

PROPRIEDADES SOROLÓGICAS, CITOLÓGICAS E DE TRANSMISSIBILIDADE  
DE UM POTYVIRUS E AVALIAÇÃO DOS SEUS EFEITOS EM  
FEIJÃO-DE-CORDA

FÁTIMA MARIA EUGÊNIO DE SOUSA OLIVEIRA

---

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

FORTALEZA - 1985

Esta Dissertação foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Agronomia, com 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.

---

Fátima Maria Eugênio de Sousa Oliveira

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 30/01/85

---

Prof. José Albérico de Araújo Lima  
Orientador da Dissertação

---

Prof. José Braga Paiva

---

Prof. Marcos Vinícius Assunção

"À memória de minha  
*mãe*, com eterna  
gratidão".

Ao meu esposo, LUIZ CÉSAR  
e filha REBEÇA

D E D I C O

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que em momento algum deixou de me conceder forças e coragem na realização deste trabalho.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), pelos subsídios financeiros.

Ao professor José Albérico de Araújo Lima, não só pela valiosa e dedicada orientação deste trabalho, como também pela oportunidade, amizade e incentivo na realização do curso.

Aos professores José Braga Paiva e Marcos Vinícius Assunção pelas sugestões e presença na banca examinadora.

Ao pesquisador Alberto Carlos de Queiroz Pinto, pelo apoio, sugestões e permanente ajuda.

Ao estatístico Antonio Carlos Gomes, pela ajuda por ocasião da análise estatística dos dados.

Ao Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup> Hipérides Leandro de Farias e demais colegas pelo apoio e amizade.

Aos funcionários do Laboratório de Virologia, pela prestatividade com que me ajudaram.

A minha mãe (*in memoriam*), pelo apoio, incentivo e ajuda em todos os momentos de minha vida, o meu mais profundo reconhecimento.

Ao meu esposo, pelo companheirismo, incentivo e dedicação.

Aos meus irmãos, pela permanente ajuda.

Enfim, a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para o êxito 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
3 - <u>MATERIAL E MÉTODOS</u> .....	9
3.1 - <u>Isolamento e Manutenção do vírus</u> .....	9
3.2 - <u>Sorologia</u> .....	9
3.3 - <u>Citologia</u> .....	10
3.4 - <u>Transmissão por Afídio</u> .....	10
3.5 - <u>Avaliação de Danos Ocasionados pelo Vírus</u> ...	11
3.6 - <u>Transmissibilidade do Vírus por Sementes</u> ....	14
3.7 - <u>Análise Estatística</u> .....	14
4 - <u>RESULTADOS</u> .....	16
4.1 - <u>Sorologia</u> .....	16
4.2 - <u>Citologia</u> .....	16
4.3 - <u>Transmissão por Afídio</u> .....	20
4.4 - <u>Avaliação de Danos Ocasionados pelo Vírus</u> ...	20
4.5 - <u>Transmissão por Sementes</u> .....	28
5 - <u>DISCUSSÃO</u> .....	32

	Página
6 - <u>CONCLUSÕES</u> .....	37
7 - <u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u> .....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Análise de variância representada pelo quadrado médio referente aos parâmetros de crescimento de plantas de feijão-de-corda ( <i>Vigna unguiculata</i> ) tomadas aos 40 dias após a semeadura .....	22
2	Dados médios de parâmetros de crescimento avaliados aos 40 dias após a semeadura sob condições de casa-de-vegetação em plantas de feijão-de-corda ( <i>Vigna unguiculata</i> ) cv. Pitiúba inoculadas e não inoculadas com um potyvirus e percentagens de redução ou aumento em relação ao controle .....	23
3	Análise de variância representada pelo quadrado médio referente aos parâmetros de produção de plantas de feijão-de-corda ( <i>Vigna unguiculata</i> ) cv. Pitiúba tomadas no período de 45 a 100 dias após a semeadura .....	25
4	Dados médios dos parâmetros de produção de plantas de feijão-de-corda ( <i>Vigna unguiculata</i> ) cv. Pitiúba inoculadas e não inoculadas (controle) com um potyvirus, tomados de 45 a 100 dias da semeadura e percentagens de redução em relação ao controle .....	27
5	Transmissão de um potyvirus por sementes de feijão-de-corda cv. Pitiúba colhidas de plantas artificialmente inoculadas aos 10, 20 e 30 dias após a semeadura .....	30

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Folha de planta de <i>Vigna unguiculata</i> cv. Pitiúba inoculada mecanicamente com um potyvirus, apresentando sintoma de mosaico ...	17
2	Planta de <i>Chenopodium amaranticolor</i> apresentando sintomas de lesões necróticas localizadas, causadas pelo potyvirus isolado de feijão-de-corda .....	18
3	Teste sorológico de dupla difusão em agar, contendo 0,8% 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 BLCMV e um potyvirus isolado de feijão-de-corda .....	19
4	Células da epiderme foliar de <i>Vigna unguiculata</i> cv. Pitiúba infetada por potyvirus, coradas com uma combinação de calcomina-laranja e luxol verde brilhante, visualizadas ao microscópio ótico .....	21
5	Percentagens de transmissão de um potyvirus, através de sementes de <i>Vigna unguiculata</i> colhidas de plantas artificialmente inoculadas aos 10, 20 e 30 dias após a sementeira..	31

## RESUMO

Na presente pesquisa estudaram-se algumas propriedades sorológicas e citológicas de um vírus isolado de feijão-de-corda, *Vigna unguiculata*, a sua transmissibilidade por sementes e os seus efeitos na cv. Pitiúba, em casa-de-vegetação. Com base nos resultados obtidos, o vírus foi identificado como uma raça de "cowpea aphid-borne mosaic" (CAMV). O mesmo foi transmitido por pulgão de maneira não persistente, apresentando um índice de transmissibilidade por semente de 1,02%.

Plantas de *Chenopodium amaranticolor* inoculadas mecanicamente com o vírus apresentaram sintomas de lesões necróticas localizadas. Testes sorológicos realizados contra anti-soro específico para o "blackeye cowpea mosaic virus" (BlCMV) revelaram seu relacionamento sorológico com o vírus em estudo. De outra parte, o vírus não apresentou nenhum tipo de reação com anti-soros para os potyvirus "bidens mottle virus", "potato virus Y", "tobacco etch virus" e "soy bean mosaic virus". Inclusões citoplasmáticas semelhantes às descritas para os potyvirus foram detectadas com o auxílio do microscópio ótico, em material foliar infetado pelo vírus.

Nos estudos dos efeitos causados pelo vírus, 40 dias após a sementeira, somente a altura das plantas sofreu reduções significativas (25%) em relação ao controle. Os resultados determinados 100 dias da sementeira mostraram reduções significativas ocasionadas pelo vírus no número e peso total de sementes, bem como, no peso de 100 sementes. A produção média final do peso total de sementes das plantas inocu

ladas com o vírus foi reduzida em 51,5% em relação ao controle, sendo que a inoculação mais tardia (30 dias da semeadura) ocasionou uma redução na produção de 56%.

## ABSTRACT

Some serological and cytological properties of a virus isolated from cowpea, *Vigna unguiculata*, its transmissibility by seeds, and its effects on cowpea cv. Pitiuba were studied in greenhouse conditions. The virus which was identified as a strain of cowpea aphid-borne mosaic virus (CAMV), was transmitted by aphid in a non-persistent manner and presented a seed transmission rate of 1.02%.

Plants of *Chenopodium amaranticolor* mechanically inoculated with the virus showed necrotic local lesions. Tests developed against antiserum specific for blackeye cowpea mosaic virus (BlCMV) revealed its serological relationship with the virus. On the other hand, the virus did not show any kind of reaction against the antisera for the following potyviruses: bidens mottle virus, potato virus Y, tobacco etch virus and soybean mosaic virus. Cytoplasmic inclusions similar to those described for the potyviruses were detected by the light microscope in cells of cowpea leaves infected with the virus.

Only the height of the plants inoculated with the virus was significantly reduced (25%) in relation to the control (non-inoculated plants), when the effects of the virus on cowpea were evaluated 40 days after sowing. On the other hand, according to the results obtained 100 days after sowing, the virus caused significant reductions on the number and weight of seeds as well as on the weight of 100 seeds. The total seed production of the plants inoculated 30 days after sowing was reduced by 56%, while its average among all the inoculated plants showed a reduction of 51.5% in relation to the control.

## 1 - INTRODUÇÃO

O feijão-de-corda, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (= *Vigna sinensis* (Endl) L.) é largamente cultivado em diversas partes do mundo. Contribui significativamente para suprir as necessidades alimentícias de vários países, sendo cultivado notadamente na Nigéria, responsável por 60% da produção mundial; na Índia, em várias nações da América Central e nos Estados Unidos, em particular nos Estados do Alabama, California e Georgia. No Brasil, o feijão-de-corda, também conhecido como feijão macassar e caupi, é explorado principalmente nas Regiões Norte e Nordeste, sendo cultivado em quase todos os Estados dessa última região com notada expressão nos Estados do Rio Grande do Norte, Ceará, Maranhão e Piauí. A contribuição do feijão-de-corda, chega a 80% da produção das leguminosas cultivadas para o uso alimentício humano na maior parte do Polígono das secas (PAIVA, et al., 1975; ZAMBONI & SOUZA, 1980). Representa grande expressão econômica e social para o Nordeste do Brasil, principalmente para o Ceará, onde ocupa o quarto lugar em valor comercial, contribuindo com 11% da renda Agrícola (IBGE, 1980).

A maioria dos feijões-de-corda cultivada no Brasil, desenvolve-se e reproduz-se em menos de 4 meses, podendo algumas variedades, sob certas condições, prolongarem seus ciclos por pouco mais de 5 meses (ZAMBONI & SOUZA, 1980).

Botanicamente, o feijão-de-corda pertence à classe das Dicotiledôneas, ordem Rosales, família Leguminosae, sub-família Papilionoidae.

O valor alimentício das sementes desta cultura apresenta elevados teores de proteínas e carboidratos, bem

como baixo teor de gordura, quando comparado à soja, *Glycine max* (L.) MERRILL, tornando-se evidente sua maior contribuição para as populações carentes em reservas energéticas. Além disso, possui valor nutricional de cálcio, ferro e vitaminas, superior às espécies cultivadas do gênero *Phaseolus* (PAIVA & TEOFILO, 1977; MAFRA, 1979). Esta leguminosa tem se constituído em foco de atenção por parte de pesquisadores e entidades de pesquisas no que diz respeito ao controle de moléstias que causam danos consideráveis na sua produção. Dentre outras enfermidades que se manifestam sobre o feijão-de-corda, as viroses têm sido referidas como responsáveis por grandes prejuízos, trazendo reflexos negativos à produção da citada cultura em várias partes do mundo. (KUHN et al., 1966; ZETTLER & EVANS, 1972; BOCK, 1973).

