



LAYLA DE SÁ ANDRADE MEDEIROS

**IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E CARACTERIZAÇÃO
BIOLÓGICA DE VÍRUS EM FEIJÃO-FAVA**

TERESINA – PI

2018

LAYLA DE SÁ ANDRADE MEDEIROS

**IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA DE VÍRUS EM
FEIJÃO-FAVA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Agricultura Tropical da Universidade Federal do Piauí, para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador

Prof. Dr. José Evando Aguiar Beserra Júnior

TERESINA – PI

2018

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias
Serviço de Processamento Técnico

M488i Medeiros, Layla de Sá Andrade
Identificação molecular e caracterização biológica de vírus em
feijão-fava / Layla de Sá Andrade Medeiros - 2018.
55 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Pro-
grama de Pós-graduação em Agronomia, Teresina, 2018.
Orientação: Prof. Dr. José Evando Beserra Júnior

1. *Phaseolus lunatus* 2. CMV 3. CABMV 4. CPMMV I. Título.

CDD 635.651

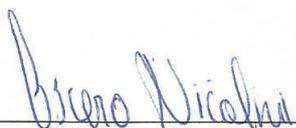
LAYLA DE SÁ ANDRADE MEDEIROS

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA DE
VÍRUS EM FEIJÃO-FAVA.

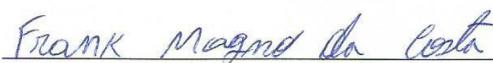
Dissertação apresentada à Universidade Federal do Piauí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Agricultura Tropical, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

APROVADO em 14 de dezembro de 2018.

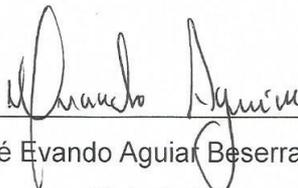
Comissão Julgadora:



Prof. Dr. Cícero Nicolini – UESPI



Prof. Dr. Frank Magno da Costa – UESPI



Prof. Dr. José Evando Aguiar Beserra Júnior – UFPI
(Orientador)

TERESINA-PI

2018

À minha filha, Maria, luz da minha vida. À minha família, por compreender minhas ausências e me incentivar em todos os momentos de dificuldade.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À DEUS por me permitir viver essa nova experiência.

À Universidade Federal do Piauí (UFPI) e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Agricultura Tropical pela oportunidade.

Ao Prof. Dr. José Evando Aguiar Beserra Jr pela orientação, amizade, paciência, compreensão e seus ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Elliot Watanabe Kitajima pela ajuda nas análises ao microscópio eletrônico de transmissão de algumas amostras.

À Dra. Simone Ribeiro por ter nos concedido oligonucleotídeos específicos para o CPMMV e o controle positivo.

Aos amigos do Laboratório de Fitopatologia, Marta, Enayra, Hellen e, em especial, ao meu querido amigo Izaías, pela amizade, apoio e companheirismo a mim oferecidos.

Aos meus amigos de graduação e de vida Alane, Evanielle, Claudyanne e Laércio por me incentivarem e me ouvirem quando precisei.

Ao meu amigo Gustavo Carvalho, servidor da Embrapa Meio-Norte, por toda ajuda.

Ao Departamento de Planejamento e Política Agrícola/CCA/UFPI pelo incentivo.

À minha família, ao Bruno, pelo carinho, compreensão e apoio em todos os momentos.

A todos que direto ou indiretamente contribuíram para a conclusão deste trabalho, minha sincera gratidão.

RESUMO

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) é uma das principais leguminosas cultivadas na região tropical, por ser uma importante fonte alimentar para o Nordeste do Brasil. As viroses são fatores limitantes à produção de feijão-fava provocando danos que podem reduzir a produtividade, devido à dificuldade de controle e às formas eficientes de disseminação dos patógenos. No entanto, não são bem conhecidos os vírus que infectam naturalmente o feijão-fava. Assim, o objetivo deste estudo foi identificar os vírus com genoma de RNA de ocorrência natural em campos produtores de feijão-fava nos estados do Piauí e Ceará, além de caracterizar por análises filogenéticas e sintomatológicas as espécies identificadas. Foram coletadas 55 amostras foliares de feijão-fava com sintomas de mosaico e deformação foliar durante a estação de cultivo dos anos de 2017 e 2018. Foram realizadas RT-PCR com oligonucleotídeos específicos para *Cucumber mosaic virus* (CMV) e *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV) e oligonucleotídeos degenerados para potyvírus e comovírus. Os fragmentos amplificados de tamanhos esperados de CMV, potyvírus e comovírus foram purificados e sequenciados em ambas as direções. As sequências editadas foram comparadas com aquelas depositadas no GenBank. Árvores filogenéticas foram geradas utilizando o método de máxima verossimilhança. As sequências nucleotídicas (nt) e de aminoácidos (aa) deduzidos foram comparadas entre si e com sequências de isolados referência. Foram identificadas quatro espécies de vírus infectando naturalmente o feijão-fava: CMV, *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV), *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) e CPMMV, os quais apresentaram taxa de infecção simples de 21,81%, 47,27%, 1,81% e 52,72%, respectivamente. Taxas de infecções duplas foram observadas entre CMV e CABMV (3,63%), CMV e CPMMV (16,3%), CABMV e CPMMV (12,7%), e infecção múltipla entre CMV, CABMV e CPMMV de 1,8%. A comparação das sequências nt de 11 isolados de CMV revelou identidade de 96 a 100% entre si, e de 94 a 99% com isolados referência do Subgrupo I e 80 a 81% com os isolados do Subgrupo II. Todos os isolados de CMV agruparam com isolados referência do Subgrupo IA. Os 16 isolados de CABMV possuem identidade de sequências de nt e aa com sequências de isolados depositados no GenBank variando de 90 a 95% e 96 a 97%, respectivamente. Quando comparados entre si, os isolados apresentaram identidade de sequência nt de 81 a 100%, e identidade de aa de 92 a 100%. Os isolados de CABMV agruparam com isolados brasileiros, africano e indiano. Apenas uma amostra de feijão-fava apresentou infecção com CPSMV. Esse isolado apresentou maior identidade (92% nt e 88% aa) com o isolado CPSMV PY2, obtido de sésamo no Paraguai. Estes resultados comprovam a ocorrência natural de CMV, CABMV, CPSMV e CPMMV em plantas de feijão-fava nos estados do Piauí e Ceará. É o primeiro relato de CPSMV e CPMMV em feijão-fava no mundo.

Palavras-chave: CMV, CABMV, CPSMV, CPMMV, *Phaseolus lunatus*.

ABSTRACT

Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) is one of the main legumes grown in the tropical region, besides being an important food source for the Northeast of Brazil. Viruses are limiting factors for bean production causing damage that can reduce productivity, due to the difficulty of control and efficient forms of dissemination of the pathogens. However, viruses that naturally infect lima bean are not well known. Thus, the objective of this study was to identify the natural occurrence of viruses with RNA genomes in bean fields in the states of Piauí and Ceará, as well as to characterize the identified species by phylogenetic and symptomatological analyzes. Fifty-five leaf samples of lima beans with mosaic and foliar deformation symptoms were collected in the states of Piauí and Ceará during the growing season of 2017 and 2018. RT-PCR was performed with specific oligonucleotides for *Cucumber mosaic virus* (CMV) and *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV) and degenerate oligonucleotides for potyviruses and as comoviruses. The amplified fragments of expected sizes of CMV, potyvirus and were purified and sequenced in both directions. The edited sequences were compared to those deposited in GenBank. Phylogenetic trees were generated using the maximum likelihood method. The deduced nucleotide (nt) and amino acid (aa) sequences were compared among the isolates obtained in this study with reference isolates sequences. Four species of virus were found naturally infecting fava beans: *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV), *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) and *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV) of simple infection of 21.81% for CMV, 47.27% for CABMV, 1.81% for CPSMV and 52.72% for CPMMV, respectively. Rates of double infections were observed between CMV and CABMV (3.63%), CMV and CPMMV (16.3%), CABMV and CPMMV (12.7%), and multiple infection between CMV, CABMV and CPMMV of 1.8%. Comparison of the nt sequences of 11 CMV isolates revealed 96 to 100% identity to each other, and 94 to 99% with Subgroup I reference isolates and 80 to 81% to the Subgroup II isolates. All CMV isolates grouped with reference isolates of Subgroup IA with 93% bootstrap. The 16 CABMV isolates have nt sequence identity with GenBank isolates ranging from 90 to 95% and 96 to 97%, respectively. When compared to each other, the isolates showed high nt sequence identity of 81 to 100% and aa identity of 92 to 100%. The CABMV isolates grouped with Brazilian, African and Indian isolates, with 100% bootstrap. Only one sample of fava beans presented infection with CPSMV. This sample showed a greater identity (92% nt and 88% aa) with the isolate CPSMV PY2, obtained from sesame in Paraguay. These results confirm the natural occurrence of CMV, CABMV, CPSMV and CPMMV in lima bean plants in the states of Piauí and Ceará. It is the first report of CPSMV and CPMMV in lima bean in the world.

Keywords: CMV, CABMV, CPSMV, CPMMV, *Phaseolus lunatus*.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1 Feijão-fava.....	11
2.2 Doenças virais.....	13
2.3 <i>Cucumber mosaic virus</i>	15
2.4 <i>Cowpea aphid-borne mosaic virus</i>	18
2.5 <i>Cowpea severe mosaic virus</i>	20
2.6 <i>Cowpea mild mottle virus</i>	23
3. MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 Coleta de material vegetal.....	26
3.2 Extração de RNA.....	27
3.3 Teste diagnóstico	27
3.4 Análise filogenética.....	29
3.5 Caracterização sintomatológica	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1 Caracterização molecular.....	30
4.2 Caracterização sintomatológica	41
5. CONCLUSÕES.....	45
6. CONSIDERAÇÕES	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

1. INTRODUÇÃO

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) é uma planta anual da família das leguminosas, segunda espécie de maior importância do gênero *Phaseolus*. É adaptada ao clima semiárido, possui características agrônômicas rústicas para desenvolver-se em ambientes onde há pouca oferta de água e está distribuída desde o nível do mar até as regiões montanhosas das Américas, Ásia, África e Europa (VIEIRA, 1992; NWOKOLO, 1996; MAQUET; VEKEMANS; BAUDOIN, 1999). Apresenta grande importância na segurança alimentar e nutricional das pequenas comunidades rurais da região Nordeste do Brasil devido a boa adaptação às condições de clima e solo, mais ampla que os outros feijões, e seu elevado teor de proteína (26%), tornando-o uma alternativa proteica de fácil acesso (BARREIRO NETO et al., 2015).

A produtividade do feijão-fava (0,40 t/ha) no Brasil está abaixo daquela do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) e do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) (1,08 t/ha) e das produtividades alcançadas em países que detêm tecnologias avançadas de cultivo, como os Estados Unidos da América, que alcançaram em 2017 produtividade de 7,03 t/ha para o feijão-fava (IBGE, 2018; USDA-NAAS, 2018). Diversos motivos são listados para essa baixa produtividade do feijão-fava no Brasil, dentre eles, estão as doenças, muitas vezes de etiologia desconhecida, como as viroses, que são consideradas de maior importância devido a sua elevada incidência e potencial de dano (RAMOS SOBRINHO et al., 2014).

