

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.

MARIA DE FÁTIMA BARROS GONÇALVES

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À COORDENAÇÃO DO
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

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 de Fátima Barros Gonçalves

DISSERTAÇÃO APROVADA EM _____

José Albérico de Araújo Lima
Orientador da Dissertação

Francisco Valter Vieira

José Ferreira Alves

Aos meus pais

PEDRO GONÇALVES e ERMELINDA GONÇALVES

À minha tia

GEORGINA

À minha amiga

MELCA

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Professor JOSÉ ALBÉRSIO DE ARAÚJO LIMA, pela amizade, dedicação e sobretudo, pela segura orientação na execução do trabalho.

Ao Professor JOSÉ FERREIRA ALVES, pela boa vontade nas valiosas sugestões apresentadas.

Ao Professor FRANCISCO VALTER VIEIRA, pela amizade e presença na banca examinadora da defesa da dissertação.

Ao Professor JOSÉ ANCHIETA ESMERALDO BARRETO e a Senhora NADJA BARRETO, pelo apoio, amizade e permanente ajuda.

Ao Departamento de Bioquímica, particularmente ao Professor RENATO DE AZEVEDO MOREIRA, pela colaboração no uso de equipamentos.

À Senhora MARIA JOSÉ, funcionária do laboratório de Virologia Vegetal, pelo incentivo e ajuda por ocasião da coleta de dados.

Às amigas SELMA MARIA AMARAL DA SILVA e SÔNIA MARIA AMARAL DA PAZ, pelo verdadeiro laço de companheirismo e amizade.

Ao meu Pai, companheiro e amigo de todos os momentos de minha vida, meu especial agradecimento.

À Deus, Que em nenhuma ocasião deixou de me conceder forças e entusiasmo para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
<u>LISTA DE TABELAS</u>	vi
<u>LISTA DE FIGURAS</u>	viii
<u>RESUMO</u>	x
<u>ABSTRACT</u>	xii
1 - <u>INTRODUÇÃO</u>	1
2 - <u>REVISÃO DE LITERATURA</u>	3
3 - <u>MATERIAL E MÉTODOS</u>	12
3.1 - <u>Fontes Iniciais de Vírus</u>	12
3.2 - <u>Transmissão Mecânica e Gama Parcial de Hospedeiras</u>	12
3.3 - <u>Purificação</u>	13
3.4 - <u>Sorologia</u>	15
3.5 - <u>Danos Ocasionalmente pelos Vírus em Feijão-de-Corã</u>	16
3.6 - <u>Transmissibilidade dos Vírus por Sementes</u>	19
4 - <u>RESULTADOS</u>	20
4.1 - <u>Gama Parcial de Hospedeiras</u>	20
4.2 - <u>Purificação e Sorologia</u>	25
4.3 - <u>Avaliação dos Danos Causados pelos Vírus em Feijão-de-Corã</u>	25
4.4 - <u>Transmissibilidade dos Vírus por Sementes</u>	27
5 - <u>DISCUSSÃO</u>	37
6 - <u>CONCLUSÕES</u>	43
7 - <u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	45
8 - <u>ANEXO</u>	55

LISTA DE TABELAS

TABELA		Página
1	Sintomas e resultados de sorologia apresentados por diferentes leguminosas, mecanicamente inoculadas com raças de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isoladas de <i>Vigna unguiculata</i> nos Estados do Ceará (CpSMV-Ce) e Piauí (CpSMV-Pi).	23
2	Médias e percentagens de redução, em relação à testemunha plantas não inoculadas, induzidas por raças de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isoladas no Ceará (CpSMV-Ce) e Piauí (CpSMV-Pi) em <i>Vigna unguiculata</i> , artificialmente inoculadas em condições de casa-de-vegetação, em diferentes estádios de desenvolvimento ...	31
3	Médias e percentagens de redução, em relação à testemunha plantas não inoculadas, induzidas por raças de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isoladas no Ceará (CpSMV-Ce) e Piauí (CpSMV-Pi) em <i>Vigna unguiculata</i> , artificialmente inoculadas em condições de casa-de-vegetação, em diferentes estádios de desenvolvimento ...	33

TABELA

Página

- | | | |
|---|--|----|
| 4 | Análise dos componentes de produtividade de plantas de <i>Vigna unguiculata</i> , cv. "Pitiúba", mecanicamente inoculadas com a raça de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isolada no Ceará (CpSMV-Ce), em diferentes estádios de desenvolvimento, em condições de casa-de-vegetação. | 35 |
| 5 | Análise dos componentes de produtividade de plantas de <i>Vigna unguiculata</i> , cv. "Pitiúba", mecanicamente inoculadas com a raça de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isolada no Piauí (CpSMV-Pi), em diferentes estádios de desenvolvimento, em condições de casa-de-vegetação. | 36 |
| 6 | Análise de variância relativa aos parâmetros avaliados em plantas de <i>Vigna unguiculata</i> , cv. "Pitiúba", mecanicamente inoculadas com as raças de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isolada no Ceará (CpSMV-Ce) e Piauí (CpSMV-Pi), em diferentes estádios de desenvolvimento, em condições de casa-de-vegetação. | 56 |

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
1	Testes sorológicos de dupla difusão em meio de agar, contendo 0,85% de agar noble, 0,85% de NaCl e 0,05% de NaN ₃ , para demonstrar o relacionamento sorológico entre raças de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isoladas de <i>Vigna unguiculata</i> nos Estados do Ceará (CpSMV-Ce) e Piauí (CpSMV-Pi). Os orifícios centrais foram preenchidos com anti-soros específicos para o CpSMV-Ce (A) e CpSMV-Pi (B), enquanto os da periferia com: (Ce) seiva de planta infetada com CpSMV-Ce; (Pi) seiva de planta infetada com CpSMV-Pi e (S) seiva de plantas sadias. Observe a formação de esporão entre Ce e Pi, quando testados contra anti-soro para CpSMV-Ce (A)	21
2	Folha de <i>Canavalia brasiliensis</i> apresentando lesões locais induzidas pela raça de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isolada de <i>Vigna unguiculata</i> no Estado do Ceará (CpSMV-Ce)	22
3	Raízes de plantas de <i>Vigna unguiculata</i> inoculadas com a raça de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isolada no Estado do Ceará (CpSMV-Ce) e de planta não inoculada, mantida como testemunha. A) Raízes de uma planta inoculada 10 dias após	

FIGURA

Página

- 3 o plantio; B) Raízes de uma planta inoculada 20 dias após o plantio; C) Raízes de uma planta inoculada 30 dias após o plantio e D) Raízes de uma planta não inoculada, mantida como testemunha 29
- 4 Vagens e sementes colhidas de plantas de *Vigna unguiculata*, cv. "Pitiúba", inoculadas com uma raça de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isolada no Estado do Ceará (CpSMV-Ce) e de plantas não inoculadas, mantidas como testemunha. A) Vagens e sementes de plantas inoculadas 10 dias após o plantio; B) Vagens e sementes de plantas inoculadas 30 dias após o plantio e C) Vagens e sementes de plantas não inoculadas, mantidas como testemunha 30

RESUMO

Dois vírus, isolados de plantas de feijão-de-corda, *Vigna unguiculata* subsp. *unguiculata*, foram identificados através da sorologia como raças de "cowpea severe mosaic virus" (= CpSMV, vírus do mosaico severo do caupi), as quais foram designadas de CpSMV-Ce (isolado procedente do Ceará) e CpSMV-Pi (isolado oriundo do Piauí). Ambas as raças foram purificadas pelo método de clarificação de seiva, com n-butanol e precipitação de vírus com polietileno glicol. Após obtenção das soluções purificadas, obteve-se anti-soros específicos para cada raça, por meio do processo de imunização de coelhos - "foot pad". Os estudos envolvendo a gama parcial de hospedeiras revelaram que, das 18 espécies de leguminosas inoculadas com cada raça de CpSMV, 10 reagiram com diferentes formas de infecções sistêmicas e/ou localizadas, enquanto que, das 13 cultivares de feijão-de-corda testadas, somente a "Ma caibo" manteve-se imune.

Os resultados da avaliação dos danos causados pelas raças de CpSMV ao feijão-de-corda, cv. "Pitiúba", determinados 40 dias após o plantio, em condições de casa-de-vegetação, revelaram os seguintes índices de redução das plantas inoculadas aos 10, 20 e 30 dias, respectivamente, após o plantio, em relação à testemunha: altura da planta (CpSMV-Ce, 56%, 27% e 16%; CpSMV-Pi, 67%, 27% e 21%); número de folhas/planta (CpSMV-Ce, 46%, 24% e 9%; CpSMV-Pi, 52%, 35% e 29%); peso seco do caule (CpSMV-Ce, 83%, 40% e 11%; CpSMV-Pi, 85%, 53% e 21%); peso seco da raiz (CpSMV-Ce, 76%, 40% e 24%; CpSMV-Pi, 72%, 38% e 17%) e peso seco da folha (CpSMV-Ce, 79%, 44% e 18%; CpSMV-Pi, 81%, 54% e 34%). Para os danos avaliados aos 100 dias depois do plantio, a análise revelou

os seguintes índices de redução: comprimento da vagem (CpSMV-Ce, 41%, 46% e 18%; CpSMV-Pi, 38%, 33% e 19%); vagens/planta (CpSMV-Ce, 77%, 70% e 33%; CpSMV-Pi, 48%, 47% e 17%); sementes/vagem (CpSMV-Ce, 22%, 38% e 2%; CpSMV-Pi, 22%, 11% e 1%); sementes/planta (CpSMV-Ce, 76%, 71% e 32%; CpSMV-Pi, 53%, 46% e 16%); produção de sementes/planta (CpSMV-Ce, 81%, 74% e 42%; CpSMV-Pi, 65%, 54% e 21%) e peso de 100 sementes (CpSMV-Ce, 52%, 42% e 18%; CpSMV-Pi, 38%, 32% e 15%).

De outra parte, as percentagens relativas à queda de flores das plantas inoculadas aos 10, 20 e 30 dias após o plantio, e das plantas não inoculadas (testemunhas) foram, respectivamente, de 78%, 68%, 60% e 55% (CpSMV-Ce) e de 61%, 60%, 46% e 41% (CpSMV-Pi), enquanto que as sementes colhidas de referidas plantas apresentaram os seguintes percentuais de germinação: 77%, 85%, 90% e 93% (CpSMV-Ce) e de 66%, 84%, 88% e 92% (CpSMV-Pi). A transmissão da raça CpSMV-Ce não foi constatada em nenhuma das 1676 sementes colhidas de plantas infetadas, nem tampouco a transmissão da raça de CpSMV-Pi em 4954 sementes, colhidas de plantas infetadas quando testadas através do plantio direto em solo esterilizado.

ABSTRACT

Two viruses isolated from cowpea, *Vigna unguiculata* were serologically identified as strains of cowpea severe mosaic virus (CpSMV), which were designated as CpSMV-Ce (isolated in Ceará) and CpSMV-Pi (isolated in Piauí). Both strains were purified by a combination of sap clarification with n-butanal and virus precipitation with polyethelene glycol. Antisera specific for the virus strains were obtained by rabbit immunization with purified virus preparations. The foot pad method of immunization was used for antiserum production for both virus strains. The host range studies revealed that among the 18 leguminous species artificially inoculated with each of the CpSMV strains, 10 showed sistemic or local simptoms. On the other hand, the 13 cowpea cultivars tested, only "Macaibo" remained uninfected.

The determination of the damages caused by the CpSMV strains on cowpea c.v. "Pitiúba" 40 days after planting in greenhouse conditions, revealed the following reduction rates in plants inoculated at 10, 20 and 30 days after planting, respectively, in relation to the control (uninoculated plants): plant height (CpSMV-Ce, 56%, 27%, and 16%; CpSMV-Pi, 67%, 27% and 21%); number of leaves/plant (CpSMV-Ce, 46%, 24% and 9%; CpSMV-Pi, 52%, 35% and 29%); stem dry weight (CpSMV-Ce, 83%, 40% and 11%; CpSMV-Pi, 85%, 53% and 21%); root dry weight (CpSMV-Ce, 76%, 40% and 24%; CpSMV-Pi, 72%, 38% and 17%); and leaves dry weight (CpSMV-Ce, 79%, 44% and 18%; CpSMV-Pi, 81%, 54% and 34%). Considering the damages evaluated 100 days after planting, the analysis revealed the following reduction rates: pod length (CpSMV-Ce, 41%, 46% and 18%; CpSMV-Pi, 38%, 33% and 19%); pods/plant

(CpSMV-Ce, 77%, 70% and 33%; CpSMV-Pi, 48%, 47% and 17%) seeds/pod (CpSMV-Ce, 22%, 38% and 2%; CpSMV-Pi, 22%, 11% and 1%); seeds/plant (CpSMV-Ce, 76%, 71% and 32%; CpSMV-Pi, 53%, 46% and 16%); production of seeds/plant (CpSMV-Ce, 81%, 74%, and 42%; CpSMV-Pi, 65%, 54% and 21%) and 100 seed weight (CpSMV-Ce, 52%, 42% and 18%; CpSMV-Pi, 38%, 32% and 15%).