O presente estudo teve como objetivos principais estudar as propriedades sorológicas e citológicas de um vírus isolado de feijão-de-corda, a sua transmissibilidade por pulgão e por sementes e a avaliar os seus efeitos na cv. Pitiúba, através de inoculações mecânicas, utilizando-se material mantido em condições de casa-de-vegetação. Parte dos resultados aqui contidos já foi apresentada em Congresso e publicada em periódico científico (LIMA et al., 1979a; LIMA et al., 1981).

## 2 - REVISÃO DE LITERATURA

A ocorrência de mosaico em plantas do gênero *Vigna* tem sido assinalada em várias partes do mundo. O primeiro registro de mosaico em *Vigna unguiculata* foi feito em Arkansa, Estados Unidos, por ELLIOT (1921) e, mais tarde, possivelmente, por SMITH (1924), também nos Estados Unidos da América do Norte que relatou a ocorrência de um vírus, transmitido pelo besouro *Ceratomyxa trifurcata* Forst.

Posteriormente foi registrada a incidência de mosaico em *Vigna* sp. em Trinidad (DALE, 1943, 1949), na China (YU, 1946), na Florida E.U.A. (ANDERSON, 1955), na Nigéria (CHANT, 1959), na República da África do Sul (KLESSER, 1960), no Japão (HINO, 1960) na Georgia E.U.A. (KUHN, 1964), no Alabama E.U.A. (KUHN, 1964); HARRISON & GUDAUSKAS, 1968), na Venezuela (DEBROT & ROJAS, 1967) e em Porto Rico (PEREZ & CORTEZ - MONLLOR, 1970).

No Brasil, a ocorrência do mosaico em feijão-de-corda, *V. unguiculata*, foi registrada primeiramente por OLIVEIRA (1947) no Estado do Rio Grande do Sul. A identificação de "cowpea mosaic virus" (CpMV) como agente causador do mosaico do feijão-de-corda no Estado de São Paulo foi realizada por COSTA et al., (1969) e CANER et al. (1969). Mais tarde, um detalhado estudo foi realizado por VITAL et al. (1972) sobre a gama de hospedeiros do agente causal e sintomatologia do mosaico do feijão-de-corda no Estado de Pernambuco, embora o vírus não tenha sido especificamente identificado. OLIVEIRA et al. (1969), LIMA et al. (1974) e LIN & KITAJIMA (1978) nos Estados de São Paulo e Ceará e no Distrito Federal respectivamente, realizaram trabalhos através dos quais obtiveram anti-soros específicos para o CpMV.

Estudos sorológicos para a identificação do CpMV foram realizados nos Estados do Ceará (LIMA & NELSON, 1977), Piauí (COSTA et al. 1978) e em Pernambuco (PAGUIO, 1979). Ainda segundo LIMA & NELSON, 1977 entre os principais vírus que infectam o feijão-de-corda o CpMV foi o patógeno que ocorreu com mais frequência no Estado do Ceará àquela época.

Durante vários anos, a denominação "cowpea mosaic virus" (CpMV) foi indistintamente usada para designar isolados pertencentes às duas principais estirpes do vírus: "yellow strain" (raça amarela) e "severe strain" (raça severa). A referida denominação foi sugerida por AGRAWAL (1964) e adotada por vários anos. Da mesma forma, van KAMMEN (1971) usou a mesma descrição para o CpMV. Segundo o mesmo autor, os subgrupos "severo" e "amarelo" podem ser distinguidos através da sorologia, do estudo de hospedeiros e de sintomas causados em *Chenopodium amaranticolor* Coste e Reyn. Estudos posteriores realizados por SWAANS & van KAMMEN (1973) confirmaram a distinção entre as raças severa ("severe strain") e a amarela ("yellow strain"). Assim sendo, a denominação de "cowpea mosaic virus" foi usada para os isolados pertencentes à raça amarela (van KAMMEN & de JAGER, 1978) enquanto a raça severa recebeu a denominação de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV) (de JAGER, 1979).

A partir de 1980, todos os isolados do CpMV descritos no Brasil passaram a receber a denominação de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), atendendo à sugestão de PIO-RIBEIRO & PAGUIO (1980). GONÇALVES & LIMA (1982) já usando a nova denominação, CpSMV, estudaram os efeitos causados por este vírus na produção de feijão-de-corda e, verificaram perdas de até 81% no peso total de sementes. PAGUIO (1980) demonstrou que a maioria das cultivares de feijão macassar (*V. unguiculata*) é suscetível ao CpSMV, embora a severidade de sintomas diferisse para cada cultivar ou linhagem.

Um vírus isolado no Nordeste da Itália foi estudado por LOVISOLO & CONTI (1966) os quais o denominaram de "cow pea aphid-borne mosaic virus" (CAMV). Referido vírus mede aproximadamente 750 nm de comprimento é capaz de infetar várias espécies de leguminosas e é transmitido por pulgão de maneira não persistente (VIDANO & CONTI, 1965; BOCK, 1973). BOCK (1973) isolou na África um vírus com características semelhantes ao potyvirus estudado anteriormente na Itália e identificou a existência de três raças através do estudo de gama de hospedeiros e características sorológicas. No Irã, também um potyvirus, transmitido por sementes de feijão-de-corda foi identificado como CAMV (KAISER et al., 1968). Estudos realizados posteriormente com o CAMV isolado do Irã indicaram sua similaridade com os isolados da Itália e da África (KAISER & MOSSAHERI, 1975). No Japão foi identificado outro isolado do CAMV infetando *Phaseolus vulgaris* (Willd) Wight (TSUCHIZAKI et al., 1970). Com base no comprimento da partícula do vírus, transmissibilidade por pulgão, gama de hospedeiro, propriedades sorológicas e propriedades físicas foi identificado em Marrocos um potyvirus de plantas de feijão-de-corda como sendo uma raça do CAMV (FISHER & LOCKHART, 1976). Segundo BOCK & CONTI (1974) existem raças do CAMV capazes de infetar algumas espécies vegetais das famílias *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae*, *Curcubitaceae* e *Solanaceae*.

No Brasil, o primeiro relato sobre a ocorrência do CAMV foi no Estado do Ceará por LIMA et al. 1979a e LIMA et al. (1981) que estudaram um potyvirus isolado de feijão-de-corda e o identificaram como uma possível raça de CAMV, com base nos resultados sobre suas propriedades citológicas, sorológicas, gama de hospedeiros e de transmissibilidade por pulgão.

É comum e abundante a presença de inclusões citoplasmática em células de plantas infetadas com CAMV (LIMA 1978; LIMA et al., 1979b). A formação dessas inclusões no citoplasma de células vegetais está sempre associada às infecções ocasionadas por potyvirus (EDWARDSON, 1974). As mesmas podem

ser facilmente observadas ao microscópio ótico (CHRISTIE & EDWARDSON, 1977; LIMA, 1980), constituindo assim, importante característica para a diagnose de infecções ocasionadas por potyvirus. Tais inclusões são de natureza protéica com uma composição distinta da proteína do capsídio do vírus (HIEBERT & McDONALD, 1973; EDWARDSON, 1974; LIMA et al., 1979b). Inclusões induzidas por diferentes potyvirus são sorologicamente distintas e seriam produtos das traduções do genoma viral (CHRISTIE & EDWARDSON, 1977).

Em feijão-de-corda, além do "cowpea aphid-borne mosaic virus" o "blackeye cowpea mosaic virus" (BICMV), parece ocorrer entre nós (LIN et al., 1979) e, isso talvez decorra da introdução indiscriminada de sementes. O BICMV isolado de *Crotalaria spectabilis* Roth em Gainesville, Florida, E.U.A., foi estudado por ANDERSON (1955). A denominação de "blackeye cowpea mosaic virus" tem sido mantida por ZETTLER & EVANS (1972), EDWARDSON et al. (1972), LIMA (1978), PIO-RIBEIRO et al. (1978) e LIMA et al. (1979b). Pertence ao grupo dos potyvirus (LIMA et al., 1979b), apresenta características semelhantes ao CAMV, podendo ser distinguido deste através de propriedades biológicas e sorológicas (LIMA et al., 1976; LIMA et al., 1978; PIO-RIBEIRO et al., 1978; LIMA et al., 1979b; TAIWO & GONÇALVES, 1982; TAIWO et al., 1982).

Estudando vários isolados do "blackeye cowpea mosaic virus" (BICMV) e "cowpea aphid-borne mosaic virus" (CAMV), TAIWO & GONÇALVES (1982) os classificaram em dois grupos sorologicamente distintos. O grupo do BICMV ficou constituído pelos isolados de BICMV da Florida e de Nova York, assim como dos isolados de CAMV provenientes da Kenia e da Nigéria. De outra parte, no grupo do CAMV foram incluídos os isolados de CAMV provenientes de Marrocos e Chipre. Este agrupamento foi também sugerido por TAIWO et al. (1982) com base nas propriedades biológicas e sorológicas dos isolados de BICMV e CAMV acima referidos.

A transmissão de vírus por semente de feijão-de-corda foi reportada inicialmente por GARDNER (1927). A partir de então, considerável atenção tem sido dispensada ao estudo sobre transmissibilidade de vírus por semente (FULTON, 1964; BENNETT, 1966; MORENO et al., 1968; SHEPHERD, 1972; PHATAK, 1974; LIMA et al., 1981; FEGLA et al., 1981; LIMA et al., 1983a).

LOVISOLO & CONTI (1966), demonstraram ser o CAMV transmitido por semente, o que mais tarde foi confirmado por muitos estudos envolvendo diferentes raças do vírus e várias variedades de feijão-de-corda. (BOCK, 1973; BOCK & CONTI, 1974; FEGLA et al., 1981). Embora a transmissão do CAMV por sementes seja relativamente baixa (0 - 3%) quando comparada a de outros potyvirus, como por exemplo o vírus do mosaico comum do feijoeiro (= "bean common mosaic virus") que possui uma taxa de transmissão por semente de feijão comum, em torno de 21 - 58% (MORENO et al., 1968), ela pode desempenhar importante papel na disseminação do vírus no tempo e no espaço. Uma vez que os potyvirus, em geral, são transmitidos por sementes (LOVISOLO & CONTI, 1966; BOCK, 1973; FEGLA et al., 1981) tem-se sugerido a produção de sementes livres de vírus, a fim de se evitar sua perpetuação e disseminação a longas distâncias (MAGALHÃES & COSTA, 1978; TRINIDADE et al., 1979).