Para o controle eficiente de doenças de plantas são necessárias informações sobre os agentes causais, a interação patógeno-hospedeiro, formas de disseminação e sobrevivência e a influência dos fatores ambientais (LIMA; SITOLLIN; LIMA, 2005a). No entanto, as pesquisas com feijão-fava no Brasil são escassas e, conseqüentemente, pouco se sabe sobre as doenças virais. É evidente a necessidade de mais estudos afim de se conhecer os agentes etiológicos das doenças que ocorrem na cultura, sendo, portanto, a identificação dos agentes causais o primeiro passo no estabelecimento de estratégias de manejo e controle das viroses.

No Brasil, já foram relatadas pelo menos nove espécies de vírus que infectam outros feijões como o feijão-caupi e o feijão-comum, dentre os quais se destacam por sua predominância no campo: *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Cowpea aphid-*

1 *borne mosaic virus* (CABMV), *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) e *Cowpea mild*
2 *mottle virus* (CPMMV) (COSTA; GASPAR; VEJA, 1983; LIMA et al., 1986; LAMAS et
3 al., 2017). É plausível supor que os vírus que infectam o feijão-caupi e/ou feijão-
4 comum possam também infectar naturalmente o feijão-fava, devido a relação
5 filogenética entre estas espécies botânicas, além de serem, muitas vezes, cultivados
6 concomitantemente.

7 Tendo em vista a necessidade de conhecer as espécies de vírus que ocorrem
8 no feijão-fava no Nordeste brasileiro, este estudo teve como objetivo verificar se
9 CMV, CPMMV, potyvírus e comovírus ocorrem naturalmente em plantios de feijão-
10 fava nos estados do Piauí e Ceará, e caracterizar por análises moleculares e
11 sintomatológicas as espécies identificadas.

12

13 **2. REVISÃO DE LITERATURA**

14

15 **2.1 Feijão-fava**

16

17 O feijão-fava, também conhecido como feijão-lima ou apenas fava, é uma
18 planta herbácea, segunda maior dentre as angiospermas, com aproximadamente
19 751 gêneros e 19.500 espécies distribuídas em todo o mundo (CHRISTENHUSZ;
20 BYNG, 2016). Concentrando-se nas regiões tropicais e subtropicais, os feijões de
21 maneira geral são as leguminosas mais importantes para o consumo humano, e
22 dentre eles, o feijão-fava que pode ser consumido na forma grãos secos ou verdes,
23 grãos processados, folhas e vagens (NWOKOLO, 1996; BROUGHTON et al., 2003;
24 BAUDOIN et al., 2004).

25 A América Central é o centro de origem e distribuição de *P. lunatus*. De
26 acordo com Mackie (1943), na Guatemala foi possível recuperar inúmeras vezes o
27 feijão-fava selvagem original. O México é considerado um importante centro de
28 domesticação do feijão-fava, e acredita-se que tenha ocorrido pelo menos duas
29 vezes nas Américas, uma na região Andina e outra na Mesoamérica (MARTÍNEZ-
30 CASTILLO; ANDUEZA-NOH; CHACÓN-SÁNCHEZ, 2015; BITOCCHI et al., 2017).

31 O feijão-fava é estruturado em três “pools” gênicos com uma distribuição
32 geográfica predominantemente não sobreposta (SERRANO-SERRANO et al., 2010).
33 O “pool” gênico Mesoamericano I (MI) ocorre no centro-oeste do México, além de
34 norte e oeste do Istmo de Tehuantepec; o “pool” gênico Mesoamericano II (MII) é

1 encontrado ao sul e leste do Ístimo de Tehuantepec, ao longo das planícies
2 costeiras do Golfo do México, na América Central, norte da América do Sul, sul do
3 Peru, Bolívia e norte da Argentina. Ambos os “pools” mesoamericanos são
4 representados pelo grupo “baby lima” caracterizado por possuir sementes pequenas,
5 planas, globulares e em forma de rim (em média 100 sementes pesam 45 g).
6 Enquanto, o “pool” gênico andino (AI) que está distribuído em uma faixa geográfica
7 estreita dos Andes do Equador ao norte do Peru é constituído pelo grupo “big lima”
8 que possui sementes maiores e planas (em média 100 sementes pesam 87 g)
9 (CHACÓN-SÁNCHEZ; MARTÍNEZ-CASTILLO, 2017).

10 Os Estados Unidos (EUA) são o maior produtor de feijão-fava do mundo,
11 onde é produzido em monocultivo, com irrigação, adubação e controle de pragas e
12 doenças, o que resulta em elevado rendimento, cerca de 7,03 t/ha. Em 2017, a
13 produção de feijão-fava nos EUA foi de 72.700 t, com o estado de Delaware se
14 destacando como maior produtor (USDA-NAAS, 2018). Esse país também se
15 sobressai por desenvolver pesquisas que buscam continuamente o aumento do
16 potencial de rendimento, resistência a pragas e doenças e melhor qualidade da
17 semente de cultivares (LONG et al., 2014). Os norte-americanos consomem o feijão-
18 fava, preferencialmente, ainda em estado verde, na forma de conserva, enlatado ou
19 congelado, pré-cozido, em saladas, além da semente madura cozida, especialmente
20 o tipo “big lima” (VIEIRA, 1992; USDA-NAAS, 2018).

21 No Brasil, a produção concentra-se basicamente na região Nordeste que é
22 responsável por mais de 91% da produção nacional de feijão-fava, atingindo em
23 2017 área plantada de 24.709 ha e produção de 10.092 t, com produtividade de
24 aproximadamente 0,40 t/ha (IBGE, 2018). O estado do Ceará é o maior produtor
25 com 9.037 ha de área plantada e produção de 3.596 t, seguido pelo estado da
26 Paraíba com 8.615 ha e 3.352 t. O Piauí é o terceiro estado no ranking de produção
27 com 2.211 ha de área plantada e produção de 801 t (IBGE, 2018).

28 O cultivo na região Nordeste é caracterizado como rústico; o plantio ocorre
29 geralmente no início da estação chuvosa e sua colheita é realizada no período seco
30 (AZEVEDO; FRANCO; ARAÚJO, 2003). Os pequenos produtores são os
31 responsáveis por essa produção, os quais utilizam principalmente variedades
32 crioulas de crescimento indeterminado e de ciclo longo, sem uso de tecnologias, o
33 que está diretamente associado a baixa produtividade obtida pelo agricultor
34 brasileiro (OLIVEIRA et al., 2004). O sistema de plantio é em consórcio com culturas

1 como milho, mandioca e mamona, visando conferir suporte para o feijão-fava de
2 hábito trepador, além de propiciar melhor aproveitamento do solo, redução dos
3 riscos e perdas, aumento do retorno econômico e promoção da diversificação
4 alimentar das comunidades (AZEVEDO; FRANCO; ARAÚJO, 2003; BARREIRO
5 NETO et al., 2015).

6 O feijão-fava está presente com frequência na mesa dos nordestinos que
7 consomem esta leguminosa preferencialmente sob a forma de grãos maduros ou
8 verdes cozidos (SANTOS et al., 2002). Portanto, possui grande importância na
9 segurança alimentar e nutricional das pequenas comunidades rurais devido a sua
10 capacidade de adaptação às condições de clima e solo (GUIMARÃES et al., 2007).
11 Seu teor de proteína é elevado (26%), comparado com outras espécies, e seus
12 isolados proteicos (de precipitação isoelétrica) contêm aproximadamente 72% de
13 proteína, tornando-se uma fonte alimentar promissora tanto para o consumo de
14 grãos secos e verdes como para aplicações na indústria de alimentos, como
15 ingrediente funcional, por exemplo, em produtos de panificação, temperos e
16 salsichas (NWOKOLO, 1996; CHEL-GUERRERO et al., 2002; BETANCUR-
17 ANCONA; GALLEGOS-TINTORÉ; CHEL-GUERRERO, 2004).

18 Apesar do potencial genético, acredita-se que as principais razões para o
19 cultivo limitado dessa cultura, seja a maior tradição de consumo do feijão-comum,
20 além do seu tempo de cocção mais longo (LYMMAN, 1983). Outras possíveis razões
21 são seu hábito de crescimento indeterminado e seu longo ciclo de cultivo, que pode
22 alcançar até seis meses (VIEIRA, 1992). Embora esteja adaptado às condições
23 edafoclimáticas do Nordeste brasileiro, o feijão-fava tem a produtividade reduzida
24 devido à ocorrência de doenças, o que resulta em sérios prejuízos aos produtores
25 (CARVALHO; BESERRA JR; BARGUIL, 2015). No Brasil, a escassez de registros
26 dos agentes etiológicos causadores de doenças no feijão-fava contribui para o
27 desconhecimento da real prevalência de doenças em uma região específica e o
28 impacto que elas têm na produção de grãos. Dentre essas doenças, as viroses
29 estão entre as mais importantes, pela elevada incidência e potencial de dano
30 (RAMOS SOBRINHO et al., 2014).

31

32 **2.2 Doenças virais**

33

1 Os vírus são incapazes de multiplicar-se fora da célula hospedeira, utilizando
2 ribossomos, aminoácidos, nucleotídeos e algumas enzimas das células para a
3 síntese de suas proteínas e ácido nucleico viral, o que provoca, algum dano ao
4 hospedeiro. A disseminação natural dos vírus ocorre de forma diversificada, sendo
5 realizada por vetores como os insetos, ácaros, nematoides e fungos, sementes e
6 pólen infectados e abrasão entre plantas. Essas características permitem que os
7 vírus estejam entre os principais patógenos de plantas (COSTA, 1995, 1998).

8 As viroses são fatores limitantes para a produção de muitas culturas
9 economicamente importantes como os feijões, sendo consideradas um dos
10 principais problemas fitossanitários por provocarem reduções na produção, devido à
11 dificuldade de controle e às formas eficientes de disseminação (LIMA; SITOLLIN;
12 LIMA, 2005a).

13 Os vírus de RNA relatados em feijão-fava no mundo foram *Bean common*
14 *mosaic virus* (BCMV) e *Bean common mosaic necrosis virus* (BCMNV), ambos do
15 gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae* (MELGAREJO et al., 2007). No Brasil, há
16 poucas informações a respeito de espécies de vírus capazes de infectar
17 naturalmente o feijão-fava. Até o momento, somente duas espécies de begomovírus
18 (família *Geminiviridae*, gênero *Begomovirus*) foram identificadas na cultura, ambos
19 causando o mosaico dourado: *Bean golden mosaic virus* (BGMV) e *Macroptilium*
20 *yellow spot virus* (MaYSV) (RAMOS SOBRINHO et al., 2014). O MaYSV é um vírus
21 encontrado apenas na região Nordeste do país.

