

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



18º Seminário de
Iniciação Científica e
2º Seminário de Pós-graduação
da Embrapa Amazônia Oriental

ANNAIS 2014

12 a 14 de agosto

Embrapa
Belém, PA
2014



18º Seminário de Iniciação Científica e 2º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. 12 a 14 de agosto de 2014, Belém-PA

PRIMEIRO RELATO DO *Cowpea aphid-borne mosaic virus* EM FEIJÃO-DE-METRO NO ESTADO DO PARÁ

Elaine Cristina da Silva Rodrigues¹, Alessandra de Jesus Boari², Taise Pereira Carvalho³

¹Aluna de pós graduação, Universidade Federal Rural da Amazônia, ecs.rodrigues@yahoo.com.br

²Pesquisadora, Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Fitopatologia, alessandra.boari@embrapa.br

³Bolsista Pibic Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Fitopatologia, taisepearvalho@gmail.com

Resumo: O feijão-de-metro (*Vigna unguiculata* (L.) Walp. ssp. *unguiculata* Verdc. cultigrupo *sesquipedalis* Westphal) é uma planta anual que chega a medir até 3 metros, da família das leguminosas (Fabaceae). No estado do Pará esta hortaliça vem adquirindo grande valorização, principalmente na mesorregião do nordeste paraense. Várias doenças podem comprometer a sua produtividade e dentre elas as viroses. Em cultivos de feijão-de-metro, localizados no município de Curuçá-PA, observou-se plantas apresentando sintomas de deformação, mosaico, clorose e bolhosidade foliar. O objetivo deste trabalho foi identificar o vírus causador da doença no feijão-de-metro. Para isso, realizou-se a diagnose por meio do RT-PCR utilizando-se *primers* específicos para a detecção do *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV), que pertence ao gênero *Potyvirus*. Através da eletroforese em gel de agarose a 0,8% observou-se a banda de DNA esperada de 221pb, confirmando a presença do CABMV no feijão-de-metro. Este é o primeiro relato do CABMV infectando feijão-de-metro no estado do Pará.

Palavras-chaves: CABMV, cultigrupo *sesquipedalis*, *Potyvirus*

Introdução

O feijão-de-metro (*Vigna unguiculata* (L.) Walp. ssp. *unguiculata* Verdc. cultigrupo *sesquipedalis* Westphal) pertence a um dos quatro cultigrupos no qual a espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp. e subespécie *unguiculata* é classificada (PADULOSI; NG, 1997). É uma hortaliça bastante apreciada pela população do norte e nordeste brasileiro. Na região Norte seu consumo é expressivo, principalmente porque substitui a “vagem” em vários pratos (SILVA, 2003).

De forma geral a espécie *Vigna unguiculata* (L.) é suscetível a várias doenças causadas por fungos, bactérias, nematoides e vírus. No Brasil, os vírus constituem um grupo muito importante, sendo os principais: o *Cucumber mosaic virus*, o *Cowpea severe mosaic virus*, o *Cowpea golden mosaic virus*, o *Bean common mosaic virus*, o *Cowpea aphid-borne mosaic virus*, o *Cowpea green vein banding virus*, o *Cowpea rugose mosaic virus* e o *Cowpea severe mottle virus* (KITAJIMA,



18º Seminário de Iniciação Científica e 2º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. 12 a 14 de agosto de 2014, Belém-PA

1995).

O estudo do *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) tem se tornado cada vez mais relevante, por ser um dos principais fatores limitantes da produção da espécie *V. unguiculata*, tanto pela forma de disseminação (pulgão – transmissão por picada de prova), quanto pela dificuldade no controle (GHORBANI et al., 2008).

Os sintomas mais comuns causados pelo CABMV são mosaico intenso no limbo foliar, formado por áreas verdes normais entremeadas por áreas cloróticas, faixas verde-escuras nas nervuras, distorção das folhas e redução mais ou menos acentuada do crescimento das plantas, dependendo da interação entre cultivar e estirpe, bem como da época de início da infecção. Perdas elevadas, acima de 50%, têm sido relatadas em condições de campo e casa-de-vegetação (PIO-RIBEIRO; ASSIS FILHO, 1997). A identificação de espécies virais pode dar subsídios para a elaboração de estratégias de manejo da cultura e, conseqüentemente, proporcionará o aumento da produtividade do feijão-de-metro no estado do Pará.

Em cultivos de feijão-de-metro no município de Curuçá-PA é comum observar plantas com sintomas característicos de viroses. Dado a este fato e a importância da cultura para a região, o presente estudo teve como objetivo identificar o vírus causal da virose do feijão-de-metro.

Material e Métodos

Amostras de folhas de feijão-de-metro com sintomas característicos de viroses como mosaico, clorose, bolhosidade foliar foram coletadas no município de Curuçá e analisadas no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental.