Vários estudos têm sido realizados para se determinar os efeitos causados pelos vírus na cultura do feijão-de-corda (TOLER et al., 1963; BRANTLEY et al., 1965). CHANT (1960) estudou a influência do "tabacco mosaic virus" (TMV) e do "cowpea yellow mosaic virus" (CYMV) na taxa de crescimento e produção do feijão-de-corda e demonstrou que o CYMV, particularmente, causou efeitos severos sobre a área foliar, número de flores e produtividade, enquanto o TMV provocou alguma redução na produção. Observações realizadas por PIO-RIBEIRO et al. (1978) com o "cucumber mosaic virus" (CMV) revelaram que a produção do feijão-de-corda, variedades "Ca

Califórnia Blackeye" foi reduzida de 14,2%, enquanto que o "blackeye cowpea mosaic virus" (BlCMV) foi responsável pela redução na produção de apenas 2,5%. De outra parte, no caso de infecção dupla de CMV e BlCMV, PIO-RIBEIRO et al. (1978) verificaram que a produção da cultivar Califórnia Blackeye foi reduzida em 86,4%. Estudos realizados pelo INTERNACIONAL INSTITUTE OF TROPICAL AGRICULTURA (1983) verificaram que na Nigéria, o "cowpea aphid-borne mosaic virus" (CAMV), "cowpea yellow mosaic virus" (CYMV) e "cucumber mosaic virus" (CMV) causaram até 100% de perdas, quando a infecção foi combinada ou isolada em variedades de feijão-de-corda susceptíveis aos mesmos. KAISER & MOSSAHEBI (1975), verificaram que a redução causada pelo CAMV na cultura de feijão-de-corda foi de 87%.

### 3 - MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 - Isolamento e Manutenção do vírus

O vírus em estudo foi inicialmente transmitido pelo pulgão, *Aphis craccivora* Kock, 1854, de maneira não persistente, a partir de plantas infetadas para plantas saudias. O número de pulgões utilizados para cada planta teste (planta sadia) foi de aproximadamente três e, o período de aquisição permitido para cada pulgão foi cerca de 30 a 60 segundos. Dentre as plantas que apresentaram sintomas típicos de mosaico foi selecionada uma, como fonte inicial de vírus. A partir da fonte de inóculo, o vírus foi inoculado em *Chenopodium amaranticolor* Coste e Reyn e *Cassia tora* Linn, plantas que reagem ao vírus em estudo, com sintomas de lesões necróticas localizadas (LIMA, et al., 1981). O Vírus foi reisolado em feijão-de-corda, a partir de lesão única produzida em *C. amaranticolor* e usado para estudos de suas propriedades sorológicas, citológicas, biológicas e de transmissibilidade por sementes.

#### 3.2 - Sorologia

Estudo sorológico foi realizado através do teste de dupla difusão em agar (OUCHTERLONY, 1962). Os testes foram desenvolvidos com anti-soro específico para o "blackeye cowpea mosaic virus" (BlCMV) (LIMA et al., 1979b) e "bean common mosaic virus" (isolado da Florida). Ao mesmo tempo foram realizados testes sorológicos, contra anti-soros específicos para os potyvirus: "bidens mottle virus", "potato

virus Y", "tobacco etch virus" e "soybean mosaic virus".

Todos os testes sorológicos foram desenvolvidos em meio de agar contendo 0,8% de agar Noble, 1,0% de  $\text{NaN}_3$  e 0,5% de dodecil sulfato de sódio (SDS), de acordo com a metodologia descrita por PURCIFULL & BATCHELOR (1977).

A partir do material foliar infetado, os antígenos foram preparados em solução de 3% de SDS para dissociar a capa protéica do vírus. Suco de plantas sadias foi incluído em todos os testes sorológicos, como controle.

### 3.3 - Citologia

A caracterização citológica do vírus foi realizada através de estudos ao microscópio ótico das células da epiderme foliar de plantas de feijão-de-corda sistemicamente infetadas pelo mesmo. Camadas da epiderme foliar foram coradas com uma combinação de calcomina laranja e "luxol" verde brilhante, usando-se a técnica descrita por CHRISTIE & EDWARDSON (1977).

Todas as plantas com sintomas característicos do vírus em estudo foram submetidas a exames citológicos, através do microscópio ótico.

### 3.4 - Transmissão por Afídio

Foram realizados testes de transmissão do vírus por pulgão, *Aphis craccivora*, a partir de plantas infetadas para plantas sadias de feijão-de-corda.

Nos testes de transmissão do vírus por pulgão de plantas doentes para plantas sadias, três afídios foram usa

dos para cada planta sadia de feijão-de-corda. Foram utilizadas no total seis plantas sadias. A cada pulgão foi permitido um período de aquisição de aproximadamente 30 a 60 segundos na planta doente e os pulgões foram mantidos na planta teste por 24 horas. As plantas assim inoculadas foram mantidas em casa-de-vegetação para observações de reações sintomatológicas por um período mínimo de 20 dias.

### 3.5 - Avaliação de Danos Ocasionados pelo Vírus

Os danos ocasionados pelo vírus em feijão-de-corda cv. Pitiúba foram avaliados através de dois experimentos conduzidos em casa-de-vegetação com temperatura variando de 26° à 38°C.

O primeiro experimento foi realizado em jarros com capacidade de aproximadamente 30 dm<sup>3</sup> de solo e esterco, esterilizado em autoclave a 120°C, durante 60 minutos. Após 10 dias da sementeira foi efetuado o desbaste, deixando-se uma planta por jarro, permanecendo a mais vigorosa. O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso com 4 tratamentos e 8 repetições, sendo que cada bloco constou de 4 jarros e cada repetição de 1 jarro com uma planta. Este estudo constou de 4 tratamentos: plantas inoculadas 10 dias após a sementeira; plantas inoculadas 20 dias após a sementeira; plantas inoculadas 30 dias após a sementeira e plantas não inoculadas (controle). As inoculações efetuadas 10 dias após a sementeira envolveram as duas folhas primárias, enquanto que, aos 20 e 30 dias após a sementeira, as inoculações foram feitas nas primeiras folhas trifolioladas. Para o controle de ataque de pragas, semanalmente as plantas eram pulverizadas com inseticidas monocrotophos.

As inoculações nos diferentes tratamentos foram efetuadas através do processo de inoculação mecânica com inócu

lo preparado a partir de plantas de feijão-de-corda sistematicamente infetadas pelo vírus. Os danos ocasionados pelo vírus foram avaliados através da determinação de parâmetros de crescimento da planta tais como: pesos fresco e seco das raízes, pesos fresco e seco da parte aérea, altura do caule de cada planta, número de folhas por planta, sendo cada pecíolo considerado como uma folha.

Todas estas determinações foram efetuadas 40 dias após a semeadura para os diferentes tratamentos. Para a determinação dos pesos frescos do sistema radicular, as raízes de cada tratamento foram colhidas, lavadas e secadas em papel toalha, acondicionadas em sacos de papel com capacidade para 3 kg, previamente pesados. Os pesos frescos da parte aérea foram determinados após o corte do caule, contagem do número de folhas e determinação da altura do caule de cada planta. As partes aéreas de cada tratamento foram acondicionadas em sacos de papel com capacidade para 3 kg, previamente pesados.

Os pesos secos das raízes e das partes aéreas de cada tratamento foram determinados após a perda total de umidade que foi conseguida através da secagem durante 24 horas em estufa regulada à temperatura de 80°C, quando seguidas pesagens de uma mesma amostra de raiz e/ou parte aérea mostraram-se constantes.

O segundo experimento constou também dos mesmos tratamentos e 8 repetições distribuídas em blocos ao acaso, constando cada bloco de 4 jarros com 1 planta por jarro. Da mesma forma, as inoculações nas plantas dos diferentes tratamentos foram efetuadas pelo processo de inoculação mecânica com inóculo preparado a partir de plantas de feijão-de-corda sistematicamente infetadas pelo vírus. Os danos ocasionados pelo vírus nos diferentes tratamentos foram avaliados no período de 45 a 100 dias através dos seguintes parâmetros.

(a) Número de Botões Florais - A determinação do número de flores por planta foi iniciada 45 dias após a semeadura, sendo a última contagem realizada 100 dias após a semeadura.

(b) Flores Abordadas - A contagem do número de flores abordadas foi realizada diariamente quando apareceram os primeiros botões florais no período de 45 a 100 dias após a semeadura. O resultado do número de flores abordadas foi calculado pela diferença entre o número total de botões florais e o número de vagens obtido no final do estudo.

(c) Número de Vagens por Planta - O número de vagens por planta foi determinado através da contagem de todas as vagens formadas durante um período de 100 dias.

(d) Número de Sementes por Vagem - Após a secagem total das vagens, o número de sementes por vagem foi determinado, tomando-se como base o número total de sementes por planta dividido pelo número total de vagens por planta.

(e) Número de Sementes por Planta - O número de sementes por planta foi obtido através da contagem do número total de sementes por planta.

(f) Peso de Sementes por Planta - O peso de semente por planta foi obtido através da pesagem do número total de sementes por planta.

(g) Peso de 100 Sementes - O peso de 100 sementes foi determinado para todos os tratamentos após a contagem de 100 sementes ao acaso.

### 3.6 - Transmissão do Vírus por Sementes

Todas as sementes colhidas dos diferentes tratamentos dos experimentos de avaliação de danos foram testadas com relação à presença do vírus, através do plantio direto com subseqüentes observações sintomatológicas e testes sorológicos com anti-soro específico para B1CMV, a fim de se confirmar as infecções virais.

As sementes foram semeadas em lotes de aproximadamente 300 unidades e as plantas resultantes foram observadas por um período de 20 a 25 dias. De cada lote de 300 sementes, foram identificadas 3 a 20 plantas apresentando sintomas típicos de mosaico assim como aquelas suspeitas de infecção viral, as quais eram testadas contra anti-soro para B1CMV em testes de dupla difusão em agar. Quando necessário, as infecções virais eram confirmadas através de estudos citológicos, visando determinar a presença de inclusões citoplasmáticas típicas de potyvirus em células da epiderme foliar. Determinaram-se, em seguida, as percentagens de sementes com vírus para cada tratamento.

### 3.7 - Análise Estatística

Todos os parâmetros de crescimento e produção foram submetidos a análise de variância. Em seguida foi aplicado o teste Duncan a 5% de probabilidade para comparar as médias obtidas (LITTLE & HILLS, 1975).

Os dados relativos ao número de botões florais, número de flores abortadas, número de vagens por planta, número de sementes por vagem e número de sementes por planta foram transformados para  $\sqrt{x + 0,5}$  antes de serem submetidos a análise de variância e teste Duncan. Para o parâmetro peso de 100 sementes, a análise estatística foi realizada considerando-se as parcelas perdidas para todas as repetições com um número de sementes por planta inferior a 100 sementes. Da mesma forma, foi realizada a análise estatística considerando-se parcela perdida a repetição 3 do tratamento inoculação aos 10 dias da semeadura em todos os parâmetros de produção analisados.