22 De acordo com Costa (1983), sintomas de mosaico leve podem ser causados
23 pelo CMV. Além disso, há um relato de infecção natural pelo CABMV em feijão-fava
24 no estado de Pernambuco (ANDRADE et al., 2001) e de um comovírus, a partir de
25 semente infectada, na região de Jataí, Goiás (COSTA et al., 1991).

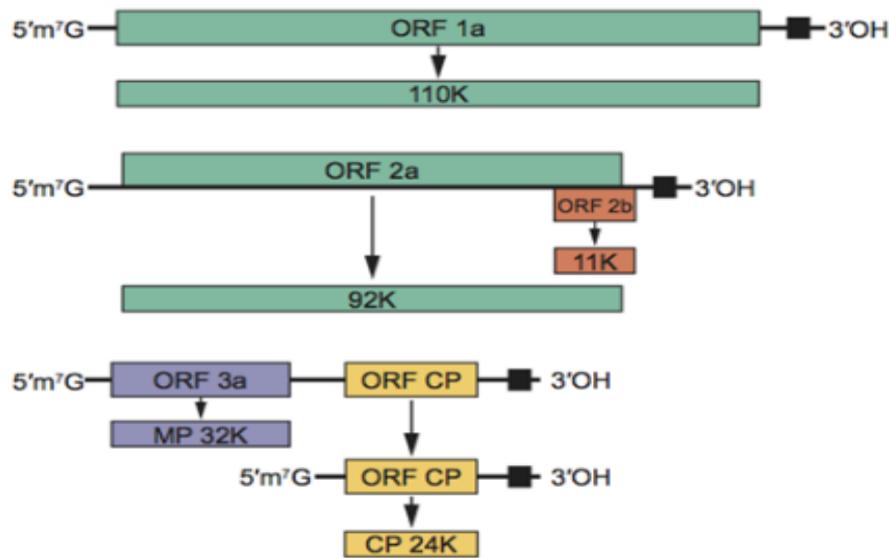
26 Contudo, esses registros foram feitos isoladamente, a partir de poucas
27 plantas, sem levantamento sistemático. Além disso, essas pesquisas apresentam
28 resultados preliminares, limitando-se a resumos publicados na forma de anais, não
29 havendo, levantamento da incidência e prevalência desses vírus na cultura do feijão-
30 fava. De acordo com Costa (1983), o feijão-fava também pode ser infectado
31 experimentalmente por outros dois vírus que infectam naturalmente o feijão-caupi: o
32 CPSMV e o *Southern cowpea mosaic virus* (SBMV), um vírus detectado
33 ocasionalmente em feijão-comum, e também relatado na soja (*Glycine max* L.)
34 (GASPARIN et al., 2005).

2.3 *Cucumber mosaic virus*

Cucumber mosaic virus (CMV) é a espécie tipo do gênero *Cucumovirus*, família *Bromoviridae*. O CMV tem provavelmente a maior gama de hospedeiros entre os vírus de plantas, com pelo menos 1.241 espécies suscetíveis em 101 famílias, incluindo tanto monocotiledôneas quanto dicotiledôneas (EDWARDSON; CHRISTIE, 1991; ICTV, 2018). Em todo o mundo, as estirpes de CMV são endêmicas ou periodicamente epidêmicas e regularmente causam perdas significativas de produtividade em tomate, batata, pimenta, pepino, espinafre, feijão-caupi e um grande número de outras plantas cultivadas, além de apresentar um alto grau de diversidade, revelada por elevado número de isolados, diferindo em propriedades biológicas e moleculares (FLASINSKI; SCOTT; BARNETT; SUN, 1995; JACQUEMOND, 2012).

O CMV é um vírus de RNA de fita simples sentido positivo. Seu genoma é dividido em três segmentos denominados RNA-1, RNA-2 e RNA-3 de aproximadamente 3.300, 3.000 e 2.200 nucleotídeos, respectivamente, encapsidados individualmente em partículas icosaédricas de 29 nm de diâmetro (Figura 1) (JACQUEMOND, 2012).

O RNA-1 é monocistrônico e codifica uma região de leitura aberta (“Open Reading Frame”- 1a) contendo os domínios de metiltransferase e helicase associados à replicação. O RNA-2 é bicistrônico com uma grande ORF (2a) contendo um domínio RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) e uma pequena ORF (2b) sobreposta que codifica um supressor de silenciamento gênico pós-transcricional. O RNA-3 também é bicistrônico com uma ORF (3a) associada à proteína de movimento (MP) separada pela região intergênica (IGR) da ORF (3b) que é responsável pela codificação da proteína capsidial (CP). Embora a primeira ORF de cada RNA bicistrônico seja expresso a partir do RNA genômico, as segundas ORFs são expressas a partir de RNAs subgenômico: RNA4A (2b) e RNA4 (CP) (PALUKAITIS; GARCÍA-ARENAL, 2003; JACQUEMOND, 2012; THOMPSON et al., 2015).



1

2 Figura 1. Representação esquemática do genoma do *Cucumber mosaic virus* (CMV).
 3 Ilustração representado os três segmentos do genoma, RNA1, RNA2 e RNA3
 4 (3.300, 3.000 e 2.200 nucleotídeos, respectivamente). O RNA1 é monocistrônico e
 5 os RNAs 2 e 3 são bicistrônicos com as segundas ORFs expressas a partir de RNAs
 6 subgenômicos.

7 Fonte: ICTV (2018).

8

9 As estirpes do CMV podem ser divididas em subgrupos CMV-I e CMV-II com
 10 base em sua similaridade de sequência e relações sorológicas, havendo geralmente
 11 cerca de 75% de identidade entre suas sequências nucleotídicas, enquanto as
 12 estirpes pertencentes ao mesmo subgrupo possuem de 90 a 99% de identidade de
 13 sequência (GALLITELLI, 2000; TAKESHITA et al., 2004). Em geral, as estirpes do
 14 subgrupo CMV-I induzem severos sintomas em plantas cultivadas, já os sintomas
 15 das estirpes do subgrupo CMV-II são consideravelmente mais leves que aquelas do
 16 subgrupo CMV-I e, muitas vezes, podem ser latentes e difíceis de detectar
 17 visualmente (TIAN et al., 2009).

18 No Brasil, há prevalência do subgrupo CMV-I, que divide-se em CMV-IA e
 19 CMV-IB. A análise biológica, sorológica e molecular de 23 isolados de CMV obtidos
 20 de diferentes espécies de plantas hospedeiras em sete estados brasileiros revelou a
 21 predominância do subgrupo CMV-IA. Também houve relato da primeira ocorrência
 22 de um isolado do subgrupo CMV-IB, em pimentão (*Capsicum annuum* L.), no Brasil
 23 (EIRAS et al., 2004).

24 O CMV é transmitido por grande número de espécies de afídeos de maneira
 25 não circulativa e não-persistente; *Myzus persicae* Sulzer (1776) e *Aphis gossypii*
 26 Glover (1877) são provavelmente os mais importantes em hortaliças

1 (JACQUEMOND, 2012). O vírus é carregado no estilete e todos os ínstaes de
2 afídeos podem atuar como vetores eficientes (PALUKAITIS et al., 1992; DIETZGEN;
3 MANN; JOHNSON, 2016). Nesse tipo de transmissão o afídeo transmite o vírus
4 durante as picadas de prova, que acontecem quando o inseto avalia a palatabilidade
5 das plantas. As picadas de prova, duram de segundos a minutos e geralmente
6 preservam a integridade das células vegetais (HOGENHOUT et al., 2008;
7 MARTINIÉRE et al., 2011). Os vírions nunca são internalizadas no corpo do vetor,
8 os quais se aderem à cutícula da quitina que reveste os canais alimentares e / ou
9 salivares que se localizam no estilete durante a ingestão de seiva ou conteúdo
10 celular infectado. Ao realizar a picada de prova em uma planta sadia o vírus é
11 transmitido (MARTINIÉRE et al., 2011). Assim, durante picadas de prova em plantas
12 saudáveis os afídeos promovem a disseminação do CMV, aumentando a
13 probabilidade do patógeno se estabelecer em novos hospedeiros potenciais. O tipo
14 de relacionamento vírus-vetor e a ampla gama de hospedeiras do CMV podem
15 desfavorecer as medidas de manejo do patógeno (GALLITELLI, 2000).

16 A transmissão por meio de sementes é um parâmetro importante para o
17 desenvolvimento de epidemias, uma vez que as sementes infectadas constituem
18 uma fonte primária de infecção. A transmissão de CMV por sementes é relevante
19 para espécies das famílias Fabaceae e Brassicaceae e, em menor grau, em
20 algumas cucurbitáceas (GALLITELLI, 2000). As taxas de transmissão são
21 geralmente muito baixas (abaixo de 2,5%), embora suficientes para iniciar com
22 sucesso epidemias. Taxas mais altas foram relatadas para lentilha (até 9,5%),
23 tomate (8%), espinafre (15%), feijão-comum (10%) e feijão-caupi (21%)
24 (JACQUEMOND, 2012).

25 No Brasil, a primeira ocorrência do CMV infectando feijão-caupi foi descrita
26 em Goiânia, Goiás, por Lin, Kitajima e Rios (1980; 1981). No estado do Piauí a
27 ocorrência desse vírus foi detectada pela primeira vez em 1982 na cultivar Seridó
28 em feijão-caupi e, posteriormente, no estado do Ceará nas cultivares Seridó e
29 Macaíbo (feijão-caupi) e em plantas de *Vicia faba* L., uma espécie de fava silvestre,
30 a qual exibia sintomas de mosaico (LIN; SANTOS; MUNOZ, 1982; LIMA; SANTOS,
31 1985).

32 No feijão-caupi, a partir do terceiro dia de inoculação do vírus, é possível
33 observar forte epinastia nas folhas primárias, seguida de mosaico suave. Os
34 rendimentos das colheitas são reduzidos e são frequentemente mais baixos em

1 qualidade, esses danos fazem dessa doença uma virose de importância econômica,
2 apesar de geralmente não causar significativa redução no crescimento da planta. O
3 CMV é capaz de interagir sinergicamente com outros vírus de importância
4 econômica como os do gênero *Potyvirus*, principalmente o CABMV, agravando os
5 sintomas quando comparados a infecções simples (COSTA, 1995; PIO-RIBEIRO;
6 ASSIS FILHO; ANDRADE, 2016).

