



20º Seminário de
Iniciação Científica e
4º Seminário de Pós-graduação
da Embrapa Amazônia Oriental

ANNAIS 2016

21 a 23 de setembro

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Oriental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

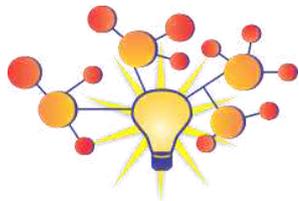


20º Seminário de
Iniciação Científica e
4º Seminário de Pós-graduação
da Embrapa Amazônia Oriental

ANNAIS 2016

21 a 23 de setembro

Embrapa Amazônia Oriental
Belém, PA
2016



DETECÇÃO DE *Cowpea aphid-borne mosaic virus* EM FEIJÃO-DE-PORCO NO ESTADO DO PARÁ

Danillo Coelho Gomes Leite¹, Alessandra de Jesus Boari², Ayane Fernanda Ferreira Quadros³, Izabel Cristina Alves Batista⁴

¹Graduando do curso de Agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia. E-mail: danillo_coelho@hotmail.com.

² Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Fitopatologia. E-mail: alessandra.boari@embrapa.br.

³ Graduanda do curso de Agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia. E-mail: ayanefernanda@hotmail.com.

⁴ Graduanda do curso de Agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia. E-mail: izabel.alvs@hotmail.com.

Resumo: O feijão-de-porco é uma leguminosa utilizada em recuperação e recobrimento do solo e controle de plantas invasoras, por possuir efeito alelopático sobre outras espécies de plantas. A sua produtividade pode ser afetada por doenças, entre elas destacam-se as causadas por vírus. Em Altamira-PA, no campo experimental da Embrapa, observou-se plantas de feijão-de-porco apresentando os sintomas característicos de viroses como o mosaico, nanismo e deformação foliar. Assim, o objetivo deste trabalho foi identificar a espécie de vírus em amostras de feijão-de-porco. Para isso, as amostras foliares foram avaliadas utilizando os testes ELISA e em seguida o de RT-PCR com *primers* específicos para CABMV (CABMV-F e CABMV-R). No teste de RT-PCR obteve-se a banda esperada de 221 pb correspondente à parte do gene da capa proteica do vírus CABMV. Este foi o primeiro relato de CABMV em feijão-de-porco no Estado do Pará.

Palavras-chave: CABMV, *Canavalia ensiformis*, RT-PCR.

Introdução

O feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* L.) pertence a família *Fabaceae*, a cultura tem sido bastante utilizada em adubação verde em regiões tropicais e equatoriais. É uma leguminosa anual, rústica, de hábito herbáceo de crescimento inicial rápido, sistema radicular profundo, e bastante resistente à altas temperaturas e à seca, e se adapta bem a solos ácidos, salinos, mal drenados e de baixa fertilidade (MAIA et al., 2013).



É muito utilizada para o controle de plantas invasoras, por apresentar caráter alelopático e adubação verde no solo. No estado do Pará esta planta é cultivada como uma cultura intercalar em consórcio de milho e feijão caupi. Sua eficiência como adubo verde é comprovada pela sua boa produção de biomassa e pela elevada reciclagem de nutrientes. Essa maior quantidade de biomassa produzida promove um aumento na cobertura do solo e, em contrapartida, também aumenta o teor de matéria orgânica com os benefícios por ela proporcionados (MAIA et al., 2013).

Um dos fatores limitantes para a produtividade desta cultura são as doenças, principalmente as causadas por vírus. As doenças causadas por vírus do gênero *Comovirus* (*Cowpea severe mosaic virus* - CPSMV) e *Potyvirus* (*Cowpea aphid-borne mosaic virus* - CABMV) já foram relatadas no Brasil causando danos ao feijão-de-porco (GONZÁLEZ-SEGNANA et al., 2013; LIMA; SOUZA, 1980). Em um plantio de hortaliças no município de Altamira, Estado do Pará, foram observadas plantas de feijão-de-porco com sintomas de mosaico, nanismo e deformação foliar, característicos de plantas com CABMV. Assim, o objetivo deste trabalho foi identificar o vírus causador da virose que ocorre no plantio de feijão-de-porco localizado em Altamira no Pará, via teste de RT-PCR.

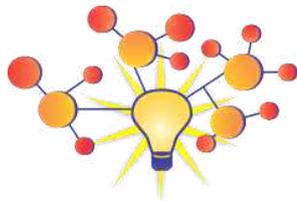
Material e Métodos

Foram coletadas amostras de folhas de feijão-de-porco com mosaico e deformação foliar bem característicos de doenças causadas por vírus, em uma plantio de hortaliças, localizada no município de Altamira, Estado do Pará (Figura 1). As amostras coletadas foram levadas para análise no Laboratório de Fitopatologia da na Embrapa Amazônia Oriental, para identificação do agente causal. Parte das amostras foram preservadas em ultrafreezer à -80°C, outra parte foi picada, dessecada e armazenada à -20°C.