## 4 - RESULTADOS

O vírus em estudo foi capaz de infetar a cultivar Pitiúba de feijão-de-corda quando inoculada mecanicamente, ocasionando sintoma de mosaico (FIGURA 1). Por outro lado, plantas de *Chenopodium amaranticolor* e *Cassia tora* quando inoculadas com o vírus apresentaram sintomas de lesões ne cróticas localizadas (FIGURA 2).

### 4.1 - Sorologia

Nos testes sorológicos de dupla difusão em agar realizados contra anti-soros específicos para o "blackeye cow pea mosaic virus" (BlCMV) (LIMA et al., 1979b) e "bean common mosaic virus" (BCMV) isolado na Flórida, o vírus em estudo mostrou-se sorologicamente relacionado ao BlCMV e ao BCMV, sendo a intensidade da reação mais forte com o BlCMV (FIGURA 3). Por outro lado, o vírus não apresentou nenhum tipo de reação com os anti-soros específicos para os potyvirus "bidens mottle virus", "potato virus Y", "tobacco etch vi rus" e "soybean mosaic virus".

### 4.2 - Citologia

Estudos citológicos realizados ã nível da microscopia ótica revelaram alterações citoplasmáticas nas células das plantas infetadas pelo vírus em estudo. Tais alterações não foram constatadas em células de plantas não inoculadas. As anomalias apresentaram-se na forma de feixes de inclu



FIGURA 1 - Folha de planta de *Vigna unguiculata* cv. Pitiúba inoculada mecanicamente com um potyvirus, apresentando sintoma de mosaico.



FIGURA 2 - Planta de *Chenopodium amaranticolor* apresentando lesões necróticas localizadas causadas pelo potyvirus isolado de feijão-de-corda.

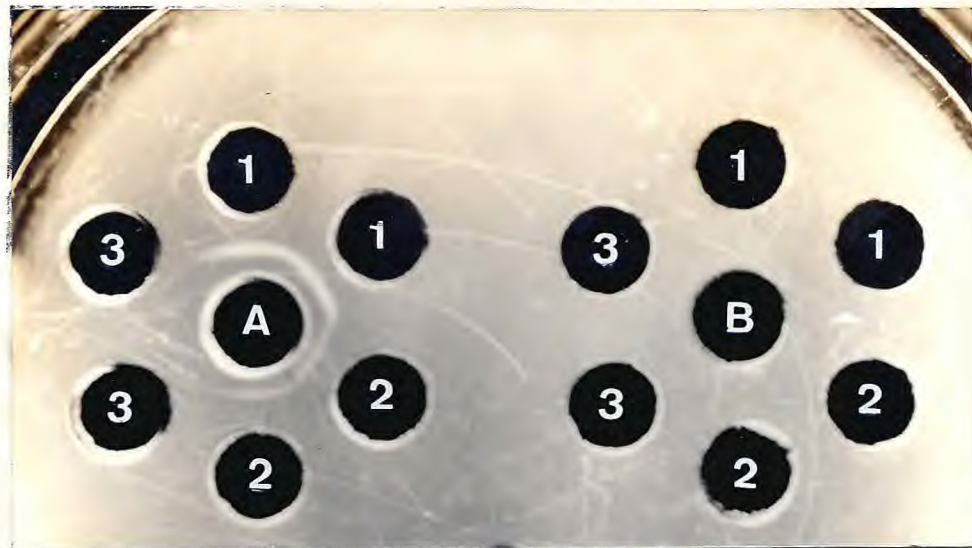


FIGURA 3 - Teste sorológico de dupla difusão em agar, contendo 0,8% de agar, 1,0% de  $\text{NaN}_3$  e 0,5% de dodecil sulfato de sódio (SDS) para demonstrar o relacionamento sorológico entre "blackeye cowpea mosaic virus" (BLCMV) e um potyvirus isolado de feijão-de-corda. Os orifícios centrais foram preenchidos com anti-soro específico para o BLCMV (A) e soro Normal (B). Os da periferia com: (1) seiva de planta infetada com BLCMV; (2) seiva de planta infetada com o potyvirus (3) seiva de planta sadia. Todas as seivas foram preparadas com solução de 3% de SDS.

sões citoplasmáticas do tipo catavento semelhantes às aquelas induzidas pelos vírus pertencentes ao grupo dos potyvirus (EDWARDSON, 1974) (FIGURA 4).

#### 4.3 - Transmissão do Vírus por Afídio

O vírus foi transmitido pelo pulgão *Aphis craccivora* de maneira não persistente, a partir de plantas infetadas para plantas sadias da cultivar em estudo. Das 6 plantas testadas, 3 apresentaram sintomas de mosaico leve.

Resultados positivos em testes sorológicos com as plantas apresentando mosaico leve, confirmaram a transmissão do vírus por pulgão.

#### 4.4 - Avaliação de Danos Ocasionados pelo Vírus

A TABELA 1 apresenta a análise de variância (Teste F) para os parâmetros de crescimento peso fresco da raiz e da parte aérea, peso seco da raiz e da parte aérea, altura das plantas e número de folhas de plantas de feijão-de-corda, *V. unguiculata*, cv. Pitiúba tomados aos 40 dias após a semeadura. Foi detectada significância estatística apenas para a altura das plantas, pois para os demais parâmetros as médias não mostraram diferença com significância estatística.

A TABELA 2 mostra as médias referentes aos parâmetros de crescimento das plantas inoculadas e não inoculadas, avaliados aos 40 dias da semeadura, com o respectivo teste de Duncan ( $P < 0,05$ ).

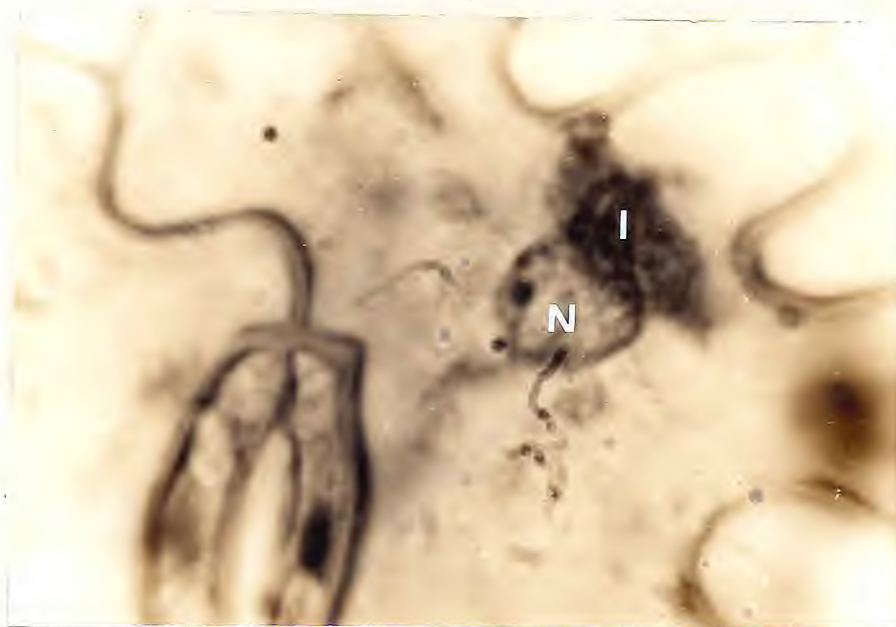


FIGURA 4 - Células de épiderme foliar de plantas de *Vigna unguiculata*, cv. Pitiúba infetada por um potyvirus, coradas com uma combinação de calconina laranja e luxol verde brilhante, visualizados ao microscópio ótico, apresentando inclusões citoplasmáticas típicas dos potyvirus (I). N-Núcleo

TABELA 1 - Análise de variância representada pelo quadrado médio referente aos parâmetros de crescimento de plantas de feijão-de-corda (*V. unguiculata*) cv. Pitiúba, aos 40 dias após a semeadura.

Causas de Variação	GL	Raíz		Parte Aérea		Altura de Planta	Nº de Folhas
		Peso Fresco	Peso Seco	Peso Fresco	Peso Seco		
		QM	QM	QM	QM		
Tratamento	3	46,40	1,29	267,04	7,87	0,97	0,15
Bloco	7	21,99	0,93	420,53	11,43	0,73	0,26
Resíduo	21	53,25	2,21	626,39	20,96	0,27	0,28
F		0,87ns	0,59ns	0,43ns	0,38ns	3,54*	0,47ns

(1) Dados transformados para  $\sqrt{x + 0,5}$ .

(\*) Significativo ao nível de 5% pelo Teste F.

TABELA 2 - Dados médios de parâmetros de crescimento avaliados aos 40 dias após a semeadura sob condições de casa-de-vegetação, em plantas de feijão-de-corda (*V. unguiculata*) cv. Pitiúba inoculadas e não inoculadas (controle) com um potyvirus e percentagens de redução ou aumento em relação ao controle.

Parâmetros de crescimento	Época de inoculação: dias após a semeadura			Controle
	10 dias	20 dias	30 dias	
Peso Fresco Raiz (g)	17,37	16,37	18,25	21,90
% Redução	- 21% <sup>(*)</sup>	- 25%	- 17%	
Peso Seco Raiz (g)	3,00	2,58	3,31	3,50
% Redução	- 14%	- 26%	- 5%	
Peso Fresco parte Aérea (g)	78,42	68,12	64,92	71,40
% Redução	+ 10%	- 5%	- 9%	
Peso Seco parte Aérea (g)	10,82	9,02	8,53	9,68
% Redução	+ 12%	- 7%	- 12%	
Altura da Planta (cm)	1,77a	1,55a	0,96b	1,28ab
% Redução	+ 38%	+ 21%	- 25%	
Número de Folhas	12,87	11,12	10,75	11,50
% Redução	+ 12%	- 3%	- 7%	

(\*) + aumento em relação ao controle; - redução em relação ao controle.

As médias referentes aos pesos fresco e seco das raízes de todos os tratamentos com inoculação mostraram-se relativamente inferiores ao tratamento sem inoculação (controle). Para os pesos fresco e seco da parte aérea, as médias mostraram-se superiores para as inoculações aos 10 dias embora estatisticamente não tenha ocorrido diferença entre os tratamentos. Na altura das plantas, os resultados mostraram que as médias dos tratamentos inoculados aos 10 e 20 dias tiveram um efeito de redução, estatisticamente menor do que o tratamento 30 dias após a semeadura, sem que diferissem significativamente do controle. Para o número de folhas, os tratamentos mostraram-se biologicamente iguais.

