

Obtenção de plantas de feijão-caupi resistentes ao *Cowpea severe mosaic virus* e ao *Cowpea aphid-borne mosaic virus*

Gislanne Brito Barros¹; Maria do Socorro da Rocha Nogueira²; Cláudia Roberta Ribeiro de Oliveira¹; Francisco Rodrigues Freire Filho²; Valdenir Queiroz Ribeiro²; Carlos Frederico de Menezes Veiga³; Paulo Sérgio Torres Brioso⁴; Marcelo Eiras⁵

¹Universidade Estadual do Norte Fluminense, Avenida Alberto Lamego, 2000 - Parque Califórnia, Campos dos Goytacazes - RJ, 28013-602; ²Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI; ³Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Campus Leonel Miranda, Campos de Goytacazes, RJ; ⁴Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rod BR 465, Km 7 Seropédica-RJ; ⁵Instituto Biológico, São Paulo-SP.

Autor para correspondência: Gislanne Brito Barros (gislannebio@yahoo.com.br)

Data de chegada: 05/07/2012. Aceito para publicação em: 13/04/2013.

1846

RESUMO

Barros, G.B.; Nogueira, M.S.R.; Oliveira, C.R.R.; Freire Filho, F.R.; Ribeiro, V.Q.; Veiga, C.F.M.; Brioso, P.S.T.; Eiras, M. Obtenção de plantas de feijão-caupi resistentes ao *Cowpea severe mosaic virus* e ao *Cowpea aphid-borne mosaic virus*. *Summa Phytopathologica*, v.39, n.2, p.130-136, 2013.

Dentre os vírus que infectam o feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) destacam-se, respectivamente, pela severidade e ampla ocorrência o *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) e o *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). Portanto, objetivaram-se, no presente trabalho, obter e avaliar plantas de feijão-caupi com resistência ao CPSMV e ao CABMV, visando ao desenvolvimento de cultivares essencialmente derivadas e novas cultivares. Realizaram-se oito cruzamentos seguidos de retrocruzamentos, utilizando a linhagem TE 97-309G-9 e a cultivar Patativa como genitores resistentes, e as cultivares BR3-Tracuateua, BRS-Urubuquara, BRS-Novaera, BRS-Guariba e Pretinho como genitores suscetíveis. As gerações F₂ e F₂RC₁ foram desafiadas quanto à resistência por meio de inoculação mecânica com isolados do CPSMV e do CABMV. Nas gerações F₂RC₁, além da resistência foram avaliados os caracteres: número de dias para o início

da floração, comprimento das vagens, número de grãos. vagem⁻¹, peso de cem grãos e produção de grãos.planta⁻¹. Todos os indivíduos F₂ e F₂RC₁ foram analisados pelo teste χ^2 e se ajustaram à frequência esperada de 15 plantas suscetíveis 1 planta resistente a ambos os vírus. As médias das plantas F₂RC₁ resistentes, de cada retrocruzamento, foram comparadas com a média do seu respectivo genitor recorrente pelo teste 't' e as médias dos retrocruzamentos foram comparadas pelo teste de Scott-Knott. Foi detectada variabilidade genética entre os retrocruzamentos para todos os caracteres. Todos os retrocruzamentos foram considerados promissores para produção de cultivares essencialmente derivadas resistentes ao CPSMV e ao CABMV e as plantas selecionadas possuem características que possibilitam a seleção de linhagens com grãos de bom padrão comercial e altamente produtivas.

Palavras-chave adicionais: *Vigna unguiculata*, *Comovirus*, *Potyvirus*, melhoramento genético.

ABSTRACT

Barros, G.B.; Nogueira, M.S.R.; Oliveira, C.R.R.; Freire Filho, F.R.; Ribeiro, V.Q.; Veiga, C.F.M.; Brioso, P.S.T.; Eiras, M. Obtaining cowpea plants resistant to *Cowpea severe mosaic virus* and *Cowpea aphid-borne mosaic virus*. *Summa Phytopathologica*, v.39, n.2, p.130-136, 2013.

Among the viruses that infect cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.), *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) and *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) are highlighted for their severity and widespread occurrence, respectively. Therefore, the aim of this study was to obtain and evaluate cowpea plants showing resistance to CPSMV and CABMV in order to develop new and essentially derived cultivars. Eight crosses were performed, followed by backcrosses, using the line TE 97-309G-9 and the cultivar Patativa as resistant parental donors, and the cultivars BR3-Tracuateua, BRS-Urubuquara, BRS-Novaera, BRS-Guariba and Pretinho as susceptible parents. Generations F₂ and F₂RC₁ were challenged for resistance by mechanically inoculating CPSMV and CABMV isolates. In F₂RC₁ generations, besides resistance, other

traits were evaluated: number of days to the beginning of flowering, pod length, number of seeds.pod⁻¹, weight of 100 seeds, and yield of seeds.plant⁻¹. All F₂ and F₂RC₁ individuals were analyzed by the χ^2 test and fit to the expected frequency of 15 susceptible plants: 1 plant resistant to both viruses. The means of resistant F₂RC₁ plants, from each backcross, were compared with the mean of their respective recurrent parent by the t-test and means of backcrosses were compared by the Scott-Knott test. Genetic variability among backcrosses was detected for all traits. All backcrosses were considered promising for obtaining essentially derived cultivars resistant to CPSMV and CABMV, and the selected plants have characteristics that allow the selection of lines with highly productive grains of good commercial quality.

