

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UM POTYVÍRUS E AVALIAÇÃO DOS  
DANOS OCACIONADOS EM CUNHÃ, *Clitoria ternatea* L.

MARIA IZABEL FLORINDO

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À COORDENAÇÃO DO  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO  
EM FITOTECNIA, COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FORTALEZA - 1983

Esta Dissertação foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Agronomia, Área de Concentração em Fitotecnia, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca Central da referida Universidade.

A citação de qualquer trecho desta Dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

---

Maria Izabel Florindo

DISSERTAÇÃO APROVADA EM \_\_\_\_\_

---

José Albérico de Araújo Lima  
Orientador da Dissertação

---

João Ambrósio de Araújo Filho

---

José Ferreira Alves

---

José Júlio da Ponte Filho

Aos meus pais: *Francisco*  
*Florindo Sobrinho* e

*Maria Ribeiro - Dalva*. Aos meus  
irmãos e sobrinhos

DEDICO.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter sido o amigo fiel e verdadeiro, nas horas difíceis e por ter me concedido força e coragem para realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelos subsídios financeiros.

Ao professor JOSÉ ALBÉRSIO DE ARAÚJO LIMA, pela amizade, compreensão, dedicação e orientação.

Ao Departamento de Zootecnia, especialmente ao professor JOÃO AMBRÓSIO DE ARAÚJO FILHO e à professora ZELMA BASTOS ARAÚJO, pela ajuda no uso de equipamentos.

Aos funcionários e bolsistas do Laboratório de Virologia Vegetal, pela ajuda e incentivo.

Aos professores JOSÉ JÚLIO DA PONTE, JOSÉ FERREIRA ALVES e JOÃO AMBRÓSIO DE ARAÚJO FILHO, pelas sugestões e presença na banca examinadora.

Ao Sr. LUIS GONZAGA DE FIGUEIREDO e D. UMBELINA GUEDES DA SILVA e família, pelo apoio, ajuda e amizade.

Aos colegas e amigos, pelo incentivo.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

	Página
<u>LISTA DE TABELAS</u> .....	vii
<u>LISTA DE FIGURAS</u> .....	viii
<u>RESUMO</u> .....	ix
<u>ABSTRACT</u> .....	xi
1 - <u>INTRODUÇÃO</u> .....	1
2 - <u>REVISÃO DE LITERATURA</u> .....	3
2.1 - <u>Vírus Constatados em <i>Clitoria ternatea</i></u> .....	3
2.2 - <u>Principais Características do "Vírus do Mosaico Comum do Feijoeiro" (BCMV)</u> .....	5
3 - <u>MATERIAIS E MÉTODOS</u> .....	9
3.1 - <u>Isolamento e Obtenção da Fonte Inicial do Vírus.</u> .....	9
3.2 - <u>Estudo Sobre o Círculo de Hospedeiras</u> .....	10
3.3 - <u>Estudo Sobre a Transmissibilidade Natural do Vírus</u> .....	11
3.3.1 - <u>Transmissibilidade por pulgão</u> .....	11
3.3.2 - <u>Transmissibilidade por sementes</u> .....	12
3.3.3 - <u>Transmissibilidade através de ferramentas utilizadas no corte</u> .....	12
3.4 - <u>Citologia</u> .....	13
3.5 - <u>Sorologia</u> .....	13
3.6 - <u>Avaliação de Danos Causados pelo Vírus</u> .....	14
4 - <u>RESULTADOS</u> .....	16
4.1 - <u>Estudo Sobre o Círculo de Hospedeiras</u> .....	16
4.2 - <u>Citologia</u> .....	22
4.3 - <u>Sorologia</u> .....	22
4.4 - <u>Testes de Transmissibilidade Natural do Vírus.</u> .....	26

	Página
4.4.1 - Transmissibilidade por sementes .....	26
4.4.2 - Teste de transmissibilidade pela lâmina usada no corte .....	26
4.4.3 - Teste de transmissibilidade por pulgão .....	27
4.5 - <u>Avaliação de Danos Causados pelo Vírus em Plan-</u> <u>tas de C. ternatea</u> .....	27
5 - <u>DISCUSSÃO</u> .....	31
6 - <u>CONCLUSÕES</u> .....	38
7 - <u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u> .....	40

LISTA DE TABELAS

TABELA		Página
1	Reações de espécies vegetais mecanicamente inoculadas com o "vírus do mosaico da clitória" (VMCl) e resultados de seu <u>reisolamento</u> em cunhã .....	20
2	Médias relativas aos dados obtidos para altura, peso verde, peso feno, matéria seca e proteína da matéria seca de plantas de <i>Clitoria ternatea</i> L., infetadas pelo "vírus do mosaico da clitória" (VMCl) e de plantas sadias .....	30

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
1	Plantas de <i>Clitoria ternatea</i> apresentando sintomas de mosaico com manchas cloróticas, induzidos pelo "vírus do mosaico da clitória" (VMCl) .....	17
2	Plantas de <i>Phaseolus vulgaris</i> cv. "Rico-baio" (A) e cv. "Rico-pardo" (B) apresentando sintomas de clorose, atrofiamento, deformação foliar e necrose causados pelo VMCl e plantas sadias que serviram de testemunha .....	18
3	Células da epiderme foliar de plantas de <i>C. ternatea</i> infetadas pelo VMCl, coradas com uma combinação de calcomina laranja e luxol verde brilhante, visualizadas ao microscópio ótico .....	23
4	Teste sorológico de dupla difusão em agar, contendo 0,85% de agar noble, 1,0% de NaN <sub>3</sub> e 0,5% de dodecil sulfato de sódio (SDS) para demonstrar o relacionamento sorológico, entre o "vírus do mosaico da clitória" (VMCl) e o "vírus do mosaico comum do feijoeiro" (BCMV) .....	25
5	Vasos contendo plantas de <i>Clitoria ternatea</i> infetadas pelo VMCl (esquerda) e sadias (direita) .....	28

## RESUMO

*Clitoria ternatea*, vulgarmente conhecida por cunhã, é uma leguminosa tropical, tolerante à seca e de grande importância para a pecuária nordestina. A partir de plantas de *C. ternatea*, naturalmente infetadas nos Estados do Ceará e Rio Grande do Norte, isolou-se um vírus responsável por um tipo de mosaico com manchas cloróticas nesta leguminosa.

Estudos citológicos ao microscópio ótico revelaram a presença de inclusões citoplasmáticas típicas dos potyvírus, induzidas pelo vírus em menção, que foi denominado de vírus do mosaico da clitória (VMCl). Em testes sorológicos, o mesmo mostrou-se ligeiramente relacionado com "blackeye cowpea mosaic virus" (BlCMV) e apresentou forte relacionamento com uma raça do vírus do mosaico comum do feijoeiro (BCMV), isolado na Flórida, USA, sem contudo reagir com anti-soros específicos para outros potyvírus testados. Nenhuma reação foi observada entre o VMCl e anti-soros específicos para um vírus da cunhã isolado na África, o vírus do mosaico severo do caupi e cinco outros comovírus de leguminosas. Entre as 33 espécies vegetais incluídas nos estudos do círculo de hospedeiras, o vírus infetou 13 espécies, 10 cultivares de *Vigna unguiculata* e 6 cultivares de *Phaseolus vulgaris*. Testes de transmissibilidade natural mostraram ser o mesmo transmitido por sementes e ferramenta utilizada no corte, não o sendo, por outro lado, pelo *Aphis craccivora*. Constatou-se redução na produção de massa verde nas plantas infetadas pelo VMCl, o qual, por outro lado, induziu aumento no teor de proteína em tais plantas, em relação às testemunhas.

As características citológicas, sorológicas e biológicas do VMCl indicaram que o mesmo é um membro do grupo Potyvírus, estreitamente relacionado com o BCMV.

## ABSTRACT

*Clitoria ternatea*, known as "cunhã", is a tropical leguminous plant, tolerant to drought and of great importance as cattle feed in the Northeast of Brazil. A virus causing a mosaic with chlorotic leaf spots in *C. ternatea* was isolated from naturally infected plants in the States of Ceará and Rio Grande do Norte.

Cytological studies with the light microscope revealed the presence of typical potyvirus cytoplasmic inclusions induced by the virus isolated from *C. ternatea*. The virus was designated as clitoria mosaic virus (= vírus do mosaico da clitória, VMCl). Serological double diffusion tests indicated that the virus was distantly related to blackeye cowpea mosaic virus (BlCMV) and closely related to a strain of bean common mosaic virus (BCMV) isolated in the State of Florida, USA, but did not react with antisera specific to other potyviruses tested. Also, no reactions were observed between VMCl and antisera specific to, a virus isolated from *C. ternatea* in Africa, cowpea severe mosaic virus, and five other leguminous comoviruses. Among the 33 plant species included in the host range studies, the virus was found to infect 13 species including ten varieties of *Vigna unguiculata* and six varieties of *Phaseolus vulgaris*. Transmissibility tests showed that the virus was transmitted through seeds of *C. ternatea* and also through the tools used to cut plants, but not by *Aphis craccivora*. A reduction in fresh weight of VMCl infected plants was observed, together with an increase in the percentage protein when compared with non-infected ones.

The cytological, serological and biological characteristics of the VMCl indicated that it was a member of the potyvirus group, closely related to BCMV.

## 1 - INTRODUÇÃO

*Clitoria ternatea* L., conhecida vulgarmente por cunhã, apresenta uma ampla exposição de flores azuis e brancas, característica que favorece a sua exploração como planta ornamental. É uma planta de hábito escandente, de folhas pinadas com 5 - 7 folíolos, pertencente à família Leguminosae e à sub-família Papilionidea. Possui alto valor nutritivo, não sendo, contudo, largamente utilizada, no Brasil, como forrageira, devido à falta de conhecimento dos agro-pecuaristas dessas suas importantes características (GADÉLHA et al., 1980).

Trabalhos de pesquisa realizados no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, evidenciaram a excelente adaptação desta leguminosa às condições ecológicas regionais (J.A. ARAÚJO FILHO, informações pessoais). De acordo com boletim informativo da equipe técnica do Departamento de Zootecnia da UFC (EMATERCE s/ data), a cunhã apresentou boa produção de massa verde, mesmo sem irrigação, e comportou-se como excelente forrageira para a região nordestina. Por tais características, a cunhã poderia ser devidamente aproveitada na alimentação de bovinos, caprinos, equinos, ovinos, coelhos e, até mesmo, em rações para aves, por dar ótima pigmentação à gema do ovo e à carcaça dos frangos, quando o milho da ração for substituído por sorgo.