O estudo de correlação mostrou significância estatística ( $P < 0,05$ ) entre os parâmetros, peso seco da raiz e da parte aérea com inoculação aos 10 dias ( $r = 0,829$ ). Para o tratamento inoculação 20 dias a correlação entre o número de folhas e peso seco da raiz ( $r = 0,748$ ) mostrou significância estatística. A correlação entre o peso seco da parte aérea e número de botões florais ( $r = 0,814$ ) bem como, peso seco da parte aérea e flores abortadas ( $r = 0,819$ ) para o tratamento inoculação 20 dias após a semeadura mostrou significância estatística ( $P < 0,05$ ). Para o tratamento inoculação 30 dias da semeadura constatou-se correlação positiva entre os parâmetros peso seco da raiz e da parte aérea ( $r = 0,826$ ) assim como, para peso seco da parte aérea e número de flores abortadas ( $r = 0,756$ ). Para a altura das plantas e número de folhas ( $r = 0,924$ ) constatou-se correlação altamente significativa para o tratamento inoculação aos 20 dias da semeadura ( $P < 0,01$ ).

A TABELA 3 apresenta a análise de variância para os parâmetros de produção referentes aos números de botões florais, flores abortadas, vagens por planta, sementes por vagem, sementes por planta, peso de 100 sementes e peso total de sementes por planta de 45 a 100 dias após a semeadura. Verificou-se nos parâmetros número de sementes por planta

TABELA 3 - Análise de variância representada pelo quadrado médio referente aos parâmetros de produção de plantas de feijão-de-corda (*V. unguiculata*) cv. Pitiúba tomadas no período de 45 a 100 dias após a semeadura<sup>(1)</sup>.

Causas de Variação	GL	(2)	(2)	(2)	(2)	(2)	Peso de 100 Sementes	Peso Total de Sementes/Planta
		Nº de Botões Florais	Nº de Flores Abortadas	Nº de Vagens/Planta	Nº de Sementes/Vagem	Nº de Sementes/Planta		
		QM	QM	QM	QM	QM	QM	QM
Tratamento	3	3,9	2,16	0,47	0,06	8,44	16,83	723,65
Bloco	7	7,98	7,22	0,58	0,02	8,88	10,90	178,54
Resíduo	21	5,87	7,85	0,27	0,06	2,80	4,36	98,97
F		0,66ns	0,27ns	1,78ns	0,99ns	3,02*	3,86*	7,31**

(1) Dados analisados considerando parcela perdida o tratamento 1 repetição 3.

(2) Dados transformados para  $\sqrt{x+0,5}$ .

(3) Nas plantas com número inferior a 100 sementes os dados foram analisados como parcela perdida.

(\*) Significativo ao nível de 5% pelo Teste F.

(\*\*) Significativo ao nível de 1% pelo Teste F.

e peso de 100 sementes, a existência de diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos, enquanto que as diferenças entre os tratamentos para o peso total de sementes por planta, foram altamente significativa ( $P < 0,01$ ). Para os demais parâmetros estudados, a análise de variância não revelou diferença estatística pelo teste F.

Na TABELA 4 são apresentadas as médias relativas aos parâmetros de produção analisados de 45 a 100 dias da sementeira, bem como o teste de Duncan ( $P < 0,05$ ). As médias dos números de botões florais, de flores abortadas e de vagens por planta apresentaram relativamente maior efeito de redução quando as plantas foram inoculadas aos 10 dias após a sementeira. O número de sementes por planta, peso de 100 sementes e peso total de sementes mostraram redução estatisticamente superior à inoculação aos 10 dias. No peso de 100 sementes a média na inoculação aos 10 dias mostrou-se estatisticamente menor que a dos demais tratamentos. Quanto ao número de flores abortadas, as médias para os tratamentos inoculação 10 e 20 dias após a sementeira foram inferiores ao tratamento 30 dias e o controle apesar de não mostrar significância estatística. O número de sementes por vagem foi menor na inoculação aos 30 dias, embora na Análise de Variância não tenha sido detectado diferença estatística entre os tratamentos.

O estudo de correlação mostrou significância estatística entre alguns dos parâmetros de produção nos diversos tratamentos aplicados. No tratamento sem inoculação (controle) a correlação foi significativa para o número de sementes por planta, peso total de sementes por planta e peso total de sementes ( $r = 0,693$ ), já para o número de sementes por planta e número de vagens por planta ( $r = 0,992$ ), bem como o peso de 100 sementes e peso total de sementes por planta ( $r = 0,909$ ) a correlação foi altamente significativa ( $P < 0,01$ ). Aos 10 dias de inoculação a correlação foi sig

TABELA 4 - Dados médios dos parâmetros de produção de plantas de feijão-de-corda (*V. unguiculata*) cv. Pitiúba inoculadas e não inoculadas (controle) com um potyvirus, tomadas num período de 45 a 100 dias da sementeira e percentagens de redução em relação ao controle.

Parâmetros de produção avaliados	Época de inoculação: dias após a sementeira			Controle
	10 dias	20 dias	30 dias	
Número de Botões Florais	223,37	248,38	277,75	278,38
% Redução	- 20% <sup>(*)</sup>	- 11%	- 0,2 %	
Número de Flores Abortadas	217,12	239,76	267,75	268,38
% Redução	- 19%	- 11%	- 0,2 %	
Número de Vagens/Planta	6,25	8,62	10,00	10,00
% Redução	- 37%	- 14%	- 0,0 %	
Número de Sementes/Vagem	14,71	14,50	13,87	15,50
% Redução	- 5%	- 6%	- 10%	
Número de Sementes/Planta	100,14b	119,50ab	141,25a	151,50a
% Redução	- 34%	- 21%	- 7%	
Peso de 100 Sementes	11,66b	15,76a	14,61a	16,18a
% Redução	- 28%	- 3%	- 10%	
Peso Total de Sementes/Planta	17,37b	20,15b	16,17b	36,93a
% Redução	- 53%	- 45%	- 56%	

(\*) - significa redução.

nificativa ( $P < 0,05$ ) entre o peso total de sementes e número de vagem por planta ( $r = 0,767$ ) e com o número de sementes por planta ( $r = 0,835$ ). Ocorreu também correlação positiva entre o número de botões florais e flores abortadas ( $r = 0,852$ ) e o número de botões florais com o peso de 100 sementes ( $r = 0,787$ ). Para o número de vagens por planta e o número total de sementes por planta ( $r = 0,953$ ) a correlação mostrou-se altamente significativa ( $P < 0,01$ ). No tratamento com inoculação aos 20 dias, o parâmetro número de botões florais mostrou estreita correlação ( $P < 0,05$ ) com o número de vagens por planta ( $r = 0,821$ ), com o número de sementes por planta ( $r = 0,751$ ), com o peso de 100 sementes ( $r = 0,786$ ) e com o peso total de sementes por planta ( $r = 0,764$ ). No mesmo período de inoculação o número de flores abortadas correlacionou-se significativamente ( $P < 0,05$ ) com o número de vagens por planta ( $r = 0,805$ ), número de sementes por planta ( $r = 0,735$ ), peso de 100 sementes ( $r = 0,794$ ) e com o peso total de sementes por planta ( $r = 0,758$ ). O número de vagens por planta e o número de sementes por planta apresentaram correlação significativa ao nível de 5% de probabilidade com o peso total de sementes por planta ( $r = 0,744$  e  $r = 0,791$ , respectivamente). No entanto, o número de botões florais e o número de flores abortadas ( $r = 0,998$ ) tanto quanto o número de vagens por planta e número de sementes por planta ( $r = 0,956$ ) mostraram correlação altamente significativa ( $P < 0,01$ ). O número de botões florais e flores abortadas apresentaram correlação altamente significativa ( $P < 0,01$ ) tanto para o tratamento controle ( $r = 0,997$ ), como para os tratamentos inoculação aos 20 dias e 30 dias da semeadura.

#### 4.5 - Transmissão do Vírus por Sementes

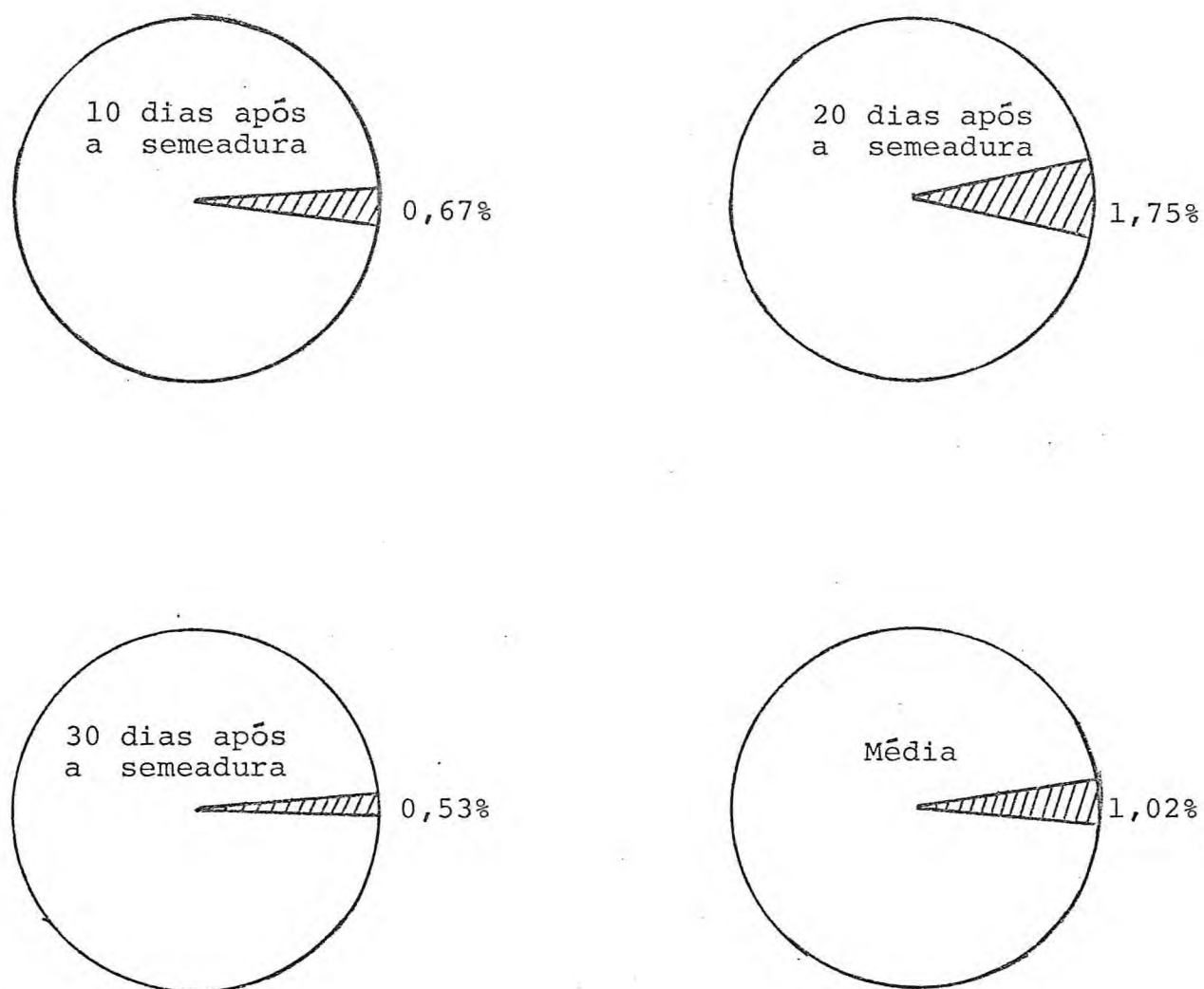
Das 3.494 sementes testadas em casa-de-vegetação,

2.238 sementes germinaram (64,05%), das quais somente 23 estavam contaminadas com o vírus em estudo. O índice de transmissibilidade médio do vírus por semente para todos os tratamentos foi de 1,02% (TABELA 5).

