

## AVALIAÇÃO DE LINIAGENS E CULTIVARES DE CAUPI À INFECÇÃO PELO *Cowpea aphid borne mosaic virus* E DETECÇÃO DO VÍRUS POR RT - PCR

ANA ROSA DE FIGUEIREDO<sup>1</sup>; FRANCISCO RODRIGUES FREIRE FILHO<sup>2\*</sup>  
& PAULO SERGIO TORRES BRISO<sup>2\*\*</sup>

### INTRODUÇÃO

O caupi se adapta às maiores faixas de temperatura e, comparado ao feijão, é mais resistente à seca e ao estresse nutricional, com fixação biológica de nitrogênio mais efetiva. Tem sido grande a preocupação dos pesquisadores em identificar, rápida e eficientemente, os fitopatógenos associados à cultura do caupi, em nível regional e conseguir cultivares resistentes aos vários patógenos (principalmente aos vírus), diminuindo a possibilidade de infecções e reduzindo perdas em áreas de cultivo emergentes. No Brasil, o caupi pode ser afetado, até o momento, por três espécies de bactérias, 20 espécies de fungos, 19 espécies de nematóides e oito espécies virais. Tais patógenos têm sido identificados por de técnicas biológicas e sorológicas que, por vezes, não permitem identificar a variabilidade genética dos mesmos. Com relação a resistência genética, há informação de algumas cultivares resistentes a certos patógenos, principalmente no nordeste do país<sup>1, 2, 3, 4</sup>. No RJ as informações referentes a patógenos que afetam o caupi estão relacionadas ao CPSMV e CABMV<sup>5, 6, 7</sup>. O controle do CPSMV pelo uso de cultivares resistentes tem sido iniciado<sup>8</sup>. O "*Cowpea aphid borne mosaic virus*" (CABMV), espécie da família *Potyviridae*<sup>6</sup>, já foi registrado no CE, GO, PE, RJ e RN. Tal vírus pode infectar naturalmente *Cassia occidentalis* L. e caupi<sup>9</sup>. O sintoma apresentado varia de mosaico leve a severo. Como vetores do vírus, no Brasil, temos os pulgões<sup>9</sup>. Diferentes estirpes virais foram registradas e o vírus pode ser disseminado pela semente<sup>9</sup>. As perdas na produtividade ocasionadas pelo CPSMV e pelo CABMV nos hospedeiros naturais infectados dependem do cultivar, da época de incidência do vírus na planta, da estirpe viral, da presença do vetor e da interação com outros vírus<sup>5, 9, 10, 11, 12, 13</sup>. As maiores perdas são causadas por infecções virais precoces. Algumas cultivares de caupi resistentes a isolados do CABMV prevalentes na região nordeste do Brasil têm sido identificadas<sup>12</sup>. No presente estudo temos como objetivos o de identificar fontes de resistência em

caupi ao CABMV e, o de detectar o vírus através de teste molecular.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado o CABMV isolado de caupi do Piauí. O isolado foi mantido por inoculação mecânica para caupi 'Seridó'. Na inoculação, foi usado extrato foliar infectado diluído 10 vezes com tampão fosfato de sódio 0,01 M pH 7,6, contendo sulfito de sódio a 0,1 % (p/v) e como abrasivo, "celite", na proporção de 0,1 g/g folha. A recuperação do vírus das plantas inoculadas foi realizada por inoculação mecânica, 20 a 25 dias após a inoculação, em plantas de caupi 'Seridó'. Para o CABMV foi utilizado o antissoro produzido por 12, através do teste de difusão dupla em gel de agar contendo SDS e, preparado segundo 14. De forma a identificar possíveis infecções por outros vírus no material analisado, foram utilizados os antissoros contra o sorotipo I e contra o sorotipo II do CPSMV<sup>5</sup> e, contra o CMV<sup>15</sup> no teste de difusão dupla em gel de agar<sup>14</sup>. Na extração do RNA foliar total, 500 mg de tecido foram triturados na presença de nitrogênio líquido, seguindo a posteriori os procedimentos descritos por 16. Para a reação de RT-PCR foram utilizados os procedimentos descritos por 6 adotando os oligonucleotídeos TCG ACT TTG ACT ATG ACG e GTG CTA CTG CTT CTC TGG e, realizando-se um ciclo inicial de 94°C/5 min., 41°C/2 min.; 72°C/1 min.; 25 ciclos de 94°C/1 min., 41°C/2 min., 72°C/3 min., e um ciclo final de 94°C/1 min., 41°C/2 min., 72°C/10 min. Os produtos amplificados foram visualizados por eletroforese em agarose contendo brometo de etídio, sendo o gel confeccionado segundo 6. Foram testadas linhagens e cultivares de caupi, oriundas de agricultor local e do CPAMN/EMBRAPA, à infecção ao isolado do CABMV. As amostras foram inoculadas mecanicamente e o vírus detectado pela sintomatologia apresentada em caupi 'Costelão'.