7

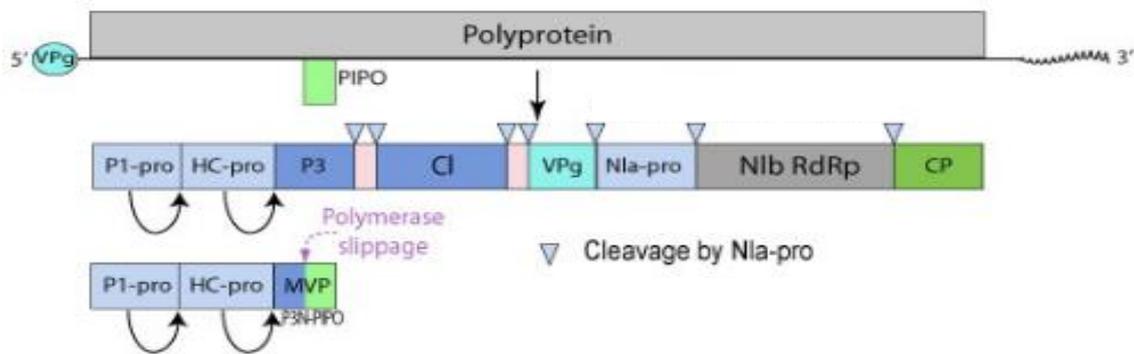
8 **2.4 Cowpea aphid-borne mosaic virus**

9

10 O *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) pertence à família *Potyviridae*
11 e ao gênero *Potyvirus*. *Potyviridae* é a maior família de vírus de plantas de RNA de
12 fita simples (ssRNA) de sentido positivo atualmente conhecidos (WYLIE et al., 2017).
13 Os vírus da família *Potyviridae* estão entre as ameaças mais perigosas para
14 basicamente todas as culturas importantes, infectando mais de 2.000 espécies de
15 plantas de clima tropical e temperado, anuais e perenes, mono e dicotiledôneas,
16 com mais de 200 representantes designados em dez gêneros, cujos membros
17 distinguem-se pela gama de hospedeiros, forma de transmissão, características
18 genômicas e filogenia (WYLIE et al., 2017; ICTV, 2018). Os *Potyvirus* são o maior
19 gênero da família *Potyviridae* e apresentam uma ampla distribuição geográfica,
20 consistem em 168 espécies capazes de infectar várias plantas hospedeiras e levar a
21 grandes perdas econômicas (IVANOV et al., 2014; ICTV, 2018).

22 O CABMV é composto de uma única partícula viral de RNA de fita simples,
23 sentido positivo com cerca de 10.000 nucleotídeos (ADAMS; ANTONIW; FAUQUET;
24 2005; WYLIE et al., 2017). A partícula mede de 680 a 900 nm de comprimento e 11
25 a 13 de diâmetro com simetria helicoidal, encapsidado por uma proteína de 32KDa.
26 O RNA genômico possui uma ORF, cuja tradução dá origem a uma poliproteína de
27 340 KDa que é posteriormente processada por proteases virais (P1, HC-Pro e NIa-
28 Pro) para produzir os seguintes fatores virais maduros: P1, HC-Pro, P3, 6K1, CI,
29 6K2, NIa (VPg mais Pro), NIb (replicase viral), e CP (proteína capsidial) (BASHIR;
30 AHMAD; GHAFOR, 2002; ADAMS; ANTONIW; FAUQUET; 2005; WYLIE et al.,
31 2017). Além disso, eventos de derrapagem da RNA polimerase geram variantes
32 proteicas cuja expressão diferem entre os potyvírus e incluem P3N-PIPO, P3N-ALT
33 e P1N-PISPO (Figura 2) (HAGIWARA-KOMODA et al., 2016; MINGOT et al., 2016;
34 WYLIE et al., 2017).

1



2

3 Figura 2. Representação esquemática do genoma do *Cowpea aphid-borne mosaic*
 4 *virus* (CABMV). Ilustração representando o genoma contendo uma ORF que produz
 5 uma poliproteína ligada covalentemente a VPg na extremidade 5' e uma
 6 poliadenilação na extremidade 3', além dos genes com seus respectivos sítios de
 7 clivagem.

8 Fonte: ViralZone (2018).

9

10 Os critérios de demarcação de espécies de *Potyviridae* são: identidade da
 11 sequência de nucleotídeos da ORF completa igual ou maior que 76% e identidade
 12 da sequência de aminoácidos igual ou maior que 82%. Os limiares para demarcação
 13 de espécies utilizando valores de identidade de nucleotídeos para as regiões de
 14 codificação individuais variam de 58% para a região P1 a 74-78% para outras
 15 regiões. Para a proteína do capsídeo, o critério de demarcação é 76% de identidade
 16 de sequência de nucleotídeos e 80% de identidade de sequência de aminoácidos
 17 (ADAMS; ANTONIW; FAUQUET; 2005).

18 A transmissão do CABMV pode ocorrer por inoculação mecânica, por afídeos
 19 e por meio de sementes de algumas hospedeiras. O vírus é transmitido de forma
 20 não circulativa e não persistente por várias espécies de afídeos tais como *Aphis*
 21 *craccivora* Koch (1854), *A. fabae* Scopoli (1763), *A. gossypii*, *Macrosiphum*
 22 *euphorbiae* Thomas (1878) e *Myzus persicae*. A principal espécie é *A. craccivora*
 23 (LIMA; SITOLLIN; LIMA, 2005a). Estudo de Lima et al. (1981) revelou que 85% das
 24 plantas sadias expostas, em casa de vegetação a *A. craccivora* apresentaram
 25 sintomas típicos de mosaico, demonstrando a eficiência deste vetor na transmissão
 26 viral.

27 A transmissão do vírus pela semente pode ser de significância ecológica
 28 considerável para a perpetuação, perenização e disseminação do vírus, como
 29 consequência econômica para a produção (JOHANSEN; EDWARDS; HAMPTON,

1 1994). Exemplo disso é a infecção de CABMV em feijão-caupi, pois o patógeno pode
2 ser transmitido por meio das sementes infectadas, disseminando vírus em regiões
3 em que é comum a prática tradicional dos agricultores de plantar sementes de
4 produção própria, sem nenhum critério de seleção (LIMA; SANTOS; SILVEIRA,
5 1986; PIO-RIBEIRO; ASSIS FILHO; ANDRADE, 2016).

6 Os mosaicos de feijão-caupi causados por CABMV são doenças encontradas
7 nos Estados Unidos (EUA), Austrália, países europeus, asiáticos, africanos e Oriente
8 Médio. No Brasil, há relatos da ocorrência em feijão-caupi desde 1979, no estado do
9 Ceará, estando atualmente distribuído nas principais regiões produtoras do país
10 (LIMA et al., 1981; PIO-RIBEIRO; ASSIS FILHO; ANDRADE, 2016). A severidade da
11 doença depende da interação entre variedades da planta hospedeira e estirpe viral,
12 bem como a época de início da infecção, além das condições ambientais. Há relatos
13 de perdas de rendimento que variam de 13 a 100% em diferentes países (BASHIR;
14 AHMAD; GHAFOR, 2002). Os sintomas são bastante variáveis, sendo os mais
15 comuns: mosaico foliar intenso, distorção das folhas e redução do crescimento das
16 plantas. Podem ser observados também, em nível citológico, corpos de inclusões
17 cilíndricas do tipo cata-vento no citoplasma de células infectadas, as quais são
18 características típicas de infecção por potyvírus, possuindo, assim, valor diagnóstico
19 (PIO-RIBEIRO; ASSIS FILHO; ANDRADE, 2016; WYLIE et al., 2017).

20 No Brasil, o feijão-caupi é a principal planta hospedeira do CABMV seguido
21 pelo maracujá (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*). Além disso, infecta várias
22 espécies da família Fabaceae consideradas hospedeiras intermediárias, incluindo
23 *Cassia hoffmannseggii* Mart. ex Benth. (SOUTO; KITAJIMA, 1991, 1992), *Canavalia*
24 *rósea* (Sw.) DC. (KITAJIMA et al., 2008), *Crotalaria juncea* L. (FREITAS et al., 2002)
25 e *Arachis hypogaea* L. (PIO-RIBEIRO et al., 2000). A maioria dos isolados também
26 infecta membros da família Amaranthaceae, Chenopodiaceae, Cucurbitaceae,
27 Lamiaceae e Solanaceae (BASHIR; AHMAD; GHAFOR, 2002).

28

29 **2.5 Cowpea severe mosaic virus**

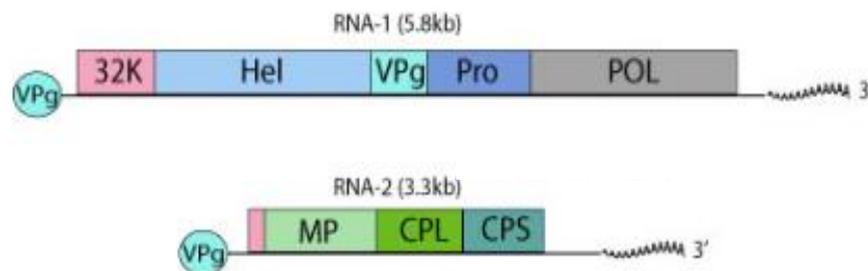
30

31 O mosaico severo do caupi (CPSMV) é causado pelo *Cowpea severe mosaic*
32 *virus*, família *Secoviridae*. Atualmente, existe apenas uma subfamília (*Comovirinae*)
33 que agrupa os gêneros *Comovirus*, *Fabavirus* e *Nepovirus*, os quais estão
34 intimamente relacionados filogeneticamente (THOMPSON et al., 2017; ICTV, 2018).

1 O gênero *Comovirus* destaca-se como o mais amplamente estudado, embora tenha
 2 um alcance restrito de hospedeiros, pois 11 das 15 espécies são restritas a apenas
 3 algumas espécies da família Fabaceae (BRADSHAW et al., 2011; THOMPSON, et
 4 al., 2017; ICTV, 2018). Foi detectada a presença do CPSMV em 23 espécies
 5 leguminosas causando perdas em culturas de importância econômica e social no
 6 Brasil como o feijão comum e o feijão-caupi (PAZ et al., 1999; ABREU, 2012). Há
 7 registros da presença desse vírus, além do Brasil, na Costa Rica, El Salvador,
 8 Estados Unidos (EUA), Peru, Porto Rico, Suriname, Trinidad e Tobago, Uganda e
 9 Venezuela (PIO-RIBEIRO; ASSIS FILHO; ANDRADE, 2016).

10 O CPSMV possui genoma dividido em duas moléculas simples de RNA
 11 sentido positivo, denominadas RNA-1 ou RNA-B (“bottom component”) com 5.800
 12 nucleotídeos e RNA-2 ou RNA-M (“middle component”) com 3.500 nucleotídeos
 13 (Figura 3). Os RNAs genômicos são encapsidados separadamente em duas
 14 partículas diferentes de tamanho similar.

15



16

17 Figura 3. Representação esquemática do genoma do *Cowpea severe mosaic virus*
 18 (CPSMV). Ilustração representando o RNA-1 (maior segmento do genoma) e o RNA-
 19 2 (menor segmento do genoma), ambos ligados a proteína VPg na extremidade 5' e
 20 poliadenilado na extremidade 3'.