*C. ternatea* há-se destacado, sobretudo, como forrageira ideal para a produção de feno, por possuir caules finos e apresentar elevada produção de massa verde.

Com a recente descoberta de sua importância para a pecuária regional, vários trabalhos de pesquisa vêm sendo realizados, pela necessidade de maiores informações sobre o

seu nível tecnológico, tratos culturais e controles sanitários adequados ao seu cultivo, visto ser escassa a literatura pertinente ao assunto em menção. Assim sendo, qualquer trabalho de pesquisa realizado ou em desenvolvimento, sobre diferentes aspectos desta leguminosa, reveste-se da mais alta significância para a região. X

A presente atividade de pesquisa teve por objetivo caracterizar as propriedades citológicas, sorológicas e biológicas de um vírus, então encontrado nos Estados do Ceará e Rio Grande do Norte, causando mosaico com manchas cloróticas em *C. ternatea*, bem assim, estudar sua transmissibilidade natural e avaliar os danos ocasionados pelo mesmo em cunhã.

Parte deste trabalho que já foi publicada em forma de resumo (LIMA et al., 1981a), constitui a primeira referência sobre ocorrência de vírus em *C. ternatea*, em território brasileiro.

Devido ao estreito relacionamento do vírus em estudo com o "bean common mosaic vírus" (= BCMV, vírus do mosaico comum do feijoeiro), a revisão de literatura, que constituirá o capítulo seguinte, envolverá, também, as principais características deste último vírus.

## 2 - REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 - Vírus Constatados em *Clitoria ternatea*

Os estudos sobre origem, botânica e importância da *C. ternatea* vêm sendo efetuados há vários anos. Segundo CROWDER (1975), *C. ternatea* é uma leguminosa perene, rasteira, surgindo naturalmente em regiões tropicais onde a pluviosidade anual excede a 1000 mm e em altitudes inferiores a 160 m. Possui uma boa resistência à seca, mas adapta-se melhor em solos com boa disponibilidade de água. Atinge a fase adulta com 4 a 6 semanas após o plantio, devendo suas sementes serem escarificadas para obter-se maior percentagem de germinação. Esta leguminosa é bem aceita pelo gado, sem, contudo, apresentar boa resistência ao pisoteio.

De acordo com estudos realizados na Colombia (INFORMES ANUALES, 1960-1970), 25 a 30% da população de *C. ternatea* consorciada com *Panicum maximum* Jacq., *Hypanthia ruja* (Nees) Stapf, *Brachiaria mutica* (Forsk) Stapf, *Digitaria decumbens* Stent e *Cynodon dactylon* (L.) c.v. "Coastal" apresentaram excelentes resultados, sendo que, durante um ano, foram efetuados cortes em intervalos de 6 a 8 semanas, e o declínio da produção, no final do ano, foi de apenas 5%.

*C. ternatea* é rica em proteína, apresentando sua parte vegetativa 21 a 25% de proteína bruta (LOTERO et al., 1970; KATIYAR et al., 1970) e suas sementes 43,8%, com 2,8% de lisina (BRAVO, 1971).

Segundo BRAGA (1960), a *C. ternatea* é de origem africana, sendo vulgarmente conhecida no Brasil por espeluaia,

onde floresce durante quase todo o ano e presta-se para caramanchões.

Poucos são os casos de doenças registrados em *C. ternatea*, não havendo no herbário fitopatológico da UFC, até o ano de 1982, nenhum registro de qualquer tipo de fungo sobre esta leguminosa (VASCONCELOS, 1965, 1969 e 1971).

De acordo com WEHLBURG et al. (1975), os fungos *Cercospora clitoriae* Atk., *C. cruenta* Sacc., *C. ternateae* Petch e *Phyllosticta glycineum* Tehon & Daniels foram constatados causando manchas foliares em *C. ternatea*, na Flórida, USA. Os mesmos autores (WEHLBURG et al., 1975) constataram, também, ocorrência de uma "podridão mole", causada por *Erwinia carotovora* (L.R. Jones) Holland.

Segundo PONTE (1968), *C. ternatea* é uma das hospedeiras de nematóides das galhas, porquanto o mesmo constatou o parasitismo de *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, sobre esta leguminosa, no Estado do Ceará.

Um vírus responsável por sintomas de clorose e clareamento de nervuras em *C. ternatea*, em Quênia, África, foi isolado e estudado por BOCK et al. (1977), os quais o denominaram de "clitoria yellow vein virus" (CYVV). O mesmo foi capaz de causar infecção sistêmica em *Abelmoschus esculentus* L., *Arachis hipogae* L., *Bauhinia purpurea* L., *Canavalia ensiformis* D.C., *Centrosema pubescens* L., *Cassia occidentalis* L., *Glycine max* L., *Macroptilium atropurpureum* D.C., *Pisum sativum* L., *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Cultivares desta última espécie vegetal apresentaram sintomas sistêmicos e outras sintomas locais. Por outro lado, o CYVV não infetou *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn, *Capsicum annuum* L. e *Gomphrena globosa* L. Exames ao microscópio eletrônico revelaram que o mesmo era constituído de partículas isométricas de 28 nm de diâmetro. Com base nas suas características morfológicas, físicas e biológicas, BOCK et

al. (1977) concluíram ser o CYVV pertencente ao grupo dos tymovírus. Segundo SRIVASTAVA et al. (1978), o trabalho de BOCK et al. (1977) constitui o primeiro relato de um vírus em *C. ternatea*.

Dois anos depois da primeira constatação de vírus em cunhã, SRIVASTAVA et al. (1978) constataram a ocorrência de um segundo vírus na Índia, ocasionando sintomas de mosaico, deformação e redução da lâmina foliar em *C. ternatea*. Referido vírus foi isolado de plantas de cunhã, naturalmente infectadas, e inoculado em 17 espécies vegetais, das quais somente quatro mostraram-se suscetíveis: *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyb (lesões necróticas localizadas), *Crotalaria spectabilis* Roth. (mosaico) *Clitoria ternatea* L. (mosaico, deformação e redução de lâmina foliar) e *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (severa necrose foliar). De outra parte, o vírus isolado por SRIVASTAVA et al. (1978) foi incapaz de infetar *Abelmoschus esculentus* L., *Anachis hypogaea* L., *Cucumis sativus* L., *Citrulus vulgaris* L., *Dolichos lablab* L., *Euphorbia pulcherrima* L., *Pisum sativum* L., e *Ricinus communis* L. SRIVASTAVA et al. (1978) relataram também que, em testes de transmissibilidade do vírus com os pulgões *Myzus persicae* Sulz., 1776 *Aphis craccivora* Koch., 1854 e *Aphis gossypii* Glover., 1876 o mesmo foi transmitido por nove pulgões, sem, contudo, esclarecerem a qual das três mencionadas espécies pertenciam.

## 2.2 - Principais Características do "Vírus do Mosaico Comum do Feijoeiro" (BCMV)

De acordo com BOS (1971), o "bean common mosaic virus" (BCMV - vírus do mosaico comum do feijoeiro), foi, inicialmente descrito por STEWART & REDDICK (1917) e, mais tarde, por PIERCE (1934), além de outros. Segundo as descrições

dos mencionados autores, o BCMV é um vírus alongado, com partículas apresentando um comprimento modal de 750 nm, pertencente ao grupo dos potyvírus. Os potyvírus, em geral, são facilmente transmitidos por inoculação mecânica, por diversas espécies de afídeos, de maneira não persistente, e, também, em percentagens elevadas, por sementes e grãos de pólen. O BCMV constitui um dos mais sérios patógenos do *P. vulgaris* em todas as partes do mundo onde se cultiva economicamente esta leguminosa (EPHRAIM & SAETTLER, 1974). Seu círculo de hospedeiras restringe-se, quase que exclusivamente, a espécies vegetais da família Leguminosae. A maioria das cultivares de *P. vulgaris* apresenta maior ou menor grau de suscetibilidade ao BCMV, existindo, no entanto, cultivares altamente resistentes e imunes ao mesmo (GAMEZ et al., 1970; KAISER & MOSSAHEBI, 1974; PROVVIDENTI & COBB, 1975). Estudo detalhado foi realizado por QUANTZ (1961) sobre o círculo de hospedeiras de uma raça do BCMV isolada na Alemanha, a qual infectou 43 espécies de leguminosas, inclusive *V. unguiculata*, na qual ocasionou sintomas de mosaico, mosqueado moderado e lesões locais. Resultados semelhantes foram, mais tarde, observados por ZAUMEYER & GOTH (1964) com uma raça do BCMV isolada na Flórida, USA. Estudando seu círculo de hospedeiras, RICHARDS & BURKHOLDER (1943) constataram que a raça isolada na Flórida, assim como uma raça de BCMV isolada em Nova York, USA, eram capazes de infetar sistemicamente 18 variedades de *V. unguiculata*. Outra raça de BCMV isolada em Idaho, USA, por DEAN & WILSON (1959), comportou-se de maneira semelhante às duas raças acima mencionadas. Da mesma forma *Arachis hypogaea*, *Bauhinia purpurea*, *Capsum annuum*, *Canavalia ensiformis* e *Glycine max* apresentaram-se suscetíveis às três raças. Por outro lado, *Vicia faba* L. mostrou-se resistente à raça da Flórida e suscetível às demais (DEAN & WILSON, 1959). De acordo com GAMEZ et al. (1970) o BCMV não infeta *Cucumis sativus*, *Glycine max*, *Vicia faba* e causa mosaico em *Vigna unguiculata*. Segundo DRIJFHOUT & BOS (1977), *Gomphrena globosa* é uma hospedeira de infecção latente do BCMV, mas outros

autores apontam-na como planta não suscetível ao vírus (KAISER & MOSSAHEBI, 1974). *Chenopodium amaranticolor* é, comprovadamente, uma hospedeira de lesões necróticas localizadas do BCMV (KAISER & MOSSAHEBI, 1974; DRIJFHOUT & BOS, 1977). De acordo com MOSES & NARIANI (1975), um isolado de BCMV causou sintomas de mosaico em plantas de *Clitoria ternatea* inoculadas artificialmente. De outra parte, PROVVIDENTI & BRAVERMAN (1976), observaram que o *Macropitilium atropurpureum* D.C. é uma fonte em potencial de resistência ao BCMV.

