDYETABULA, I.; OKAO-OKUJA, G.; BOUWMEESTER, H.; BIGIRIMANA, S.; TATA-HANGY, W.; GASHAKA, G.; MKAMILO, G.; ALICAI, T.; LAVA KUMAR, P. Comparing the regional epidemiology of the cassava mosaic and cassava brown streak virus pandemics in Africa. **Virus research**, v. 159, p. 161-170, 2011.

LEGG, J. P.; KUMAR, P. L.; MAKESHKUMAR, T.; TRIPATHI, L.; FERGUSON, M.; KANJU, E.; NTAWURUHUNGA, P.; CUELLAR, W.

Cassava virus diseases: biology, epidemiology, and management. **Advances in Virus Research**, v. 91, n. 1, p. 86-131, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.aivir.2014.10.001>.

MANYONG, V. M.; MAEDA, C.; KANJU, E.; LEGG, J. P.; Economic damage of cassava brown streak disease in sub-Saharan Africa. In TROPICAL ROOT AND TUBER CROPS AND THE CHALLENGES OF GLOBALIZATION AND CLIMATE CHANGE, 11th., 2010.[Proceedings] ISTRC-AB Symposium, 4–8 October 2010, pp. 61–68. Edited by R. U. Okechukwu & P. Ntawuruhunga. Kinshasa, Democratic Republic of Congo. 2012.

MARUTHI, M. N.; HILLOCKS, R. J.; MTUNDA, K.; RAYA, M. D.; MUHANNA, M.; KIOZIA, H.; REKHA, A. R.; COLVIN, J.; THRESH, J. M. Transmission of *Cassava brown streak virus* by *Bemisia tabaci* (Gennadius). **Journal of Phytopathology**, v. 153, p. 307-312, 2005.

MBANZIBWA, D. R.; TIAN, Y. P.; TUGUME, A. K.; MUKASA, S. B.; TAIRO, F.; KYAMANYWA, S.; KULLAYA, A.; VALKONEN, J. P. T. Simultaneous virus-specific detection of the two cassava brown streak-associated viruses by RT-PCR reveals wide distribution in East Africa, mixed infections, and infections in *Manihot glaziovii*. **Journal of Virological Methods**, v. 171, p. 394-400, 2011.

MBEWE, W.; KUMARA, P. L.; CHAGAIDEYA, W.; NTAWURUHUNGA, P.; LEGG, J. Diversity, distribution and effects on cassava cultivar of Cassava brown streak viruses in Malawi. **Journal of Phytopathology**, v. 163, p. 433-443, 2015.

MONGER, W. A.; ALICAI, T.; NDUNGURU, J.; KINYUA, Z. M.; POTTS, M.; REEDER, R. H.; MIANO, D. W.; ADAMS, I. P.; BOONHAM, N.; GLOVER, R. H.; SMITH, J. The complete genome sequence of the Tanzanian strain of *Cassava brown streak virus* and comparison with the Ugandan strain. **Archives of Virology**, v. 155, p. 429-433, 2010.

MONGER, W. A.; SEAL, S.; COTTON, S.; FOSTER, G. D. Identification

of different isolates of Cassava brown streak virus and development of a diagnostic test. **Plant Pathology**, v. 50, p. 768-775, 2001.

MUSA, M. A. **Molecular diagnostics, genetic diversity and generating infectious clones for cassava brown streak viruses**. 2012. (PhD thesis)-University of Greenwich, 2012. 230p.

PATIL, B. L.; LEGG, J. P.; KANJU, E.; FAUQUET, C. M. Cassava brown streak disease: a threat to food security in Africa. **Journal of General Virology**, v. 96, p. 956-968, 2015.

RAJABU, C. A. **Development and evaluation of efficient diagnostic tools for cassava mosaic and cassava brown streak diseases**. Dissertation Master of Science. The University of Witwatersrand, Johannesburg. 2013. 115p.

ROUX-CUVELIER, M.; TEYSSÉDRE, D.; CHESNEAU, T.; JEFFRAY, C.; MASSÉ, D.; JADE, K.; ABDOUL KARIME, A. L.; HOSTACHY, B.; REYNAUD, B.; LEGG, J. P.; LETT, J. M. First report of cassava brown streak disease and associated Ugandan cassava brown streak virus in Mayotte Island. **New Disease Reports**, v. 30, n. 28, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2014.030.028..>

RWEGASIRA, G. M. **Aspects of the epidemiology of cassava brown streak virus disease in Tanzania**. 2009. (Thesis Doctor Philosophy)-Faculty of Science of University of the Witwatersrand. Johannesburg, 2009. 221 p.

SOCIEDADE Brasileira de Virologia. **Listagem dos vírus de plantas registradas no Brasil e suas hospedeiras. Ordem, famílias e gêneros reconhecidos pelo ICTV**. Disponível em: <http://www.sbv.org.br/site/downs/virus/Listagem_Virus.pdf>. Acesso em: 19 out. 2016.

SOUZA, L. S.; FARIAS, A. R. N.; MATTOS, P. L. P.; FUKUDA, W. M. G. editores. **Aspectos socioeconômicos e agrônômicos da mandioca**. Cruz das Almas, BA : Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. 817p.



Mandioca e Fruticultura

MINISTÉRIO DA
**AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO**



CGPE 14181