21 Fonte: ViralZone (2018).

22

23 O RNA-1 é traduzido em única poliproteína que é processada em cinco
 24 domínios: Co-Pro (cofator de proteinase), NTB ou Hel (proteína de ligação), Pro
 25 (proteinase), RdRp (RNA polimerase dependente de RNA) e uma pequena proteína
 26 (VPg) ligada ao genoma, enquanto o RNA-2 é traduzido em duas poliproteínas
 27 amplamente sobrepostas que são processadas em três domínios: MP (proteína do
 28 movimento), CPL e CPS (subunidade maior e subunidade menor da proteína do
 29 capsídeo) (THOMPSON et al., 2017). Os RNAs são similares em sequência, mas
 30 não são idênticos, cada RNA é encapsulado separadamente em capsídeos

1 icosaédricos de 28 nm de diâmetro. O RNA-1 com função de produzir proteínas de
2 replicação viral, enquanto o RNA-2 é responsável por produzir proteínas do
3 capsídeo e proteínas para o movimento célula a célula e a longa distância. Os dois
4 RNAs devem estar presentes para que a infecção sistêmica ocorra (THOMPSON et
5 al., 2017).

6 Os critérios de demarcação do *International Committee on Taxonomy of*
7 *Viruses* (ICTV) para espécie levam em consideração mais de 75% de identidade na
8 sequência de aminoácidos para a proteína do capsídeo (CP) (considerando
9 sequências combinadas da CP), mais de 80% de identidade de aminoácidos na
10 região conservada de Pro-RdRp, mesmas reações antigênicas, gama de
11 hospedeiros semelhante e mesma especificidade vetorial. Nem todos os critérios
12 precisam ser atendidos simultaneamente, mas analisar apenas uma região do
13 genoma geralmente não é suficiente e tanto a região da Pro-RdRp como a região da
14 CP devem ser consideradas. Quando a porcentagem de identidade de sequência
15 em uma ou ambas as sequências estão próximas ao limite proposto os outros
16 critérios devem ser considerados (ICTV, 2018).

17 A transmissão do CPSMV ocorre de forma circulativa não propagativa, na
18 qual o vírus é capaz de atingir a hemolinfa do inseto persistindo no corpo do vetor
19 por vários dias sem se replicar. A transmissão ocorre, de fato, quando o inseto se
20 alimenta em plantas sadias ao introduzir saliva com partículas virais (FERERES;
21 RACCAH, 2015). Diversas espécies de coleópteros da família Chrysomelidae são
22 responsáveis pela transmissão, destacando-se *Cerotoma arcuata* Oliv. (1791) e
23 *Diabrotica speciosa* Germar (1824), insetos conhecidos como vaquinhas, sendo *C.*
24 *arcuata* o mais comum em plantações de feijão-caupi no Brasil (SANTOS; FREIRE
25 FILHO; CARDOSO, 1982).

26 Experimentalmente foi observada a transmissão do CPSMV por
27 *Chalcodermus bimaculatus* (conhecido como manhoso) Fiedler (1936), importante
28 praga das vagens do feijão-caupi. Esse vírus é de fácil transmissão mecânica (PIO-
29 RIBEIRO; ASSIS FILHO; ANDRADE, 2016). Vários estudos realizados na América
30 do Sul, particularmente no Brasil e América Central, indicam que o CPSMV não é
31 transmitido por sementes de feijão-caupi, embora estudos mais antigos em Senegal
32 relatem transmissão de 3 a 10% (NDIAYE; BASHIR; KELLER, 1993).

33 Os sintomas provocados pelo CPSMV em plantas de feijão-caupi
34 apresentam-se sob a forma de modificações na cor (alternância de verde normal e

1 verde claro) e no hábito das plantas, sendo geralmente visíveis em todos os órgãos
2 aéreos de 3 a 4 dias após a inoculação (LIMA; SITTOLIN; LIMA, 2005a). Quando a
3 infecção ocorre em plantas jovens, observa-se redução drástica de todas as suas
4 partes, em cultivares suscetíveis provoca nanismo, necrose na extremidade superior
5 do caule, morte de brotos terminais e queda prematura das folhas (LIN; KITAJIMA;
6 RIOS, 1981; SANTOS; FREIRE FILHO; CARDOSO, 1982; LIMA; SITTOLIN; LIMA,
7 2005a). Infecções tardias promovem poucas perdas de rendimento em feijão-caupi,
8 quando comparadas à infecções no início do cultivo. Infecções tardias produzem
9 sintomas severos, apenas nos tecidos novos, reduzindo significativamente o seu
10 desenvolvimento (BOOKER; UMAHARAN; MCDAVID, 2005). Nas folhas, além da
11 redução do tamanho e do mosaico intenso, verificam-se clareamento e necrose das
12 nervuras, bolhosidade e deformação do limbo (LIN; ANJOS; RIOS, 1982; LIMA;
13 SITTOLIN; LIMA, 2005a). Citologicamente o CPSMV induz a formação de inclusões
14 vacuoladas, distribuídas nas células da epiderme, visíveis ao microscópio óptico
15 (LIN et al., 1984).

16 No Brasil, além do feijão-caupi, diversas espécies vegetais são naturalmente
17 infectadas pelo CPSMV como *Glycine max*, *Phaseolus vulgaris*, *Macroptilium*
18 *lathyroides*, *Canavalia brasiliensis*, *C. ensiformis*, *Psophocarpus tetragonolobus* e
19 *Crotalaria juncea*. Essas plantas fornecem ao CPSMV os meios de sobrevivência de
20 uma estação para outra e constituem um reservatório natural do vírus (BRIOSO et
21 al., 1994; BERTACINI et al., 1998; LIMA et al., 2005b).

22 Em feijão-fava, Costa (1983) observou sintomas de lesões cloróticas, clorose
23 internerval sistêmica, mosaico e manchas necróticas, e necrose de nervuras em
24 todas as plantas de feijão-fava inoculadas mecanicamente com extrato vegetal de
25 plantas com CPSMV. O mesmo autor, em 1991, encontrou partículas virais
26 morfológicamente semelhantes à de CPSMV ao analisar folhas de feijão-fava com
27 sintomas de mosaico dourado e folhas de feijão-fava provenientes de sementes
28 originadas de plantas com os mesmos sintomas. O que nos leva a supor que o
29 CPSMV infecte naturalmente essa leguminosa.

30

31 **2.6 Cowpea mild mottle virus**

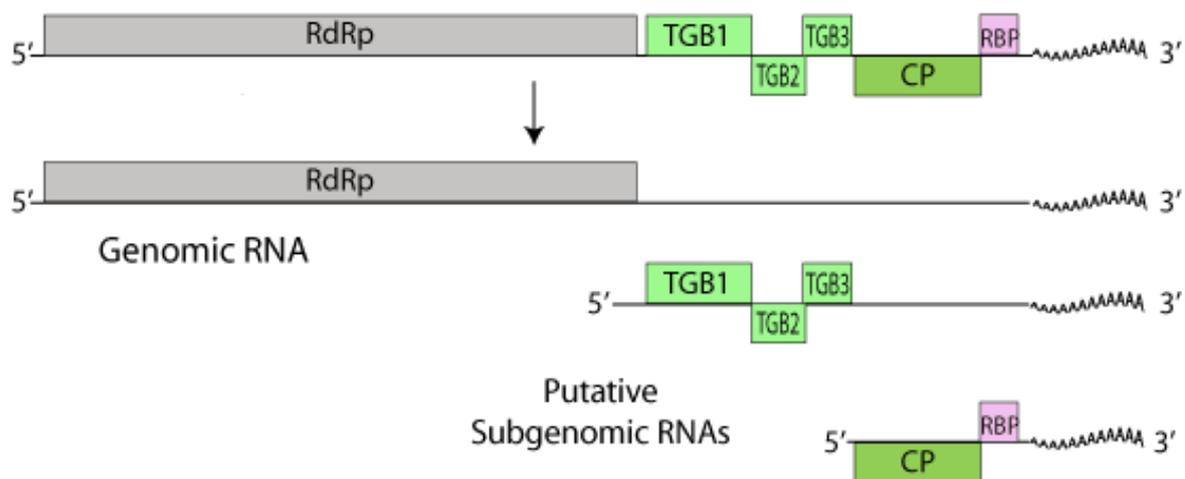
32

33 O *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV) é uma espécie do gênero *Carlavirus*,
34 família *Betaflexiviridae*. Restrito a regiões tropicais e subtropicais, esse vírus foi

1 relatado em diferentes regiões geográficas incluindo África, Ásia, Oriente Médio,
 2 América do Sul e América do Norte (IWAKI, 1982; COSTA; GASPAR; VEJA, 1983;
 3 TAVASOLI; SHAHRAEEN; GHORBANI, 2009; CHANG et al., 2013; ROSARIO et al.,
 4 2014).

5 O genoma é caracterizado por uma única molécula de RNA de fita simples
 6 sentido positivo de 8.127 a 8.198 nucleotídeos (excluindo a cauda poli (A) do
 7 terminal 3') (MENZEL; WINTER; VETTEN, 2010; ZANARDO et al., 2014). Os vírions
 8 são filamentosos levemente flexionados, medindo aproximadamente 650 nm de
 9 comprimento e 12 a 15 nm de diâmetro (MENZEL; WINTER; VETEN, 2010; ADAMS
 10 et al., 2012). Apresenta seis ORFs e uma pequena UTR nos terminais 5' e 3' (Figura
 11 4).

12



13

14 Figura 4. Representação esquemática do genoma do *Cowpea mild mottle virus*
 15 (CPMMV). Ilustração representando o genoma contendo seis ORFs. A ORF 1 é
 16 traduzida a partir de RNA genômico e as demais ORFs a partir de RNAs
 17 subgenômicos. A extremidade 5' é limitada e a extremidade 3' é poliadenilada.
 18 Fonte: ViralZone (2018).

19

20 O produto da tradução da ORF 1 é um RNA dependente de RNA polimerase
 21 (RdRp). As ORFs 2, 3 e 4 codificam proteínas do bloco triplo de genes (TGB1, TGB2
 22 e TGB3, respectivamente) responsáveis pelo movimento célula a célula e a longa
 23 distância. A ORF 5 codifica a proteína do capsídeo (CP) e a ORF 6 codifica uma
 24 proteína capaz de ligar ácidos nucleicos (MARTELLI, et al., 2007; MENZEL;
 25 WINTER; VETEN, 2010; ADAMS et al., 2012; ZANARDO et al., 2014). As ORFs,
 26 com exceção da ORF 1, são traduzidas a partir de RNAs subgenômicos que podem

1 ser encontrados em tecidos infectados. Acredita-se que a RdRp seja a única
2 proteína codificada pelo vírus envolvida na replicação (ICTV, 2018).

3 Para a demarcação de espécie considera-se identidade de nucleotídeos
4 superior a 72% e identidade de aminoácidos superior a 80% entre os genes que
5 codificam a CP ou os genes que codificam a RdRp (ICTV, 2018).