A transmissão do BCMV por sementes foi primeiramente relatada por REDDICK & STEWART (1919), os quais observaram alta taxa de transmissão do vírus em sementes colhidas de plantas infetadas. BURKHOLDER & MULLER (1929) observaram que cerca de 50% de sementes colhidas de plantas doentes produzem plantas infetadas. Segundo PIERCE & HUNGERFORD (1929), a transmissão do BCMV por semente é, em geral, de 33% e as sementes de plantas infetadas antes da floração apresentam uma taxa de transmissão de, aproximadamente, 48%. Segundo ZAUMEYER & THOMAS (1957), a transmissão do BCMV por sementes desempenha importante papel na epidemiologia da doença e é o principal método de transmissão responsável pela disseminação do vírus a longa distância. MORENO et al. (1968), trabalhando com várias variedades de *P. vulgaris*, concluíram que a transmissão do BCMV por sementes está em torno de 21 - 58%. Alguns anos depois, DRIJFHOUT & BOS (1977) encontraram taxa de transmissão de 20 - 80% para o BCMV. O plantio de sementes certificadas, livres de vírus, tem sido a medida mais recomendada para reduzir a disseminação do BCMV (MAGALHÃES & COSTA, 1978). Sendo o BCMV um potyvírus facilmente levado pela semente do feijão-comum, *P. vulgaris*, (TRINDADE et al., 1979), o seu controle, no Brasil, vem sendo tentado pelo uso de sementes livres do vírus, as quais são produzidas sob condições controladas (MAGALHÃES & COSTA, 1978; TRINDADE et al., 1979).

A transmissibilidade do BCMV por pulgão tem sido es-

tudada por vários pesquisadores (MORENO et al., 1968; GAMEZ et al. 1970; KAISER & MOSSAHEBI, 1974 e DRIJFHOUT & BOS, 1977). De acordo com os resultados desses estudos, o BCMV po de ser transmitido por várias espécies de pulgões, de maneira não persistente. MORENO et al. (1968) constataram a transmissão do BCMV por *Myzus persicae* Sulzer, enquanto que *Aphis craccivora* Koch foi capaz de transmitir o BCMV de plantas infetadas para plantas sadias de *P. vulgaris* (KAISER & MOSSAHEBI, 1974; MOSES & NARIANI, 1975).

O BCMV apresenta-se sorologicamente relacionado com vários outros potyvírus. Segundo GROGAN & WALKER (1948), o mesmo é sorologicamente relacionado com "bean yellow mosaic virus" (BYMV), cujos resultados foram, mais tarde, confirmados por BERCKS (1960). O relacionamento sorológico serviu também para identificar raças do BCMV (ZAUMEYER & GOTH, 1964; GAMEZ et al., 1970; KAISER & MOSSAHEBI, 1974). LIMA (1978, 1979) observou o relacionamento sorológico entre o BCMV e "blackeye cowpea mosaic virus" (BlCMV), sendo os mesmos distintos, devido a formação de esporão, em testes de dupla di fusão em agar.

À semelhança dos vírus vegetais pertencentes ao gru po Potyvírus, o BCMV forma inclusões citoplasmáticas do tipo catavento (EDWARDSON, 1974; CHRISTIE & EDWARDSON, 1977; LIMA, 1980). Os potyvírus apresentam-se em forma de bastonetes, são transmitidos por pulgões de uma maneira não persistente e formam inclusões típicas no interior das células hospedeiras, características estas que servem para sua identificação (LIMA, 1980). Ainda de acordo com o mesmo autor, as inclu sões podem ser facilmente detectadas nas células da epiderme foliar de plantas infetadas, através da microscopia ótica.

### 3 - MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 - Isolamento e Obtenção da Fonte Inicial do Vírus

A partir de uma amostra de *C. ternatea* coletada no Estado do Rio Grande do Norte, exibindo sintomas típicos de vírus, foram realizadas inoculações mecânicas em plantas saudias de cunhã.

Objetivando identificar uma hospedeira de lesão necrótica localizada para o vírus, várias espécies vegetais foram inoculadas, com inóculo preparado a partir das plantas de cunhã artificialmente inoculadas e que apresentaram sintomas semelhantes àqueles observados em condições de campo (FIGURA 1).

Todos os inóculos para a transmissão mecânica do vírus foram preparados através de maceração do material foliar infetado pelo mesmo, em solução tamponada de fosfato 0,05M e pH 7,5, na proporção de 1g de tecido para 2 ml de solução. Em seguida, o extrato obtido foi filtrado em gaze dupla e a parte líquida, coletada em bécher, adicionou-se pequena quantidade do abrasivo "carborundum". O vírus era inoculado friccionando-se às superfícies superiores das folhas pedaços de gaze embebidos no extrato contendo o mesmo.

Inicialmente, foram cultivadas em condições de casa de vegetação e mecanicamente inoculadas as seguintes espécies vegetais: *Centrosema pubescens* Benth (jitirana), *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn, *Macroptilium atropurpureum* D.C. (siratro) e *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (feijão-de-corda), das quais *Chenopodium amaranticolor* foi selecionado

para o reisolamento do vírus, por haver reagido às inoculações com sintomas de lesões necróticas localizadas. Aproximadamente, seis lesões localizadas foram coletadas individualmente, maceradas em solução tamponada e os inóculos obtidos foram inoculados em seis plantas saudáveis de cunhã. Entre estas plantas, escolheu-se aquela que apresentou os sintomas mais característicos do vírus, a qual foi utilizada como fonte de vírus para sua propagação e posteriores estudos sobre círculo de hospedeiras, transmissibilidade natural, sorologia, citologia e avaliação dos danos ocasionados pelo mesmo em *C. ternatea*.

### 3.2 - Estudo Sobre o Círculo de Hospedeiras

Para determinação do círculo de hospedeiras do vírus em estudo, foram efetuadas inoculações em 32 espécies vegetais, pertencentes a diferentes famílias, sendo a maioria pertencente à família Leguminosae. Estas plantas foram cultivadas em condições de casa de vegetação, usando-se três vasos para cada espécie, com três a quatro plantas por vaso, dos quais um serviu de testemunha. Todas as plantas inoculadas com o vírus foram usadas como fonte de inóculo para reisolamento do mesmo em *C. ternatea*, a fim de verificar possíveis infecções sem sintomas. As espécies vegetais inoculadas foram as seguintes: *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench (quiabo), *Aeschynomene scabia* L. (canafístula de lagoa), *Arachis hypogaea* L. (amendoim), *Bauhinia purpurea* L. (unha-de-vaca), *Canavalia brasiliensis* L. (fava-de-papagaio), *Canavalia ensiformis* D.C (feijão-de-porco), *Capsicum annuum* L. (pimentão), *Cassia occidentalis* L. (manjerioba), *Cassia tora* L. (mata-pasto-liso), *Cassia uniflora* L. (mata-pasto-cabeludo), *Centrosema pubescens* Benth. (jitirana), *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn, *Citrulus vulgaris* Scharad (melancia), *Crotalaria incana* L. (gergelim brabo), *Cucumis sativus* L. (pepino),

*Cucurbita pepo* L. (abobrinha), *Dolichos lablab* L. (lab-lab), *Euphorbia pulcherrima* L. (flor-de-papagaio), *Gomphrena blobosa* L., *Glycine javanica* L. (soja perene), *Glycine max* (L.) Merril. (soja), *Macroptilium atropurpureum* D.C. (siratro), *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. (sabiã), *Nicotiana benthamiana* L., *Phaseolus latyroides* L. (feijão-de-rola), *Phaseolus membranaceus* L., *Phaseolus pendularis* L., *Phaseolus vulgaris* L. (feijão-comum) - cultivares: "Rico 23", "Rico baio 1014", "Rico pardo 896", "Roxinho 3", "Phaseolus 1" e "Phaseolus 2", *Psophocarpus tetragonolobus* (L.) D.C. (feijão-de-asa), *Ricinus communis* L. (mamona), *Vicia faba* L. (java) e *Vigna unguiculata* (feijão-de-corda) - cultivares: CE-001 "Seridô", CE-031 "Pitiuba", "CE-053", CE-066 "Carrapicho", CE-072 "Sete semanas", CE-075 "Jatobã", CE-236 "Ipeane VII", "CE-315", CE-350 "Alagoano", CE-524 "Macaibo" e "Crowder pea".

### 3.3 - Estudo Sobre a Transmissibilidade Natural do Vírus

#### 3.3.1 - Transmissibilidade por pulgão

Os testes de transmissão do vírus por pulgão foram realizados em condições de casa de vegetação, com plantas envasadas de *C. ternatea*.

O pulgão *Aphis craccivora* Koch, 1854, obtido de uma colônia não virulífera presente em plantas de *V. unguiculata*, mantidas em gaiolas teladas, foi usado em todos os testes. Aproximadamente, 30 a 40 pulgões foram submetidos a um jejum de duas horas e, em seguida, colocados, individualmente, em folhas infetadas de *C. ternatea* para aquisição do vírus, por períodos de 30 a 60 segundos, contados a partir do instante em que o mesmo inicia a penetração do estilete no tecido foliar. Após a aquisição do vírus, cada pulgão era transferido

para as plantas sadias de cunhã, usando-se, aproximadamente, cinco pulgões por planta sadia. Os mesmos foram mantidos nas referidas plantas por um período de 24 horas, ao término do qual foram eliminados através de pulverização com Nuvacron 40 E.

### 3.3.2 - Transmissibilidade por sementes

Plantas de cunhã artificialmente inoculadas com o vírus foram mantidas em casa de vegetação até a produção de sementes. Aproximadamente, 400 sementes colhidas de plantas exibindo sintomas de mosaico foram testadas pelo método de plantio direto (LIMA, 1978). Todas as 400 sementes foram semeadas em sementeiras de madeira contendo uma mistura de solo + esterco, esterelizada, não havendo as mesmas sido submetidas a nenhum tratamento para quebra de dormência. Todas as plantas originadas de tais sementes foram mantidas em casa de vegetação, sendo individualmente observadas durante, aproximadamente, 60 dias.

### 3.3.3 - Transmissibilidade através de ferramentas utilizadas no corte

Devido a importância da *C. ternatea* como forrageira e a necessidade de repetidos cortes para o referido fim, foi realizado mais um estudo sobre a transmissão do vírus, desta vez envolvendo ferramentas utilizadas no corte. Para tanto, 60 plantas foram cultivadas em condições de casa de vegetação, uniformemente distribuídas em 10 vasos. As plantas foram cortadas 28 dias após o plantio, com uma faca usada anteriormente no corte de uma única planta infetada pelo vírus. Após o corte, as mesmas foram mantidas para produção de nova

parte aérea. Observações sintomatológicas periódicas foram efetuadas às brotações novas das plantas, a fim de se verificar possíveis casos de transmissão do vírus através da lâmina da ferramenta usada no corte.