Additional keywords: *Vigna unguiculata*, *Comovirus*, *Potyvirus*, genetic breeding.

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma importante fonte de proteína dos países tropicais e subtropicais. As doenças, sobretudo aquelas causadas por vírus, estão entre os principais fatores que contribuem para os baixos rendimentos da cultura causando grandes prejuízos (11). Dentre os principais vírus que infectam a cultura do caupi, merecem destaque, pela severidade e pela ampla ocorrência, respectivamente, o *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) e o *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). O CPSMV, gênero *Comovirus*, família *Secoviridae*, não é transmitido por sementes (10) e em condições naturais é disseminado por mais de dez espécies de coleópteros (11). O “mosaico severo do caupi”, induzido pelo CPSMV, pode reduzir a produção de feijão-caupi em até 85%, dependendo da época de inoculação e da suscetibilidade da cultivar (4). O controle efetivo dessa virose se dá por meio da utilização de variedades resistentes, sendo que fontes de resistência ao CPSMV em feijão-caupi têm sido relatadas por Lima et al. (8); Lima et al. (9) Paz et al. (20); Rocha et al. (22); Nogueira (16); Camarço et al. (5); Oliveira et al. (18). Por outro lado o CABMV gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae*, pode ser transmitido por meio de sementes infectadas (23) e na natureza de forma não-persistente por afídeos, destacando-se *Aphis craccivora* Koch como o principal vetor (11). Apesar de o CABMV isoladamente provocar menores perdas na produção, a infecção simultânea com o CPSMV pode ocasionar sintomas mais severos, devido ao sinergismo entre esses vírus, ocasionando maiores perdas (27). Assim como mencionado para o CPSMV, a maneira mais eficiente para o controle do CABMV é a utilização de variedades resistentes (3, 9, 11, 18, 22, 26). O estudo da base genética da resistência ao CPSMV e ao CABMV tem apontado, na maioria das vezes, para uma herança recessiva monogênica (1, 2, 26).

Este trabalho teve como objetivo obter e avaliar plantas de feijão-caupi com resistência ao CPSMV e CABMV, por meio de retrocruzamento, visando ao desenvolvimento de cultivares essencialmente derivadas e de novas cultivares.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a obtenção das populações segregantes foram realizados cruzamentos e retrocruzamentos, utilizando como genitores doadores dos genes de resistência a linhagem TE97-309G-9, desenvolvida pela Embrapa Meio-Norte, e a cultivar Patativa procedente do estado do Ceará, ambas resistentes ao CPSMV e CABMV. Como genitores recorrentes foram utilizadas as cultivares comerciais BR3 Tracueteua, BRS Urubuquara, BRS Guariba, BRS Novaera, desenvolvidas pela

Embrapa Meio-Norte, e a cultivar local Pretinho, oriunda do estado do Pará, escolhidas por possuírem alta capacidade de rendimento, uma grande aceitação comercial e por terem como fator limitante a suscetibilidade a ambos os vírus (Tabela 1).

Os isolados de CPSMV e de CABMV foram obtidos a partir de plantas de feijão-caupi, naturalmente infectadas, coletadas no campo experimental da Embrapa Meio-Norte, em Teresina, PI. Para a purificação biológica dos vírus foram realizadas sucessivas inoculações nas linhagens TE 97-200-49F, TE 94-256-2E, diferenciadoras do CPSMV sorotipos I e II, respectivamente e na cultivar Pampo, diferenciadora do CABMV. Em seguida, os isolados purificados foram mantidos em plantas em gaiolas com tela antiafídeos. A pureza dos isolados virais foi avaliada e confirmada por meio de PTA-ELISA (*Plate Traped Antigen – Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) (7) com antissoro policlonal específico contra o CABMV. As leituras de absorbância (A_{405} nm) foram feitas após a aplicação do substrato (p-nitrofenilfosfato) utilizando-se o aparelho *Microplate reader 3550-UV* (Bio-Rad), sendo os resultados analisados pela relação da média das leituras (em triplicata) das amostras infectadas sobre a leitura (em triplicata) das amostras sadias (I/S). Além disso, foi extraído RNA das folhas de feijão-caupi infectados (6), sendo a RT-PCR realizada a partir de cerca de 1µg de RNA total, em presença de oligonucleotídeos específicos desenhados para a amplificação de porções genômicas do CABMV e do CPSMV. Foram utilizados para o CPSMV oligonucleotídeos antisense (5'-CTCAAACCCCTGTTGGGACCACA - 3') e sense (5'-GGATGAATTTTTGATGGCATGG - 3') e para o CABMV os oligonucleotídeos antisense (5'-GTGCTACTGCTTCTCTGG - 3') e sense (5'-TCGACTTTGACTATGACG - 3') (16). As reações foram realizadas em termociclador (PTC100, MJ Research) e os fragmentos de DNA amplificados visualizados em gel de agarose 1,2%, corado com brometo de etídeo, sob luz ultravioleta.