A transmissão por sementes detectada inicialmente por características sintomatológicas foi, em seguida, confirmada através do teste sorológico com anti-soro específico para o BICMV e/ou exames citológicos. Através da microscopia ótica foram detectadas inclusões citoplasmáticas nas células da epiderme foliar das 23 plantas infetadas. Verificaram-se para cada grupo de plantas testadas, os seguintes índices de transmissibilidade por semente: 0,67%; 1,75%; 0,53%, respectivamente para os tratamentos 10, 20 e 30 dias da sementeira. As percentagens relativas à transmissibilidade do vírus por sementes estão apresentadas na FIGURA 5.

TABELA 5 - Transmissão de um potyvirus por sementes de feijão de-corda cv. "Pitiúba" colhidas de plantas artificialmente inoculadas aos 10, 20 e 30 dias após a semeadura.

Época de Inoculação: (Dias após a semeadura)	Número de Sementes Testadas			Plantas Infetadas		% de Transmissão do Vírus
	Semeadas	Germinadas	% de Germinadas	Sintomas Aparentes de Vírus	Resultados Sorológicos	
10 dias	815	449	55,1	03	03	0,67
20 dias	1.076	856	79,6	10	15	1,75
30 dias	1.603	933	58,2	09	05	0,53
TOTAL	3.494	2.238	-	22	23	1,02



LEGENDA:

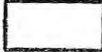

-  Sementes germinadas não infectadas.
-  Sementes germinadas infectadas.

FIGURA 5 - Percentagem de transmissão de um potyvirus através de sementes de *Vigna unguiculata* colhidas de plantas artificialmente inoculadas aos 10, 20 e 30 dias após a semeadura.

## 5 - DISCUSSÃO

As características de transmissibilidade por afídio e por sementes do vírus estudado no presente trabalho, aliadas aos resultados sorológicos e às características citológicas, reforçam as indicações de que o mesmo poderá ser considerado como uma raça de "cowpea aphid-borne mosaic vírus" (CAMV), confirmando os resultados anteriores (LIMA et al., 1979a e LIMA et al., 1981). Segundo Bock e CONTI (1974) o CAMV e o "blackeye cowpea mosaic vírus" (BLCMV) são dois potyvirus sorologicamente relacionados e, bastante semelhantes. No entanto, tais potyvirus podem ser distinguidos, através de propriedades biológicas e sorológicas (PIORIBEIRO et al., 1978; LIMA et al., 1979b; TAIWO & GONSALVES, 1982; TAIWO et al. 1982). Nos testes sorológicos desenvolvidos no presente estudo, o vírus mostrou-se relacionado com o BLCMV, apresentando, no entanto, diferença detectável através da formação de esporão quando testado contra antisoro específico para o BLCMV (FIGURA 3). O relacionamento sorológico entre vírus pertencentes ao grupo dos potyvirus é bastante comum o que não se verifica entre vírus pertencentes a outros grupos (PURCIFULL & BATCHELOR, 1977; LIMA, 1978).

O uso da microscopia ótica pode proporcionar um rápido diagnóstico de infecções ocasionadas por vírus pertencentes ao grupo dos potyvirus (CHRISTIE, 1967; LIMA et al., 1979b). Neste trabalho, os estudos citológicos ao microscópio ótico revelaram a presença de feixes de inclusões citoplasmática em células de feijão-de-corda infetadas pelo vírus em estudo, semelhantes àquelas descritas para o grupo dos potyvirus (FIGURA 4).

Os testes de transmissibilidade mostraram que o vírus em estudo foi facilmente transmitido pelo afídio *Aphis craccivora*. De acordo com a literatura o CAMV é eficientemente transmitido de maneira não persistente por diversas espécies de afídios, inclusive *A. craccivora* (BOCK, 1973; ATIRI, 1984). A transmissão por afídios torna-se importante na disseminação do vírus de feijão-de-corda para feijão-de-corda, assim como de plantas nativas infetadas para o feijão-de-corda (LIMA, 1981). Por outro lado, a transmissão do vírus for afídio e sementes de feijão-de-corda, poderá favorecer a sua introdução e o seu estabelecimento em regiões onde o mesmo ainda não exista. Segundo ZAUMEYER & THOMAS (1957), ABOUL ATA et al., (1982) a transmissão por sementes é o principal método para disseminar vírus a longa distância.

De acordo com BOCK & CONTI (1974) o índice de transmissibilidade do CAMV por sementes varia de 0 - 3%. Os resultados obtidos a partir de sementes infetadas pelo vírus em estudo, revelaram que a taxa de transmissibilidade por sementes de 1,02% está na faixa citada por aqueles autores. Embora baixa, essa taxa de transmissibilidade pode ser responsável pela introdução do vírus em novos campos de cultura. Resultados semelhantes foram também obtidos por FEGLA et al., (1981) com uma percentagem de transmissão do CAMV por sementes, da ordem de 0,81%. A baixa taxa de transmissibilidade do vírus por sementes, determinada no presente estudo, de algum modo pode ter sido influenciada por fatores ambientais na casa-de-vegetação, pela baixa taxa de transmissão do próprio vírus e pelas tolerâncias por parte da cultivar Pitiúba de feijão-de-corda utilizada no experimento.

A ocorrência de potyvirus com características semelhantes tem sido assinalada com grande frequência em nosso meio nos últimos anos, sobre o feijão-de-corda (LIMA et al., 1980, LIMA et al., 1981). Essa ocorrência evidenciou-se ain

da mais durante o grande período de estiagem que ocorreu nos últimos 5 anos no Ceará, quando o grau de incidência do "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV) foi drasticamente reduzido em consequência da erradicação natural de suas hospedeiras nativas (LIMA et al., 1984). Desta forma, possivelmente, devido a transmissibilidade do CAMV por sementes de variedades de feijão-de-corda, isolados ou raças do mesmo, passaram a ter maior importância no Nordeste brasileiro.

O efeito causado pelo vírus às raízes de plantas inoculadas aos 10, 20 e 30 dias da semeadura, mostrou, embora sem significância estatística, que houve redução no crescimento das mesmas, quando estas foram comparadas com as raízes de plantas não inoculadas (TABELA 2). O menor crescimento do sistema radicular demonstrado pelo peso seco nos tratamentos com inoculação não parece ter afetado o número de folhas e a altura das plantas. Não obstante, notou-se que a inoculação mais tardia, ou seja, aos 30 dias, chegou a afetar não só o peso seco da parte aérea da planta mas também o número de folhas e, mais drasticamente, a altura das plantas. TU et al., (1970) sugerem que a redução no peso de plantas inoculadas, ocorre provavelmente, devido à multiplicação do patógeno no hospedeiro reduzindo diversas atividades fisiológicas das mesmas.

Além do mais, a inoculação tardia (30 dias) do vírus teve maior efeito sobre a redução na altura das plantas que as inoculações nos períodos de 10 e 20 dias após a semeadura, mesmo sem diferir estatisticamente do controle. ANJOS & LIN (1980) observaram em soja reduções significativas na altura das plantas quando estas foram inoculadas com o isolado severo I do "vírus do mosaico do caupi" (severo Arkansas), até aos 56 dias da semeadura.

De uma maneira geral, com base nas médias obtidas nos parâmetros de produção, o vírus afetou o processo reprodutivo da planta (TABELA 4). Notou-se que as plantas quando

inoculadas nos primeiros períodos (10 e 20 dias) o número de botões florais foi reduzido. De certa forma, deve ter ocorrido influência hormonal na sustentação de botões florais pois segundo SEQUEIRA (1973), existem diversas teorias baseadas no desequilíbrio hormonal quando os tecidos infetados possuem geralmente quantidades variáveis de reguladores de crescimento.

De acordo com SMITH & PRYOR (1962) as primeiras flores formadas são mais importantes para o rendimento da cultura do feijoeiro pois as últimas são, em geral, mais sujeitas ao aborto. Para GONÇALVES (1983) o aumento de queda de flores nas plantas inoculadas mais cedo deve estar ligado ao fato de o vírus encontrar-se sistemicamente distribuído nos diferentes órgãos da planta no início da floração. No presente trabalho os resultados parecem concordar com a literatura, haja visto indicar que as inoculações aos 10 e 20 dias da sementeira favorecerem a incidência de um maior número de flores abortadas resultando em um menor número de flores normais no "stand" final (TABELA 4). PAGUIO (1980) estudando "cowpea mosaic virus", verificou que plantas inoculadas aos 10 e 20 dias após a sementeira tiveram perdas significativas na produção.

Embora não se tenha detectado nenhuma diferença de significância estatística entre os tratamentos no tocante ao número de vagens por planta, observou-se que as vagens das plantas dos tratamentos com inoculação mostraram-se de tamanho reduzido e levemente retorcidas contribuindo para obtenção de sementes deformadas e em menor quantidades por vagem, aos 30 dias e por planta, aos 10 dias, sem que este diferísse da inoculação aos 20 dias.

De acordo com SPERANDIO & COSTA (1982) a inoculação precoce de vírus reduz o número de sementes por planta e o peso total das sementes de feijoeiro. No presente trabalho constatou-se que as inoculações realizadas em qualquer pe

ríodo afetaram de maneira significativa a produção final das plantas em relação ao controle. Em última análise, o reduzido e deformado número de sementes observado contribuiu bastante para a redução no peso de 100 sementes e no peso total de sementes por planta mostrando ser uma consequência lógica da ação danosa do vírus.