### 3.4 - Citologia

Para realização de estudos citológicos ao microscópio ótico, camadas de células epidérmicas de folhas de plantas de cunhã infetadas pelo vírus foram removidas e coradas com uma combinação de calcomina laranja e luxol verde brilhante, por períodos de 5 - 10 minutos de acordo com o método descrito por CHRISTIE (1967). Após lavadas, por aproximadamente 30 segundos, em álcool absoluto, as mesmas foram montadas com euparal em lâminas microscópicas e examinadas ao microscópio ótico.

### 3.5 - Sorologia

Testes de dupla difusão em agar foram desenvolvidos com extrato de plantas de *C. ternatea* infetadas pelo vírus, contra anti-soros específicos para os seguintes potyvírus: "blackeye cowpea mosaic vírus" (BlCMV), "bean common mosaic vírus" (BCMV), "pepper mottle vírus" (PeMV), "potato vírus Y" (PVY), "soybean mosaic vírus" (SoyMV), "tobacco etch vírus" (TEV), "turnip mosaic vírus" (TurMV), "watermelon mosaic vírus-1" (WMV-1) e "watermelon mosaic vírus-2" (WMV-2). O mesmo foi procedido com cinco comovírus que infetam leguminosas: "bean pod mottle vírus" (BPMV), "cowpea severe mosaic vírus" isolado de feijão-de-rola, *P. latyroides* (CPMV-FR), "cowpea chlorotic mottle vírus" (CCMV) e "southern bean mosaic vírus" (SBMV). Da mesma forma, o vírus da cunhã em

estudo foi também testado contra anti-soro específico para "clitoria yellow vein virus" (CYVV), um tymovírus isolado de *C. ternatea* em Quênia, África, por BOCK et al. (1977). Os demais anti-soros foram obtidos de: BLCMV (LIMA, et al., 1979b); BCMV (LIMA et al., 1977); PMV, PeMV, PMMV, PVY, SoyMV, TEV, WMV-1 e WMV-2 (D.E. Purcifful, Universidade da Flórida, USA); BPMV, CCMV e SBMV (R. Fulton, Universidade de Arkansa, USA); CpSMV-Ce (LIMA & NELSON, 1974) e CpSMV-FR (VASCONCELOS, 1982).

O meio de agar para os testes com os potyvírus foi preparado com 0,85% de noble agar, 1,0% de  $\text{NaN}_3$  e 0,5% de dodecíl sulfato de sódio (SDS), sendo que para os testes com os comovírus e com o "clitoria yellow vein vírus" (CYVV), a composição do meio foi a seguinte: 0,8% de noble agar, 0,85% de NaCl e 0,05% de  $\text{NaN}_3$ .

### 3.6 - Avaliação de Danos Causados pelo Vírus

Com o objetivo de verificar o efeito do vírus na altura, peso verde, peso feno, teor de proteína bruta e matéria seca de plantas de *C. ternatea*, dois experimentos foram conduzidos, em condições de casa de vegetação. Cada experimento foi constituído por 10 vasos, contendo três plantas cada um. A metade das plantas (15) de cada experimento foi inoculada com o vírus, 13 dias após o plantio, e a outra metade foi mantida como testemunha. Dois cortes foram realizados em cada experimento, em épocas diferentes. Para o primeiro experimento, o primeiro corte ocorreu 60 dias após a inoculação e o segundo corte foi realizado 30 dias após o primeiro. No segundo experimento, efetuou-se o primeiro corte 75 dias após a inoculação e o segundo 45 dias após o primeiro. Após cada corte foram determinados altura, peso verde, peso feno, de matéria seca e de proteína. A determinação das percentagens de matéria seca e de proteína seguiram as normas da

AOAC (1970). A altura foi determinada através de cinco medidas feitas para cada vaso, isto é, para cada três plantas, cinco galhos foram colhidos aleatoriamente e medidos. Em seguida, as plantas de cada vaso foram cortadas e pesadas para determinar o peso verde e, depois, foram levadas para uma estufa de circulação forçada a 65°C, até adquirirem o peso constante (peso feno).

Após a determinação dos pesos feno de cada grupo de três plantas, todas aquelas inoculadas com o vírus em estudo foram misturadas. Desta mistura, foi retirada uma amostra que, após moída, foi usada para determinação do teor de proteína e de matéria seca. O mesmo foi realizado com as plantas sadias, mantidas como testemunhas.

Todos os dados foram analisados estatisticamente, pelo teste de diferença de média para dados emparelhados, de acordo com ALBUQUERQUE (1979), com  $n = 5$ , exceto os parâmetros matéria seca e proteína devido ao pequeno número de observações ( $n = 2$ ).

#### 4 - RESULTADOS

##### 4.1 - Estudo sobre o Círculo de Hospedeiras

O vírus em estudo, aqui denominado de "vírus do mosaico da clitória" (VMCl), foi capaz de infetar 13 das 32 espécies vegetais mecanicamente inoculadas no estudo de círculo de hospedeiras. O mesmo infetou sistemicamente, *Canavalia brasiliensis* (fava-de-papagaio), *C. ensiformis* (feijão de porco), *Centrosema pubescens* (jitirana), *Crotalaria incana* (gergelim brabo), *G. max* (soja), *M. atropurpureum* (sirato), *P. latyroides* (feijão-de-rola), *P. vulgaris* (feijão-comum) c.v. "Roxinho 3", *Vicia faba* (fava) e *Vigna unguiculata* (feijão-de-corda) cultivares de números CE-001, CE-025, CE-031, CE-053, CE-066, CE-072, CE-075, CE-350 e CE-524, ocasionando diferentes tipos de sintomas (TABELA 1). Por outro lado, a espécie *C. amaranticolor* apresentou a formação de lesões necróticas localizadas. Sintomas severos de clorose, atrofia, deformação foliar e necrose foram observados em *P. vulgaris* cultivares "Rico 23", "Ricobaio 1014" (FIGURA 2-A), "Rico pardo 896" (FIGURA 2-B), "Phaseolus 1" e "Phaseolus 2".

Dentre as espécies vegetais hospedeiras do vírus, pode-se incluir *Euphorbia pulcherrima* que mostrou ser uma hospedeira latente do mesmo.

Todas as espécies vegetais artificialmente inoculadas com o vírus, suas respectivas reações sintomatológicas e os resultados das tentativas de reisolamento em cunhã, estão relacionados na TABELA 1.



FIGURA 1 - Plantas de *Clitoria ternatea* apresentando sintomas de mosaico com manchas cloróticas, induzidos pelo vírus do mosaico da clitória (VMCl).

FIGURA 2 - Plantas de *Phaseolus vulgaris* cv. "Rico-baio" (A) e cv. "Rico-pardo" (B) apresentando sintomas de clorose, atrofiamento, deformação foliar e necrose causados pelo VMCl e plantas sadias que serviram de testemunha.



FIGURA 2-A.



FIGURA 2-B.

TABELA 1 - Reações de espécies vegetais mecanicamente inoculadas com o "vírus do mosaico da clitória" (VMCl) e resultados de seu reisolamento em cunhã.

Espécies Vegetais	(1) Sintomas	(2) Reisolamento Cunhã
<i>Abelmoschus esculentus</i>	-	-
<i>Aeschynomene scabia</i>	-	-
<i>Arachis hipogae</i>	-	-
<i>Bauhinia purpurea</i>	-	-
<i>Canavalia brasiliensis</i>	M	+
<i>C. ensiformis</i>	M	+
<i>Capsicum annuum</i>	-	-
<i>Cassia occidentalis</i>	-	-
<i>C. tora</i>	-	-
<i>C. uniflora</i>	-	-
<i>Centrosema pubescens</i>	M	+
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	LNL	+
<i>Citrulus vulgaris</i>	-	-
<i>Crotalaria incana</i>	Mb, At	+
<i>Cucumis sativus</i>	-	-
<i>Curcubita pepo</i>	-	-
<i>Dolichos lablab</i>	-	-
<i>Euphorbia pulcherrima</i>	-	+
<i>Glycine javanica</i>	-	-
<i>G. max</i>	M	+
<i>Gomphrena globosa</i>	LNL	O
<i>Macroptilium atropurpureum</i>	M	+
<i>Mimosa caesalpiniaefolia</i>	-	-
<i>Nicotiana benthamiana</i>	M	O
<i>Phaseolus latyroides</i>	M	+
<i>P. vulgaris</i>		
- "Rico 23"	Cl, At, Df, Ne	O

TABELA 1 - (Continuação).

Espécies Vegetais	(1)	(2)
	Sintomas	Reisolamento Cunhã
- "Rico-baio 1014"	Cl, At, Df, Ne	0
- "Rio pardo 896"	Cl, At, Df, Ne	0
- "Roxinho 3"	Cl	+
- "Phaseolus 1"	Cl, At, Df, Ne	0
- "Phaseolus 2"	Cl, At, Df, Ne	0
<i>P. membranaceus</i>	-	-
<i>P. penduncularis</i>	-	-
<i>Psophocarpus tetragonolobus</i>	-	-
<i>Ricinus communis</i>	-	-
<i>Vicia faba</i>	M	+
<i>Vigna unguiculata</i>		
- CE-001 "Seridô"	M	+
- CE-025 "Sempre verde"	M	+
- CE-031 "Pitiuba"	M	+
- CE-053	M	+
- CE-066 "Carrapicho"	-	-
- CE-072 "Sete semanas"	M	+
- CE-075 "Jatobã"	M	+
- CE-236 "Ipeane VII"	M	+
- CE-315	-	-
- CE-350 "Alagoano"	M	+
- CE-524 "Macaibo"	M	+
- "Crowder pea"	M	+

(1) At - atrofiamento, Cl - clorose, Df - deformação foliar, LNL - lesões necróticas localizadas, Ne - necrose e (-) ausência de sintoma.

(2) + = reação positiva do reisolamento em cunhã,  
 - = reação negativa do reisolamento em cunhã,  
 0 = espécies não reinoculadas em cunhã.

#### 4.2 - Citologia

Nos estudos de microscopia ótica, observou-se um grande número de inclusões citoplasmáticas típicas do grupo Potyvírus nas células da epiderme foliar de *C. ternatea*, infectadas pelo vírus (FIGURA 3). Nos tecidos recém-infectados, as inclusões eram encontradas, com frequência, aderidas às paredes celulares, na forma de pequenas protuberâncias (FIGURA 3-A), enquanto que nas folhas infectadas por mais de 30 dias, feixes fibrosos eram observados no citoplasma celular, quase sempre nas proximidades do núcleo (FIGURA 3-B).