Sete cruzamentos biparentais e um cruzamento triplo foram realizados para obtenção de sementes F_1 , que por autofecundação produziram sementes F_2 (Tabela 2). Os genitores, juntamente com sementes F_2 , foram semeados em copos plásticos com capacidade de 250 mL contendo solo esterilizado. Para cada genitor e cruzamento utilizaram-se 10 e 180 copos, respectivamente, cultivando-se duas plantas por copo.

Seis dias após o plantio foi realizada a primeira inoculação nas plantas F_2 e nos genitores, utilizando-se uma mistura de tecido foliar infectado com os isolados do CPSMV sorotipo I e II e CABMV, numa proporção de 0,33g (CPSMV I), 0,33g (CPSMV II) e 0,33g (CABMV) para 9 mL de tampão fosfato de sódio 0,1 M e pH 7,5, procedendo-se

Tabela 1. Características dos genitores selecionados para os cruzamentos visando resistência do feijão caupi ao *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) e *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV).

Genótipos	Porte da planta	Cor do grão	MCG ⁽¹⁾	Resistência		Possíveis Genótipos (2)	Participação dos genitores
				CPSMV	CABMV		
‘BR 3 Tracueteua’	Prostrado	Branco	28,0	Suscetível	Suscetível	SSAA	Recorrente
‘BRS Urubuquara’	Semiprostrado	Branco	22,1	Suscetível	Suscetível	SSAA	Recorrente
‘BRS Guariba’	Semi-ereto	Branco	19,5	Suscetível	Suscetível	SSAA	Recorrente
‘BRS Novaera’	Semi-ereto	Branco	20,0	Suscetível	Suscetível	SSAA	Recorrente
‘Pretinho’ ⁽³⁾	Semiprostrado	Preto	13,6	Suscetível	Suscetível	SSAA	Recorrente
‘Patativa’	Semi-ereto	Marron Claro	13,2	Resistente	Resistente	ssaa	Doador
TE 97-309G-9	Semiprostrado	Marrom	15,2	Resistente	Resistente	ssaa	Doador

¹massa de 100 grãos (em grammas). ²s - representa o loco que confere resistência ao CPSMV (S - alelo dominante e s- alelo recessivo) e a- representa o loco que confere resistência ao CABMV (A - alelo dominante e a – alelo recessivo). ³Cultivar local da região Bragantina do Estado do Pará.

Tabela 2. Cruzamentos de feijão caupim com seus respectivos códigos.

Código dos cruzamentos	Genitores dos cruzamentos
1. MNC 07-910	BR3 Tracuateua x TE 97-309G-9
2. MNC 07-912	BRS Urubuquara x TE 97-309G-9
3. MNC 07-914	BRS Novaera x TE 97-309G-9
4. MNC 07-915	Pretinho x TE 97-309G-9
5. MMC 07-919	BR3 Tracuateua x Patativa
6. MNC 07-921	BRS Urubuquara x Patativa
7. MNC 07-922	BRS Novaera x Patativa
8. MNC 07-923	Guariba x (Pretinho x TE 97-309G-9)

a maceração do tecido foliar infectado, acrescido de celite (Sigma) 0,1 g de folha⁻¹ (16). Uma semana depois, efetuou-se a re-inoculação com objetivo de assegurar a infecção dos genótipos suscetíveis. As plantas foram inspecionadas durante 30 dias, e as que apresentavam sintomas de mosaico, bolhas, deformação foliar e/ou lesão necrótica foram descartadas. As plantas consideradas resistentes foram transplantadas e mantidas em telado. Aquelas que apresentaram sintomas após o transplantio também foram eliminadas. As plantas assintomáticas foram utilizadas para a realização de retrocruzamentos com seu respectivo genitor recorrente. Foram obtidas as sementes F₁RC₁ e, por autofecundação, as F₂RC₁ de cada retrocruzamento, que juntamente com os respectivos genitores foram semeadas em bandejas, contendo solo esterilizado. Seis dias após a germinação foi realizada a inoculação, em ambos, utilizando-se a mesma mistura de isolados e a mesma metodologia adotada em F₂. Para estimar o número mínimo de plantas a serem inoculadas nas gerações F₂ e na F₂RC₁ que assegurasse a presença, com 0,90 de probabilidade dos genótipos com resistência ao CPSMV e CABMV, utilizou-se a fórmula $n = \log(1-P) / \log(1-p)$, em que n refere-se ao número mínimo de plantas que devem ser inoculadas para obter-se pelo menos uma planta resistente, P, a probabilidade desejada e p, a probabilidade de ocorrência do genótipo (21, 25). Determinou-se, portanto, a necessidade de se inocular, no mínimo, 36 plantas para que se obtivesse pelo menos uma planta com resistência aos dois vírus. Na geração F₂ foram inoculadas 300 plantas e na geração F₂RC₁, em média, 512 plantas foram inoculadas, dependendo da disponibilidade de sementes.

Plantas da geração F₂RC₁ que não apresentaram sintomas dos vírus foram transplantadas para telado para a caracterização morfoagronômica e aquelas que apresentaram sintomas após serem transplantadas foram eliminadas. Nessas populações, além da resistência, os seguintes caracteres foram avaliados: número de dias para o início da floração (NDIF), comprimento de vagem (CPV), número de grãos por vagem (NGV), massa de cem grãos (MCG) e produtividade de grãos por planta (PGP).