A literatura pertinente, comumente, comenta sobre a queda na produção de plantas, especialmente leguminosas, inoculadas com vírus (COSTA & CUPERTINO, 1976; CHANT, 1960; GONÇALVES, 1983). A produção média final, em peso total de sementes por planta inoculada com o vírus, foi reduzida em 51,5% e, considerando-se o tratamento com menor produção (inoculação 30 dias) a redução foi da ordem de 56% em relação às plantas não inoculadas (TABELA 4). Tais resultados são indicativos de que o uso de variedades resistentes constitui o método mais econômico e eficiente para o controle do vírus em estudo. Com base nos fatos aqui discutidos é que o Laboratório de Virologia Vegetal da Universidade Federal do Ceará, encontra-se engajado num programa de seleção de cultivares de feijão-de-corda com resistência a vírus, através do qual já foram identificadas várias cultivares resistentes a isolados do CAMV (LIMA et al., 1980b; LIMA et al., 1983).

## 6 - CONCLUSÕES

Nas condições em que foram desenvolvidas as atividades do presente trabalho os resultados obtidos permitem concluir:

- (a) O vírus em estudo apresenta características facilmente identificáveis e semelhantes a outros potyvirus que infetam o feijão-de-corda, podendo ser identificado como uma raça de "cowpea aphid-borne mosaic virus" (CAMV).
- (b) A taxa de transmissão do vírus por sementes de feijão-de-corda obtida (1,02%), encontra-se nos limites previstos pela literatura (0 - 3%). Embora baixa a transmissibilidade do vírus por semente, deve desempenhar importante papel na sua transmissibilidade a longa distância e na introdução de fontes iniciais de vírus dentro de uma cultura.
- (c) A facilidade com que o vírus é transmitido por pulgão e a frequência com que o referido inseto tem sido constatado no feijão-de-corda e em outras culturas vem justificar a importância do pulgão como seu inseto-vetor.
- (d) Embora o vírus não haja afetado de maneira sig-

nificativa o desenvolvimento das plantas, os resultados com os parâmetros de produtividade, demonstraram que o mesmo pode induzir reduções significativas na produção do feijão-de-corda, mesmo quando inoculado tardiamente.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOUL ATA, A.E.; ALLEN, D.J.; THOTTAPPILLY, G & ROSSEL, H.W.  
Variation in the rate of seed transmission of cowpea  
aphid-borne mosaic virus in cowpea. Tropical Grain Le-  
gume Bulletin 25: 2-7, 1982.
- AGRAWAL, H.O. Identification of cowpea mosaic virus isola  
tes. Mededd. Landbouwhoges., Wageningen, 64: 1-53,  
1964.
- ANDERSON, C.W. Vigna and crotalaria viruses in Florida. II.  
Notations concerning cowpea mosaic virus (Marmor vignae).  
Plant. Dis. Rep., 39: 349-353, 1955.
- ANJOS, J.R.N. & LIN, M.T. Queima do Broto em soja causado  
por um membro do serotipo I do vírus do mosaico do caupi  
serogrupo Arkansas. Fitopatologia Brasileira, 5: 382-383,  
1980.
- ATIRI, G.I. Insect transmission characteristics of a Ni  
gerian strain of cowpea aphid-borne mosaic virus. Fito-  
patologia Brasileira, 9: 495-503, 1984.
- BENETT, C.W. Seed transmission of plant virus. Advances in  
virus research, 14: 221-61, 1966.
- BOCK, K.R. East African strains of cowpea aphid-borne mo  
saic virus. Ann. Appl. Biol., 74: 75-83, 1973.
- BOCK, K.R. & CONTI, M. Cowpea aphid-borne mosaic virus.  
Nº 134 in: Descriptions of Plant Viruses. Commenw. Mycol.  
Inst. Assoc. Appl. Biol., Kew, Surrey, England, 4p. 1974.

- BRANTLEY, B.B.; KUHN, C.W., & SOWELL, G. Effect of cucumber mosaic virus on Southern pea (Vigna sinensis). Proc. Am. Soc. Hortc. Sci., 87: 355-358, 1965.
- CANER, J.; SILBERSCHMI, K. & FLORES E. Ocorrência do vírus do mosaico da vigna no Estado de São Paulo. O Biológico, 35: 13-16, 1969.
- CHANT, S.R. Viroses of cowpea, Vigna unguiculata L. (Walp) in Nigéria. Ann. Appl. Biol., 47: 565-572, 1959.
- . The effect of infection with tobacco mosaic and yellow mosaic virus on the growth rate and yield of cowpea in Nigéria. Empire J. Exp. Agric., 28: 114-120, 1960.
- 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 microcopy of plant virus inclusions. Florida Agric. Exp. Stn. Monogr. Ser 9, 150p. 1977.
- COSTA, C.L. & CUPERTINO, E.P. Avaliação das perdas na produção do feijoeiro causadas pelo vírus do mosaico dourado. Fitopatologia Brasileira, 1: 18-25, 1976.
- COSTA, C.L.; LIN, M.T.; KITAJIMA, E.W.; SANTOS, A.A.; MESQUITA, R.C.M & FREIRE, F.R. Ceratoma arcuata (OLIV.). um crisomelídeo vetor do mosaico da Vigna no Brasil, Fitopatologia Brasileira, 3: 81-82, 1978.
- COSTA, A.S.; OLIVEIRA, A.R.; KITAJIMA, E.W. & MATSOUKA, S. Ocorrência do mosaico do feijão macassar em São Paulo. Revista da Soc. Brasil. Fitopatol., 3: 56-57, 1969.
- DALE, W.T. Preliminary studies of the plant viroses of Trinidad. Tropical Agriculture, 20: 228-235, 1943.

- DALE, W.T. Observations on a virus diseases of cowpea in Trinidad. Ann Appl. Biol., 36: 372-383, 1949.
- DEBROT, A.E., & ROJAS, B.E.B. Identificación del virus del mosaic de la soya in Venezuela. Agron. Trop. 17: 75-86, 1967.
- de JAGER, C.P. Cowpea severe mosaic virus. nº 209 in Descriptions of plant viruses. Commenw. Mycol. Inst. Assoc. Appl. Biol., Kew, Surrey, England 5p. 1979.
- EDWARDSON, J.R. Some properties of the potato virus-y group. Fla. Agric. Exp. Stn. Monag. Series nº 4, 398p. 1974.
- EDWARDSON, J.R.; ZETTLER, F.W.; CHRISTIE, R.G. & EVANS, I.R. A citological comparison of inclusions as a basis for distinguishing tow filamentons legume viruses. Jr. Gen. Virol, 15: 113-118, 1972.
- ELLIOTT, J.A. A mosaic of sweet and red clovers. Phytopathology, 11: 146-148, 1921.
- FEGLA, G.I.; SHAWKAT, A.L.B. & MOHAMMAD, S.Y. Certain viruses affecting cowpea and root nodulation of cowpea plants. Mesopotamia J. Agric., 16: 137-152, 1981.
- FISCHER, H.U. & LOCKHART, B.E. A Strain of cowpea aphid-borne mosaic virus isolatead from cowpeas in Morocco. Phytopathol.Z., 85: 43-48, 1976.
- FULTON, R.W. Transmission of plant viruses by grafting, dodder, seed and mechanical inoculation. In: CORBETT, M.K. & SISLER, H.D. ed. Plant Virology. Gainesville, Florida University Press, 527 p. 1964.
- GARDNER, M.W. Seed Transmission of cowpea mosaic. Ind. Acad. Sci. Proc. 43. 1927.

GONÇALVES, M.F.B. Purificação e sorologia de duas raças de "cowpea severe mosaic Virus" isoladas no Ceará e no Piauí e avaliação de seus efeitos em feijão-de-corda. Fortaleza, Universidade Federal do Ceará 1983. 57p. Te se Mestrado.

GONÇALVES, M.F.B. & LIMA, J.A.A. Efeitos do cowpea severe mosaic virus sobre a produtividade do feijão-de-corda cv. Pitiúba. Fitopatologia Brasileira 7: 547, 1982.

HARRISON, A.N. & GUDAUSKAS, R.T. Identification of viruses isolated from cowpeas in Alabama. Plant. Dis. Rep., 52: 34-36, 1968.

HIEBERT, E. & McDONALDO, J.G. Characterization of some proteins associated with viruses in the potato-y group. Virology, 56: 349-361, 1973.

HINO, T. Estudios on asparagus - beans mosaic virus. Ann. Phytopathol. Soc. Japan, 25: 178-186, 1960.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Rio de Janeiro. vol. 7, 1980.

INTERNATIONAL INSTITUTE OF TROPICAL AGRICULTURE. Advances in cowpea virus Research. In: IITA Research Highlignits. Ibadan, p. 52. 1983.

KAISER, W.J.; DANESH, D.; OKHVAT, M. & MOSSAHEBI, G.H. Diseases of pulse, crops (edible legumes) in Iran. Plant Dis. Rep., 52: 687-691, 1968.

KAISER, W.J. & MOSSAHEBI, G.H. Studies with Cowpea aphid-borne mosaic virus and effect on cowpea in Iran. FAO. Plant Protection Bull, 23: 33-39, 1975.

KLESSER, P.J. Virus diseases of cowpeas. Bathalia, 7: 233-251, 1960.

- KUHN, C.W. Purification, serology, and properties of a new cowpea virus. Phytopathology, 59: 853-857, 1964.
- KUHN, C.W.; BRANTLEY, B.B. & SOWELL, G. Souther pea viruses: Identification, syptomatology, and sources of resistance. Univ. Georgia Agric. Exp. Stn. Bull. 157. 22p. 1966.
- LIMA, J.A.A. Blackeye cowpea mosaic virus: purification partial characterization, serology and immunochemical and cytological techniques for detection of virus infected legume seeds. Gainesville, University of Florida, 154p. Tese Doutorado, 1978.
- LIMA, J.A.A. Inclusões em catavento induzidas pelos potyvirus. Fitopatologia Brasileira, 2: 219-220, 1980.
- LIMA, J.A.A. Cassia occidentalis L., potencial reservatório de um potyvirus que infeta o feijão-de-corda. Fitopatologia Brasileira, 6: 625, 1981.
- LIMA, J.A.A.; GONÇALVES, M.F.B.; LIMA, M.G.A. & SILVEIRA, L.F.S. Ausência de transmissão de "cowpea severe mosaic virus através de sementes de feijão-de-corda cv. Pitiúba. Fitopatologia Brasileira, 8: 619, 1983a.
- LIMA, J.A.A.; LIMA, M.G.A. & OLIVEIRA, J.M.E.S. Comportamento de cultivares de feijão-de-corda em relação a um isolado de "cowpea mosaic virus" e um potyvirus obtidos no Estado do Piauí. Fitopatologia Brasileira, 5: 415-416, 1980b.
- LIMA, J.A.A.; NELSON, M.R. & CHAGAS, J.M.F. Obtenção de antisoro específico contra "cowpea mosaic virus", no Estado do Ceará. Fitopatologia Brasileira, 9: 59, 1974.
- LIMA, J.A.A. & NELSON, M.R. Etiology and epidemiology of cowpea mosaic virus in Ceará, Brasil. Plant. Dis. Rep. 61: 864-867, 1977.