#### 4.3 - Sorologia

Em testes sorológicos de dupla difusão em agar, o vírus mostrou-se ligeiramente relacionado com o "blackeye cowpea mosaic vírus" (BlCMV, potyvírus) e apresentou forte relacionamento com uma raça do vírus do mosaico comum do feijoeiro "bean common mosaic virus" (BCMV, potyvpirus) (FIGURA 4) isolado de siratro, na Flórida (LIMA et al., 1977), sem, contudo, reagir com os anti-soros específicos para os outros potyvírus testados. Por outro lado, nenhuma reação foi observada com o VMCl e os anti-soros específicos para o tymovírus "clitoria yellow vein virus" (CYVV), isolado de *C. ternatea*, na África (BOCK et al., 1977), CpSMV e os demais comovirus testados.

FIGURA 3 - Células da epiderme foliar de plantas de *C. ternatea* infetadas pelo VMCl, coradas com uma combinação de calcomina laranja e luxol verde brilhante, visualizadas ao microscópio ótico:

- A - Células de tecidos recém-infetados pelo VMCl, apresentando inclusões citoplasmáticas típicas dos potyvírus, formando pequenas protuberâncias (i) aderidas às paredes celulares.
- B - Células de tecidos infetados pelo VMCl, após mais de 30 dias, exibindo inclusões citoplasmáticas (i) nas proximidades do núcleo.

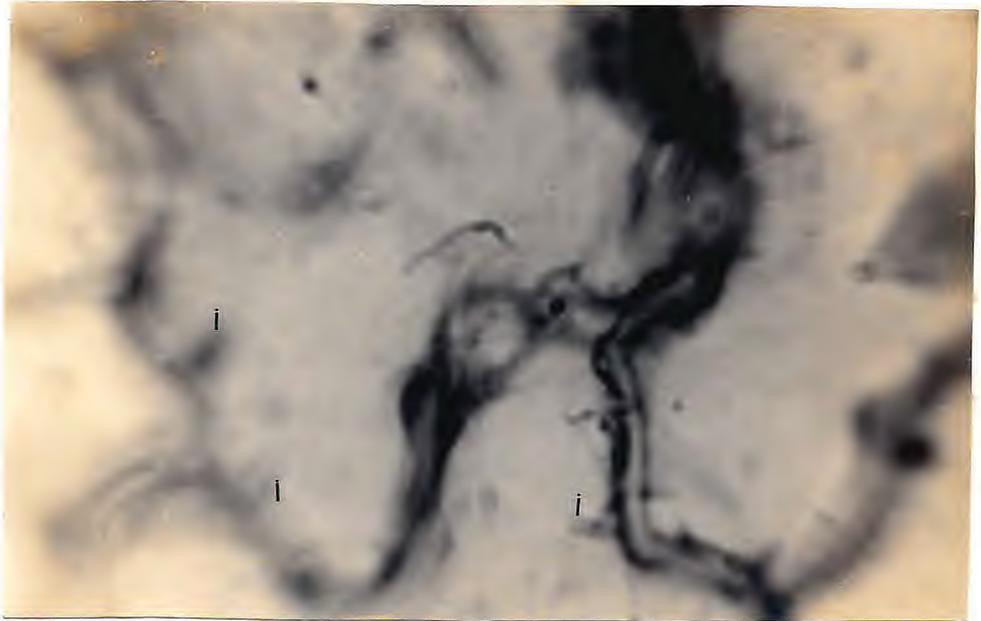


FIGURA 3-A.

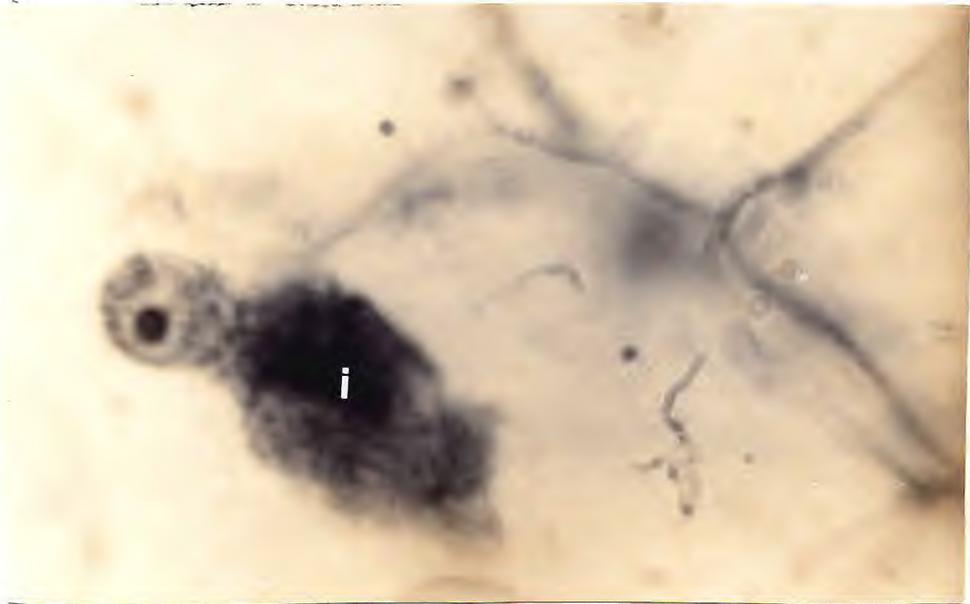


FIGURA 3-B.

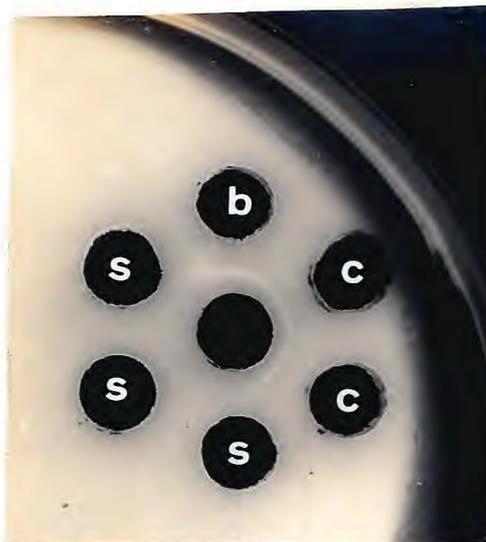


FIGURA 4 - Teste sorológico de dupla difusão em agar, contendo 0,85% de agar noble, 1,0% de  $\text{NaN}_3$  e 0,5% de dodecil sulfato de sódio (SDS), para demonstrar o relacionamento sorológico entre o vírus do mosaico da clitória (VMCl) e o vírus do mosaico comum do feijoeiro (BCMV). Os orifícios centrais foram preenchidos com anti-soro específico para o BCMV e os da periferia com: (b) seiva de planta infetada com BCMV; (c) seiva de planta infetada com VMCl, e (s) seiva de plantas sadias. Todas as seivas foram preparadas com solução de 1,5% de SDS. Observe a formação de esporão entre (b) e (c).

#### 4.4 - Testes de Transmissibilidade Natural do Vírus

##### 4.4.1 - Transmissibilidade por sementes

Das 400 sementes testadas, 350 germinaram, das quais três estavam infetadas pelo VMCl, apresentando, portanto, um índice de transmissão de, aproximadamente, 0,85%. Os resultados sintomatológicos das plantas oriundas de sementes infetadas foram confirmados através de reinoculação em plantas de *C. ternatea*, que responderam positivamente, e de estudos citológicos, os quais revelaram a presença de inclusões citoplasmáticas (FIGURA 3) nas células da epiderme foliar de todas as plantas com sintomas de mosaico, originadas das três sementes acima referidas.

##### 4.4.2 - Teste de transmissibilidade pela lâmina usada no corte

Após a poda das plantas com uma faca contaminada, constatou-se a presença de mosaico logo no início da brotação da nova parte aérea. As plantas contaminadas pelo vírus apresentaram um mosaico mais intenso (severo), normalmente acompanhado de rugosidades, quando comparado com os sintomas apresentados pelas plantas inoculadas mecanicamente pelo método de rotina (FIGURA 1). No entanto, à medida que as plantas se desenvolviam, os sintomas tornavam-se mais leves que os normalmente observados. Das 60 plantas cortadas, seis foram contaminadas pelo vírus e apresentaram os sintomas característicos do VMCl. As infecções virais foram confirmadas através de testes citológicos e sorológicos, com anti-soro para BCMV.

#### 4.4.3 - Teste de transmissibilidade por pulgão

As plantas de *C. ternatea* inoculadas com *Aphis craccivora* foram mantidas em condições de casa de vegetação, durante 30 dias e não houve nenhum caso de infecção causada pelo VMCl.

Em razão do resultado negativo do teste, ou seja, a ausência de infecção, o mesmo foi repetido, mantendo-se os pulgões por um período de aquisição do vírus na planta infetada de, aproximadamente, 24 horas.

Para confirmação da ausência do vírus nas plantas inoculadas, folhas destas foram utilizadas para a reinoculação em cunhã, pelo método de inoculação mecânica, e testadas sorologicamente contra anti-soro específico para BCMV. Não houve reação positiva tanto na reinoculação em cunhã, como nos testes sorológicos, confirmando a ausência do vírus nas plantas testadas com o auxílio do pulgão.

#### 4.5 - Avaliação de Danos Causados pelo Vírus em Plantas de *C. ternatea*

As plantas mecanicamente inoculadas pelo VMCl mostraram um aspecto de estiolamento caracterizado por caules finos e fracos, quando comparadas com aquelas não inoculadas (testemunhas), havendo sua floração ocorrido uma semana depois da floração das plantas sadias.

As alturas médias das plantas infetadas pelo vírus apresentaram variações consideráveis nos dois períodos de cada experimento, mostrando-se, no entanto, sempre inferiores às alturas das plantas sadias (FIGURA 5). Da mesma forma, a produção de massa verde e, conseqüentemente, o rendimento de



FIGURA 5 - Vasos contendo plantas de *Clitoria ternatea* infetadas pelo VMCI (esquerda) e sadias (direita). Note diferenças na coloração foliar e por te das plantas.

feno, foram grandemente reduzidos pela infecção viral (TABELA 2). As plantas infetadas pelo vírus tenderam a apresentar maior teor de proteína e menor percentual de matéria seca. No entanto, em termos de proteína por planta, as sadias superaram as infetadas pelo vírus (TABELA 2).

As médias dos dados relativos à altura, peso verde, peso feno, matéria seca e teor de proteína na matéria seca das plantas infetadas pelo vírus e das plantas sadias de ambos os experimentos encontram-se na TABELA 2. As diferenças entre os dados obtidos para plantas infetadas e plantas sadias foram determinadas para cada parâmetro e estão, também, relacionadas na TABELA 2.