As frequências das segregações observadas foram avaliadas em relação às frequências esperadas pelo teste χ^2 (Qui-Quadrado), tanto na geração F₂ dos cruzamentos biparentais e do cruzamento triplo quanto na F₂RC₁. Em seguida, realizou-se também o teste de heterogeneidade (13).

A análise estatística dos dados fenológicos coletados nas F₂RC₁ foi precedida por uma análise de resíduo. Para os caracteres NDIF e NGV efetuou-se uma transformação dos dados para \sqrt{x} . O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado, com número de repetições desiguais. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa estatístico SAS (24), e as médias foram ajustadas pelo método da soma mínima dos quadrados empregando-se o procedimento LSMEANS do SAS.

Foi utilizado o teste 't' de Student para a comparação das médias das plantas F₂RC₁ resistentes com seu respectivo parental recorrente e o teste de Scott-Knott, ao nível de 0,05 de probabilidade, para o agrupamento das médias (28).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A segregação da geração F₂ está de acordo com a proporção esperada de 15 suscetíveis: 1 resistente. O teste de heterogeneidade dessa geração, envolvendo os oito cruzamentos, mostrou que houve homogeneidade na segregação, na proporção de 15 suscetíveis: 1 resistente. Contudo, na segregação das gerações F₂RC₁, o teste de heterogeneidade incluindo os oito cruzamentos, mostrou que não houve homogeneidade. Esse resultado pode ser justificado pelos valores de χ^2 muito acima do esperado nos retrocruzamentos {[('BR3-Tracuateua' x 'Patativa') x 'BR3-Tracuateua']} e {[('BRS-Guariba' x ('Pretinho' x TE 97-309G-9)) x 'BRS-Guariba']} (Tabela 3). As evidências indicam que os desvios, nessas populações, ocorreram devido a uma infecção fúngica, possivelmente causada por *Colletotrichum truncatum* (Schw.) Andrus & Moore, após o transplantio para o solo. As plantas foram eliminadas com o surgimento dos primeiros sintomas do fungo para evitar que o mesmo se disseminasse dentro do telado. Entretanto, fazendo-se o teste de heterogeneidade excluindo-se essas duas populações, as segregações mostraram-se homogêneas, na proporção de 15 suscetíveis: 1 resistente. Estes resultados estão de acordo com estudos prévios sobre a herança de resistência ao CPSMV e ao CABMV, os quais têm revelado a existência de genes recessivos monogênicos (1, 2, 26).

Houve a confirmação do CPSMV a partir de RT-PCR resultando na amplificação de fragmentos de DNA com tamanho esperado de 592 pares de bases (dados não mostrados). A presença do CABMV por meio de PTA-ELISA com antissorio policlonal específico, foram consideradas positivas nas análises em que se obtiveram valores (médias-triplicata) três vezes superiores às amostras sadias (dados não mostrados).

Para todos os caracteres estudados, os valores do quadrado médio diferiram significativamente pelo teste *t* ($p < 0,01$), evidenciando a existência de alta variabilidade genética para estas características. Estes resultados corroboram aqueles obtidos por Lopes et al. (12) que também constataram valores significativos para esses caracteres avaliando linhagens de feijão-caupi. Para os caracteres NDIF, CPV, NGV, PCG, a magnitude do CV foi inferior a 10%, indicando boa precisão experimental na condução dos trabalhos (Tabela 4).

A comparação de média da geração F₂RC₁ com a média do genitor recorrente, feita pelo teste *t* mostrou diferença significativa ao nível de 0,01 de probabilidade para todos os caracteres na maioria dos retrocruzamentos. Apenas no retrocruzamento [(('BRS Novaera' x 'Patativa') x 'BRS Novaera')], o caráter número de grãos por vagens foi significativo a 0,05 de probabilidade. Nos retrocruzamentos [(('Pretinho' x 'TE 97-309G-9') x 'Pretinho')] e [(('BR3 Tracuateua' x 'Patativa') x 'BR3 Tracuateua')] não houve diferença significativa para o caráter comprimento de vagem. Para o caráter número de dias para o início da floração, as médias das plantas resistentes de todos os retrocruzamentos foram superiores ao seu respectivo genitor recorrente. No caráter comprimento de vagem, cinco retrocruzamentos apresentaram as médias das plantas resistentes superiores à média do respectivo genitor recorrente. Vale ressaltar que vagens grandes estão diretamente relacionadas com produtividade, uma vez que, quanto maior a vagem, maior é o número de grãos por vagem, facilitando ainda

Tabela 3. Reação dos genitores e plantas das gerações F₂ dos cruzamentos biparentais e triplo e da F₂RC₁, inoculados mecanicamente com a mistura dos vírus *Cowpea severe mosaic virus* e *Cowpea aphid-borne mosaic virus* e teste de heterogeneidade.