1. Laboratório de Virologia Vegetal e Víroides/Departamento de Entomologia e Fitopatologia/IB/UFRRJ;

2. EMBRAPA/CPAMN;

\* Bolsista PIBIC/CNPq-UFRRJ;

\*\* Pesquisador do CNPq.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O CABMV induziu mosaico em caupi 'Seridó' após 15 dias da inoculação, mas não apresentou sintoma local nas folhas inoculadas. Por testes sorológicos, confirmou-se o CABMV, mas não o CPSMV e o CMV, demonstrando que o isolado estava puro. Foi possível extrair o RNA total das plantas inoculadas, assim como, através de RT-PCR obteve-se o fragmento esperado em torno de 759 pb. Tal fragmento não foi observado quando na reação de RT-PCR utilizou-se RNA total extraído de planta sadia. Dentre as linhagens e cultivares de caupi testados quanto à infecção ao isolado do CABMV, obteve-se o seguinte resultado:

a) Resistente: Capela, IT 851-2687, IT 860-716-2, IT 870-716-1, TE 96-282-22G, TE 96-290-5G. b) Suscetível: BR-14 - 'Mulato', BR-17 - 'Gurguéia', CNC 0434, 'Costelão', 'Monteiro', Pitiúba, 'Seridó', TE 93-43-12F, TE 93-200-49F, TE 93-204-13F, TE 93-204-21F, TE 93-212-10F, TE 94-269-1E, TE 94-273-9E, TE 94-277-3F, TE 96-280-1F, TE 96-280-2F, TE 96-280-3F, TE 96-280-4F, TE 96-280-5F, TE 96-280-6F, TE 96-282-7F, TE 96-282-8F, TE 96-282-9F, TE 96-282-10F, TE 96-282-11F, TE 96-282-13F, TE 96-282-14F, TE 96-282-15F, TE 96-282-16F, TE 96-282-17F, TE 96-282-18F, TE 96-282-19F, TE 96-282-20F, TE 96-282-21F, TE 96-282-22F, TE 96-282-23F, TE 96-282-25F, TE 96-282-26F, TE 96-282-27F, TE 96-282-30F, TE 96-282-31F, TE 96-282-32F, TE 96-282-34F, TE 96-290-1F, TE 96-290-2F, TE 96-290-3F, TE 96-290-4F, TE 96-290-5F, TE 96-290-6F, TE 96-290-7F, TE 96-290-8F, TE 96-290-9F, TE 96-290-10F, TE 96-290-11F, TE 96-290-12F, TE 96-290-13F. A metodologia adotada neste trabalho assegura uma eficiente identificação do CABMV, podendo-se reconhecer linhagens e cultivares resistentes para uso no melhoramento e recomendação de controle. A identificação de cinco linhagens e dois cultivares como resistente ao isolado do CABMV aumenta a base genética das fontes de resistência existentes permitindo seu uso em cruzamentos com os cultivares Mulato e Gurguéia (resistentes aos dois sorotipos do CPSMV)<sup>18</sup>, facilitando assim o programa de melhoramento em caupi para o Rio de Janeiro, visto que as mesmas apresentam características agrônomicas relacionadas ao mercado. Entretanto, para uma melhor aceitação no mercado carioca, os cultivares desenvolvidos deverão ser melhorados em relação ao tamanho das vagens e dos grãos.

## LITERATURA CITADA

1. ARAÚJO, J.P.P. & WATT, E.E. eds. O caupi no Brasil. EMBRAPA/CNPq. Departamento de Publicações. Brasília (DF). 722p. 1988.
2. KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. & REZENDE, J.A.M. eds. Manual de Fitopatologia. Volume 2: Doenças das Plantas Cultivadas. 3ª Edição. Edit. Agronômica Ceres Ltda. São Paulo. 776p. 1997.
3. KITAJIMA, E.W. Lista de publicações sobre viroses e enfermidades correlatas de plantas no Brasil (1911 - 1985). Fitopatologia Brasileira. 1986.
4. KITAJIMA, E.W. Lista de publicações sobre viroses e enfermidades correlatas de plantas no Brasil (1986 - 1993). Fitopatologia Brasileira (suplemento): 1-92. 1995.
5. BRIOSO, P.S.T.; DUQUE, F.F.; SAYÃO, F.A. D.; LOURO, R.P.; KITAJIMA, E.W. & OLIVEIRA, D. E. Fitopatologia Brasileira 19: 420-429. 1994.
6. BRIOSO, P.S.T.; SANTIAGO, L.J.M.; ANJOS, J.R.N. & OLIVEIRA, D.E. Fitopatologia Brasileira 21: 219-225. 1996b.
7. KITAJIMA, E.W.; RIBEIRO, R.L.D.; LIN, M. T.; RIBEIRO, M.L.S. D.; KIMURA, O.; COSTA, C.L. & PIMENTEL, J.P. Fitopatologia Brasileira 9: 607-625. 1984.
8. PASSOS, M. M. Dissertação de Mestrado. UFRRJ. Seropédica (RJ). 1999.
9. GONÇALVES, M.F.B. & LIMA, J.A.A. Pesquisa Agropecuária Brasileira 23:33-40. 1988.
10. ANJOS, J.R.N. & LIN, M.T. Plant Disease 68: 405-407. 1984.
11. COSTA, A.F. & COSTA, C.L. Fitopatologia Brasileira 8: 615. 1983.
12. LIMA, J.A.A. & SANTOS, A.A. Vírus que infectam o caupi no Brasil. In: ARAÚJO, J. P. P. & WATT, E. E. eds. O caupi no Brasil. EMBRAPA/CNPq. Brasília (DF). 722p. 1988. p.507-545.
13. PAGUIO, O.R. Fitopatologia Brasileira, 5: 373-376. 1980.
14. BRIOSO, P.S.T., FERREIRA, M.A. & OLIVEIRA, D.E. Fitopatologia Brasileira, 21: 226-235. 1996.
15. BRIOSO, P.S.T. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. Brasília (DF). 121 p. 1986.
16. BRIOSO, P.S.T., PIMENTEL, J.P., LOURO, R.P., KITAJIMA, E.W. & OLIVEIRA, D.E. Fitopatologia Brasileira 18: 526-533. 1993.