TABELA 2 - Médias relativas aos dados obtidos para altura, peso verde, peso feno, matéria seca e proteína da matéria seca de plantas de *Clitoria ternatea* L., infetadas pelo vírus do mosaico da clitória (VMCl) e de plantas sadias.

P a r â m e t r o s		Experimento I		Experimento II	
		1º Corte	2º Corte	1º Corte	2º Corte
Altura (m)	Plantas c/ vírus	1,02	0,78	1,20	0,61
	Plantas sadias	1,22	1,05	1,40	1,02
	Diferenças	0,20*	0,27*	0,20*	0,41*
Peso verde (g)/planta	Plantas c/ vírus	25,00	11,52	22,60	11,16
	Plantas sadias	32,42	12,90	37,14	16,59
	Diferenças	7,42*	1,46	14,53*	5,43*
Peso feno (g)/planta	Plantas c/ vírus	6,32	3,04	6,64	2,03
	Plantas sadias	9,79	3,72	11,60	3,74
	Diferenças	3,47*	0,67	4,90*	1,71
Matéria seca (%)	Plantas c/ vírus	22,40	24,05	25,66	15,58
	Plantas sadias	26,72	27,30	27,10	19,13
	Diferenças	4,32	3,25	1,44	3,55
Proteína (%)	Plantas c/ vírus	17,60	17,50	18,25	24,80
	Plantas sadias	13,20	14,20	14,05	16,40
	Diferenças	4,40	3,30	4,20	8,20
Proteína (g)/planta	Plantas c/ vírus	0,98	0,48	1,05	0,43
	Plantas sadias	1,14	0,50	1,41	0,52
	Diferenças	0,16	0,02	0,36	0,09

\* - Significativo pelo teste "t", ao nível de 5% de probabilidade.

## 5 - DISCUSSÃO

Os resultados dos estudos das propriedades citológicas, sorológicas e de transmissibilidade natural do vírus isolado de *Clitoria ternatea*, aqui denominado de "vírus do mosaico da clitória" (VMCl), comprovam ser o mesmo pertencente ao grupo dos potyvírus.

Comparando os resultados do estudo do círculo de hospedeiras do VMCl com os apresentados nos dois únicos trabalhos encontrados sobre ocorrência natural de vírus em *C. ternatea* e com o vírus do mosaico comum do feijoeiro (BCMV), verifica-se que, apesar de algumas semelhanças, eles são distintos. Algumas espécies vegetais foram selecionadas para os estudos de casa de vegetação, a fim de melhor mostrarem as semelhanças e diferenças entre os mesmos. O vírus relatado por BOCK et al. (1977) e BOCK & GUTHRIE (1977), denominado de "clitoria yellow vein virus" (CYVV, vírus do amarelecimento das nervuras da clitória), causa sintoma de clorose em *C. ternatea*, enquanto o VMCl causa sintoma de mosaico. De acordo com BOCK et al. (1977) e BOCK & GUTHRIE (1977), o CYVV não infecta *Chenopodium amaranticolor* e *Gomphrena globosa*, mostrando-se ambas espécies vegetais hospedeiras de lesão necrótica do VMCl. De outra parte, de acordo com os referidos autores, o CYVV causa infecção sistêmica em *Abelmoschus esculentus*, *Arachis hipogaea* e *Bauhinia purpurea*, enquanto que o VMCl não causou nenhum sintoma quando inoculado em tais espécies vegetais. Contudo, ambos infetam sistemicamente *Canavalia ensiformis*, *Centrosema pubescens*, *Glycine max*, *Macroptilium atropurpureum*, *Phaseolus vulgaris* e *Vigna unguiculata*.

O outro vírus constatado, ocasionando infecção natural em *C. ternatea*, denominado de "clitoria mosaic virus"

(ClMV), descrito por SRIVASTAVA et al. (1978), apresenta certa semelhança sintomatológica em diferentes plantas hospedeiras, quando comparado com o VMCl. Ambos causam sintomas de mosaico em *C. ternatea*, sendo que o vírus isolado por SRIVASTAVA et al. (1978) ocasiona mosaico acompanhado de deformação e redução da lâmina foliar, enquanto o VMCl, causa somente mosaico. O VMCl foi capaz de ocasionar mosaico em diferentes cultivares de *V. unguiculata* (TABELA 1), sendo que o vírus estudado por SRIVASTAVA et al. (1978) causa lesões necróticas nas folhas inoculadas e uma severa necrose das nervuras foliares da referida leguminosa. De outra parte, *Euphorbia pulcherrima* L. mostrou ser uma hospedeira latente do VMCl, a qual é indicada como não suscetível ao ClMV (SRIVASTAVA et al., 1978). Nota-se, por outro lado, que algumas espécies vegetais não suscetíveis ao ClMV, não o foram também ao VMCl. Como exemplo, podem ser mencionadas *Abelmoschus esculentus*, *Arachis hipogae*, *Cucumis sativus*, *Citrulus vulgaris* e *Dolichos lablab*.

Quando comparado ao BCMV, o VMCl apresentou características sintomatológicas, em algumas hospedeiras, bastante semelhantes às descritas por QUANTZ (1961) e GAMEZ et al. (1970), para o BCMV. Segundo mencionados autores, as espécies vegetais hospedeiras, incluídas no círculo de hospedeiras do BCMV, são, em sua maioria, pertencentes à família Leguminosae, tendo-se observado o mesmo no decorrer do estudo com relação ao VMCl. Os sintomas de clorose, atrofiamento, deformação foliar, necrose e morte da planta (FIGURA 2), ocasionados por VMCl em *P. vulgaris*, assemelham-se muito aos causados pelo BCMV e observados por BOS (1971). Das 12 variedades de feijão-de-corda, *V. unguiculata*, que foram mecanicamente inoculadas com o VMCl, 10 apresentaram sintomas de mosaico e duas mostraram-se imunes ao mesmo. Resultados semelhantes, embora com outras variedades, foram observados por ZAUMEYER & GOTH (1964) para o BCMV. Entre as cultivares de feijão-de-corda resistentes ao VMCl, pode-se destacar a CE-

-315, por ser esta já indicada como resistente ao mosaico ocasionado por um potyvírus isolado de *V. unguiculata* (LIMA et al., 1979c; LIMA et al., 1981b). Segundo ZAUMEYER & GOTH (1964), as leguminosas *C. ensiformis* e *G. max* são hospedeiras de sintomas sistêmicos do BCMV, havendo o mesmo sido constatado, no presente estudo, para o VMCl. De outra parte, no mesmo trabalho, ZAUMEYER & GOTH (1964) citam as espécies vegetais *A. hipogaea*, *B. purpurea* e *C. annuum* como hospedeiras sistêmicas do BCMV, enquanto que o VMCl foi incapaz de causar infecção sistêmica em tais espécies vegetais. O VMCl infetou sistemicamente o siratro, *M. atropurpureum*, leguminosa indicada como fonte de resistência ao BCMV (PROVVIDENTI & BRAVERMAN, 1976). De acordo com MOSES & NARIANI (1975), o BCMV ocasiona mosaico em *C. ternatea*, hospedeira natural do VMCl.

Das espécies vegetais que fazem parte do círculo de hospedeiras do VMCl, somente duas apresentaram sintomas de lesões necróticas localizadas: *C. amaranticolor* e *G. globosa*. A sintomatologia apresentada pela *C. amaranticolor* é a mesma causada pelo BCMV (KAISER & MOSSAHEBI, 1974; DRIJFHOUT & BOS, 1977). Contudo, o mesmo não ocorreu com a outra hospedeira de lesão necrótica localizada (*G. globosa*), devido ser a mesma citada por DRIJFHOUT & BOS (1977) como hospedeira de infecção latente do BCMV e, por KAISER & MOSSAHEBI (1974), como imune a este vírus.

A conclusão de que o VMCl pertence ao grupo dos potyvírus baseia-se nos resultados dos testes citológicos e sorológicos. Nos estudos de citologia ao microscópio ótico, a facilidade em se constatar a presença de inclusões formando pequenas protuberâncias aderidas às paredes celulares dos tecidos recém infetados (FIGURA 3-A), e em forma de feixes fibrosos no citoplasma celular dos tecidos de *C. ternatea* infetados por mais de 30 dias (FIGURA 3-B), vem claramente confirmar que o VMCl pertence ao grupo dos potyvírus, por serem estas características peculiares aos vírus pertencentes a

este grupo de vírus vegetais (EDWARDSON, 1974; CHRISTIE & EDWARDSON, 1977; LIMA, 1978). Os resultados dos testes sorológicos em dupla difusão em agar, com anti-soros específicos para alguns potyvírus, indicaram que o VMCl e os potyvírus BlCMV e BCMV são relacionados, porém distintos, devido a formação de esporão (FIGURA 4). Todavia, não houve nenhum relacionamento sorológico com os vírus pertencentes aos grupos Comovírus e Tymovírus. Tais características sorológicas servem para confirmar a inclusão do VMCl no grupo dos potyvírus. De acordo com PURCUFFUL & BATCHELOR (1977) e LIMA (1978), é comum observar-se relacionamento sorológico entre membros do grupo Potyvírus e nenhum caso de relacionamento sorológico tem sido observado entre potyvírus e vírus pertencentes a outros grupos.

Nos testes de transmissibilidade do VMCl por afídeo, verificou-se que o mesmo não foi transmitido por *Aphis craccivora*. Segundo SRIVASTAVA et al. (1978), o ClMV é transmitido por diversas espécies de afídeos, encontrando-se, entre estas, a espécie *Aphis craccivora*, o mesmo verificando-se para o BCMV (KENNEDY, 1962; ZETTLER, 1969). O resultado negativo da transmissão do VMCl por *Aphis craccivora* não exclui a possibilidade do mesmo ser transmitido por outras espécies de afídeo.

O VMCl mostrou ser facilmente transmitido por ferramentas utilizadas no corte. Desta forma, toda precaução deve ser tomada para evitar a introdução deste vírus em áreas cultivadas com cunhã, visto ser esta cultura destinada a fins forrageiros e indicada para produção de feno, segundo Boletim informativo da equipe técnica do Departamento de Zootecnia da UFC (EMATERCE, s/ data), requerendo, portanto, a necessidade de repetidos cortes durante o período de cultivo. Assim, sendo, o vírus poderia ser disseminado, num curto período de tempo, dentro de uma grande área cultivada com cunhã.