On the other hand, the percentages of dropped flowers of cowpea plants inoculated at 10, 20 and 30 days after/ planting, and non-inoculated plants (control) were respectively of 78%, 68%, 60% and 55% (CpSMV-Ce) and of 61%, 60%, 46% and 41% (CpSMV-Pi), whereas the seeds harvested from those plants showed the following percentages of germination: 77%, 85%, 90% and 93% (CpSMV-Ce) and of 66%, 84%, 88% and 92% (CpSMV-Pi). The CpSMV-Ce strain was not transmitted by none of the 1.676 seeds harvested from infected plants. Also the other strain, CpSMV-Pi, was not transmitted by any of the 4.954 seeds from infected cowpea plants, when they were tested by direct planting on esterilized soil in greenhouse conditions.

1 - INTRODUÇÃO

O feijão-de-corda, também conhecido como feijão macassar e caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. subsp. *unguiculata* (= *Vigna sinensis* (L.) Savi), é uma leguminosa de larga distribuição geográfica, sendo cultivada principalmente no continente africano, que participa com 70% da produção mundial. Além da África, o feijão-de-corda é ainda cultivado na Índia, em alguns países da América Central, Estados Unidos, no Brasil e neste último, mais precisamente, nas regiões Norte e Nordeste.

Segundo o ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL (IBGE, 1980), dentre as lavouras nordestinas, o feijão-de-corda ocupa o 4º lugar em importância econômica e, particularmente no Estado do Ceará, essa leguminosa é a cultura de maior área de dispersão, contribuindo com 11% da renda agrícola. De acordo com PAIVA & TEÓFILO (1977), como cultura de subsistência representa o produto básico da alimentação das populações rurais e urbanas do Nordeste, uma vez que as suas sementes, tradicionalmente apreciadas, constituem uma das principais fontes de calorías proteicas de baixo custo.

Certas variedades de feijão-de-corda, quando cultivadas em condições ideais, chegam a atingir uma alta produtividade, entretanto, muitos fatores podem limitá-la, destacando-se a incidência de várias doenças infecciosas, algumas das quais de notável expressão econômica (PONTE, 1972). Em vários países, as viroses são consideradas como fator limitante da produção do feijão-de-corda (KUNH et al., 1966; GAY & WINSTEAD, 1970; ZETTLER & EVANS, 1972; BOCK, 1973; PHATAK, 1974; HAQUE & PERSAD, 1975; KAISER & MOSSAHEBI, 1975; LIMA &

NELSON, 1977; LIMA, 1978). Dentre os principais vírus que infetam o feijão-de-corda, o comovirus "cowpea severe mosaic virus" (= CpSMV, vírus do mosaico severo do caupi) foi considerado por LIMA & NELSON (1974 e 1977) como o patógeno mais prevalente na cultura do feijão-de-corda no Estado do Ceará. Embora os mosaicos representem, desde há muito tempo, as mais sérias moléstias da cultura do feijão-de-corda, os trabalhos realizados por LIMA & NELSON (1974 e 1977) constituem a primeira referência sobre a identificação de um dos seus agentes causais. Conquanto vários outros trabalhos tenham sido realizados, objetivando estudar diferentes aspectos das viroses do feijão-de-corda no Brasil, poucos são os estudos na literatura brasileira, sobre os danos ocasionados pelo CpSMV à cultura do feijão-de-corda (PAGUIO, 1980).

A presente pesquisa teve como objetivos principais o isolamento, a purificação e a obtenção de anti-soros específicos para dois isolados do CpSMV, oriundos de feijão-de-corda nos Estados do Ceará e Piauí; estudar-lhes a gama parcial de hospedeiras e avaliar-lhes os danos ocasionados sobre a cultivar "Pitiúba", através de inoculações mecânicas, em casa-de-vegetação.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

Vários vírus infetam o feijão-de-corda, *V. unguiculata* subsp. *unguiculata*, causando diferentes tipos de mosaico. No Estado do Ceará, LIMA & NELSON (1974 e 1977) identificaram o "cowpea mosaic virus" (CpMV), atualmente denominado de "cowpea severe mosaic virus" (de JAGER, 1979), como sendo o vírus prevalente na cultura do feijão-de-corda.

Durante vários anos, a denominação "cowpea mosaic virus" (CpMV) foi indistintamente usada para designar isolados pertencentes às duas principais raças do referido vírus: "yellow strain" (raça amarela) e "severe strain" (raça severa). Esta denominação, sugerida por AGRAWAL (1964), após trabalhos comparativos realizados com isolados do vírus, obtidos em Trinidad, Nigéria e Suriname foi adotada durante vários anos, inclusive por van KAMMEN (1971), na descrição do CpMV. Segundo van KAMMEN (1971), os subgrupos "severo" e "amarelo" do CpMV podiam ser distinguidos por sorologia, gama de hospedeiras e tipos de sintomas causados em *Chenopodium amaranticolor* Costa e Reyn.

Dois anos depois, SWAANS & van KAMMEN (1973) apresentaram trabalhos que confirmaram a distinção entre a raça severa (severe strain) e a raça amarela (yellow strain) do CpMV. A separação dessas raças em dois vírus distintos, membros do mesmo grupo (Comovirus), foi sugerida com base em diferenças na gama de hospedeiras, sintomatologia, sorologia, inativação térmica e proporções dos seus componentes, examinados através de centrífuga analítica (van KAMMEN & de JAGER, 1978; de JAGER, 1979). A denominação de "cowpea mosaic virus" (CpMV) foi usada para os isolados pertencentes à raça

amarela (van KAMMEN & de JAGER, 1978), enquanto que os isolados pertencentes à raça severa receberam a denominação de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), de acordo com de JAGER (1979). BRUENING (1978) fazendo uma descrição do grupo Como-virus mostrou diversas diferenças e similaridades entre CpMV e CpSMV. Com base nas informações fornecidas por LIMA & NELSON (1977), os isolados encontrados no Brasil, até então, foram considerados como "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), cuja denominação foi sugerida para todos os isolados do vírus, estudados no Brasil até 1980 (PIO-RIBEIRO & PAGUIO, 1980).

Conforme de JAGER (1979), o primeiro registro do CpSMV foi realizado, possivelmente por SMITH (1924) em Arkansas, nos Estados Unidos, quando relatou a ocorrência de um vírus do feijão macassar, *V. unguiculata*. Mais tarde, DALE (1949) descreveu um vírus observado em Trinidad, com o nome de "cowpea mosaic virus". Testes de imunodifusão dupla em agar mostraram que isolados de CpMV obtidos em Arkansas e em Trinidad eram sorologicamente relacionados, porém, distintos (SHEPHERD, 1963). Outras propriedades de diferentes isolados do vírus foram estudadas, e SHEPHERD (1964) confirmou uma estreita semelhança do vírus isolado em Arkansas com o isolado em Trinidad por DALE (1949). A ocorrência desses vírus em plantas do gênero *Vigna* há sido assinalada em várias partes do mundo, incluindo Trinidad (DALE, 1943, 1953); EUA (SHEPHERD, 1963); Suriname (van HOOFF, 1963); Venezuela (DEBROT & ROJAS, 1967); Kenya (BOCK, 1971); Porto Rico (ALCONERO & SANTIAGO, 1973) e Índia (KHATRI & SINGH, 1974). Reduções em campos de cultura na Nigéria, que atingiram percentuais de 80 a 100%, foram atribuídos a infecção ocasionada pelo CpMV (CHANT, 1960; SHOYINKA, 1974; GILMER et al., 1974).

No Brasil, OLIVEIRA (1947) foi o primeiro a registrar a ocorrência do mosaico em caupi no Estado do Rio Grande do Sul. A identificação do "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV) como agente causal do mosaico em feijão-de-corda no

Estado de São Paulo foi realizada por COSTA et al. (1969) e CANER et al. (1969), havendo sido referido na paulicéia e em outros Estados, naquela época, como "cowpea mosaic virus" (CpMV). Estudos envolvendo a gama de hospedeiras e a sintomatologia do agente causal de um mosaico do feijão-de-corda no Estado de Pernambuco foram realizados por VITAL et al. (1972); sem, contudo, chegarem a uma identificação específica do vírus. De outra parte, CUPERTINO et al. (1974) verificaram através da sintomatologia, da gama de hospedeiras, da transmissibilidade mecânica e da morfologia das partículas nos tecidos infetados que, o mosaico do feijão macassar no Distrito Federal era causado pelo CpSMV. Anti-soros específicos para o CpSMV foram obtidos por OLIVEIRA et al. (1969), LIMA et al. (1974) e LIN & KITAJIMA (1978) nos Estados de São Paulo, Ceará e Distrito Federal, respectivamente. Estudos sorológicos para a identificação do CpSMV foram realizados nos Estados do Ceará (LIMA & NELSON, 1977); Piauí (COSTA et al. 1978); Amazonas (KITAJIMA et al. 1978); Pernambuco (PAGUIO, 1979) e em São Luiz, Maranhão (KITAJIMA et al. 1982). Usando anti-soros para CpSMV e CpMV, fornecidos por FULTON & SCOTT (1979), LIN (1979) constatou que dentre 68 amostras de folhas de feijão-de-corda com mosaico, provenientes de várias partes do Brasil, 44 estavam infetadas somente com o CpSMV.

Nos trabalhos desenvolvidos por LIMA & NELSON (1974 e 1977), várias cultivares de caupi foram inoculadas, mecanicamente, com o CpSMV e todas mostraram sintomas que variaram de mosaico, distorção foliar, lesões necróticas localizadas a necroses sistêmicas, com exceção da cultivar "Macaibo", que se mostrou imune ao referido vírus.

Como os demais membros do grupo Comovirus, o CpMV e o CpSMV são vírus com genoma bipartite, constituídos de três partículas poliédricas, contendo a mais leve, 0% de ácido ribonucleico (RNA), a mediana, 24% de RNA, aproximadamente e a mais pesada, mais ou menos 33% de RNA (van KAMMEN, 1971; BRUENING & AGRAWAL, 1967; WU & BRUENING, 1971; van KAMMEN &

de JAGER, 1978; de JAGER, 1979). Evidências indicam que a infectividade desses vírus está associada às duas partículas que contêm RNA.

Os comovirus que infetam o feijão-de-corda são eficientemente disseminados na natureza através de coleópteros, entre os quais se destacam espécies pertencentes aos gêneros *Ceratoma* e *Diabrotica* (GONZALEZ et al., 1975; GONZALEZ et al., 1976; FULTON & SCOTT, 1977; van KAMMEN & de JAGER, 1978; de JAGER, 1979; ARAUJO & MORENO, 1979). Segundo de JAGER (1979), a primeira referência sobre a transmissibilidade do CpSMV por inseto foi realizada por SMITH (1924), quando relatou que um vírus de *V. unguiculata* era transmitido por *Ceratoma trifurcata* Fort. Por outro lado, DALE (1953), trabalhando com CpMV isolado de feijão-de-corda, em Trinidad, demonstrou que o mesmo era eficientemente transmitido por *C. ruficornis* (Oliv.). O vírus do feijão-de-corda isolado em Trinidad e descrito por DEBROT & ROJAS (1967) foi também transmitido pelo mesmo vetor. WALTERS & BARNETT (1964) ao trabalharem com um comovirus do feijão-de-corda, sorologicamente idêntico ao isolado de Arkansas, demonstraram que o mesmo era eficientemente transmitido por *C. trifurcata*. COSTA et al. (1978) identificaram o besouro *Ceratoma arcuata* (Oliv.) como o principal vetor de CpSMV, no Estado do Piauí. Posteriormente, COSTA et al. (1981) constataram que *D. speciosa* era capaz de transmitir uma raça de CpSMV isolada de plantas de *Phaseolus vulgaris* L., infetadas naturalmente. No Ceará, LIMA & GONÇALVES (1980) observaram a transmissibilidade do CpSMV por *Chalcodermus bimaculatus* Fiedler em cerca de 25% das plantas testes. Essa parece constituir a primeira referência sobre a transmissão de CpSMV por *C. bimaculatus*, vez que referido coleóptero não está incluído na lista de vetores de comovirus.

Embora a transmissão de vírus por sementes constitua um eficiente método de introdução de vírus numa cultura (FULTON, 1964; BENNETT, 1966; SHEPHERD, 1972; BAKER, 1972;

PHATAK, 1974), a transmissibilidade do CpSMV por sementes de feijão-de-corda varia consideravelmente, dependendo do tipo de isolado do vírus e da variedade de feijão-de-corda envolvida (LIMA, 1978). Cerca de 8% das sementes de feijão asparagus (*Vigna sesquipedalis* L.), provenientes de plantas infetadas por um isolado de CpMV em Trinidad, transmitiram o referido vírus, conforme DALE (1949). Por outro lado, PEREZ & CORTES-MONLLOR (1970) não constataram nenhum sintoma de mosaico em 620 plantas, aproximadamente, de feijão-de-corda, variedade "Blackeye", obtidas de sementes procedentes de plantas, artificialmente inoculadas com CpMV. Subsequentemente, HAQUE & PERSAD (1975) observaram que dependendo da variedade de feijão-de-corda, a taxa de transmissão por sementes, desse mesmo vírus, variava de 0 a 5,8%.