- LIMA, J.A.A.; OLIVEIRA, F.M.E.S. & PAIVA, J.B. Algumas propriedades biológicas e citológicas de um potyvirus isolado de caupi no Estado do Ceará, Fitopatologia Brasileira, 4: 119-120, 1979a.
- LIMA, J.A.A.; OLIVEIRA, F.M.E.S.; KITAJIMA, E.W. & LIMA, M.G.A. Propriedades biológicas, citológicas e sorológicas de um potyvirus isolado de feijão-de-corda. Fitopatologia Brasileira, 6: 205-216, 1981.
- LIMA, J.A.A.; PURCIFUL, D.E. & HIEBERT, E. Purification and serology of blackeye cowpea mosaic virus. Proc. Am. Phytopathol. Soc., 3: 348, 1976.
- LIMA, J.A.A., PURCIFULL, D.E. & EDWARDSON, J.R. Serological, biological, and cytological distinctions between three legume potyvirus. IV Congresso Internacional de virologia, Hague, Holanda, 1978.
- LIMA, J.A.A.; PURCIFULL, D.E. & HIEBERT, E. Purification, parcial characterization, and serology of blackeye cowpea mosaic virus. Phytopathology, 69: 1252-1258, 1979b.
- LIMA, J.A.A.; SANTOS, D.G. & TEIXEIRA, L.M.S. Comportamento de cultivares de feijão-de-corda em relação ao "cowpea severe virus" e o "cowpea aphid-borne mosaic virus". Fitopatologia Brasileira, 8: 615, 1983b.
- LIMA, J.A.A.; SANTOS, C.D.G. & SILVEIRA, L.T.S. Redução do grau de incidência do vírus do mosaico severo do caupi ("cowpea severe mosaic virus") no Estado do Ceará. Fitopatologia Brasileira, 9: 404, 1984.
- LIMA, J.A.A., SOUZA, C.A.U. & MENDES, C. Desenvolvimento epidemiológico de uma virose em feijão-de-corda no Estado do Ceará. Fitopatologia Brasileira, 5: 416, 1980.

- LIN, M.T. & KITAJIMA, E.W. Preparo de antisoros para a se-  
roteca da Universidade de Brasília. Fitopatologia Brasi-  
leira, 3: 93-94, 1978.
- LIN, M.T.; KITAJIMA, E.W. & RIOS, G.P. Serological identi-  
fication of several cowpea virus in central Brasil Fito-  
patologia Brasileira, 6: 73-85, 1981.
- LITTLE, T.M. & HILLS, F.J. Statistical methods in agricul-  
tural research. Dovis University of California, 242p.  
1975.
- LOVISOLO, T. & CONTI, M. Identification of an transmitted  
cowpea mosaic virus. Neth. J. Pl. Pathol, 72: 265,269,  
1966.
- MAFRA, R.C. Contribuição ao estudo da cultura do "feijão  
macassar", fisiologia, ecologia e tecnologia da produ-  
ção. Goiânia EMBRAPA/IITA, 1979 (Curso de Treinamento  
para Pesquisadores de caupi. Goiânia, Goiás, 1979).
- MAGALHÃES, B.B. & COSTA, C.L. Transmissibilidade do virus  
do mosaico comum do feijoeiro pela semente de variedades  
recomendadas para plantio no Brasil. Fitopatologia Bra-  
sileira, 3: 96, 1978.
- MORENO, R.; GOMES, R. & GONZALEZ, L.C. El virus del mosaic  
comum del frijol (Phaseolus vulgaris L.) em Costa Rica.  
Turrialha, 18: 257-263, 1968.
- OLIVEIRA, A.R.; COSTA, A.S. & CAMARGO, I.J.B. Purificação  
e sorologia do vírus do mosaico da Vigna. Rev. Soc. Bra-  
sileira Fitopatologia, 3: 26-28, 1969.
- OLIVEIRA, M.A. Contribuição ao estudo dos vírus causadores  
de mosaico nos feijões macassar (Vigna sp). Pelotas,  
Instituto Agronômico do Sul, (Bol. Técnico, 1)., 85p.,  
1947.

- OUCHTERLONY, O. Diffusion - in - Cel metodos for immunological analysis II. Prog. Allerty, 6: 30-154, 1962.
- PAGUIO, O.R. Incidência e algumas propriedades de um membro do subgrupo severo de "cowpea mosaic virus" em Pernambuco. Fitopatologia Brasileira, 4: 133, 1979.
- . Reações de cultivares e efeitos na produção de feijão macassar infetado por "cowpea mosaic virus" isolado em Pernambuco. Fitopatologia Brasileira, 5: 435, 1980.
- PAIVA, J.B.; BARRETO, P.D. & SOBRAL, A.M. Introdução de cultivares de feijão-de-corda, Vigna sinensis (L.) Savi. Relatório de Pesquisa do Convênio SUDENE/U.F.C. 1975.
- PAIVA, J.B. & TEOFILO, E.M. Introdução, caracterização, multiplicação e manutenção de germoplasma. In: UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ. Departamento de Fitotecnia. Relatório de pesquisa: programa de pesquisa com a cultura do feijoeiro. Fortaleza, p. 1-2, 1977.
- PEREZ, J.E. & CORTEZ - MONLLOR, A. A mosaic virus of cowpea from Puerto Rico. Plant. Dis. Rep., 54: 212-216, 1970.
- PHATAK, H.C. Seed-borne plant virus - identification and diagnosis in seed health testing. Seed. Sci. Technol, 2: 3-155, 1974.
- PIO-RIBEIRO, G. & PAGUIO, O.R. Informações bibliográficas sobre as denominações "cowpea mosaic virus" e "cowpea severe mosaic virus". Fitopatologia Brasileira, 5: 373-376, 1980.
- PIO-RIBEIRO, G.; WYATT, S.D. & KUHN, C.W.—Cowpea stunt: A disease caused by a synergistic interaction of two viruses. Phytopathology, 68: 1260-1265, 1978.

- PURCIFULL, D.E. & BATCHELOR, D.L. Immunodifusion tests with sodium dodecyl sulfate (SDS) - Treated plant virus and plant viral inclusion. Gainesville Florida Agric. Exp. Stn., Thchnical bulletin, 788. 36p. 1977.
- SEGUEIRA, L. Harmone metabolism in diseased plants Ann. Rev. Plant. Physiol. 24: 353-380. 1973.
- SHEPHERD, R.J. Transmission of viruses through seed and pollen In: KADO, C. & AGRAWAL, H.O. ed. Principles and techniques in Plant virology. New York, Van Nostrand Reinhold Company, p. 267-292. 1972.
- SMITH, C.E. Transmission of cowpea mosaic by the bean leaf beette. Science, 60: 268. 1924.
- SMITH, F.L. & PRYOR, R.H. Effects of maximum temperature and age on flowering and seed production in three been varieties. Hilgardia. 33: 669-688. 1962.
- SPERANDIO, C.A. & COSTA, C.L. Influência da época de infecção com o vírus do mosaico em desenho na produção do feijoeiro. Fitopatologia Brasileira, 3: 546. 1982.
- SWAANS, H. & van KAMMEN, A. Reconsideration of the distinction between the severe and yelow strains of cowpea mosaic virus. Neth. J. Pl. Path, 79: 257-265, 1973.
- TAIWO, M.A. & GONSALVES, D. Serological grouping of isolates of blackeye cowpea mosaic and cowpea aphid-borne mosaic viruses. Phytopathology, 72: 583-589, 1982.
- TAIWO, M.A.; GONSALVES, D.; PROVVIDENTI, R., & THURSTON, H.D. Parcial characterization and grouping of isolates of blackeye cowpea mosaic and cowpea aphid-borne mocaic viruses. Phytopatologia, 72: 590-596, 1982.

- TOLER, R.W., THOMPSON, S.A. & BARBER, J.M. Cowpea (Southern pea) diseases in Georgia, 1961-62. Plant. Dis. Rep., 47: 746-747, 1963.
- TRINDADE, D.R., COSTA, C.L., KITAJIMA, E.W. & LIN, M.T. Caracterização de estirpes do vírus do mosaic comum do feijoeiro, no Brasil. Fitopatologia Brasileira, 4: 157, 1979.
- TSUCHIZAKI, T.; YORA, K. & ASUYAMA, H. The viruses causing mosaic of cowpea and adzuki beans, and their transmissibility through seeds. Ann. Phytopathol. Soc. Japan, 36: 112-120, 1970.
- TU, J.C.; FORD, R.E. & QUIONIONES, S.S. Effects of soybean mosaic virus and or bean pod mottle virus infection on soybean nodulation. Phytopathology. 60: 518-523, 1970.
- van KAMMEN, A. Cowpea mosaic virus. Nº 47. In: Descriptions of plant viruses. Commonw. Mycol. Inst. Assoc. Appl. Biol., Kew Surrey, England 4p. 1971.
- van KAMMEN, A. & de JAGER, C.P. Cowpea mosaic virus, nº 197 (nº 47 revised) In: Description of plant viruses. Commonw. Mycol. Inst. Assoc. Appl. Biol., Kew Surrey, England. 6p. 1978.
- VIDANO, C. & CONTI, M. Transmissionsi con afididi un "cowpea mosaic virus" isolato da Vigna sinensis. Endl in Itália, Atti. Accad. Sci., 99: 1041-1050, 1965.
- VITAL, A.F.; LORETO, T.J.G.; LIMA, J.A.A.; KRUTMAN, S. & FULTON, R.H. Mosaicos em Vigna sinensis no Estado de Pernambuco. Pesq. Agrop. Nord., 4: 69-79, 1972.
- YU, J.F.A. Mosaic disease of cowpea (Vigna sinensis Endl). Ann. Appl. Biol., 33: 450-454, 1946.

ZAMBONI, S.P.; SOUZA, F.G. de. Contribuição ao conhecimento da principal fonte protéica da Região semi-árida do Nordeste Brasileira: Feijão-de-corda \ (Vigna unguiculata). Brasília, CNPq, 66p., 1980.

ZAUMEYER, W.J. & THOMAS, H.R. A monographic study of bean diseases and methods for their control. U.S. Dept<sup>o</sup>. Agric. Tech. Bull. 868. 255 p., 1957.

ZETTLER, F.W. & EVANS, I.R. Blackeye cowpea mosaic virus in Flórida. Host range and incidence in certified cowpea seed. Proc. Fla. State Hort. Soc., 85: 99-101, 1972.