Embora a percentagem de transmissão do VMCl por sementes de *C. ternatea* tenha-se mostrado baixa (0,85%), a mesma pode desempenhar papel de grande importância na epidemiologia desta virose, uma vez que as sementes infetadas irão constituir fontes primárias de inóculo, ocasionalmente distribuídas dentro de uma cultura, facilitando a sua disseminação secundária por outros meios, inclusive ferramenta de corte. Portanto, cada planta originada de uma semente infetada poderá dar origem a 10 plantas infetadas logo após a rebrota do primeiro corte. Entre os diferentes pontos de relevância aqui evidenciados, vale acrescentar que este trabalho constitui a primeira referência sobre transmissibilidade de vírus por sementes de *C. ternatea*.

O vírus em estudo teve bastante influência sobre o crescimento das plantas, ocasionando considerável decréscimo na produtividade das plantas infetadas, nos diferentes cortes (TABELA 2). Segundo VICENTE (1979), a invasão dos organismos vegetais por vírus modifica, com frequência, o seu crescimento e o seu desenvolvimento. Nos últimos 50 anos, várias teorias foram propostas baseadas no desequilíbrio hormonal, pois as quantidades de reguladores de crescimento são alteradas nos tecidos infetados (SEQUEIRA, 1973; VICENTE, 1979). Embora as plantas infetadas hajam apresentado reduções no peso verde e peso-feno, quando comparadas com plantas sadias (TABELA 2), somente nos primeiros cortes de ambos experimentos notaram-se diferenças estatisticamente significativas. A avaliação do efeito de vírus vegetais sobre as plantas hospedeiras tem despertado o interesse de vários estudiosos do assunto, havendo sido constatado reduções significativas no crescimento e na produção de diferentes espécies vegetais infetadas por vírus (ÁVILA et al., 1977; CANER et al., 1981; GONÇALVES & LIMA, 1982).

Embora tenha sido constatado um acentuado aumento do teor proteico em plantas de *C. ternatea* infetadas (TABELA 2), o VMCl poderá acarretar uma redução no total de proteína por

planta, uma vez que o mesmo reduz, de maneira significativa, o crescimento das plantas e, conseqüentemente, o rendimento de massa verde (TABELA 2). O elevado aumento na percentagem de proteína poderá ser resultante da presença do grande número de inclusões formadas pelo potyvírus em estudo (FIGURA 3). Segundo pesquisas desenvolvidas por vários autores, as inclusões citoplasmáticas induzidas pelos potyvírus nas células hospedeiras são de natureza proteica (HIEBERT & McDONALD, 1973; EDWARDSON, 1974; LIMA et al., 1979b). Todavia, nada se pode afirmar sobre qualquer benefício deste aumento percentual de proteína para a alimentação animal, principalmente para os monogástricos, dada a inexistência de informações sobre a digestibilidade e valor biológico das proteínas das inclusões induzidas pelo vírus (FIGURA 3). Este assunto poderia constituir objeto de estudos futuros.

Quando coradas com calcomina laranja e luxol verde brilhante, as inclusões induzidas pelo VMCl podem ser, facilmente, visualizadas ao microscópio ótico, nas células de plantas de cunhã sistemicamente infetadas pelo vírus (FIGURA 3). Segundo LIMA (1980), este constitui um método eficiente e relativamente barato para diagnose de infecções ocasionadas por potyvírus. A microscopia ótica tem sido usada como uma técnica fundamental na identificação de infecções virais, no Laboratório de Virologia Vegetal da UFC (LIMA et al., 1979a; LIMA et al., 1980a; LIMA & LIMA, 1980; LIMA et al., 1980b; LIMA, 1980). Embora as inclusões citoplasmáticas sejam formadas por proteínas codificadas pelos genomas dos potyvírus, as mesmas têm peso molecular e características sorológicas diferentes das dos capsídeos (SHEPARD & SHALLA, 1969; HIEBERT et al., 1971; PURCIFULL et al., 1973; PURCIFULL & BATCHELOR, 1977; LIMA, 1978; LIMA, 1980).

De outra parte, de acordo com GOODMAN et al. (1967), somente alguns vírus vegetais, entre os quais destacam-se o "tobaco mosaic vírus" (TMV, vírus do mosaico do fumo) e "potato vírus X" (PVX, vírus X da batatinha), multiplicam-se in

tensamente nas células hospedeiras, contribuindo para um significativo aumento da proteína total das plantas infetadas, exercendo, conseqüentemente, considerável abalo nas proteínas normais da planta hospedeira. Segundo GOODMAN et al. (1967), uma infecção do TMV, quando muito, acarreta um aumento de 30% de proteína solúvel de plantas de fumo, *Nicotiana tabacum* L. Desta forma, torna-se difícil, ou mesmo impossível, emitir opiniões generalizadas sobre a influência das infecções virais sobre o metabolismo das proteínas das plantas infetadas.

O VMCl é um potyvírus sorologicamente relacionado com o BCMV e bastante semelhante ao vírus descrito por SRIVASTAVA et al. (1978), não se podendo, contudo, afirmar que o VMCl e o vírus isolado de *C. ternatea*, na Índia (SRIVASTAVA et al., 1978), sejam raças de um mesmo vírus, uma vez que os mencionados autores nada esclareceram sobre as propriedades morfológicas, citológicas e sorológicas do ClMV.

## 6 - CONCLUSÕES

Com base nos resultados dos estudos das propriedades biológicas, citológicas, sorológicas e de transmissibilidade natural do vírus isolado de *C. ternatea*, denominado de "vírus do mosaico da clitória" (VMCl), conclui-se que:

- (a) O VMCl pertence ao grupo Potyvírus, é sorologicamente relacionado, porém distinto, do BlCMV e do BCMV, possui um círculo de hospedeiras semelhante aos do BCMV e do vírus descrito por SRIVASTAVA et al. (1978) e difere bastante do CYVV isolado de *C. ternatea*, na África (BOCK et al., 1977);
- (b) Embora bastante semelhante ao BCMV, o VMCl pode ser distinguido desse pela formação de esporão em testes sorológicos de dupla difusão em agar e através de diferenças nos seus respectivos círculos de hospedeiras;
- (c) O VMCl é de fácil transmissão mecânica, sendo transmitido pela ferramenta utilizada no corte de plantas; embora em baixa percentagem, o é, também, por sementes de *C. ternatea*, o que sugere toda precaução no sentido de evitar sua introdução em novos campos de cunhã;
- (d) O VMCl não foi transmitido por *Aphis craccivora*, o que não exclui a possibilidade de o ser por outras espécies de afídeos;

- (e) O VMCl aumentou significativamente o teor de proteína bruta das plantas infetadas, possivelmente acarretando uma redução no total de proteína, uma vez que o mesmo reduziu o crescimento das plantas e, consequentemente, o rendimento de massa verde.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, J.J.L. Estatística Experimental. Apostila. 12 pp. 1979.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 11<sup>th</sup> ed., Washington D.C. 1015 pp. Estados Unidos. 1970.
- ÁVILA, A.C., LIN, M.T. & KUHN, G.B. Os efeitos biológicos do vírus do mosaico da abóbora e o vírus do mosaico da melancia, sobre abóboras. Fitopatologia Brasileira 2:66. (Resumo) 1977.
- BERCKS, R. Sorologische untersuchungen zur differenzierung von Isolaten des Phaseolus-virus 2 und ihrer verwandschaft mit phaseolus-virus 1. Phytopathology. 39:120-128. 1960.
- BOCK, K.R., GUTHRIE, E.J. & MEREDITH, G. Clitoria yellow vein virus, a tymovirus from kenya. Ann. Appl. Biol. 85:97-103. 1977.
- BOCK, K.R. & GUTHRIE, E.J. Clitoria yellow vein virus, a tymovirus from kenya. C.M.I./A.A.B. Descriptions of plant viruses, nº 171, 4 pp. 1977.
- BOS, L. Bean common mosaic virus. C.M.I./A.A.B. Descriptions of plant viruses, nº 73, 4 pp. 1971.
- BRAGA, R. Plantas do Nordeste, Especialmente do Ceará. Imprensa Oficial, 2<sup>a</sup> ed. VII + 540 pp. 1960.
- BRAVO, F.O. Estudios sobre la composicion quimica de semillas de *Clitoria ternatea* L. Tecn. Pecuaria, Mex. 18 : 100-102. 1971.
- BURKHOLDER, W.H. & MULLER, A.S. Hereditary abnormalities resembling infectious diseases in beans. Phytopathology 16 : 731-737. 1929.

- CANER, J., KUDAMATSU, M., BARRADAS, M.M., FAZIO, G., NORONHA, A., VICENTE, M. & ISSA, E. Avaliação dos danos causados pelo vírus do mosaico dourado do feijoeiro (VMDF), em três regiões do Estado de S. Paulo. *Biológico* 47 : 39-46. 1981.
- CHRISTIE, R.G. Rapid staining procedures for differentiating plant virus inclusions in epidermal strips. *Virology*. 31 : 268-271. 1967.
- CHRISTIE, R.G. & EDWARDSON, J.R. Light and electron microscopy of plant virus inclusions. *Florida Agric. Exp. Stn. Monogr. Ser. 9* : 150 pp. 1977.
- CROWDER, L.V. *Clitoria ternatea* L. as a forage and cover crop. *Niger Agric. J.*, 11 : 61-65. 1975.
- DEAN, L.L. & WILSON, V.E. A new strain of common bean mosaic in Idaho. *Plant Disease Reporter* 43 : 1108-1110. 1959.
- DRIJFHOUT, E. & BOS, L. The identification of two new strains of bean common mosaic virus. *Neth. J. Pl. Path.* 83 : 13-25. 1977.
- EDWARDSON, J.R. Some properties of the potato virus-Y group. *Fla. Agric. Exp. Stn. Monogr. Ser. 4* : 398 pp. 1974.
- EMATERCE - EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL. Universidade Federal do Ceará - Centro de Ciências Agrárias. Depto de Zootecnia - Cunchã (*Clitoria ternatea* L.). Fortaleza. BNB, s/ data - boletim informativo.
- EPHRAIM, J.A. & SAETTLER, A.W. Distribution pattern of bean common mosaic virus in developing bean seed. *Phytopathology*. 64 : 269-270. 1974.
- GADÊLHA, J.A., PEREIRA, R.M.A., ARAÚJO FILHO, J.A. CUNHÃ uma forrageira para produção de feno no semi-árido nordestino. Universidade Federal do Ceará. Departamento de Zootecnia. 4 pp. 1980.