A sorologia tem sido extremamente útil na identificação, caracterização, separação de vírus de plantas em grupos e na subdivisão dos seus membros em subgrupos ou sorotipos (van REGENMORTEL, 1966; MATTHEWS, 1970; NOORDHAM, 1973; TOLIN, 1977). Diferentes membros do grupo comovirus foram agrupados em sorogrupos, com base nos seus graus de relacionamento sorológico (FULTON & SCOTT, 1979). Os vírus incluídos no grupo comovirus são facilmente purificados, constituindo bons antígenos para a imunização de coelhos e seus anti-soros apresentam fortes reações em meio de agar, nas mais variadas condições (TOLIN, 1977). LIMA (1978, 1979); TOLIN (1977) e FULTON & SCOTT (1979) utilizaram técnicas sorológicas, enfatizando os métodos que empregam difusão simples ou dupla em agar, para identificação de vírus que infetam leguminosas, identificação de membros do grupo Comovirus e separação das raças em membros diferentes do grupo Comovirus. Testes sorológicos com raças de CpSMV isoladas de feijão-de-corda cultivado nos Estados do Piauí e Ceará revelaram que, as mesmas, embora relacionadas, apresentavam-se sorologicamente distintas, através da formação de esporão em testes de reciprocidade de dupla difusão em agar (GONÇALVES & LIMA, 1981).

A gama de hospedeiras dos vírus CpMV e CpSMV tem sido bastante estudada, objetivando a identificação de fontes naturais de vírus e o relacionamento biológico entre eles. CHANT (1962) observou que havia relação entre o CpMV descrito em Trinidad e o vírus encontrado em feijão-de-corda na Nigéria, denominado de "cowpea yellow mosaic virus" (CHANT, 1959). ALCONERO & SANTIAGO (1973) constataram que, em Porto Rico, plantas de *Phaseolus lathyroides* L. eram usualmente infetadas por CpSMV. Semelhante constatação foi feita por LIMA & NELSON (1977) no Estado do Ceará. LIMA & NELSON (1977) testaram ainda diferentes variedades de feijão-de-corda ao CpSMV e dentre todas as plantas inoculadas, somente a cultivar "Macaibo" mostrou-se imune ao vírus. Durante levantamento de viroses em plantas cultivadas na região de Manaus, Amazonas, KITAJIMA et al. (1979) verificaram a ocorrência de mosaico em plantas de feijão-de-asa, *Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC, com a indicação de que, o agente causal seria um isolado de CpSMV. No entanto, segundo os mesmos autores (KITAJIMA et al., 1979), o isolado encontrado parece ser ligeiramente diferente daqueles prevalentes em diversas regiões do Brasil (OLIVEIRA, 1947; COSTA et al., 1969; CARNER et al., 1969; CUPERTINO et al., 1974; LIMA & NELSON, 1977; COSTA et al., 1978; PAGUIO, 1979). Além do feijão-de-corda, as seguintes leguminosas são indicadas por van KAMMEN (1971) como hospedeiras naturais de CpSMV: feijão mungo (*Phaseolus mungo* L.), soja (*Glycine max* L.) e *Crotolaria juncea* L. De outra parte, LIN & RIOS (1980) registraram pela primeira vez, a infecção natural de *Vigna sesquipedalis* L. pelo CpSMV, demonstrando a ocorrência simultânea de 2 sorotipos numa mesma planta. No Ceará, LIMA & SOUZA (1980) isolaram o CpSMV em plantas de feijão de porco (*Canavalia ensiformis* D.C.). Mais tarde, LIN et al., (1982) constataram a presença do CpSMV em *Calopogonium mucunoides* Desv., *Centrosema pubescens* Benth., *Crotolaria juncea* L., *Vigna radiata* (L.) Wilcker, além de confirmarem a infecção do referido vírus em *V. sesquipedalis* L.

Embora sejam vários os vírus que infetam o feijão-de-corda, poucas são as informações sobre seus efeitos no desenvolvimento e na produção desta cultura (HARRINSON e GUDAUSKAS, 1968). Observações de campo feitas nos Estados Unidos (TOLER et al., 1963; BRANTLEY et al., 1965; KUHN et al., 1966) e em outros países (DALE, 1949; WELLS & DEBA, 1961) têm indicado que a produção de feijão-de-corda é reduzida por várias viroses. CHANT (1960) estudou a influência do "tabbaco mosaic virus" (TMV) e do "cowpea yellow mosaic virus" (CYMV) na taxa de crescimento e produção do feijão-de-corda e encontrou que o CYMV, particularmente, causou efeitos severos sobre a área foliar, número de flores e produtividade, enquanto o TMV provocou somente alguma redução na produção. PIO-RIBEIRO et al. (1978), em estudos sob condições de casa-de-vegetação, observaram que o "cucumber mosaic virus" (CMV) reduziu a produção do feijão-de-corda, var. "California Blackeye", em 14,2%, enquanto o "blackeye cowpea mosaic virus" (BlCMV) foi responsável pela redução da produção em 2,5% apenas. Por sua vez, a dupla infecção destes dois vírus reduziu a produção da var. "California Blackeye" em 86,4%, de acordo com PIO-RIBEIRO et al. (1978). FROWD & BERNIER (1977) conduziram experimentos de campo com feijão fava (*Vicia faba minor* Beck e *V. faba equina* Pers.) e constataram que, quando plantas, ainda jovens, eram infetadas por vírus, havia um efeito severo na nodulação das raízes. FROWD & BERNIER (1977) verificaram, também que, infecções do isolado moderado no pré-florescimento, durante o florescimento e após o florescimento reduziram a produção em 59%, 48% e 17%, respectivamente e, no tocante ao isolado severo 96%, 70% e 17%, sucessivamente. Avaliações das perdas do feijoeiro, *Phaseolus vulgaris* L., var. "Rico 23", causadas pelo vírus do mosaico dourado (VMD), realizadas na Estação Experimental da Universidade de Brasília revelaram uma redução de 85% no peso de sementes e de 75% em relação à quantidade, em plantas inoculadas, decorridos 15 dias da semeadura (COSTA & CUPERTINO, 1976). COSTA & CUPERTINO (1976) observaram também que as plantas inocula-

das aos 30 dias, após a sementeira, sofreram uma redução de 48% no peso das suas sementes, sem apresentarem, no entanto, nenhuma redução na quantidade. De outra parte, CANER et al. (1981) fizeram avaliações sobre os índices de infecção atribuídos ao vírus do mosaico dourado do feijoeiro (VMDF), em condições de campo, em três regiões do Estado de São Paulo - Sales Oliveira, Monte-Mor e Ourinhos - e constataram que a percentagem de infecção, 50 - 60 dias após o plantio, foi de igual nos três locais: 16%, 92% e 91%, respectivamente. SPERANDIO & COSTA (1982) estudaram a influência da época de infecção do vírus do mosaico-em-desenho (VMDF) na produção das cultivares "Mulatinho Paulista", "Costa Rica" e "Jalo" de *P. vulgaris* e observaram reduções de 59% no peso e 58% no número de sementes da cultivar Jalo, inoculada aos 10 dias após a germinação. Para as plantas inoculadas aos 20 dias depois, as taxas de redução correspondentes foram de 46 e 47%, respectivamente, e para aquelas inoculadas no 40º dia da germinação, 31 e 25%, consecutivamente.

As perdas cuasadas pelo CpSMV à produção do feijão-de-corda são consideradas grandes, especialmente quando as plantas são infetadas ainda jovens, sendo no entanto, poucas as informações sobre a quantidade e a qualidade dessas perdas. PAGUIO (1980) constatou, mediante testes em casa de vegetação, que a maioria das cultivares de feijão macassar era susceptível ao CpSMV isolado em Pernambuco. Inoculações efetuadas 10 e 20 dias após o plantio causaram reduções de 50 a 26% e de 64 a 21% na produção das cultivares "Seridó" e "Califórnia Blackeye", respectivamente, embora os sintomas apresentados pela cv. "Seridó" não tenham apresentado a mesma severidade exibida pela cultivar "Califórnia Blackeye". De acordo com os dados obtidos por PAGUIO (1980), não houve perdas significativas na produção, quando as plantas foram inoculadas aos 40 dias após o plantio.

No presente estudo, além da purificação e sorologia de dois isolados de CpSMV, foi feita uma avaliação dos da-

nos ocasionados por esses isolados, pertinentes à produção do feijão-de-corda, cv. "Pitiúba", fornecendo, portanto, bases para pesquisas posteriores com viroses do feijão-de-corda.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Fontes Iniciais de Vírus

Os vírus em estudo consistiram em dois isolados de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), obtidos a partir de plantas de feijão-de-corda, *V. unguiculata*, naturalmente infetadas em campos de culturas cultivados em regime de irrigação nos Estados do Ceará (CpSMV-Ce) e do Piauí (CpSMV-Pi). Os isolados de CpSMV foram inoculados mecanicamente, em plantas saudias de feijão-de-corda, mantidas em casa-de-vegetação. A partir de material foliar das plantas inoculadas e apresentando sintomas de mosaico, cada isolado do vírus foi artificialmente inoculado em plantas saudias de *Phaseolus vulgaris* L., *Canavalia brasiliensis* Mart e *Canavalia ensiformis* DC, com o objetivo de se obter lesões necróticas localizadas. A partir das lesões produzidas em *C. brasiliensis*, os vírus foram reisolados em *V. unguiculata*, usando-se 10 plantas para cada vírus e uma lesão para cada planta. Entre as plantas inoculadas com cada vírus, selecionou-se uma com sintomas típicos do vírus em questão, para servir de fonte inicial de inóculo, destinada à multiplicação, purificação, à produção de anti-soro específico e ao estudo de suas propriedades sorológicas, biológicas e de transmissibilidade por sementes.

3.2 - Transmissão Mecânica e Gama Parcial de Hospedeiras

Nas inoculações mecânicas, os inóculos foram preparados mediante maceração em almofariz do tecido foliar infeta-

do pelo vírus, na presença de solução tampão de fosfato 0,05 M, pH 7,5, na proporção de 1g de tecido para 2ml de solução. Pequena quantidade de "carborundum" foi adicionada ao inóculo e as inoculações foram feitas pela embebição de pedaços de gaze nas preparações que continham os vírus, friccionando-os às superfícies adaxiais das folhas.

Para determinar-se a gama parcial de hospedeiras, os vírus foram mecanicamente inoculados em 19 espécies de leguminosas, a seguir enumeradas: *Cajanus indicus* Spreng., *Canavalia brasiliensis* Mart., *Canavalia ensiformis* DC., *Centrosema pubescens* Benth., *Cassia occidentalis* Linn., *Cassia sericea* Swartz, *Cassia tora* Linn., *Clitoria ternatea* L., *Dolichos lablab* L., *Glycine max* (L.) Merr cv. "IAC-2", *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit, *Macroptilium atropurpureum* L., *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth., *Phaseolus lathyroides* Linn., *Phaseolus mungo* L., *Phaseolus vulgaris* L., cv. "Local", *Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC., *Stizolobium doeringianum* Bort. e em 13 cultivares de *Vigna unguiculata* (TABELA 1). Todas as plantas inoculadas foram mantidas em casa-de-vegetação por um período mínimo de 30 dias a fim de que a infecção viral fosse observada através da sintomatologia e confirmada com testes sorológicos, sobretudo, para as plantas sem sintomas ou com sintomas imperceptíveis.

3.3 - Purificação

Objetivando a obtenção de anti-soros específicos para os isolados do vírus, cada um deles foi purificado através do método de precipitação com polietileno glicol (PEG) 6000 (peso molecular), usado por HERBERT (1963), após precipitação das proteínas da planta, com n-butanol.

Para cada isolado de vírus foram cultivadas, em condições de casa-de-vegetação, com temperatura variando de 26°C

a 38°C, 30 plantas da sua hospedeira original, inoculadas me canicamente com cada isolado. Folhas das plantas, artificial mente inoculadas, exibindo sintomas de mosaico foram colhi- das e levadas ao laboratório para purificação. O material fo- liar colhido foi homogeneizado em liquidificador com solução tamponada de fosfato 0,1 M de pH 7,5, contendo 0,5% de sulfi- to de sódio (Na₂SO₃), na proporção de 100g de folhas para 200 ml da solução. Filtrou-se em gase dupla o extrato obtido, havendo sido adicionado ao suco resultante 8% de n-butanol, o qual, depois de agitado por 40 a 60 minutos foi submetido a uma centrifugação de 4000 rpm, durante 10 minutos, na cen- trífuga JANETZKY, modelo T-32 C. Visando a precipitação do vírus, à parte líquida foram acrescidos 6% de polietileno glicol (PEG) e 4% de NaCl (peso/volume), após o que, agitada durante 40 a 60 minutos, foi submetida a nova centrifugação de 4000 rpm, durante 15 minutos. A parte líquida foi descar- tada e o precipitado contendo o vírus ressuspêndido em tam- pão de fosfato 0,1 M, pH 7,5. Completada a ressuspensão do vírus, foi feita uma clarificação da solução, através de cen- trifugação à velocidade de 10.000 rpm, por um período de 10 minutos, na centrífuga refrigerada JANETZKY, modelo K-24. Ter- minada esta clarificação, as etapas de precipitação e concen- tração com PEG e NaCl foram repetidas duas vezes mais, para melhor purificação do vírus.