6 O CPMMV é transmitido de forma não circulativa e não-persistente pela
7 mosca branca *Bemisia tabaci* Gennadius (1889) biótipo B, podendo ser adquirido e
8 transmitido por períodos curtos, pelo menos até 5 minutos de alimentação após a
9 aquisição do vírus. A eficiência de transmissão aumenta proporcionalmente com o
10 maior tempo de aquisição e inoculação (MARUBAYASHI; YUKI; WUTKE, 2010).
11 Embora sejam principalmente insetos tropicais, as moscas brancas são encontradas
12 em todas as partes mais quentes do mundo e várias delas também são pragas em
13 casas de vegetação em regiões temperadas. Além de danos diretos às culturas
14 causados pela alimentação, as moscas brancas também excretam açúcares que
15 favorecem a proliferação de fungos (fumagina), e estes interferem na fotossíntese
16 reduzindo a produtividade das culturas hospedeiras (NAVAS-CASTILLO; FIALLO-
17 OLIVÉ; SÁNCHEZ-CAMPOS, 2011). O CPMMV tem se tornado endêmico em
18 muitas regiões, devido principalmente à alta população de mosca branca que
19 promove rápida disseminação e ao elevado número de plantas hospedeiras
20 (WENDLAND et al., 2016).

21 A transmissão de CPMMV por semente depende do isolado. No Brasil não foi
22 observado a transmissão por sementes em feijão-caupi, feijão-comum e soja.
23 Enquanto na Venezuela e em Uganda foi relatado taxa de transmissão de 40% em
24 sementes de feijão-asparago (*Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis*) e 20,3% em
25 feijão-caupi, respectivamente (COSTA; GASPAR; VEJA, 1983; ALMEIDA et al.,
26 2003; AMAYO et al., 2012; BRITO et al., 2012).

27 Diversos sintomas são provocados por CPMMV, que variam de acordo com o
28 genótipo do hospedeiro e o isolado viral. Em feijão-comum foi observado mosaico
29 angular ou manchas angulares, limitadas pelas nervuras secundárias ou terciárias,
30 deformação e curvatura foliar, manchas cloróticas e menor desenvolvimento das
31 plantas (COSTA; GASPAR; VEJA, 1983; BRITO et al., 2012; LAMAS et al., 2017).
32 Algumas espécies suscetíveis, após infectadas, podem apresentar sintomas leves,
33 como clareamento, ou permanecerem assintomáticas (MARTELLI, et al., 2007;
34 WENDLAND et al., 2016). O CPMMV também causa inclusões intracelulares

1 incomuns agrupadas na forma de feixes, características de infecção por carlavírus
2 (BADGE et al., 1996; ALMEIDA et al., 2003).

3 Esse vírus foi identificado no Brasil em 1979 em feijão-comum, cultivar Jalo,
4 nos estados do Paraná e São Paulo (COSTA; GASPAR; VEJA, 1983). Após 20 anos
5 foi relatado em soja nos estados da Bahia, Goiás, Mato Grosso, Maranhão e Paraná
6 (ALMEIDA et al., 2003). Também foi encontrado no estado de Pernambuco em
7 feijão-comum e plantas não cultivadas pertencentes a várias famílias botânicas,
8 incluindo Fabaceae, Nyctaginaceae, Cleomaceae e Asteraceae (LAMAS et al.,
9 2017). As principais espécies hospedeiras são da família Fabaceae, mas alguns
10 isolados do vírus podem infectar experimentalmente espécies de outras famílias,
11 como Chenopodiaceae e Solanaceae (WENDLAND et al., 2016).

12

13 **3. MATERIAL E MÉTODOS**

14

15 **3.1 Coleta de material vegetal**

16

17 Amostras foliares de feijão-fava com sintomas de mosaico, deformação foliar
18 e bolhosidade foram coletadas durante a estação de cultivo (maio a junho) dos anos
19 de 2017 e 2018. As coletas foram realizadas seguindo um padrão diagonal ao longo
20 da plantação, totalizando 55 amostras (cada amostra consistiu de folhas de uma
21 planta). As folhas foram armazenadas imediatamente em sacos plásticos.

22

23 A área de amostragem abrangeu os estados do Piauí e Ceará. No estado do
24 Piauí, nove amostras foram coletadas no município de Várzea Grande do Piauí,
25 sendo cinco na localidade Macaúba (S 06° 33' 48,1" e O 42° 18' 00,1") e quatro na
26 localidade Angico Branco (S 06° 33' 38,4" O 42° 10' 18,4"); nove amostras foram
27 coletadas no município de Tanque do Piauí, sendo uma na localidade Coité (S 06°
28 35' 24,3" O 42° 18' 46,9") e oito na localidade Boqueirão (S 06° 38' 07,7" O 42° 10'
29 03,3"); 12 amostras foram coletadas no município de Barra da Alcântara, na
30 localidade Ferreiro (S 06° 36' 33,5" O 42° 09' 14,7") e 13 amostras foram coletadas
31 na área experimental do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do
32 Piauí, Teresina, local onde são mantidas e analisadas agronomicamente acessos de
33 feijão-fava pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma da UFPI. No estado do
34 Ceará foram coletadas 12 amostras no município de Tianguá, na localidade Pé do
Morro (S 03° 41' 14,69" O 41° 1' 4, 19").

3.2 Extração de RNA

O RNA total do tecido foliar de plantas com sintomas de mosaico foi extraído com o reagente Trizol® (Life Technologies) seguindo as recomendações do fabricante. Os 'pellets' foram lavados com etanol 75%, secos ao ar por 20 min e ressuspensos em 50 µL de água destilada ultrapura livre de nucleases. Para verificar a integridade dos RNAs, as amostras foram analisadas por eletroforese em gel de agarose a 1 % em tampão TBE (Tris-Borato-EDTA) 0,5x, corados com brometo de etídio e visualizadas sob luz UV no transiluminador UVB (Loccus do Brasil, São Paulo, Brasil). O RNA foi armazenado a -20 °C.

3.3 Teste diagnóstico

As amostras foram submetidas à reação de RT-PCR com oligonucleotídeos específicos para CMV e CPMMV e oligonucleotídeos degenerados para potyvírus e comovírus (Tabela 1). Para o CMV foram utilizados os oligonucleotídeos específicos para a ORF 3b do RNA 3, incluindo a região de codificação da proteína do capsídeo (KIM et al., 2014). Para o CPMMV foram usados oligonucleotídeos específicos para a região de codificação da proteína RdRp (LAMAS et al., 2017). Para os potyvírus foram usados os oligonucleotídeos ClFord e ClRev desenhados a partir da região codificadora da protease de inclusão cilíndrica (CI) dos potyvírus (HA et al., 2008); enquanto para os comovírus foram utilizados os oligonucleotídeos ComovirusF e ComovirusR que correspondem às sequências de aminoácidos conservados AWSTQV e RGNP/GFEN, presentes nas subunidades do capsídeo de espécies deste gênero (BRIOSO et al., 1996).

Para a síntese do DNA complementar (cDNA) foi utilizado a enzima Go Script® Transcriptase reversa (Promega, Madison, WI, USA) de acordo com as recomendações do fabricante. Para a reação em cadeia da polimerase (PCR) foi utilizada a enzima Go Taq® Hot Start Polimerase (Promega, Madison, WI, USA) seguindo as recomendações do fabricante.

O programa de amplificação para o CMV consistiu de aquecimento inicial a 92 °C por 3 min, seguido de 35 ciclos de desnaturação a 95 °C por 1 min, seguido de anelamento a 60 °C por 1 min e extensão a 72 °C durante 1,5 min, além de extensão final a 72 °C durante 7 min (KIM et al., 2014).

1 Para o CPMMV, o programa de amplificação foi executado com aquecimento
2 inicial a 94 °C por 3 min, seguido por 35 ciclos de desnaturação a 94 °C durante 30
3 seg, emparelhamento a 60 °C por 30 seg, extensão a 72 °C durante 45 seg e
4 extensão final a 72 °C por 10 min (LAMAS et al., 2017).

5 Para os potyvírus foi utilizado o programa de amplificação com aquecimento
6 inicial a 94 °C por 3 min, seguido de 40 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 seg,
7 anelamento a 40 °C por 30 seg, extensão a 72 °C por 1 min, e extensão final a 72 °C
8 por 5 min (HA et al., 2008).

9 A amplificação para os comovírus foi realizada com um programa de
10 aquecimento inicial a 94 °C durante 3 min, seguido por 40 ciclos de desnaturação a
11 94 °C por 1 min, emparelhamento 55 °C por 1 min, extensão a 72 °C por 4 min e
12 uma extensão final a 72 °C durante 10 min (BRIOSO et al., 1996).

13 As reações ocorreram em termociclador Ampli Therm termal cyclers
14 (Axygen®). Os produtos de PCR foram analisados como descrito no item 3.2. Os
15 fragmentos amplificados foram purificados e sequenciados em ambas as direções
16 (*forward* e *reverse*) pela empresa Macrogen (Macrogen, Inc., Seul, Coréia do Sul).

17
18 **Tabela 1** Oligonucleotídeos usados para a amplificação do *Cucumber mosaic virus*
19 (CMV), potyvírus, comovírus e *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV) em amostras de
20 feijão-fava coletadas nos estados do Piauí e Ceará, 2017 e 2018

Oligonucleotídeo	Orientação	Sequência (5' - 3')
CMVF	Forward	TGGTCGTCCAACCTATTAACCAC
CMVR	Reverse	TACTGATAAACCCAGTACCGGTGA
CIFor	Forward	GGIVVIGTIGGIWSIGGIAARTCIAC
CIRev	Reverse	ACICCRTTYTCDATDATRTTIGTIGC
COMOVÍRUSF	Forward	GCA TGG TCC ACW CAG GT
COMOVÍRUSR	Reverse	YTCRAAWCC VYT RTT KGG MCC ACA
CPMMV-4000F	Forward	AACTTGGCCTTAGTGAACCTCTACA
CPMMV-4500R	Reverse	ATTAGCTCTGTGCCTGGGGT

21

22

1 **3.4 Análise filogenética**

2

3 Os eletroferogramas gerados foram analisados por meio do programa
4 Chromas v. 2.6.5. As sequências editadas foram comparadas com sequências
5 depositadas no GenBank por meio da ferramenta BLAST n
6 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Alinhamentos múltiplos das sequências foram
7 gerados utilizando-se o algoritmo MUSCLE implementado pelo programa MEGA
8 v.8.0 (KUMAR et al., 2018). Os alinhamentos foram corrigidos manualmente e
9 analisados com o programa MEGA v.8.0 utilizando o método de máxima
10 verossimilhança. As sequências nucleotídicas foram traduzidas em sequências de
11 aminoácidos pelo Expert Protein Analysis System – ExPASy
12 (<https://www.expasy.org/>). Comparações entre as sequências obtidas e demais
13 sequências de isolados referência foram feitas com DNAMAN versão 4.0 (Lynnon
14 Biosoft), usando a opção alinhamento duplo com os seguintes parâmetros: K-tuple =
15 2, Gap penalty = 7, Gap open = 10, Gap extension = 5.

16

17 **3.5 Caracterização sintomatológica**

18

19 As amostras foliares de feijão-fava preservadas a -80 °C e positivamente
20 confirmadas por RT-PCR e sequenciamento para infecção por apenas uma espécie
21 de vírus, foram inoculadas mecanicamente via extrato vegetal tamponado (tampão
22 fosfato de potássio 0,01 M pH 7,5) e silício de carboneto.