Populações	Geração	Nº de plantas		Proporção esperada	X ² Igl ⁽⁴⁾	P
		Suscetível	Resistente			
‘BRS-Tracueteua’	Genitor	20	-	-	-	-
‘BRS-Urubuquara’	Genitor	20	-	-	-	-
‘BRS-Guariba’	Genitor	20	-	-	-	-
‘BRS-Novaera’	Genitor	20	-	-	-	-
‘Pretinho’	Genitor	20	-	-	-	-
TE97-309G-9	Genitor	-	20	-	-	-
‘Patativa’	Genitor	-	20	-	-	-
(‘BRS-Tracueteua’ x TE97-309G-9)	F ₂	274	14	15:1	0,94	0,33
(‘BRS-Urubuquara’ x TE97-309G-9)	F ₂	284	16	15:1	0,43	0,51
(‘BRS-Novaera’ x TE97-309G-9)	F ₂	285	15	15:1	0,80	0,37
(‘BR3 Tracueteua’ x ‘Patativa’)	F ₂	283	17	15:1	0,17	0,67
(‘Pretinho’ x TE97-309G-9)	F ₂	285	15	15:1	0,80	0,37
(‘BRS-Urubuquara’ x ‘Patativa’)	F ₂	285	15	15:1	0,80	0,37
(‘BRS-Novaera’ x ‘Patativa’)	F ₂	284	16	15:1	0,43	0,51
[‘BRS-Guariba’ x (‘Pretinho’ x TE97-309-9)]	F ₂	283	17	15:1	0,17	0,67
[(‘BRS-Tracueteua’ x TE97-309G-9) x ‘BRS-Tracueteua’]	F ₂ RC ₁	241	23	15:1	2,73	0,09
[(‘BRS-Urubuquara’ x TE97-309G-9) x ‘BRS-Urubuquara’]	F ₂ RC ₁	468	27	15:1	0,53	0,46
[(‘BRS-Novaera’ x TE97-309G-9) x BRS-Novaera]	F ₂ RC ₁	354	25	15:1	0,02	0,88
[(‘Pretinho’ x TE97-309G-9) x ‘Pretinho’]	F ₂ RC ₁	469	36	15:1	0,66	0,41
[(‘BRS-Tracueteua’ x ‘Patativa’) x ‘BRS-Tracueteua’]	F ₂ RC ₁	507	10	15:1	16,43	<0,0001
[(‘BRS-Urubuquara’ x ‘Patativa’) x ‘BRS-Urubuquara’]	F ₂ RC ₁	466	21	15:1	3,12	0,08
[(‘BRS-Novaera’ x ‘Patativa’) x ‘BRS-Novaera’]	F ₂ RC ₁	304	24	15:1	0,64	0,42
{[(‘BRS-Guariba’ x (‘Pretinho’ x TE97-309-9)) x ‘BRS-Guariba’]}	F ₂ RC ₁	455	43	15:1	4,83	0,03
Heterogeneidade F ₂ ⁽¹⁾	-	-	-	15:1	0,34	>0,99
Heterogeneidade F ₂ RC ₁ ⁽²⁾	-	-	-	15:1	28,74	<0,01
Heterogeneidade F ₂ RC ₁ ⁽³⁾	-	-	-	15:1	7,71	0,23

¹Teste de heterogeneidade da geração F₂ do cruzamento biparental. ²Teste de heterogeneidade com os oito cruzamentos na geração F₂RC₁. ³Teste de heterogeneidade sem os retrocruzamentos [(‘BRS-Tracueteua’ x ‘Patativa’) x ‘BRS-Tracueteua’] e {[(‘BRS-Guariba’ x (‘Pretinho’ x TE97-309-9)) x ‘BRS-Guariba’]} na geração F₂RC₁. ⁴gl: Grau de liberdade.

Tabela 4. Comparação de médias de cruzamentos de feijão-caupi visando à obtenção de cultivares essencialmente derivadas e novas cultivares resistentes ao *Cowpea severe mosaic virus* e *Cowpea aphid-borne mosaic virus*, pelo teste Scott e Knott ao nível de 0,05 de probabilidade.

Retrocruzamentos	Características				
	NDIF ⁽¹⁾	CPV	NGV ⁽¹⁾	MCG	PGP
[(‘BR3 Tracueteua’ x TE 97-309G-9) x ‘BR3 Tracueteua’]	7,34 f ⁽²⁾	13,94 e	3,15 d	15,99 d	17,10 e
[(‘BRS Urubuquara’ x TE 97-309G-9) x ‘BRS Urubuquara’]	7,63 d	15,50 d	3,29 d	18,29 b	68,97 a
[(‘BRS Novaera’ x TE 97-309G-9) x ‘BRS Novaera’]	8,08 b	15,96 d	3,50 c	17,64 c	62,01 b
[(‘BRS Pretinho’ x TE 97-309G-9) x ‘BRS Pretinho’]	7,53 e	17,57 b	3,91 a	13,46 e	59,01 b
[(‘BR3 Tracueteua’ x ‘Patativa’) x ‘BR3 Tracueteua’]	8,28 a	15,51 d	3,27 d	16,41 d	18,51 e
[(‘BRS Urubuquara’ x ‘Patativa’) x ‘BRS Urubuquara’]	7,63 d	16,19 c	3,45 c	18,37 b	38,50 d
[(‘BRS Novaera’ x ‘Patativa’) x ‘BRS Novaera’]	7,89 c	16,65 c	3,28 d	19,33 a	40,65 d
{[(‘BRS Guariba’ (‘Pretinho’ x TE 97-309G-9)) x ‘BRS Guariba’]}	7,50 e	18,69 a	3,75 b	18,20 b	50,63 c
Média geral	7,67	16,60	3,51	17,15	48,21
Coefficiente de variação (%)	2,40	7,90	6,20	6,07	13,18
Quadrado médio	1,97**	63,22**	2,07**	108,65**	7897,13**
Resíduo	0,0338	17,182	0,0475	10,836	403,717

Número de dias para o início da floração (NDIF); Comprimento de vagem (CPV); Número de grãos por vagem (NGV), massa de cem grãos (MCG) e Produtividade de grãos da planta (PGP). ¹Análise realizada com dados transformados para “x”. ²Médias seguidas por diferentes letras na coluna diferem significativamente entre si pelo Teste Scott e Knott considerando nível de 0,05 de probabilidade. ** Significativo pelo teste *f* considerando nível de 0,05 de probabilidade.