As soluções purificadas de cada isolado, ao serem de- vidamente diluídas em solução tampão 0,05 M, pH 7,5, na pro- porção de 1:10 e 1:100, foram levadas ao espectofotômetro VARIAN, série 634, para determinação das concentrações dos isolados em referência, através da densidade ótica obtida pa- ra o comprimento de onda de 260 nm. Usando-se um coeficiente de extinção igual a 8,0 (van KAMMEN, 1968), determinou-se a concentração de cada isolado de vírus através da fórmula:

$$\text{Concentração (mg/ml)} = \frac{\text{Densidade ótica a 260 nm}}{\text{Coeficiente de extinção}} \times \text{Fator diluição}$$

As soluções purificadas dos vírus foram diluídas em água destilada, na proporção de 1:10 e em seguida inoculadas, mecanicamente, em plantas indicadoras de sintomas necróticos localizados (*C. amaranticolor*) e sintomas sistêmicos (*V. unguiculata*), para a determinação da infectividade de cada vírus na solução purificada.

3.4 - Sorologia

As soluções purificadas dos dois isolados de CpSMV foram utilizadas para obtenção de anti-soros específicos aos referidos vírus, através da imunização de coelhos. Selecionou-se um coelho com aproximadamente 7 meses de idade, para imunizá-lo com cada solução viral. Obteve-se, inicialmente, pequena quantidade de soro normal, a partir de cada coelho selecionado, a qual foi testada contra a solução purificada do vírus, contra o suco de folhas de planta hospedeira, exibindo sintomas de mosaico e com o suco de plantas sadias, em teste de dupla difusão em agar (OUCHTERLONY, 1962).

A imunização de cada coelho constou de três inoculações intramusculares, na pata trazeira, a intervalos de uma semana, com a preparação purificada de cada vírus. A solução contendo o vírus, antes de ser injetada no coelho foi homogeneizada com igual quantidade do Adjuvante Incompleto de Freund e em cada inoculação injetou-se 0,2 ml da emulsão em uma das patas trazeiras, e 0,8 ml na região muscular de uma das coxas trazeiras do mesmo animal. Após um período de três semanas, contado da última inoculação, os coelhos foram sangrados, semanalmente, obtendo-se 15 a 20 ml de sangue em cada coleta. O sangue colhido foi posto a coagular em banho-maria por um período de 30 minutos, a uma temperatura de 37°C e, em seguida, centrifugado durante 10 minutos a uma velocidade de 4000 rpm, na centrífuga JANETZKY, modelo T-32 C.

O anti-soro obtido foi clarificado através de uma segunda centrifugação, a 7000 rpm, durante 10 minutos, na centrífuga re-frigerada JANETZKY, modelo K-24, e testado contra solução pu-rificada do vírus, em suco de plantas exibindo sintomas do mesmo, e contra suco de planta sadia, através do teste de du-pla difusão em agar. Testes sorológicos de reciprocidade fo-ram realizados com cada anti-soro, para demonstrar-se o rela-cionamento existente entre os vírus em estudo.

Com o objetivo de preservar os anti-soros, foram es-tes misturados a igual quantidade de glicerina e mantidos em congeladores, à temperatura de aproximadamente 0°C.

Os títulos dos anti-soros foram determinados através de testes de dupla difusão em agar, depois de diluídos em água destilada, nas proporções de 1:2, 1:4, 1:8 ... 1:2048. Para cada anti-soro, referidas diluições foram testadas con-tra suco de plantas infetadas pelo seu respectivo homólogo, diluído em água destilada, nas proporções de 1:2, 1:4 e 1:8, e em suco de plantas sadias, diluído nas mesmas proporções.

Todos os testes sorológicos foram desenvolvidos em meio de agar contendo 0,8% de agar noble, 0,8% de NaCl e 0,05% de NaN_3 (LIMA & NELSON, 1974 e LIMA, 1978). Suco de planta sadia e soro normal foram incluídos em todos os tes-tes sorológicos, como controle.

3.5 - Danos Ocasionados pelos Vírus em Feijão-de-Corda

Os danos ocasionados pelos vírus em feijão-de-corda, cv. "Pitiúba", foram avaliados através de estudos procedidos em casa-de-vegetação, com temperatura variando de 26°C a 38°C, em dois períodos.

Os experimentos foram realizados em jarros de barro com capacidade para 1,0m³ de solo, aproximadamente, cada, conten

do como substrato uma mistura de solo + esterco, esterilizada em autoclave à temperatura de 120°C , durante 60 minutos. Cinco a seis sementes eram semeadas em cada jarro. Após a germinação era feito o desbaste, deixando-se 1 planta/jarro. O experimento para avaliação dos danos ocasionados por cada vírus consistiu dos seguintes tratamentos: (a) Plantas inoculadas 10 dias após o plantio; (b) plantas inoculadas 20 dias após o plantio; (c) plantas inoculadas 30 dias após o plantio e (d) plantas não inoculadas (testemunha). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com oito repetições. Cada parcela constou de um jarro com 1 (uma) planta de feijão-de-corda. Para os diferentes tratamentos adotou-se o processo de inoculação mecânica, com os inóculos preparados a partir de plantas de feijão-de-corda infetadas pelos vírus e mantidas em casa-de-vegetação como fontes iniciais dos mesmos. As inoculações efetuadas aos 10 dias depois do plantio envolveram as duas folhas primárias, enquanto que, aos 20 e 30 dias após o plantio, elas foram feitas nas primeiras folhas trifoliolatas. Para manter-se o controle de insetos vetores do vírus, todas as plantas foram pulverizadas, semanalmente, com o inseticida monocrotofos.

Na primeira avaliação dos danos ocasionados pelos vírus, determinaram-se os pesos secos das folhas, caules e raízes, a altura das plantas e a quantidade de folhas de cada parcela, 40 dias após o plantio. Na contagem das folhas, cada pecíolo foi considerado como uma folha. Os pesos secos foram determinados depois da perda total de umidade, conseguida pela secagem do material em estufa à temperatura de 80°C , até atingir um peso constante.

A segunda etapa do experimento foi também desenvolvida em casa-de-vegetação e consistiu nos mesmos tratamentos e repetições, distribuídos ao acaso. As plantas foram mantidas até 100 dias depois do plantio e a avaliação dos danos ocasionados pelos vírus foi realizada através da análise dos seguintes parâmetros:

(a) Número de flores - A contagem do número de flores foi realizada diariamente, à tardinha, após o aparecimento dos primeiros botões florais, até 100 dias após o plantio.

(b) Queda de flores - Determinou-se a queda de flores pela contagem diária de todas as flores, a partir do aparecimento dos primeiros botões florais e, ao final de 100 dias depois da germinação, o resultado da contagem do número de flores foi diminuído do número de vagens colhidas.

(c) Comprimento da vagem - Todas as vagens foram medidas com o auxílio de um barbante, o qual foi estendido ao longo das vagens e, em seguida, colocado sobre uma trena milimetrada, aferindo-se assim, com exatidão, o seu comprimento.

(d) Número de vagens por planta - O número de vagens/planta foi determinado, contando-se todas as vagens produzidas pela mesma.

(e) Número de sementes por vagem - Todas as sementes, inclusive aquelas mal desenvolvidas, produzidas por cada planta, foram contadas e, a seguir dividiu-se o total de sementes pelo número de vagens colhidas da respectiva planta.

(f) Produção por planta - Após a debulha das vagens colhidas, determinou-se o peso total de todas as sementes, inclusive das mal desenvolvidas.

(g) Peso de 100 sementes - Contou-se 100 sementes de cada tratamento, separadas ao acaso, determinando-se-lhe o peso em balança de precisão.

A inferência estatística dos dados obtidos em todos os parâmetros, referidos, foi feita pela análise da variância, havendo-se comparado as suas médias pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

3.6 - Transmissibilidade dos Vírus por Sementes

Todas as sementes produzidas pelas plantas, experimentalmente inoculadas com os isolados de CpSMV, foram utilizadas para a determinação da percentagem de germinação e transmissão dos vírus, através das mesmas. As sementes foram plantadas em bandejas de madeira com 2 x 1 m, respectivamente, comprimento e largura, e as plantas mantidas em casa-de-vegetação por um período mínimo de 30 dias. A percentagem de germinação das sementes foi obtida havendo-se considerado germinadas aquelas plântulas que apresentavam as duas folhas iniciais, totalmente abertas. Posteriormente, eram feitas observações periódicas às plantas, e aquelas que apresentassem suspeita de sintomas de natureza viral, eram testadas sorologicamente contra anti-soros para os isolados de CpSMV.

4 - RESULTADOS

4.1 - Gama Parcial de Hospedeiras

Os dois vírus isolados de *V. unguiculata* nos Estados do Ceará e Piauí, objeto do presente estudo, foram sorologicamente identificados como raças de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV, vírus do mosaico severo do caupi), as quais foram designadas de CpSMV-Ce (isolado procedente do Ceará) e CpSMV-Pi (isolado oriundo do Piauí). As raças de CpSMV em menção, apresentaram diferenças sorológicas caracterizadas na forma de esporão e reveladas em testes de dupla difusão em agar (FIGURA 1), com anti-soro específico para CpSMV-Ce (LIMA, et al., 1974).

Isolados das raças do vírus foram obtidos a partir de lesões únicas produzidas em *C. brasiliensis* (FIGURA 2), as quais se mostraram em maior quantidade do que as apresentadas por *C. ensiformis* e *P. vulgaris*, facilitando o reisolamento dos mesmos. Ambas as raças foram multiplicadas em *V. unguiculata*, cv. "Pitiúba", para posterior estudo da gama parcial de hospedeiras, purificação, sorologia e avaliação dos danos que causam à mencionada leguminosa.

Das 18 espécies de leguminosas inoculadas com cada raça de CpSMV, 10 reagiram com diferentes formas de infecções sistêmicas e/ou localizadas, enquanto que, das 13 cultivares de feijão-de-corda testadas, somente a "Macaibo" manteve-se imune (TABELA 1). A maior parte dos resultados das observações sintomatológicas foi confirmada através de testes sorológicos com anti-soros específicos para as respectivas raças (TABELA 1).

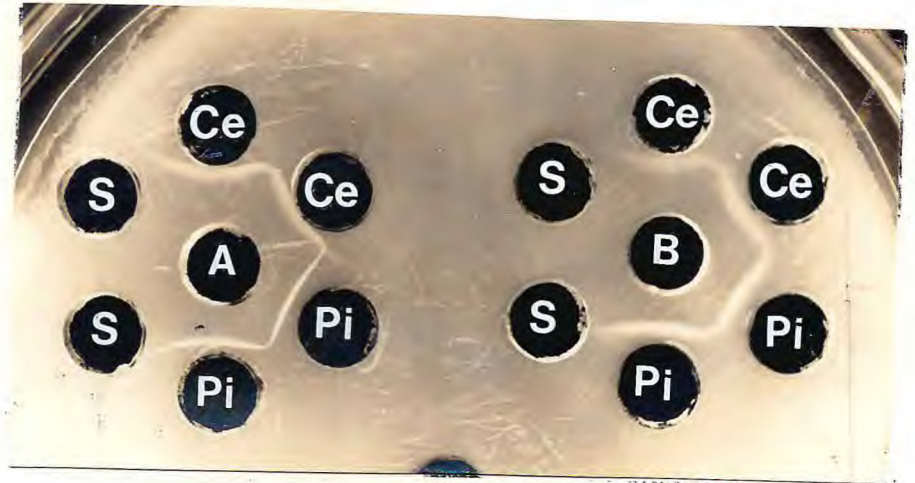


FIGURA 1 - Testes sorológicos de dupla difusão em meio de agar, contendo 0,85% de agar noble, 0,85% de NaCl e 0,05% de NaN_3 , para demonstrar o relacionamento sorológico entre raças de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isoladas de *Vigna unguiculata* nos Estados do Ceará (CpSMV-Ce) e Piauí (CpSMV-Pi). Os orifícios centrais foram preenchidos com anti-soros específicos para o CpSMV-Ce (A) e CpSMV-Pi (B), enquanto os da periferia com: (Ce) seiva de planta infetada com CpSMV-Ce; (Pi) seiva de planta infetada com CpSMV-Pi e (S) seiva de plantas saudáveis. Observe a formação de esporão entre Ce e Pi, quando testados contra anti-soro para CpSMV-Ce (A).