23 Doze plantas de feijão-fava (seis da var. branquinha e seis da var. Boca-de-
24 moça), seis plantas de feijão-caupi e seis plantas de feijão-comum, foram utilizadas
25 para cada isolado visando observar o quadro sintomatológico induzido por cada
26 espécie de vírus. O feijão-caupi linhagem TE97-309G-3 (suscetível ao CMV),
27 variedade Pampo (suscetível ao CABMV) e variedade Imponente (suscetível ao
28 CPSMV), e o feijão-comum variedade carioca (suscetível ao CPMMV) foram
29 utilizados como controle.

30 A inoculação ocorreu 20 dias após a emergência. As plantas foram cultivadas
31 em vasos de 2,8 L, em substrato de solo, casca de arroz carbonizada e terra vegetal
32 (proporção de 1:1:1), e mantidas em gaiolas com tela antiafídeo durante todo o
33 período do experimento. Após a inoculação foi observado o período de incubação

1 dos vírus e registrado o surgimento e desenvolvimento dos sintomas. Duas plantas
2 de cada variedade foram utilizadas como testemunhas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização molecular

8 O primeiro relato de detecção de CMV, CABMV, CPSMV e CPMMV, em
9 feijão-fava, utilizando técnicas moleculares de identificação nos traz a certeza da
10 ocorrência destes vírus nos estados do Piauí e Ceará. Deste modo, 55 amostras de
11 feijão-fava, coletadas em cinco municípios, analisadas por RT-PCR e sequenciadas
12 (com exceção de CPMMV) apresentaram incidências de 21,81% para o CMV,
13 47,27% para o CABMV, 1,81% para o CPSMV e 52,72% para o CPMMV. As
14 infecções duplas foram observadas entre CMV e CABMV (3,63%), CMV e CPMMV
15 (16,36%), CABMV e CPMMV (12,72%) e infecções múltiplas entre CMV e CABMV e
16 CPMMV (1,81%) (Tabela 2). Percentuais semelhantes de infecção simples por CMV,
17 CABMV e CPSMV, em feijão-caupi, foram relatadas por Santos et al. (1999), no
18 estado do Ceará, porém, este mesmo estudo relata percentuais elevados de
19 infecção mista com CMV e CABMV variando de 15 a 93%.

20 Maiores incidências de CPSMV foram relatadas em feijão-caupi no estado da
21 Paraíba e também em Uganda, ambos com taxas superiores a 40% (FREITAS et al.,
22 2012; ORAWU; OBUO; OMADI, 2015). A baixa incidência 1,81% de CPSMV em
23 feijão-fava observada neste trabalho deve-se, provavelmente, ao fato do feijão-fava
24 não ser hospedeiro preferencial do inseto vetor. Reforço a essa hipótese é a não
25 observação de vaquinhas em campos de cultivo de feijão-fava durante as coletas
26 realizadas.

27 Para o CPMMV também foram observadas incidências mais elevadas
28 variando de 80 a 100% em feijão-comum no estado de Pernambuco, e 35,7 a 89,3%
29 em feijão-caupi em Uganda (ORAWU; OBUO; OMADI, 2015; LAMAS et al., 2017).
30 No entanto, na Venezuela, o CPMMV apresentou incidência de 40% em feijão-
31 aspargo (BRITO et al., 2012). As diferenças nos percentuais de ocorrência de um
32 vírus podem ser explicadas pela associação ao nível de inóculo, a idade da planta,
33 as condições climáticas e a espécie do hospedeiro (WISLER et al., 1998). A
34 dinâmica populacional dos vetores influencia diretamente os percentuais de

1 incidência de doenças virais, por ser uma das principais vias de transmissão. As
 2 condições climáticas interferem no nível populacional dos vetores, onde observa-se
 3 maior infestação em plantios no verão (agosto a novembro), principalmente
 4 favorecida pela baixa precipitação e temperaturas elevadas. E infestações reduzidas
 5 no inverno (dezembro a julho) devido as condições climáticas desfavoráveis ao
 6 desenvolvimento da praga (SILVA et al., 2017).

7
 8
 9
 10
 11

Tabela 2 Local da coleta e prevalência de *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV), *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) e *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV) em feijão-fava nos estados do Piauí e Ceará nos anos de 2017 e 2018

Amostra	Município/Localidade	CMV	CABMV	CPSMV	CPMMV
1		+	+	-	+
2		+	-	-	+
3	Várzea Grande -	-	-	-	+
4	PI/Macaúba	-	-	-	+
5		-	-	-	+
6	Tanque - PI/Coité	-	+	-	+
7		-	-	-	+
8		-	+	-	+
9		-	-	-	+
10		-	-	-	+
11	Tanque - PI/Boqueirão	-	+	-	-
12		-	-	-	+
13		-	-	-	+
14		-	+	-	+
15		-	-	-	+
16		-	-	-	+
17		-	+	-	-
18		-	+	-	-
19		-	-	-	+
20	Barra da Alcântara -	-	+	-	+
21	PI/Ferreiro	-	+	-	+
22		-	-	-	-
23		-	+	-	-
24		+	+	-	-
25		-	+	-	-
26		-	+	-	-
27		-	+	-	-
28	V. Grande - PI/Angico	-	+	-	-
29	Branco	-	+	-	-
30		-	-	-	-
31		+	-	-	+
32		+	-	-	-
33	Teresina - PI/CCA	+	-	-	+
34		+	-	-	+
35		+	-	-	-

Tabela 2, continua

36	-	-	-	+
37	+	-	-	+
38	+	-	-	+
39	+	-	-	+
40	-	-	-	+
41	+	-	-	+
42	-	+	-	-
43	-	+	-	-
44	-	+	-	-
45	-	+	-	-
46	-	+	-	+
47	-	+	-	-
48	-	-	-	-
49	-	+	-	-
50	-	+	-	-
51	-	-	-	+
52	-	+	-	-
53	-	+	-	-
54	-	-	-	-
55	-	-	+	-
Amostras positivas/ total de amostras	12/55	26/55	1/55	29/55

(-) amostras negativas; (+) amostras positivas

Infecções por um único vírus e infecções múltiplas com CMV, CABMV e CPMMV também foram detectadas em amostras de folhas e sementes de feijão-caupi, em Uganda, e semelhante ao encontrado neste trabalho as infecções virais únicas foram mais comuns, seguidas de infecções duplas e triplas (AMAYO et al., 2012).

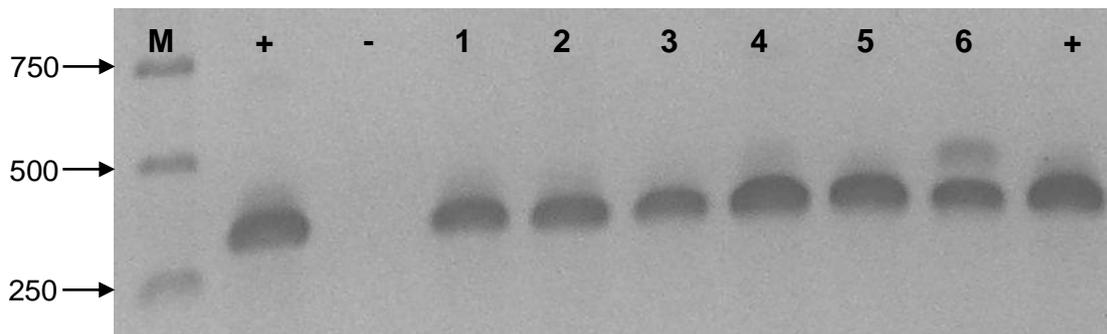
As interações entre vírus-hospedeiro ainda não são completamente conhecidas, sabe-se que existem relações sinérgicas e antagônicas entre os vírus que infectam o mesmo hospedeiro (AKHTAR; ROOSSINCK, 2017). E que em infecções múltiplas com vírus que infectam o mesmo nicho biológico existe competição por recursos celulares necessários a replicação viral, podendo acarretar em inibição da replicação de um dos vírus envolvidos ou de ambos, concomitantemente (SYLLER, 2012). Contudo, é notório que o estabelecimento de coinfeções requer maiores interações vírus-vírus e, entre estes, e o hospedeiro quando comparadas às infecções simples.

Normalmente plantas com infecções mistas apresentam sintomas mais severos quando comparados às infecções simples, culminando em reduções

1 significativas no crescimento e produtividade (LIMA; SITOLLIN; LIMA, 2005a). Esse
 2 fenômeno é explicado pela ação da proteína supressora de silenciamento gênico
 3 pós-transcricional de um vírus, que reforça a replicação de um segundo vírus
 4 (PRUSS et al., 1997).

5 Os fragmentos de DNA amplificados dos 12 isolados de CMV correspondem a
 6 ORF 3b do RNA 3 que codifica a proteína do capsídeo e resultaram em um amplicon
 7 de 320 pb (Figura 4).

8



9

10 Figura 4. Padrão eletroforético em gel de agarose (1,0%) de fragmentos de DNA de
 11 seis isolados de *Cucurbitur mosaic virus* (CMV), amplificados por RT-PCR a partir de
 12 RNA total extraído de plantas de feijão-fava. M, marcador de comprimento (1 kb
 13 DNA ladder, em pb); +, controle positivo (feijão-vagem infectado com CMV); -,
 14 controle negativo (feijão-fava sadio); 1-6, amostras de feijão-fava com sintomas de
 15 mosaico coletados nos estados do Piauí e Ceará.

16

17 A comparação das sequências de nucleotídeos (nt) de 11 isolados de CMV
 18 com sequências depositadas no GenBank pelo algoritmo BLASTn revelou
 19 identidades entre 80 e 99%, enquanto a comparação das sequências dos isolados
 20 entre si revelou identidades que variaram de 96 a 100% (Tabela 3). Comparações
 21 com os isolados referência pertencentes aos Subgrupos I e II revelaram identidades
 22 de 94 a 99% para nucleotídeos e 96 a 100% para aminoácidos (aa) com isolados do
 23 Subgrupo I (Tabela 3). Quando comparados com isolados do Subgrupo II
 24 apresentaram identidades de 80 a 81% de nt e 84 a 85% de aa (Tabela 3). A
 25 identidade de aminoácidos (aa) entre os 11 isolados foi de 100%, evidenciando
 26 inexistência de variabilidade genética do fragmento do gene CP. O gene CP destes
 27 isolados apresentou forte conservação das sequências nucleotídicas e as pequenas
 28 variações observadas não resultaram em alteração de aminoácidos. A baixa
 29 variabilidade genética de isolados de CMV e as estreitas relações evolutivas entre
 30 isolados de uma população parece ser comum para este patógeno (LIN et al., 2004;

1 NOURI et al., 2014). Sugerindo que o efeito fundador pode ter um papel no molde da
2 estrutura genética do patógeno.

3 A análise filogenética revelou o agrupamento dos 11 isolados de CMV com
4 isolados referência do Subgrupo IA (Figura 5). A separação entre os Subgrupos I e II
5 ficou evidente, uma vez que foram formados dois grupos monofiléticos com valores
6 de “bootstrap” de 93 e 91%, respectivamente.