Tabela 5. Comparação de médias das plantas de feijão-caupi, F₂RC₁ resistentes com seus respectivos genitores recorrentes pelo teste *t*.

Cruzamentos	Características	Plantas resistentes da F ₂ RC ₁		Média Genitor recorrente	Teste T
		Média	Variância		
[('BR3-Tracueteua' x TE-97-309G-9) x 'BR3-Tracueteua']	NDIF	53,89	0,04	43,70	16,55**
	CPV	13,94	1,86	15,50	-5,48**
	NGV	9,97	0,07	7,90	5,80**
	PCG	15,99	1,63	25,60	-36,08**
	PGP	17,10	70,13	89,70	-41,58**
[('BRS Urubuquara' x TE-97-309G-9) x 'BRS Urubuquara']	NDIF	58,37	0,03	41,00	35,93**
	CPV	15,50	1,70	13,80	6,80**
	NGV	10,91	0,06	7,90	9,43**
	PCG	18,29	0,92	19,90	-8,74**
	PGP	68,97	9,41	29,00	67,71**
[('BRS Novaera' x TE-97-309G-9) x 'BRS Novaera']	NDIF	65,37	0,02	41,40	45,95**
	CPV	15,96	2,40	14,60	4,37**
	NGV	12,30	0,06	10,10	6,44**
	PCG	17,64	0,75	22,00	-25,15**
	PGP	62,01	33,27	24,30	32,69**
[('Pretinho' x TE-97-309G-9) x 'Pretinho']	NDIF	56,76	0,06	49,60	11,95**
	CPV	17,57	1,20	17,70	-0,71 ^{ns} ++
	NGV	15,31	0,03	14,20	4,80**
	PCG	13,46	1,08	14,50	-6,02**
	PGP	59,01	42,22	15,70	39,99**
[('BR3 Tracueteua' x 'Patativa') x 'BR3-Tracueteua']	NDIF	68,58	0,02	43,70	30,80**
	CPV	15,51	1,96	15,50	0,02 ^{ns} +
	NGV	10,76	0,07	7,90	5,24**
	PCG	16,41	1,59	25,60	-22,99**
	PGP	18,51	45,78	89,70	-33,22**
[('BRS Urubuquara' x 'Patativa') x 'BRS Urubuquara']	NDIF	58,26	0,01	41,00	48,07**
	CPV	16,19	1,60	13,80	8,67**
	NGV	11,93	0,05	7,90	12,31**
	PCG	18,37	1,07	19,90	-6,79**
	PGP	38,50	41,81	29,00	6,73**
[('BRS Novaera' x 'Patativa') x 'BRS Novaera']	NDIF	62,32	0,03	41,40	37,57**
	CPV	16,65	1,80	14,60	7,50**
	NGV	10,80	0,05	10,10	2,31*
	PCG	19,33	0,56	22,00	-17,49**
	PGP	40,65	39,73	24,30	12,71**
[('BRS Guariba' ('Pretinho' x TE 97-309G -9)) x 'BRS Guariba']	NDIF	56,23	0,03	41,40	35,29**
	CPV	18,69	1,65	20,20	-7,68**
	NGV	14,12	0,02	13,60	3,02**
	PCG	18,20	1,28	21,60	-19,72**
	PGP	50,63	44,97	40,60	9,80**

Número de dias para o início da floração (NDIF); Comprimento de vagem (CPV); Número de grãos por vagem (NGV); Massa de cem grãos (MCG) e Produtividade de grãos da planta (PGP).⁺ ** Significativo pelo teste *t* ao nível de 0,05 e 0,01 de probabilidade, respectivamente. ^{ns} Não significativo pelo teste '*t*' ao nível de 0,05 e 0,01 de probabilidade. ⁺⁺⁺ significativo a 0,50 e 0,25 de probabilidade, respectivamente.

a colheita manual. No que se refere ao caráter número de grãos por vagem, as plantas resistentes de todos os retrocruzamentos superaram a média do seu respectivo genitor recorrente, com destaque para o retrocruzamento [('Pretinho' x TE-97-309G-9) x 'Pretinho'], ficando dentro da média obtida por Silva & Neves (27). Para a massa de cem grãos, as médias dos genitores recorrentes foram superiores às médias das plantas resistentes de todas as populações F₂RC₁. Este caráter não pode ser alterado com o processo de seleção, pois geralmente os consumidores preferem vagens mais compridas por apresentarem maior

rendimento e grãos maiores. Para o caráter produtividade de grãos por planta, as médias das progênies resistentes foram superiores às médias dos genitores recorrentes. Exceção feita ao genitor recorrente 'BR3 Tracueteua' que apresentou média superior à média de seus respectivos retrocruzamentos (Tabela 5).