FIGURA 2 - Folha de *Canavalia brasiliensis* apresentando lesões locais induzidas pela raça de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isolada de *Vigna unguiculata* no Estado do Ceará (CpSMV-Ce).

TABELA 1 - Sintomas e resultados de sorologia apresentados por diferentes leguminosas, mecanicamente inoculadas com raças de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isoladas de *Vigna unguiculata* nos Estados do Ceará (CpSMV-Ce) e Piauí (CpSMV-Pi).

Plantas Inoculadas	Sintomas (a)		Sorologia (b)	
	CpSMV-Ce	CpSMV-Pi	CpSMV-Ce	CpSMV-Pi
<i>Cajanus indicus</i>	Lc, LNL	Lc, LNL	+	+
<i>Canavalia brasiliensis</i>	LNL	LNL	+	+
<i>Canavalia ensiformis</i>	LNL	LNL	+	+
<i>Centrosema pubescens</i>	-	-	-	-
<i>Cassia occidentalis</i>	-	-	-	-
<i>Cassia sericea</i>	-	-	-	-
<i>Cassia tora</i>	-	-	-	-
<i>Clitoria ternatea</i>	-	-	-	-
<i>Dolichos lablab</i>	-	-	-	-
<i>Glycine max</i> cv. "IAC-2"	M	-	+	-
<i>Leucaena leucocephala</i>	-	-	-	-
<i>Macroptilium atropurpureum</i>	Lc	-	-	-
<i>Mimosa caesalpiniaefolia</i>	-	-	-	-
<i>Phaseolus lathyroides</i>	Lc, M	Lc, M	+	+
<i>Phaseolus mungo</i>	Lc, M, Mt	Lc, M	+	+
<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. "Local"	LNL	LNL
<i>Psophocarpus tetragonolobus</i>	M, Mt	-	+	-
<i>Stizolobium doeringianum</i>	LNL	Lc	+	+
<i>Vigna unguiculata</i> "Azulão-2"	Lc, M, B	Lc, M
"Bengala Vermelha"	Lc, Ms, B	Ms, B, LNL
"Boca de Moça"	Lc, M, Df	Lc, Ml
"Early Ramshorn"	Lc, M, Mt	Lc, M, Mt
"Macaibo"	-	-	-	-
"Pitiúba"	Lc, Ms, B	Lc, Ms, B	+	+

TABELA 1 - (Continuação).

Plantas Inoculadas	Sintomas ^(a)		Sorologia ^(b)	
	CpSMV-Ce	CpSMV-Pi	CpSMV-Ce	CpSMV-Pi
~Potomac~	Lc,M,B,LNL	Lc,Ms,B
~Quarenta Dias~	Lc,Ms,B	Lc,Ms,B
~Roxão-1~	Lc,Ml	Lc,Ml
~Sempre Verde~	Lc,Ms,B,Df,Mt	Lc,Ms,B,Df,Mt
~Vinagre-1~	Lc,Ms,B,Df	Lc,Ms,B
~V-5 Pernambuco~	Lc,M,Df	Lc,Ml
~V-15 Costa Rica~	Lc,M,Df	Lc,Ms,B

(a) Abreviações: B = bolhosidade, Df = distorção foliar, Lc = lesões cloróticas, LNL = lesões necróticas localizadas, M = mosaico, Ml = mosaico leve, Ms = mosaico severo, Mt = morte.

(b) Símbolos: + = reação sorológica positiva em teste de dupla difusão em agar;
 - = ausência de reação;
 ... = não testado.

4.2 - Purificação e Sorologia

As soluções purificadas das raças CpSMV-Ce e CpSMV-Pi apresentaram excelentes aspectos, evidenciando a presença dos vírus em bom estado de pureza. A presença de cada vírus nas soluções purificadas foi confirmada através da análise do espectro de absorção ao ultravioleta e de testes de infectividade. As soluções purificadas das raças em estudo apresentaram espectros de absorção característicos de nucleoproteínas, com o máximo de absorção no comprimento de onda 260 nm e o mínimo de absorção em 240 nm, aproximadamente. As concentrações dos vírus nas soluções purificadas a partir de 100 g de tecido infetado por cada vírus foram de 3,2 mg de vírus por ml de solução (CpSMV-Pi) e 5,3 mg de vírus por ml de solução (CpSMV-Ce). De outra parte, nos testes de infectividade, ambas as raças ocasionaram sintomas de mosaico em *V. unguiculata* e lesões necróticas localizadas em *C. amaranticolor*, 7 e 4 dias respectivamente, depois de inoculadas indicando a integridade biológica das partículas virais presentes nas soluções purificadas.

Os anti-soros obtidos para ambas as raças reagiram com o suco de plantas infetadas pelas mesmas, não reagindo, porém, com suco de plantas sadias, em testes de dupla difusão em agar (FIGURA 1). O título do anti-soro específico para a raça CpSMV-Ce foi de 1024 em testes de dupla difusão em agar, enquanto que o anti-soro específico para o CpSMV-Pi apresentou um título de 512 apenas, no mesmo tipo de teste sorológico.

4.3 - Avaliação dos Danos Causados pelos Vírus em Feijão-de-Corda

As médias e percentagens de redução induzidas por raças de CpSMV-Ce e CpSMV-Pi, relativas a todos os parâmetros

analisados em plantas de feijão-de-corda, aos 40 e 100 dias após o plantio, encontram-se nas TABELAS 2 e 3, respectivamente e, juntamente os resultados da aplicação do teste de Tukey.

A infecção com a raça CpSMV-Ce ou com a raça CpSMV-Pi, em plantas de feijão-de-corda acarretou reduções no crescimento das raízes das plantas inoculadas aos 10, 20 e 30 dias de idade (FIGURA 3), quando avaliadas aos 40 dias após o plantio.

As plantas inoculadas aos 10 dias-depois do plantio, quer com o CpSMV-Ce, quer com o CpSMV-Pi, quando comparadas às plantas sadias, tiveram suas alturas reduzidas significativamente (TABELA 2). As reduções percentuais na altura das plantas inoculadas aos 10, 20 e 30 dias decorridos do plantio foram de 56%, 27% e 16%, respectivamente, para o CpSMV-Ce, e de 68%, 27% e 21%, cronologicamente, em relação ao CpSMV-Pi (TABELA 2). Da mesma forma, o número médio de folhas das plantas inoculadas aos 10 dias após o plantio, seja com a raça CpSMV-Ce, seja com a raça CpSMV-Pi, revelou-se estatisticamente inferior ao das plantas não inoculadas (TABELA 2).

Com relação ao peso seco do caule, ao peso seco da raiz e ao peso seco da folha, as plantas inoculadas aos 10 e 20 dias após o plantio, com qualquer uma das referidas raças, também resultaram estatisticamente inferiores aos das plantas não inoculadas (TABELA 2).

As vagens colhidas ao cabo do 100º dia do plantio de plantas inoculadas aos 10 e 20 dias de idade, tanto com a raça CpSMV-Ce, como com a raça CpSMV-Pi, apresentaram deformações na conformação e redução no tamanho (FIGURA 4). O comprimento médio das vagens em menção foi estatisticamente inferior ao das plantas não inoculadas (TABELA 3). As plantas inoculadas aos 10 e 20 dias após o plantio, também apresentaram, em relação às plantas não inoculadas, reduções significa

tivas no número de vagens/planta, na quantidade de sementes/planta e no peso de 100 sementes (TABELA 3). Verificou-se ainda que, na produção de sementes/planta, somente as inoculadas com o CpSMV-Ce não diferiram, estatisticamente, entre si. Por outro lado, as diferenças constatadas entre os diferentes tratamentos, pertinentes às duas raças, inclusive as testemunhas, também não foram estatisticamente significativas no número de sementes/vagem (TABELA 3).

Além das perdas quantitativas, verificou-se que as raças CpSMV-Ce e CpSMV-Pi afetaram a qualidade das vagens e das sementes produzidas pelas plantas infetadas. Foi bastante elevada a produção de vagens deformadas, retorcidas e pequenas, máxime as vagens produzidas por plantas inoculadas mais cedo (FIGURA 4). Observou-se uma elevada percentagem de sementes deformadas, de tamanho reduzido e rajadas ou com manchas de coloração marron, entre aquelas produzidas pelas plantas infetadas por qualquer uma das raças (FIGURA 4).

As plantas inoculadas, tanto com o CpSMV-Ce como com o CpSMV-Pi, nos três estádios de desenvolvimento, apresentaram uma maior queda de flores e primórdios de vagens, do que aquelas não inoculadas. Nas TABELAS 4 e 5 encontram-se os números potencial de flores e real de vagens produzidas, bem como de queda absoluta e relativa do número de flores das plantas inoculadas e não inoculadas com o CpSMV-Ce e CpSMV-Pi, respectivamente.

4.4 - Transmissibilidade do Vírus por Sementes

A transmissão das raças CpSMV-Ce e CpSMV-Pi não foi constatada em nenhuma das 1676 sementes colhidas de plantas infetadas com o CpSMV-Ce e das 4954 sementes provenientes de plantas inoculadas com o CpSMV-Pi, quando testadas através do plantio direto em solo esterilizado. Tal resultado funda

mentou-se em observações sintomatológicas, as quais, quando julgado necessário, foram confirmadas através de testes sorológicos com anti-soros específicos às mencionadas raças.

As percentagens de germinação das sementes produzidas de plantas inoculadas aos 10, 20 e 30 dias após o plantio e das plantas não inoculadas, foram de 66%, 84%, 88% e 92% para o CpSMV-Ce e de 77%, 85%, 90% e 93% para o CpSMV-Pi, respectivamente.

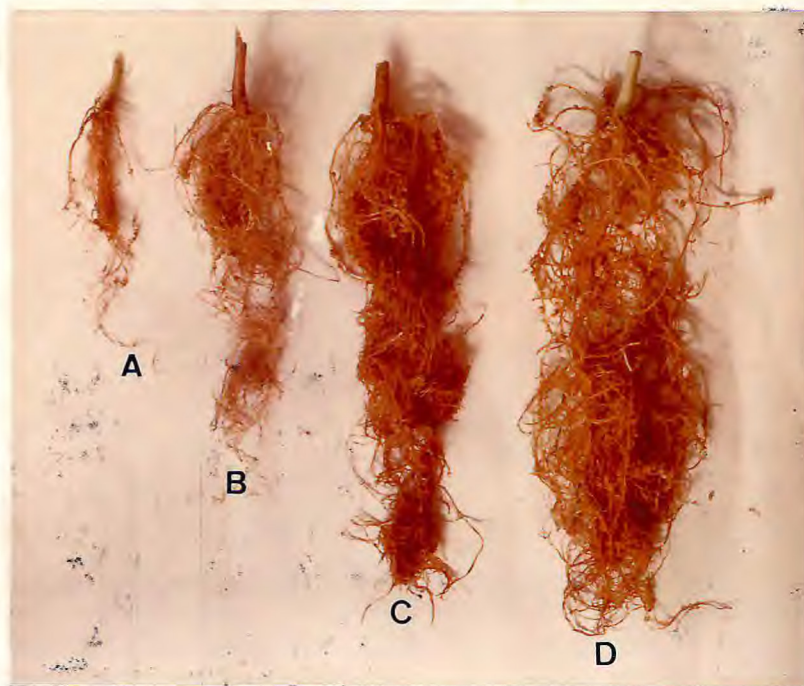


FIGURA 3 - Raízes de plantas de *Vigna unguiculata* inoculadas com a raça de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isolada no Estado do Ceará (CpSMV-Ce) e de planta não inoculada, mantida como testemunha. A) Raízes de uma planta inoculada 10 dias após o plantio; B) Raízes de uma planta inoculada 20 dias após o plantio; C) Raízes de uma planta inoculada 30 dias após o plantio e D) Raízes de uma planta não inoculada, mantida como testemunha.