Figura 1: Planta de feijão-de-porco com mosaico, nanismo e deformação foliar. **Foto:** Alessandra J. Boari.

Foi realizado o teste ELISA utilizando os antissoros específicos para CMV e CABMV segundo protocolo de Mowat e Dawson (1987). Após este teste foi realizada a extração de ácido nucleico utilizando-se o protocolo de Gibbs e Mackenzie (1997). Para a detecção de vírus da espécie CABMV, pertencente ao gênero *Potyvirus*, foi utilizado o par de *primers* específicos: CABMV-F (5' CGCTCAAACCCATTGTAGAA 3') e CABMV-R (5' TATTGCTTCCCTTGCTCTTTC 3') que permitem a amplificação parte da capa proteica. Para a síntese do cDNA a partir do ácido nucléico total foi realizada a RT utilizando o *primer* CABMV-R. Em seguida, realizou-se a técnica de PCR utilizando 5µL do cDNA, 6µL do tampão de reação 5X, 3µL de MgCl₂ (25mM), 0,5µL de dNTP (10mM), 0,3µL da Taq DNA Polimerase, 0,5µL dos *primers* (CABMV-R e CABMV-F) e 34,7µL de água ultra-pura. Os fragmentos de DNA amplificados foram observados e fotografados sob luz UV após a corrida de eletroforese em gel de agarose (1%) e coloração com GelRed.



Resultados e Discussão

O teste ELISA acusou a presença do vírus CABMV nas amostras de feijão-de-porco, o que foi confirmado pelo RT-PCR onde se observou a amplificação de fragmentos de DNA de cerca de 221 pb a partir do par de *primers* específicos para a espécie CABMV.

A identificação do agente causal da doença é importante para a elaboração de um plano de manejo da doença. O CABMV possui outras espécies de plantas hospedeiras, que podem constituir em fonte do vírus para culturas de importância econômica como as de maracujá e feijão-caupi.

Além de infectar o feijão-de-porco, o CABMV também pode infectar as principais variedades de maracujá conhecidas (*Passiflora* spp.), amendoim (*Arachis hypogaea* L.), *Canavalia rosea*, crotalaria (*Crotalaria juncea* L.), soja (*Glycine max* (L.) Merr.) e diferentes cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). Podendo também ser transmitido mecanicamente para plantas indicadoras das famílias *Amaranthaceae*, *Solanaceae*, *Fabaceae* e *Cucurbitaceae*, causando diferentes sintomas (SILVA, 2012).

Este é o primeiro relato do *Cowpea aphid-borne mosaic virus* infectando o feijão-de-porco no Estado do Pará.

Conclusão

As amostras de feijão-de-porco provenientes do município de Altamira, Estado do Pará, apresentavam-se infectadas pelo *Cowpea aphid-borne mosaic virus*.

Referências Bibliográficas

GIBBS, A.; MACKENZIE, A. A primer pair for amplifying part of the genome of all potyvirids by RT-PCR. **Journal of virology methods**, v. 63, n. 1/2, p. 378-392, Jan. 1997.

GONZÁLEZ-SEGNANA, L. R.; ARNALDO ESQUIVEL FARIÑA, A. E.; GONZÁLEZ, D. D.; MELLO, A. P. O. A.; REZENDE, J. A. M.; KITAJIMA, E. W. Alternative hosts of *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) in



sesame (*Sesamum indicum*) crops grown in Paraguay. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 6, p. 539-542, Nov./Dec. 2013.

LIMA, J. A. A.; SOUZA, C. A. V. Comovírus do subgrupo severo do "*Cowpea mosaic virus*" isolado de *Canavalia ensiformis* no Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, v. 5, n. 3, p. 417-418, out. 1980.

MAIA, F. E. N.; MIRANDA, N. O.; MELO, I. G. C.; VIANA, M. G. P.; GÓIS, S. R. P. Biomassa de feijão de porco sob diferentes densidades de semeadura em Mossoró, RN. **Agropecuária Científica No Semiárido**, v. 9, n. 1, p. 43-49, 2013.

MOWAT, W. P.; DAWSON, S. Detection of plant viruses by ELISA using crude sap extracts and unfractionated antisera. **Journal of Virology Methods**, v. 15, n. 3, p. 233-247, Feb. 1987.

SILVA, L. A. ***Cowpea aphid-borne mosaic virus* na cultura do maracujazeiro**: avaliação da tolerância de acessos avançados e efeito nutricional. 2012. 63 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, São Paulo.