O teste de Scott-Knott permitiu detectar diferenças para todos os caracteres, confirmando a existência de variabilidade genética entre retrocruzamentos. No caráter número de dias para o início da floração, dados transformados para \sqrt{x} , o retrocruzamento mais precoce foi

o [(‘BR3 Tracuetea’ x TE 97-309G-9) x ‘BR3 Tracuetea’], o qual diferiu estatisticamente dos demais. No caráter comprimento da vagem, dois retrocruzamentos se destacaram por apresentarem médias acima de 17,1 cm. O retrocruzamento [(‘BRS Guariba’ x (‘Pretinho’ x TE 97-309G-9)) x ‘Guariba’] apresentou o maior comprimento de vagem, seguido do retrocruzamento [(‘Pretinho’ x TE 97-309G-9) x ‘Pretinho’], porém diferiram significativamente entre si. Oliveira et al. (17), em um estudo envolvendo linhagens e cultivares de feijão-caupi, encontraram valores médios de comprimento de vagem variando de 17,0 cm a 26,0 cm. Para o caráter número de grãos por vagem, dados transformados para \sqrt{x} , os retrocruzamentos foram separados em quatro grupos. Nesse caráter destacou-se o retrocruzamento [(‘Pretinho’ x TE 97-309G-9) x ‘Pretinho’] diferindo significativamente dos demais. Matos Filho et al. (14), avaliando o potencial produtivo em progênies de feijão-caupi, encontraram valor médio para esse caráter de 7,15 grãos.vagem⁻¹, semelhante à média geral dos retrocruzamentos. O caráter massa de cem grãos apresentou média geral de 17,15 g. Nesse caráter foram formados cinco grupos, com destaque para o retrocruzamento [(‘BRS Novaera’ x ‘Patativa’) x ‘BRS Novaera’] com massa de cem grãos de 19,33 g. A literatura permite concluir que tanto no Brasil quanto na Nigéria, terceiro maior produtor e consumidor mundiais de feijão-caupi, respectivamente, a preferência é por grãos grandes, porém nas cultivares comerciais o referido caráter predomina na faixa de 11,8g a 18,7g (15, 19). No caráter produtividade de grãos por planta houve a formação de cinco grupos, com a média variando de 17,10 g a 68,97 g. A média geral foi de 48,21 g. O retrocruzamento que mais se destacou foi o [(‘BRS Urubuquara’ x TE 97-309G-9) x ‘BRS Urubuquara’], diferindo estatisticamente dos demais (Tabela 4).

Os resultados obtidos permitem concluir que: a) A segregação conjunta dos genes de resistência ao CPSMV e ao CABMV obedece à proporção de 15 suscetíveis : 1 resistente; b) Há variabilidade genética entre os retrocruzamentos para os caracteres avaliados e c) Os retrocruzamentos possuem segregantes promissores com potencial a seleção de cultivares essencialmente derivadas e para a obtenção de novas linhagens com grãos de bom padrão comercial e altamente produtivas, em ambos os casos com resistência ao CPSMV e ao CABMV.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Assunção, I.P.; Melo-Filho, L.R.; Resende, L.V.; Barros, M.C.S.; Lia, G.S.A.; Coelho, R.S.B.; Lima, J.A.A. Genes diferentes podem conferir a resistência ao Cowpea severe mosaic virus em caupi. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 274-278, 2005.
- Bashir, M.; Ahmad, Z.; Ghafoor, A. Cowpea aphid-borne mosaic potyvirus: a review. **International Journal of Pest Management**, London, v. 48, n.2, p. 155-168, 2002.
- Bashir, M.; Hampton, O. Detection and identification of seed borne viruses from cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) germoplasm. **Plant Pathology**, Oxford, v. 45, p. 54-58, 1996.
- Booker, H. M.; Umaharan, P.; McDavid, C.R. Effect of Cowpea severe mosaic virus on crop growth characteristics and yield of cowpea. **Plant Disease**, St Paul, v. 89, p. 515-520, 2005.
- Camarço, R.F.E.A.; Nascimento, A.K.; Andrade, E.C.; Lima, J.A.A. Biological, serological and molecular comparison between isolates of *Cowpea severe mosaic virus*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 4, p. 239-244, 2009.
- Chomczynski, P.; Sacchi, N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. **Analytical Biochemistry**, New York, v.162, p. 156-159, 1987.
- Converse, R.; Martin, R. Enzyme-linked immunosorbent assay. In: Hampton, R.O.; Ball, E.M.; De Boer, S.H. (Eds.) **Serological methods for detection and identification of viral and**