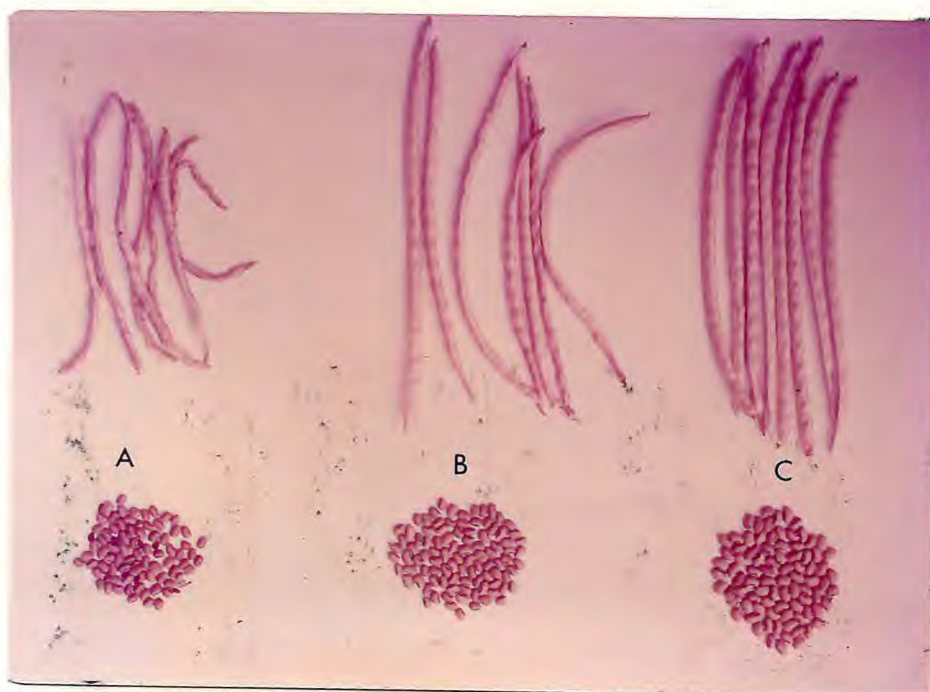


FIGURA 4 - Vagens e sementes colhidas de plantas de *Vigna unguiculata*, cv. "Pitiúba", inoculadas com uma raça de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isolada no Estado do Ceará (CpSMV-Ce) e de plantas não inoculadas, mantidas como testemunha. A) Vagens e sementes de plantas inoculadas 10 dias após o plantio; B) Vagens e sementes de plantas inoculadas 30 dias após o plantio e C) Vagens e sementes de plantas não inoculadas, mantidas como testemunha.

TABELA 2 - Médias e percentagens de redução, em relação à testemunha (plantas não inoculadas), induzidas por raças de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isoladas no Ceará (CpSMV-Ce) e Piauí (CpSMV-Pi) em *Vigna unguiculata*, artificialmente inoculadas em condições de casa-de-vegetação, em diferentes estádios de desenvolvimento.

Parâmetros avaliados	Época de Inoculação			
	40 dias após o plantio	10 dias após o plantio	20 dias após o plantio	30 dias após o plantio plantas não inoculadas
Altura da Planta (m)				
- CpSMV-Ce	0,80a ^(*)	1,33b	1,52bc	1,81c
% Redução	56%	27%	16%	-
- CpSMV-Pi	0,52a	1,16b	1,25b	1,58b
% Redução	67%	27%	21%	-
Número de Folhas				
- CpSMV-Ce	9,60a	13,40ab	16,00b	17,60b
% Redução	46%	24%	09%	-
- CpSMV-Pi	7,87a	10,62ab	11,62b	16,37c
% Redução	52%	35%	29%	-
Peso Seco do Caule (g)				
- CpSMV-Ce	1,06a	3,66b	5,48c	6,13c
% Redução	83%	40%	11%	-
- CpSMV-Pi	0,85a	2,66b	4,52bc	5,69c
% Redução	85%	53%	21%	-
Peso Seco da Raiz (g)				
- CpSMV-Ce	1,00a	2,51b	3,19bc	4,18c
% Redução	76%	40%	24%	-
- CpSMV-Pi	0,97a	2,15b	2,88bc	3,47c
% Redução	72%	38%	17%	-

TABELA 2 - (Continuação).

Parâmetros avaliados	Época de Inoculação			
	40 dias após o plantio	10 dias após o plantio	20 dias após o plantio	30 dias após o plantio
Peso Seco da Folha (g)				
- CpSMV-Ce	2,18a	5,67b	8,40c	10,17c
% Redução	79%	44%	18%	-
- CpSMV-Pi	1,87a	4,57ab	6,64b	9,97c
% Redução	81%	54%	34%	-

(*) Médias de qualquer linha seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

TABELA 3 - Médias e percentagens de redução, em relação à testemunha (plantas não inoculadas), induzidas por raças de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isoladas no Ceará (CpSMV-Ce) e Piauí (CpSMV-Pi) em *Vigna unguiculata*, artificialmente inoculadas em condições de casa-de-vegetação, em diferentes estádios de desenvolvimento.

Parâmetros avaliados 100 dias após o plantio	Época de Inoculação			
	10 dias após o plantio	20 dias após o plantio	30 dias após o plantio	plantas não inoculadas
Comprimento das Vagens (m)				
- CpSMV-Ce	0,13a ^(*)	0,12a	0,18ab	0,22b
% Redução	41%	46%	18%	-
- CpSMV-Pi	0,13a	0,14a	0,17ab	0,21b
% Redução	38%	33%	19%	-
Número de Vagens/ Planta				
- CpSMV-Ce	2,75a	3,62ab	8,12bc	12,12c
% Redução	77%	70%	33%	-
- CpSMV-Pi	13,37a	13,75a	21,50ab	25,75b
% Redução	48%	47%	17%	-
Número de Sementes/ Vagens				
- CpSMV-Ce	11,39	9,01	14,25	14,56
% Redução	22%	38%	02%	-
- CpSMV-Pi	10,31	11,77	13,07	13,16
% Redução	22%	11%	01%	-
Número de Sementes/ Planta				
- CpSMV-Ce	42,00a	50,25a	117,25ab	173,25b
% Redução	76%	71%	32%	-
- CpSMV-Pi	156,60a	181,00ab	281,60bc	333,10c
% Redução	53%	45%	16%	-

TABELA 3 - (Continuação).

Parâmetros avaliados 100 dias após o plantio	Época de Inoculação			
	10 dias após o plantio	20 dias após o plantio	30 dias após o plantio	plantas não inoculadas
Produção de Sementes/ Planta				
- CpSMV-Ce	5,46a	7,35a	16,49a	28,61b
% Redução	81%	74%	42%	-
- CpSMV-Pi	20,04a	26,09a	45,09b	56,95b
% Redução	65%	54%	21%	-
Peso de 100 Sementes				
- CpSMV-Ce	9,17a	11,04a	15,58ab	18,98b
% Redução	52%	42%	18%	-
- CpSMV-Pi	11,97a	13,08a	16,29ab	19,17b
% Redução	38%	32%	15%	-

(*) Médias de qualquer linha seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

TABELA 4 - Análise dos componentes de produtividade de plantas de *Vigna unguiculata*, cv. "Pitiúba", mecanicamente inoculadas com a raça de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isolada no Ceará (CpSMV-Ce), em diferentes estádios de desenvolvimento, em condições de casa-de-vegetação.

Época de Inoculação	Produtividade		Queda	
	Potencial (flores)	Real (vagens)	Absoluta (unidade)	Relativa (%)
10 dias após o plantio	102	22	80	78
20 dias após o plantio	90	29	61	68
30 dias após o plantio	162	65	97	60
Plantas não inoculadas	217	97	120	55

TABELA 5 - Análise dos componentes de produtividade de plantas de *Vigna unguiculata*, cv. "Pitiúba", mecanicamente inoculada com a raça de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isolada no Piauí (CpSMV-Pi), em diferentes estádios de desenvolvimento, em condições de casa-de-vegetação.

Época de Inoculação	Produtividade		Queda	
	Potencial (flores)	Real (vagens)	Absoluta (unidade)	Relativa (%)
10 dias após o plantio	272	107	165	61
20 dias após o plantio	278	110	168	60
30 dias após o plantio	320	172	148	46
Plantas não inoculadas	350	206	144	41

5 - DISCUSSÃO

As raças de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), estudadas no presente trabalho (CpSMV-Ce e CpSMV-Pi) foram obtidas através dos seus reisolamentos a partir de lesões necróticas únicas, produzidas em plantas de *C. brasiliensis*. FRANCKI (1972) sugere que, na medida do possível, deve-se trabalhar com uma cultura de vírus biologicamente pura, o que pode ser obtido através do seu reisolamento a partir de lesões necróticas localizadas. Embora plantas de *P. vulgaris* e *C. ensiformis* inoculadas com CpSMV-Ce e CpSMV-Pi tenham também reagido na forma de lesões necróticas localizadas, a *C. brasiliensis* mostrou-se mais apropriada para obtenção de isolados de lesão única, por haver apresentado um elevado número de lesões de tamanhos razoáveis (FIGURA 2). No entanto, van KAMMEN & de JAGER (1978), de JAGER (1979) e VASCONCELOS (1982) sugerem o uso de *P. vulgaris*, cv. "Pinto", para obtenção de isolados de lesão única de CpMV e CpSMV.

Comparando os resultados da gama parcial de hospedeiras das raças CpSMV-Ce e CpSMV-Pi (TABELA 1) com os apresentados por ALCONERO & SANTIAGO (1973); LIMA & NELSON (1977); KITAJIMA et al. (1979); LIMA & SOUZA (1980) e LIN et al. (1982), verificam-se semelhanças entre eles. De outra parte, LIN et al. (1982) constataram a presença do CpSMV em *Centrosema pubescens*, sendo que, no decorrer deste estudo, nenhuma das raças causou sintoma, quando inoculada em tal espécie vegetal. A imunidade da cultivar de feijão-de-corda "Macaibo" ao CpSMV, identificada por LIMA & NELSON (1977) foi confirmada nos testes desenvolvidos no presente trabalho, envolvendo 13 cultivares de feijão-de-corda (TABELA 1). O feijão-de-asa, *P. tetragonolobus*, quando inoculado com as raças CpSMV-Ce e CpSMV-Pi mostrou-se susceptível somente ao CpSMV-Ce, o

que sugere a sua semelhança com o isolado de CpSMV, obtido por KITAJIMA et al. (1979) em *P. tetragonolobus*. Tal espécie vegetal pode ser indicada como planta diferenciadora para identificação das duas raças de CpSMV estudadas.

Os elevados títulos dos anti-soros obtidos serviram para confirmar a eficiência do método de imunização usado. A maior importância do processo de imunização usado - "foot pad" - relaciona-se com a economia de antígeno (vírus purificado). Usou-se de 1,0 a 2,0 mg de cada raça do CpSMV na imunização de cada animal. Por sua vez, SHEPHERD (1963), utilizou de 6,0 a 9,0 mg de vírus para obtenção de anti-soro específico para o CpSMV, administrados intramuscularmente, em doses semanais de 2,0 a 3,0 mg.

As raças do vírus em estudo exerceram marcada influência em quase todos os parâmetros analisados, ocasionando considerável decréscimo na produtividade das plantas infetadas nas diferentes épocas de inoculação (TABELAS 2 e 3). De acordo com VICENTE (1979), quando os organismos vegetais são invadidos por vírus, há frequentes modificações no crescimento e desenvolvimento dos mesmos. Apesar da influência provocada pelas duas raças, constatou-se uma maior severidade nas plantas inoculadas com o CpSMV-Ce, nas quais, além de maiores reduções, não se observou significância estatística na produção de sementes/planta, avaliada nos três períodos de inoculação, evidenciando a influência do vírus na produtividade do feijão-de-corda, independente da época de inoculação (TABELA 3). Entretanto, plantas inoculadas aos 10 dias depois do plantio, seja com o CpSMV-Ce, seja com o CpSMV-Pi, apresentaram altura e número médio de folhas inferiores às plantas inoculadas nos outros dois períodos, demonstrando que plantas infetadas mais cedo desenvolvem-se menos, devido aos efeitos do vírus na primeira fase de desenvolvimento. De maneira semelhante, as reduções nos pesos secos do caule, da raiz e da folha foram mais acentuadas nas plantas inoculadas aos 10 e 20 dias após o plantio.

As vagens colhidas de plantas infetadas 100 dias após o plantio, embora hajam apresentado deformações na conformação e redução no tamanho (FIGURA 4), somente aquelas colhidas de plantas inoculadas aos 10 e 20 dias após o plantio, diferiram, significativamente, em comprimento, das plantas não inoculadas. De maneira análoga, as reduções no número de vagens/planta, sementes/planta e peso de 100 sementes foram mais acentuadas nas plantas inoculadas mais cedo. Resultados semelhantes foram observados por COSTA & CUPERTINO (1976), em feijoeiro, *P. vulgaris*, os quais constataram maior redução na produção de sementes em plantas inoculadas com o vírus do mosaico dourado, 15 dias após a semeadura, do que nas plantas inoculadas aos 30 dias após o plantio. Outros resultados experimentais têm demonstrado também que, infecções precoces causam danos mais severos que infecções tardias (ALMEIDA *et al.*, 1978; COSTA & CUPERTINO, 1976 e ISSA & WATANABE, 1980). Embora em vários parâmetros estudados, os períodos de inoculação, correspondentes aos 10 e 20 dias após o plantio, tenham mostrado maior percentagem de redução (TABELAS 2 e 3), não se pode descartar por completo os efeitos da infecção tardia, isto é, plantas inoculadas aos 30 dias depois da semeadura.

A redução na produção de sementes/planta induzida pelo CpSMV-Ce não diferiu estatisticamente, em relação aos diferentes períodos de inoculação, enquanto que as plantas inoculadas com a raça CpSMV-Pi apresentaram maiores reduções, quando inoculadas nas idades de 10 e 20 dias depois de plantadas.