O ácido nucléico total foi extraído a partir de folhas novas utilizando o protocolo de Gibbs e Mackenzie (1997). Como controle fez-se a extração de ácido nucleico de plantas sadias de *V. unguiculata* cultivadas em casa de vegetação. O ácido nucléico extraído das amostras foi mantido em freezer a -20° C.

Para a RT-PCR (Transcrição Reversa – Reação da Polimerase em Cadeia), foram utilizados primers específicos, CABMV-R (5'-CGCTCAAACCCATTGTAGAA-3') e CABMV-F (5'-TATTGCTTCCCTTGCTCTTTC-3'), que permitem a amplificação de um fragmento com cerca de 221 pb que abrange parte do gene 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, e para isso, foram utilizados 5µl do cDNA,



18º Seminário de Iniciação Científica e 2º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. 12 a 14 de agosto de 2014, Belém-PA

5µL do tampão de reação 10X, 1,5µL de MgCl₂ (25 mM), 0,5µL de dNTP (10mM), 0,15µL da Taq DNA Polimerase, 0,25µL dos primers (CABMV-Re CABMV-F) e 14,35µL de água ultra-pura. O ciclo utilizado para o par de primer CABMV-Re CABMV-F consistiu de desnaturação inicial de 94° C por 3 minutos, 35 ciclos de 94°C/30 segundos, 52.9°C/30 segundos, 72°C/30 segundos, e amplificação final de 72°C durante 5 minutos. O tamanho do fragmento de DNA foi observado e fotografado sob luz UV após a corrida eletroforética em gel de agarose (0,8%) e coloração em GelRed.

Resultados e Discussão

No teste de RT-PCR foi observada a banda do fragmento de DNA de 221pb, confirmando a presença de vírus da espécie CABMV em duas das seis amostras analisadas.

O CABMV além de causar prejuízos aos produtores de feijão-de-metro, quando infecta esta cultura pode também servir como fonte de inóculo para outros cultigrupos de feijão-caupi e também para a cultura do maracujá.

Este vírus por ser naturalmente transmitido por várias espécies de pulgões de forma não-persistente, pode ocasionar grandes perdas, principalmente quando a infecção ocorrer nos estádios mais jovens da planta. Por isso, recomenda-se evitar o plantio escalonado do feijão-de-metro quando ocorre virose na área.

No Pará há apenas o relato do *Cowpea severe mosaic virus* em feijão caupi (POLTRONIERI et al., 1994).

Este foi o primeiro relato de *Cowpea aphid-borne mosaic virus*-CABMV infectando plantas de feijão-de-metro no estado do Pará.

Conclusões

O vírus que infecta o feijão-de-metro amostrado no município de Curuçá pertence à espécie *Cowpea aphid-borne mosaic virus*.

Agradecimentos

À FINEP pelo apoio financeiro ao projeto e FAPESPA pela bolsa de mestrado.



18º Seminário de Iniciação Científica e 2º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. 12 a 14 de agosto de 2014, Belém-PA

Referências Bibliográficas

- GIBBS, A.; MACKENZIE, A. A primer pair for amplifying part of the genome of all potyvirids by RT-PCR. **Journal of Virological Methods**, v. 63, p. 9-16, 1997.
- GHORBANI, S. G. M.; SHAHRAEIN, N.; ELAGINIA, S. A. Serodiagnose of cowpea (*Vigna unguiculata*) viruses in Guilan province, Iran. **Iranian Journal Virology**, v. 01, n. 1, p. 28-31, 2008.
- KITAJIMA, E. W. Lista de publicações sobre viroses e enfermidades correlatas de plantas no Brasil (1986 - 1993). **Fitopatologia Brasileira**, v. 1, p. 1-92, 1995. Supl.
- PADULOSI, S.; NG, N. Q. Origin, taxonomy, and morphology of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In: SINGH, B. B.; MOHAN, R.; DASHIELL, K. E.; JACKAI, L. E. N. (Ed.). **Advances in Cowpea Research**. Tsukuba: IITA JIRCAS, 1997. p. 1-12.
- PIO-RIBEIRO, G.; ASSIS FILHO, F. M. Doenças do caupi. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; RESENDE, J. A. M. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p. 233-244.
- POLTRONIERI, L. S.; TRINDADE, D. R.; SILVA, J. F. de A. F. da. **Principais doenças do caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) no Pará e recomendações de controle**. Belém, PA: EMBRAPA-CPATU, 1994. 24 p. (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 75).
- SILVA, G. S. Galhas em caule de feijão-de-metro causadas por *Meloydogine incognita*. **Nematologia Brasileira**, v. 27, p. 227-228, 2003.