- bacterial plant pathogens**. Saint Paul: American Phytopathological Society, 1991. p.179-204.
- Lima, J.A.A.; Santos, C.D.G.; Silveira, L.F.S. Comportamento de genótipos de caupi em relação aos dois principais vírus que ocorrem no Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 11, p. 151-161, 1986.
- Lima, J.A.A.; Silva, A.K.F.S.; Aragão, M.L.; Ferreira, N.R.A.; Teófilo, E.M. Simple and multiple resistances to viruses in cowpea genotypes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 11, 1432-1438, 2011.
- Lima, J.A.A.; Silveira, L.F.S.; Oliveira, J.P. Não transmissibilidade de “Cowpea Severe Mosaic Virus” por sementes de *Vigna unguiculata* cvs. Pitiúba e Seridó. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 14, p. 50-44, 1989.
- Lima, J.A.A.; Sittolin, I.M.; Lima, R.C.A. Diagnoses e Estratégias de Controle de Doenças Ocasionalmente por Vírus. In: Freire Filho, F.R. et al. (Eds.) **Feijão-Caupi: avanços tecnológicos**. 2005. p. 405-459.
- Lopes, A.C.A.; Freire Filho, F.R.; Silva, R.B.Q.; Campos, F.L.; Rocha, M.R. Variabilidade e correlações entre caracteres agrônomicos em caupi (*Vigna unguiculata*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 3, p. 515-520, 2001.
- Mather, K. **The measurement of linkage in heredity**. 2. ed. London: Methuen, 1951. 149p.
- Matos Filho, C.H.A.; Gomes, R.L.F.; Rocha, M.M.; Freire Filho, F.R.; Lopes, A.C. A. Potencial produtivo de progênies de feijão-caupi com arquitetura ereta de planta. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.2, p. 348-354, 2009.
- Mishili, F.J.; Fulton, J.; Shehu, M.; Kushwaha, S.; Marfa, K.; Jamal, M.; Kergma, A.; Deboer, J.L. Consumer preferences for quality characteristics along the cowpea value Chain in Nigeria, Ghana, and Mali. **Agribusiness**, v.25, n.1, p.16-35, 2009.
- Nogueira, M.S.R. **Diferenciação molecular de sorotipos virais e estudo da resistência ao Cowpea severe mosaic virus e Cowpea aphid-borne mosaic virus em caupi**. 2007. 141f. Dissertação (Doutorado em Biotecnologia Vegetal) - Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Oliveira, A.P.; Tavares Sobrinho, J.; Nascimento, J.T.; Alves, A.U.; Albuquerque, I.C.; Bruno, G.B. Avaliação de linhagens e cultivares de feijão-caupi, em Areia, PB. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 180-182, 2002.
- Oliveira, C.R.R.; Freire Filho, F.R.; Nogueira, M.S.R.; Barros, G.B.; Eiras, M.; Ribeiro V.Q.; Lopes, A.C.A. Reação de genótipos de feijão-caupi revela resistência às coinfeções pelo *Cucumber mosaic virus*, *Cowpea aphid-borne mosaic virus* e *Cowpea severe mosaic virus*. **Bragantia**, Campinas, v. 71, n. 1, p.59-66, 2012.
- Passos, M.M.; Silva, S.A.; Cruz, P.J.; Rocha, M.M.; Cruz, E.M.O.; Rocha, M.A.C.; Bahia, H.F.; Saldanha, R.B. Divergência genética em feijão-caupi. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 4, p. 579-586, 2007.
- Paz, C.D.; Lima, J.A.A.; Pio-Ribeiro, G.; Assis Filho, F.M.; Andrade, G.P.; Gonçalves, M.F.B. Purificação de um isolado do vírus do mosaico severo do caupi, obtido em Pernambuco, produção de antissoros e determinação de fontes de resistência em caupi. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.25, n.4, p.285-288, 1999.
- Ramalho, M.A.P.; Santos, J.B. dos; Zimmermann, M.J.O. **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia: UFG, 1993. 271p.
- Rocha, M.M.; Lima, J.A.A.; Freire Filho, F.R.; Rosal, C.J.S.; Lopes, A.C.A. Resistência de genótipos de caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) de tegumento branco a isolados de vírus da famílias *Bromoviridae*, *Comoviridae* e *Potyviridae*. **Ciência Rural**, Bagé, v.8, n. 1, p. 85-92, 2003.
- Santos, F.M.L.; Lima, J.A.A.; Barreto, P.D. Infecções simples e múltiplas de vírus em caupi no Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n.4, p. 518-522, 1999.
- SAS Institute. **SAS/ STAT: User's guide: version 8.1**. Cary, 2000. v.1.
- Sedcole, J.R. Number of plants necessary to recovery a trait. **Crop Science**, Madison, v. 17, p. 667-668, 1977.
- Silva, L.A.; Garcêz, R.M.; Chaves, A.L.R.; Colariccio, A.; Eiras,

- M. Transmissão experimental revela novos potenciais reservatórios do *Cowpea aphid-borne mosaic virus*, **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 38, n. 2, p. 168-169, 2012.
27. Silva, J.A.L.; Neves, J.A. Produção de feijão-caupi semi-prostrado em cultivos de sequeiro e irrigado, **Revista Brasileira Ciência Agrária**, Recife, v.6, n.1, p.29-36, 2011.
28. Vale, C.C.; Lima, J. A. A. Efeitos de infecção isolada e mista de vírus de grupos distintos em caupi. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.19, n. 2, p.193-197, 1994.
29. Vale, C.C.; Lima, J.A.A. Herança da imunidade da cultivar Macaibo de *Vigna unguiculata* ao vírus do mosaico severo do caupi. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.20, n.1, p.30-32, 1995.
30. Zimmermann, F.J.P. **Estatística aplicada à pesquisa agrícola**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2004. 402p.