A quantidade de sementes "vagem" foi o único parâmetro que não apresentou reduções significativas (TABELA 3). Este resultado pode ser justificado pela elevada quantidade de sementes chochas, constatadas sobretudo nas plantas inoculadas aos 10 e 20 dias, acarretando reduções mais acentuadas nos pesos das sementes. Por outro lado, as sementes chochas produzidas pelas plantas inoculadas reduziram, de maneira acentuada, a percentagem de germinação. Os menores percentuais de

germinação foram observados nas sementes colhidas de plantas inoculadas nas fases iniciais de desenvolvimento (10 e 20 dias após o plantio). A par da produção de sementes chochas, a qualidade das sementes foi também afetada pelas raças de CpSMV, através da produção de sementes rajadas ou com manchas de coloração marron. É comum a produção de sementes manchadas por plantas de soja infetadas pelo vírus do mosaico comum (ALMEIDA & MIRANDA, 1978; LIMA, 1978).

A queda de flores e primórdios de vagens acarretada pelas duas raças, comportou-se em escala decrescente, do primeiro estágio de inoculação até às plantas não inoculadas (TABELAS 4 e 5). 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. Segundo SMITH & PRYOR (1962), as primeiras flores são mais importantes para o rendimento da cultura do feijoeiro, visto que as últimas estão sujeitas a uma mortalidade mais alta. É importante considerar que um dos efeitos prejudiciais do CpSMV sobre o feijão-de-corda traduz-se pela queda de flores, com a conseqüente redução do número de vagens "vingadas". As plantas não inoculadas produziram vagens de duas a três vezes mais, aproximadamente, do que aquelas inoculadas aos 10 e 20 dias após o plantio (TABELA 3).

Embora HAQUE & PERSAD (1975) tenham observado que a taxa de transmissão por sementes do CpMV varia de 0 a 5,8%, dependendo da variedade de feijão-de-corda envolvida, não foi constatada a transmissibilidade das raças em estudo, em sementes provenientes de plantas sistemicamente infetadas pelas mesmas. De acordo com LIMA (1978), a transmissão do CpSMV por sementes de feijão-de-corda é bastante variável, podendo ser função do tipo de isolado de vírus e da variedade cultivada.

Os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que as medidas de controle do CpSMV, baseadas nas relações

vírus - vetor - planta, devem ser postas em prática na cultura ainda jovem, de preferência no período de 1 a 3 semanas, depois de germinada. Ademais, tendo o CpSMV plantas nativas como reservatórios (ALCONERO & SANTIAGO, 1973; LIMA & NELSON, 1977; VASCONCELOS, 1982) e, como vetores coleópteros, máxime dos gêneros *Ceratoma* e *Diabrotica* (de JAGER, 1979; ARAUJO & MORENO, 1979; RIOS & NEVES, 1982), torna-se necessário para o controle desse vírus, desenvolver o uso de variedades resistentes. Atividades de pesquisa desta natureza estão em andamento na Universidade Federal do Ceará e, as fontes de resistência identificadas, serão incluídas em programas de melhoramento genético do feijão-de-corda e/ou programa de controle de viroses dessa leguminosa.

A determinação dos efeitos das raças de CpSMV na produção do feijão-de-corda, feita em plantas crescendo num volume de solo limitado, sob condições de casa-de-vegetação, pode ser considerada como satisfatória e de possível extrapolação para as condições de campo. COSTA & CUPERTINO (1976), em trabalho de avaliação de perdas do feijoeiro cometidas pelo vírus do mosaico dourado, observaram que os resultados obtidos em condições de casa-de-vegetação foram bastante comparáveis com aqueles alcançados, posteriormente, em campo. De acordo com BARBOSA & PAGUIO (1982), estudos de perdas de produção provocadas por vírus tornam-se de realização difícil em condições de campo, tendo em vista a impossibilidade de se manterem parcelas completamente livres de vírus.

A par das perdas quantitativas, no cálculo dos prejuízos devem ser levadas em consideração as sementes deformadas e/ou rajadas produzidas pelas plantas infetadas com o CpSMV. Embora não tenham perpetuado o vírus, essas sementes constituem, então, uma fonte adicional de prejuízo, por depreciarem o produto, tanto para o consumo, como para o plantio.

Com base nas avaliações aqui discutidas em razão da alta incidência com que o CpSMV há sido constatado em planta

ções de feijão-de-corda, notadamente em regiões tradicionalmente produtoras, são evidentes os prejuízos que a moléstia está causando à economia da cultura nos Estados brasileiros.

6 - CONCLUSÕES

Em face aos resultados obtidos, nas condições em que a presente pesquisa foi realizada, pode-se concluir que:

- (a) Os vírus estudados podem ser considerados raças ou estirpes de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV, vírus do mosaico severo do caupi), designadas de CpSMV-Ce (isolado procedente do Ceará) e de CpSMV-Pi (isolado oriundo do Piauí);
- (b) os anti-soros específicos às duas raças de CpSMV, obtidos no presente trabalho, serão de grande utilidade na diagnose, no zoneamento do vírus e, sobretudo, na identificação de hospedeiras e seleção de cultivares imunes às raças CpSMV-Ce e CpSMV-Pi;
- (c) plantas de feijão-de-corda infetadas por CpSMV-Ce ou por CpSMV-Pi, na fase inicial de seu desenvolvimento (10 a 20 dias após o plantio), sofrem maior redução na produção do que plantas, tardiamente infetadas;
- (d) considerando a conclusão do item anterior, medidas de controle baseadas nas relações vírus-vetor-planta, visando, inclusive, o nível de controle econômico, devem ser postas em prática na fase inicial de desenvolvimento da cultura, de preferência no período de 10 a 25 dias após o plantio;

- (e) pelo fato de existirem várias plantas nativas, que são hospedeiras naturais do vírus no Nordeste brasileiro, o método de controle mais eficaz ao mesmo patógeno na referida Região é o uso de cultivares resistentes;
- (f) a imunidade da cv. "Macaibo" ao CpSMV foi confirmada, mais uma vez, com a inclusão da raça CpSMV-Pi, que apresentou o mesmo comportamento da raça CpSMV-Ce, previamente conhecido;
- (g) a não constatação da transmissibilidade do CpSMV por sementes de feijão-de-corda, cv. "Pitiúba", infetadas com as raças CpSMV-Ce ou CpSMV-Pi, serve para justificar a crescente redução da incidência destes vírus no Estado do Ceará, nos últimos anos, motivada pelos baixos índices de precipitação pluvial, que vêm concorrendo, provavelmente, para a diminuição de plantas hospedeiras naturais de vírus.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRAWAL, H.O. Identification of cowpea mosaic virus in montana. Plant Dis. Rep. 40:124. 1964.
- ALCONERO, R. & SANTIAGO, A. *Phaseolus lathyroides* as a reservoir of cowpea mosaic virus in Puerto Rico. Phytopathology. 63:120-122. 1973.
- ALMEIDA, A.M.R. & MIRANDA, L.C. Aspectos da ocorrência do mosaico comum da soja em sementes e sua transmissibilidade. Fitopatologia Brasileira, 3:74 (Resumo). 1978.
- ALMEIDA, L.D.; PEREIRA, J.C.V.N.A.; RONZELLI, J.P.; COSTA, A.S. Avaliação de perdas causadas pelo mosaico dourado do feijoeiro em condições de campo. Congresso do grupo paulista de fitopatologia, 1:30-31. (Resumos). 1978.
- ARAÚJO, E. & MORENO, R. Disseminação de doenças foliares do feijão macassar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) em diferentes sistemas de cultivos. I - Viroses. Fitopatologia Brasileira, 4:281-291. 1979.
- BAKER, K.F. Seed pathology. In: KOZLOWSKI, T.T. ed. Seed biology, New York, Academic Press. 1972. p.317-416.
- BARBOSA, F.R. & PAGUIO, O.R. Vírus da mancha anelar do mamoeiro: Incidência e efeito na produção do mamoeiro (*Carica papaya* L.). Fitopatologia Brasileira, 7:365-373. 1982.
- BENNETT, C.W. Seed transmission of plant virus. In: SMITH, K.M. & LANFFER, M.A. eds. Advances in virus research, Vol. 14. New York, Academic Press. 1966. p. 221-261.

- BOCK, K.R. Notes on east African plant diseases. I. Cowpea mosaic virus. East Afr. Agric. For. 37:60-62. 1971.
- BOCK, K.R. East African strains of cowpea aphid-borne mosaic virus. Ann. Appl. Biol. 74:75-83. 1983.
- BRANTLEY, B.B., KUHN, C.W., and SOWELL, G. Effect of cucumber mosaic virus on southern pea (*Vigna sinensis*). Proc. Am. Soc. Hortic. Sci. 87:355-358. 1965.
- BRUENING, G. & AGRAWAL, H.O. Infectivity of a mixture of cowpea mosaic virus ribonucleoprotein components. Virology. 32:306-320. 1967.
- BRUENING, G. Comovirus group. Nº 199. In: Descriptions of plant viruses. Commonw. Mycol. Inst. Assoc. Appl. Biol., Kew, Surrey, England. 5p. 1978.
- CANER, J.; SILBERSCHMIDT, K. & FLORES, E. Ocorrência do vírus do mosaico da *Vigna* no Estado de São Paulo. O Biológico. 35:13-16. 1969.
- CANER, J.; KUDAMATSU, M.; BARRADAS, M.M.; de 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 São Paulo. Biológico, São Paulo, 47(2):39-46. 1981.
- CHANT, S.R. Viruses of cowpea, (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) in Nigéria. Ann. Appl. Biol. 47:565-572. 1959.
- _____. The effect of infection with tobacco mosaic and cowpea yellow mosaic viruses on the growth rate and yield of cowpea in Nigéria. Empire J. Exp. Agr. 28:114-120. 1960.
- _____. Further studies on the host range and properties of Trinidad cowpea mosaic virus. Ann. Appl. Biol. 50:159-162. 1962.

- 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.
- COSTA, C.L. & CUPERTINO, F.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. *Ceratoma arcuata* (Oliv.), um crisomelídeo vector do mosaico da *Vigna* no Brasil. Fitopatologia Brasileira. 3:81-82. 1978.
- COSTA, C.L.; LIN, M.T. & SPERANDIO, C.A. Besouros crisomelídeos vetores do sorotipo IV do "cowpea severe mosaic vírus" isolado do feijoeiro. Fitopatologia Brasileira, 6: 523. (Resumo). 1981.
- CUPERTINO, F.P., COSTA, C.L.; KITAJIMA, E.W.; MATTOS, J.K.A. & ARAÚJO, M.T. Ocorrência do vírus do mosaico da *Vigna* no Distrito Federal. Fitopatologia Brasileira. 9:51. 1974.
- DALE, W.T. Preliminary studies of the plant viruses of Trinidad. Tropical Agriculture. 20:228-235. 1943.
- _____. Observations on a virus disease of cowpea in Trinidad. Ann. Appl. Biol. 36:372-383. 1949.
- _____. Transmission of plant viruses by biting insects, with particular reference to cowpea mosaic. Ann. Appl. Biol. 40:384-392. 1953.
- de JAGER, C.P. Cowpea severe mosaic virus. no. 209. In: Descriptions of plant viruses. Commonw. Mycol. Inst., Assoc. Appl. Biol., Kew, Surrey, England, 5p. 1979.
- DEBROT, A.E. & BENITEZ de ROJAS, C.E. Identification del virus del mosaico de la soya en Venezuela. Agron. Trop. 17:75-86. 1967.

- FRANCKI, R.I.B. Purification of viruses. In: KADO, C.I. & AGRAWAL, H.O. eds. Principles and techniques in virology, New York, Van Nostrand Reinhold Co. 1972. p. 295-335.
- FROWD, J.A. & BERNIER, C.C. Virus diseases of faba beans in manitoba and their effects on plant growth and yield. Can. J. Plant Sci. 57:845-852. 1977.
- FULTON, R.W. Transmission of plant viruses by grafting, dodder, seed, and mechanical inoculation. In: CORBETT, M.K. & SISLER, H.D. eds. Plant virology, Gainesville, Unid. Florida Press. 1964. p. 39-67.
- FULTON, J.P. & SCOTT, H.A. Bean rugose mosaic and related viruses and their transmission by beetles. Fitopatologia Brasileira. 2:916, 1977.
- _____. A serogrouping concept for legume comoviruses. Phytopathology. 69:305-306. 1979.
- GAY, J.D. & WINSTEAD, E.E. Seed-borne viruses and fungi from southern pea seed grown in eight states. Plant Dis. Rep. 54:243-245. 1970.
- GILMER, R.M.; WHITNEY, W.K. & WILLIAMS, R.J. Epidemiology and control of cowpea mosaic in Western Nigéria. Proc. Inst. IITA Grain Legume Improvement Workshosp, International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigéria, 325pp. 1974.
- GONÇALVES, M.F.B. & LIMA, J.A.A. Interações entre raças de "cowpea severe mosaic virus" isolados de *Canavalia ensiformis* e *Vigna sinensis*. Fitopatologia Brasileira, 6:530. (Resumo). 1981.
- GONZALEZ, C.; MORENO, R. & GAMEZ, R. Identification, incidence, and distribution of a virus of bean (*Vigna sinensis*) in Costa Rica. Proc. Amer. Phytop. Soc. V. 2, 1975.