- GAMEZ, R., OSORES, A. & ECHANDI, E. Uma raza nueva del virus del mosaico comum del frijol. Turrialba. 20 : 397-400. 1970.
- GONÇALVES, M.F.B. & LIMA, J.A.A. Efeito do "cowpea severe mosaic virus" sobre a produtividade de feijão-de-corda cv. "Pituba". Fitopatologia Brasileira. 7 : 547 (Resumo) 1982.
- GOODMAN, R.N., KIRALY, Z. & ZAITLIN, M. The Biochemistry Physiology of Infectious Plant Disease. D. Van Nostrand Company, INC, London. X + 327 pp. 1967.
- GROGAN, R.G. & WALKER, J.C. Interrelation of bean virus 1 and bean virus 2 as shown by cross protection tests. Phytopathology. 38 : 489-493. 1948.
- HIEBERT, E. & McDONALD, J.G. Characterization of some proteins associated with viruses in the potato Y group. Virology. 56 : 349-361. 1973.
- HIEBERT, E., PURCIFULL, D.E., CHRISTIE, R.G. & CHRISTIE, S.R. Partial purification of inclusions induced by tobacco etch virus and potato virus Y. Virology. 43 : 638-646. 1971.
- INFORMES ANUALES. Programa de pastos y forrages. Inst. Col. Agropec. (IAC) Min. Agric. Bogota, Colombia (Mimeo). 4 pp. 1960-1970.
- KAISER, W.J. & MOSSAHEBI, G.H. Natural infection of mung bean by bean common mosaic virus. Phytopathology. 64 : 1209-1214. 1974.
- KATIYAR, R.C., RAJHAN, S.K. & SHUKLA, K.S. Yield and nutritive value of *Clitoria ternatea* - a wild perennial legume for sheep. Indian Dairy Sci. 23 : 79-81. 1970.
- KENNEDY, J.S., DAY, M.F. & EASTOP, J.F. A conspectus of aphids as vectors of plant viruses. Commonwealth Institute of Entomology. 114 pp. 1962.

- LIMA, J.A.A. Blackeye cowpea mosaic virus: purification partial characterization, serology and immunochemical and cytological techniques for detection of virus infected legume seeds. Tese de Ph.D, Universidade da Florida, Gainesville, USA. 154 pp. 1978.
- . Testes sorológicos para identificação de vírus de leguminosas. *Fitopatologia Brasileira*. 4 : 215-225. 1979.
- . Inclusões em cataventos induzidas pelos potyvírus. *Fitopatologia Brasileira*. 2 : 219-220. 1980.
- LIMA, J.A.A., FERNANDES, E.R. & MENDES, M.L. Identificação sorológica de "watermelon mosaic virus-1" em cucurbitáceas cultivadas e nativas do Rio Grande do Norte. *Fitopatologia Brasileira*. 5 : 414 (Resumo). 1980a.
- LIMA, J.A.A., FLORINDO, M.I. & FERNANDES, E.R. Características citológicas e sorológicas, e círculo de hospedeiras de um vírus isolado de *Clitoria ternatea* L. *Fitopatologia Brasileira*. 6 : 523 (Resumo). 1981a.
- LIMA, J.A.A. & LIMA, M.G.A. Ocorrência de um potyvírus em feijão-de-corda no Estado do Rio Grande do Norte. *Fitopatologia Brasileira*. 5 : 415 (Resumo). 1980.
- LIMA, J.A.A. & NELSON, M.R. Purificação e identificação sorológica do "cowpea mosaic virus" em *Vigna sinensis* Endl., no Ceará. *Ciência Agronômica*. 3 : 5-8. 1974.
- LIMA, J.A.A., OLIVEIRA, F.M.E.W., KITAJIMA, E.W. & LIMA, M.G.A. Propriedades biológicas, citológicas e sorológicas de um potyvírus isolado de feijão-de-corda no Ceará. *Fitopatologia Brasileira*. 6 : 205-216. 1981b.
- LIMA, J.A.A., OLIVEIRA, F.M.E.S. & PAIVA, J.B. Algumas propriedades biológicas e citológicas de um potyvírus isolada de caupi no Estado do Ceará. *Fitopatologia Brasileira*. 4 : 119-120 (Resumo). 1979a.

- LIMA, J.A.A., PURCIFULL, D.E. & HIEBERT, E. Purification, partial characterization, and serology of blackeye cowpea mosaic virus. *Phytopathology*. 69 : 1252-1258. 1979b.
- LIMA, J.A.A., PURCIFULL, D.E. & SONODA, R. Some properties of a potyvirus isolated from siratro in Flórida. XVI Reunión Anual da Divisão do Caribe da Sociedade Americana de Fitopatologia. David - Panamá 1977.
- LIMA, J.A.A., SANTOS, J.H.R. & PAIVA, J.B. Fontes de resistência em cultivares de feijão-de-corda ao fungo *Cercospora cruenta* e a um potyvirus isolado no Estado do Ceará. *Ciên. Agron.* 9 : 95-98. 1979c.
- LIMA, J.A.A., SOUZA, C.A.U. & MARTINS, O.F. Infecção dupla de "watermelon mosaic virus" e "squash mosaic virus" em melancia no Estado do Piauí. *Fitopatologia Brasileira*. 5 : 417 (Resumo). 1980b.
- LOTERO, J., CHAVERRA, H. & CROWDER, L.V. Gramineas y leguminosas forrajeras en Colombia. *Inst. Col. Agropec. Asst. Tec. Manual N° 10*. Bogotá. 3 pp. 1970.
- MAGALHÃES, B.P. & COSTA, C.L. Transmissibilidade do vírus do mosaico comum do feijoeiro pela semente de variedades recomendadas para plantio no Brasil. *Fitopatologia Brasileira*. 3 : 96 (Resumo). 1978.
- MORENO, R., GAMEZ, R. & GONZALEZ, L.C. El vírus del mosaico comum del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) em Costa Rica. *Turrialba*. 18 : 257-263. 1968.
- MOSES, G.J. & NARIANI, T.K. A mosaic disease of *Phaseolus atropurpureus*. *Indian Phytopathology*. 28 : 102-103. 1975.
- PIERCE, W.H. Viroses of the bean. *Phytopathology*. 24 : 87-115. 1934.

- PIERCE, W.H. & HUNGERFORD, C.W. Symptomatology, transmission, infection, and control of bean mosaic in Idaho. Idaho Expt. St.<sup>a</sup> Research Bull. 7 : 37 pp. 1929.
- PONTE, J.J. da. Subsídios ao conhecimento de plantas hospedeiras e ao controle dos nematóides das galhas, *Meloidogyne* spp, no Estado do Ceará. Bol. Soc. Cear. Agron., Fortaleza, 9 : 1-26. 1968.
- PROVVIDENTI, R. & BRAVERMAN, S.W. Seed transmission of bean common mosaic virus in phasemy bean. *Phytopathology*. 66 : 1274-1275. 1976.
- PROVVIDENTI, R. & COBB, E.D. Seed transmission of bean common mosaic virus in tepary bean. *Plant Disease Reporter*. 59 : 966-969. 1975.
- PURCIFULL, D.E. & BATCHELOR, D.L. Immunodiffusion tests with sodium dodecyl sulfate (SDS) - treated plant viruses and plant viral inclusions. Univ. Florida Agric. Esp. Stn. Bull. Nº 788 (Tech) 39 pp. 1977.
- PURCIFULL, D.E., HIEBERT, E. & McDONALD, J.G. Immunochemical specificity of cytoplasmic inclusions induced by viruses in the potato Y group. *Virology*. 55 : 275-279. 1973.
- QUANTZ, L. Untersuchungen über das Gewöhnliche Bohnenmosaik virus und das soja mosaik virus. *Phytopathol. Z.* 43 : 79-101. 1961.
- REDDICK, D. & STEWART, V.B. Transmission of the virus of bean mosaic in seed and observation on thermal deathpoint of seed and virus. *Phytopathology*. 9 : 445-450. 1919.
- RICHARDS, B.L. & BURKHOLDER, W.H. A new mosaic disease of beans. *Phytopathology*. 33 : 1215-1216. 1943.
- SEQUEIRA, L. Hormone metabolism in diseased plants. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 24 : 353-380. 1973.
- SHEPARD, J.F. & SHALLA, T.A. Tobacco etch virus cylindrical inclusions antigenically unrelated to causal virus. *Virology*. 38 : 185-199. 1969.

- SRIVASTAVA, B.N., SRIVASTAVA, K.M. & SINGH, B.P. Mosaic disease of *Clitoria ternatea* - a new record from India. Indian Phytopathology. 31 : 248-251. 1978.
- STEWART, V.B., & REDDICK, D. Bean common mosaic virus. Phytopathology. 7 : 61. 1917.
- TRINDADE, D.R., COSTA, C.L., KITAJIMA, E.W. & LIN, M.T. Caracterização de estirpes do vírus do mosaico comum do feijoeiro, no Brasil. Fitopatologia Brasileira, 4 : 157. (Resumo). 1979.
- WEHLBURG, C., ALFIERI, S.A., LANGDON, Jr., K.R., & KIMBROUGH, J.W. Index of Plant Diseases in Florida. Division of Plant Industry, Gainesville, Florida, Bulletin. 11:285pp. 1975.
- VASCONCELOS, I. Primeira contribuição ao inventário de fungos de plantas do Ceará. Bol. Soc. Cear. Agron. 6:79-99. 1965.
- . Segunda contribuição ao inventário de fungos de plantas do Ceará. Bol. Soc. Cear. Agron. 10:33-39. 1969.
- . Terceira contribuição ao inventário de fungos de plantas do Ceará. Bol. Soc. Cear. Agron. 1:121-128. 1971.
- VASCONCELOS, M.F.R. Purificação e sorologia de raças de "cowpea severe mosaic virus" isoladas de quatro espécies de Leguminosas que vegetam no Nordeste brasileiro. Tese de Mestrado. Univ. Federal do Ceará. Fortaleza, Ceará. 50pp. 1982.
- VICENTE, M. Fisiologia de plantas infetadas por vírus. Fitopatologia Brasileira. 4 : 181-187. 1979.
- ZAUMEYER, W.J. & GOTH, R.W. A new severe symptom - inducing strain of common bean mosaic virus. Phytopathology. 54 : 1378-1385. 1964.
- ZAUMEYER, W.J. & THOMAS, H.R. A monographic study of bean diseases and methods for their control. U.S. Dept. Agric. Tech. Bull. 868. 255 pp. 1957.

ZETTLER, F.W. The heterogeneity of beans leaves as sources  
of bean common mosaic virus for aphids. Phytopathology.  
59 : 1109. 1969.

DAT./GN/1983.