- GONZALEZ, C.; MORENO, R.; RAMIREZ, P. & GAMEZ, R. Los insectos crisomélidos como vectores de viróses de leguminosas. Reunión Anual, Programa Centro Americano para el Mejoramiento de cultivos alimentíceos, San José, Costa Rica, 1976.
- HAQUE, S.Q. & PERSAD, G.C. Some observations on the seed-transmission of beetle-transmitted cowpea mosaic virus. In: BIRD, J. & MARAMOROSCH, K. eds. Tropical discases of legumes, New York, Academic Press. 1975. p.119-121.
- HARRIZON, A.N. & GUDAUSKAS, R.T. Effects of some viruses on growth and seed production of two cowpea cultivares. Plant Dis. Rep. 52:509-511. 1968.
- HEBERT, T.T. Precipitation of plant viruses by polyethylene glycol. Phytopathology. 53:362. 1963.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Rio de Janeiro. Vol. 7. 1980.
- ISSA, E. & WATANABE, K. Avaliação dos danos ocasionados pelo mosaico dourado no feijoeiro. Seminário sobre pragas e doenças do feijoeiro. 1., Campinas, (Resumo). 1980.
- KAISER, W.J. & MOSSAHEBI, G.H. Studies with cowpea aphid-borne mosaic virus and its effect on cowpea in Iran. FAO - Plant Protection Bull. 23:33-39. 1975.
- KITAJIMA, E.W.; CUPERTINO, F.P.; SILVA, G.S.; SPERANDIO, C. A. & COSTA, C.L. Relato preliminar sobre viroses em plantas cultivadas nos arredores de São Luis, Ma. Fitopatologia Brasileira, 7:537. (Resumo). 1982.
- KITAHIMA, E.W.; NODA, H.; LIN, M.T. & COSTA, C.L. Um mosaico em feijão-de-asa (*Psophocarpus tetragonolobus*) causado por um isolado do subgrupo severo do vírus do mosaico da *Vigna*. Fitopatologia Brasileira. 4:519-524. 1979.

- KITAJIMA, E.W.; NODA, H. & Van der PAHLEN, A. Levantamento preliminar de viroses de plantas cultivadas na região de Manaus. Fitopatologia Brasileira. 390-91. (Resumo). 1978.
- KHATRI, K.L. & SINGH, L. Studies on a mosaic disease of cowpea. J. Res. 11:289-294. 1974.
- KUHN, C.W.; BRANTLEY, B.B. & SOWELL, G. Southern pea viruses: Identification, symptomatology, 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. PhD. Dissertation, University Florida, Gainesville, USA. 154p. 1978.
- _____. Técnicas sorológicas para identificação de vírus de leguminosas. Fitopatologia Brasileira. 4:215-225. 1979.
- LIMA, J.A.A. & GONÇALVES, M.F.B. Transmissibilidade de cowpea mosaic virus pelo manhoso *Chalcodermus bimaculatus*. Fitopatologia Brasileira, 5:414-415. (Resumo). 1980.
- LIMA, J.A.A. & NELSON, M.R. Purificação e identificação sorológica de cowpea mosaic virus em *Vigna sinensis*. Endl. no Ceará. Ciência Agronômica. 3:5-8. 1974.
- _____. Etiology and epidemiology of mosaic of cowpea in Ceará, Brasil. Plant Dis. Rep. 61:864-867. 1977.
- LIMA, J.A.A. & SOUZA, C.A.U. Como virus do subgrupo severo de "cowpea mosaic virus" isolado de *Canavalia ensiformis*. Fitopatologia Brasileira, 5:417-418. (Resumo). 1980.
- LIMA, J.A.A.; NELSON, M.R.; & CHAGAS, J.M.F. Obtenção de anti-soro específico contra "cowpea mosaic virus" no Estado do Ceará. Fitopatologia Brasileira, 9:59. (Resumo). 1974.

- LIN, M.T. Purification and serology of legume and corn viruses in Brasil. Fitopatologia Brasileira. 4:203-213, 1979.
- LIN, M.T.; ANJOS, J.R.N. & RIOS, G.P. Cowpea severe mosaic virus in five legumes in Central Brazil. Plant. Dis. Rep. 66:67-70. 1982.
- LIN, M.T. & KITAJIMA, E.W. Preparo de anti-soros para a seroteca da Universidade de Brasília. Fitopatologia Brasileira. 3:71. (Resumo). 1978.
- LIN, M.T. & RIOS, G.P. Infecção natural e simultânea de *Vigna sesquipedalis* por serotipos I e II do "cowpea mosaic virus-arkansas serogroup". Fitopatologia Brasileira. 5:420. (Resumo). 1980.
- MATTHEWS, R.E.F. Plant Virology. Academic Press, New York. 778p. 1970.
- NOORDHAM, D. Identification of plant viruses. Methods and Experiments. Wageningen. Centre Agric. Publ. Doc., 207p. 1973.
- OLIVEIRA, A.R.; COSTA, A.S. & CAMARGO, I.J.B. Purificação e sorologia do vírus do mosaico da *Vigna*. Revista da Soc. Brasil. de Fitopatologia. 3:26-28. 1969.
- OLIVEIRA, M.A. de. Contribuição ao estudo dos vírus causadores de mosaico nos feijões macassar (*Vigna* spp.). Inst. Agron. do Sul. (pelotas) Bol. Tec. 1:1-36. 1947.
- OUCJTERNOLY, O. Diffusion-in-gel methods for immunological analysis II. Prog. Allerty. 6:30-154. 1962.
- PAGUIO, O.R. Incidência e algumas propriedades de um membro do subgrupo severo do "cowpea mosaic vírus" em Pernambuco. Fitopatologia Brasileira. 4:133. (Resumo). 1979.

- PAGUIO, O.R. Reações de cultivares e efeito na produção do feijão macassar infectado por "cowpea mosaic vírus" isolado em Pernambuco. Fitopatologia Brasileira. 5:435. (Resumo). 1980.
- PAIVA, J.B. & TEÓFILO, E.M. Introdução, caracterização, multiplicação e manutenção de germoplasma. Relatório de Pesquisa - 1976. Programa de Pesquisa com a Cultura do Feijoeiro. Departamento de Fitotecnia do CCA-UFC. Fortaleza. p. 1-2, 1977.
- PEREZ, J.E. & CORTES-MONLLOR, A. A mosaic virus of cowpea from Puerto Rico. Plant Dis. Rep. 54:212-216. 1970.
- PHATAK, H.C. Seed-born plant virus identification and diagnosis in seed health testing-seed. Sci. Technol. 2:3-155. 1974.
- 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.
- 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.
- PONTE, J.J. da. Doenças do feijoeiro macassar, *Vigna sinensis*, Endl., no Nordeste Brasileiro. Bol. Cear. Agron. 13:1-12. 1972.
- RIOS, G.P. & DAS NEVES, B.P. Resistência de linhagens e cultivares de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) ao vírus do mosaico severo (VMSC). Fitopatologia Brasileira. 7:175-184. 1982.
- SHEPHERD, R.J. Serological relationship between bean pod mottle virus and cowpea mosaic viruses from Arkansas and Trinidad. Phytopathology. 53:865-866. 1963.

- SHEPHERD, R.J. Properties of a mosaic virus of cowpea and the relationship to the bean pod mottle virus. Phytopathology. 54:466-473. 1964.
- _____. Transmission of viruses through seed and sollen. In: KADO, C.I. & AGRAWAL, H.O. eds. Principles and techniques in plant virology, New York, Van Nostand Reinhold Co. p. 267-292. 1972.
- SHOYINKA, S.A. "Status of virus diseases of cowpea in Nigeria". Proc. Inst. IITA Grain Legume Improvement Workshop, International Institute of Tropical Agriculture, Ibadam. Nigeria. 325 p. 1974.
- SMITH, C.E. Transmission of cowpea mosaic by the bean leaf beetle. 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. 7:546. (Resumo). 1982.
- SWANS, H. & Van KAMMEN, A. Reconsideration of the distinction between the severe and yellow strains of cowpea mosaic virus. Neth. J. Plant Pathol. 79:257-265. 1973.
- TOLER, R.W.; THOWPSON, S.A. & BARBER, J.M. Cowpea (*Southern pea*) diseases in Georgia, 1961-62. Plant Dis. Rep. 47:746-747. 1963.
- TOLIN, S.A. Identification of legume viruses in the field by serology. Fitopatologia Brasileira. 2:1-7. 1977.
- van HOOFF, H.A. Overbrenging van het "cowpea mosaic virus" in Suriname. Suriname Landbouw. 11:131-137. 1963.

- van KAMMEN, A. The relationship between the component of cowpea mosaic virus. Two ribonucleoprotein particles necessary for the infectivity of CPMV. Virology, 34:321-318. 1968.
- . 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: Descriptions of plant viruses. Commonw. Mycol. Inst., Assoc. Appl. Biol., Kew Surrey, England. 6p. 1978.
- van REGENMORTEL, M.H.V. Plant virus serology. Adv. Vir. Res. 12:207-271. 1966.
- 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. 50p. 1982.
- VICENTE, M. Fisiologia de plantas infetadas por vírus. Fitopatologia Brasileira. 4:181-187. 1979.
- VITAL, A.F., LORETO, T.J.G., LIMA, J.A., KRUTMAN, S. & FULTON, R.H. Mosaicos em *Vigna sinensis* no Estado de Pernambuco. Pesq. Agrop. Nord. 4:69-79. 1972.
- WALTERS, H.J. & BARNETT, O.W. Bean leaf beetle transmission of Arkansas cowpea mosaic virus. Phytopathology. 54:911. (Resumo). 1964.
- WELLS, D.G. & DEBA, R. Sources of resistance to the cowpea yellow mosaic virus. Plant Dis. Rep. 45:878-881. 1961.
- WU, G. & BRUENING, E. Two proteins from cowpea mosaic viruses. Virology. 64:596-612. 1971.
- ZETTLER, F.W. & EVANS, J.R. Blackeye cowpea mosaic virus in Florida: Host range and incidence in certified cowpea seed. Proc. Fla. State Hortic. Soc. 85:99-101. 1972.

8 - A N E X O

TABELA 6 - Análise de variância relativa aos parâmetros avaliados em plantas de *Vigna unguiculata*, cv. "Pitiúba", mecanicamente inoculadas com as raças de "cowpea severe mosaic virus" (CpSMV), isoladas no Ceará (CpSMV-Ce) e Piauí (CpSMV-Pi), em diferentes estádios de desenvolvimento, em condições de casa-de-vegetação.

Parâmetros Avaliados	Causas de Variação	G.L.	Variâncias	
			CpSMV-Ce	CpSMV-Pi
Altura da Planta	Blocos	7	0,17	0,19
	Tratamentos	3	1,70*	1,60*
	Erro	21	0,07	0,09
Número de Folhas	Blocos	7	3,84	7,07
	Tratamentos	3	97,53*	100,33*
	Erro	21	10,60	5,95
Peso Seco do Caule	Blocos	7	2,66	1,33
	Tratamentos	3	44,53*	32,13*
	Erro	21	1,96	0,72
Peso Seco da Raiz	Blocos	7	0,26	0,30
	Tratamentos	3	14,23*	8,37*
	Erro	21	0,52	0,24
Peso Seco da Folha	Blocos	7	1,27	2,47
	Tratamentos	3	114,43*	93,50*
	Erro	21	4,88	2,30
Comprimento das Vagens	Blocos	7	0,004	0,001
	Tratamentos	3	0,017*	0,013*
	Erro	21	0,004	0,002

TABELA 6 - (Continuação).

Parâmetros Avaliados	Causas de Variação	G.L.	Variâncias	
			CpSMV-Ce	CpSMV-Pi
Número de Vagens/Planta	Blocos	7	4,21	28,42
	Tratamentos	3	150,70*	294,28
	Erro	21	14,75	48,66
Número de Sementes/Vagens	Blocos	7	35,02	19,05
	Tratamentos	3	54,83	14,34
	Erro	21	24,54	9,85
Número de Sementes/Planta	Blocos	7	884,70	5.041,79
	Tratamentos	3	30.474,13*	55.527,39*
	Erro	21	3.403,79	6.370,86
Produção de Sementes/Planta	Blocos	7	62,59	119,25
	Tratamentos	3	895,54*	2.320,21*
	Erro	21	65,38	164,79
Peso de 100 Sementes	Blocos	7	18,85	15,45
	Tratamentos	3	112,15*	84,89*
	Erro	21	32,45	16,01

(*) Significativo ao nível de 5% de probabilidade.