7

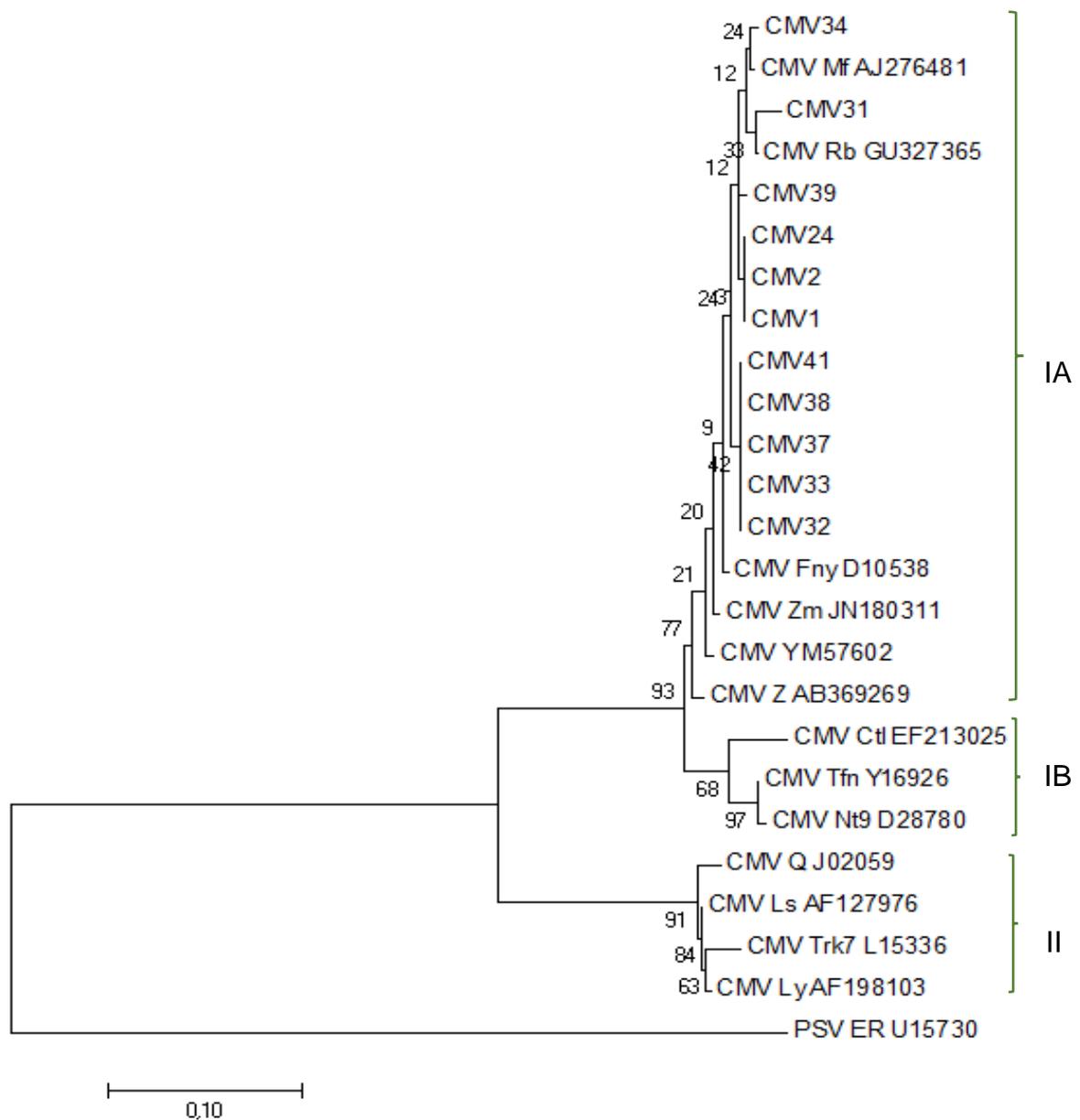
8 **Tabela 3** Percentual de identidade entre sequências de nucleotídeos (diagonal
9 acima) e aminoácidos (diagonal abaixo) da ORF 3b do RNA 3 de isolados de
10 *Cucumber mosaic virus* (CMV) coletados no Piauí e Ceará, 2017 e 2018

	1	2	24	31	32	33	34	37	38	39	41	CMV Fny	CMV Rb	CMV Nt9	CMV Q
1	--	100	100	96	99	99	99	99	99	99	97	97	96	95	81
2	100	--	100	96	99	99	99	99	99	99	97	97	96	95	81
24	100	100	--	97	99	99	99	99	99	99	99	95	99	95	81
31	100	100	100	--	97	97	97	97	97	97	97	96	97	94	81
32	100	100	100	100	--	100	98	100	100	98	100	99	98	95	80
33	100	100	100	100	100	--	98	100	100	98	100	99	98	95	80
34	100	100	100	100	100	100	--	98	98	98	98	98	98	96	80
37	100	100	100	100	100	100	100	--	100	98	100	99	98	95	80
38	100	100	100	100	100	100	100	100	--	98	100	99	98	95	80
39	100	100	100	100	100	100	100	100	100	--	98	98	98	94	81
41	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	--	99	98	94	81
CMV Fny	98	98	98	97	100	100	98	100	100	98	100	--	97	93	71
CMV Rb	98	98	100	98	98	98	98	98	98	98	98	99	--	91	69
CMV Nt9	96	96	96	96	96	96	96	96	96	96	96	98	98	--	71
CMV Q	85	85	85	84	85	84	84	84	84	84	84	78	77	77	--

11

12 Os isolados de CMV 32, 33, 37, 38 e 41 oriundos do município de Teresina
13 agruparam no mesmo ramo, evidenciando correlação entre origem geográfica e
14 sequências nucleotídicas. O mesmo princípio foi observado no grupo contendo os
15 isolados 1, 2 e 24, coletados em municípios vizinhos no sul do estado do Piauí. É
16 comum entre populações de CMV a correlação entre região geográfica e divisão
17 filogenética (Figura 5). A tendência de isolados que possuem a mesma origem
18 geográfica compartilharem o mesmo ancestral comum e, portanto, agruparem nos
19 mesmos ramos evolutivos foi observado com isolados de CMV das regiões Nordeste
20 e Sudeste do Brasil (EIRAS et al., 2004; DUARTE et al., 2013).

1 No entanto, os isolados de CMV 31, 34 e 39, também originários de Teresina,
 2 não agruparam com os demais isolados de mesma origem geográfica (Figura 5).
 3 Esses isolados, portanto, podem ter sido introduzidos de outras regiões a partir,
 4 provavelmente, de sementes contaminadas, uma vez que esse vírus é capaz de ser
 5 transmitido por sementes de outras hospedeiras como o feijão-caupi (ABDULLAHI et
 6 al., 2001).
 7

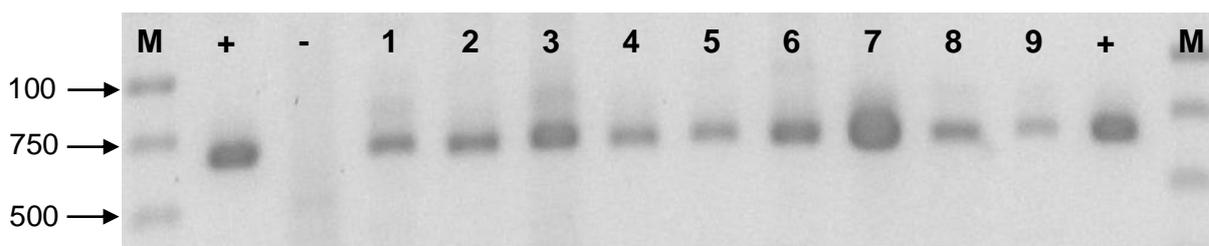


8

9 Figura 5. Árvore filogenética baseada na sequência nucleotídica da ORF 3b de
 10 isolados de *Cucurbit mosaic virus* (CMV). A árvore foi construída usando o método
 11 da máxima verossimilhança. O comprimento dos ramos é indicado por escala na
 12 base da árvore, e os valores de *bootstrap* (1000 repetições) são indicados acima dos
 13 internódios. *Peanut stunt virus* (PSV) foi usado como *outgroup*.

1
2
3
4
5
6

Os produtos das ampliações das 26 amostras com oligonucleotídeos degenerados para o gênero *Potyvirus* apresentaram tamanho esperado de 700 pb (Figura 6), comprovando que estas amostras estavam infectadas com espécie deste gênero.



7
8
9
10
11
12
13
14

Figura 6. Padrão eletroforético em gel de agarose (1,0%) de fragmentos de DNA de nove isolados de potyvírus, amplificados por RT-PCR a partir de RNA total extraído de plantas de feijão-fava. M, marcador de comprimento (1 kb DNA ladder, em pb); +, controle positivo (maracujá infectado com *Cowpea aphid-borne mosaic virus*); -, controle negativo (feijão-fava sadio); 1-9, amostras de feijão-fava coletadas nos estados do Piauí e Ceará.

15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32

Das 19 amostras sequenciadas, três exibiram baixa qualidade de sequências, 16 amostras foram utilizadas para as comparações de nucleotídeos e aminoácido, e para a elaboração da árvore filogenética. As 16 amostras apresentaram elevada identidade com sequências de isolados de CABMV disponíveis no GenBank, variando de 90 a 95% de nt e 96 a 97% de aa entre os isolados 1, 21, 23, 24, 29, 42, 43, 44, 46, 47, 50 e 52, e o isolado CABMV MG-Avr (HQ880243.1) que infecta maracujá; e 90 a 93% de identidade de nt e 96 a 97% de aa entre os isolados 8, 14, 25 e 53 e o isolado CABMV SJBV/PR (KC777398) também obtido em maracujá (Tabela 4). Esses valores são superiores ao limite de 74% descrito para demarcação de espécie para os potyvírus utilizando a região de codificação CI (ADAMS; ANTONIW; FAUQUET; 2005), confirmando o CABMV como único potyvírus infectando as amostras analisadas de feijão-fava.

Quando comparados entre si os isolados obtidos neste estudo também apresentaram moderada identidade de sequência de nt, variando de 81 a 100% e identidade de aa de 92 a 100% demonstrando que o gene CI é moderadamente conservado (Tabela 4). A baixa variabilidade genética do gene CI foi previamente constatada para isolados brasileiros de CABMV obtidos de feijão-caupi (ABREU, 2012). Estudo realizado com a sequência completa do gene da CP de isolados de

1 CABMV oriundos de maracujazeiros geograficamente próximos, também revelou
 2 baixa variabilidade genética entre os isolados (NICOLINI et al., 2012). A elevada
 3 similaridade de sequências entre os isolados de CABMV obtidos de feijão-fava é um
 4 fato importante para o desenvolvimento de estratégias de manejo, como resistência
 5 derivada do patógeno.

6

7 **Tabela 4** Identidade (%) entre sequências de nucleotídeos (diagonal acima) e
 8 aminoácidos (diagonal abaixo) do gene CI de isolados de *Cowpea aphid-borne*
 9 *mosaic virus* (CABMV) obtidos de feijão-fava nos estados do Piauí e Ceará, nos
 10 anos de 2017 e 2018

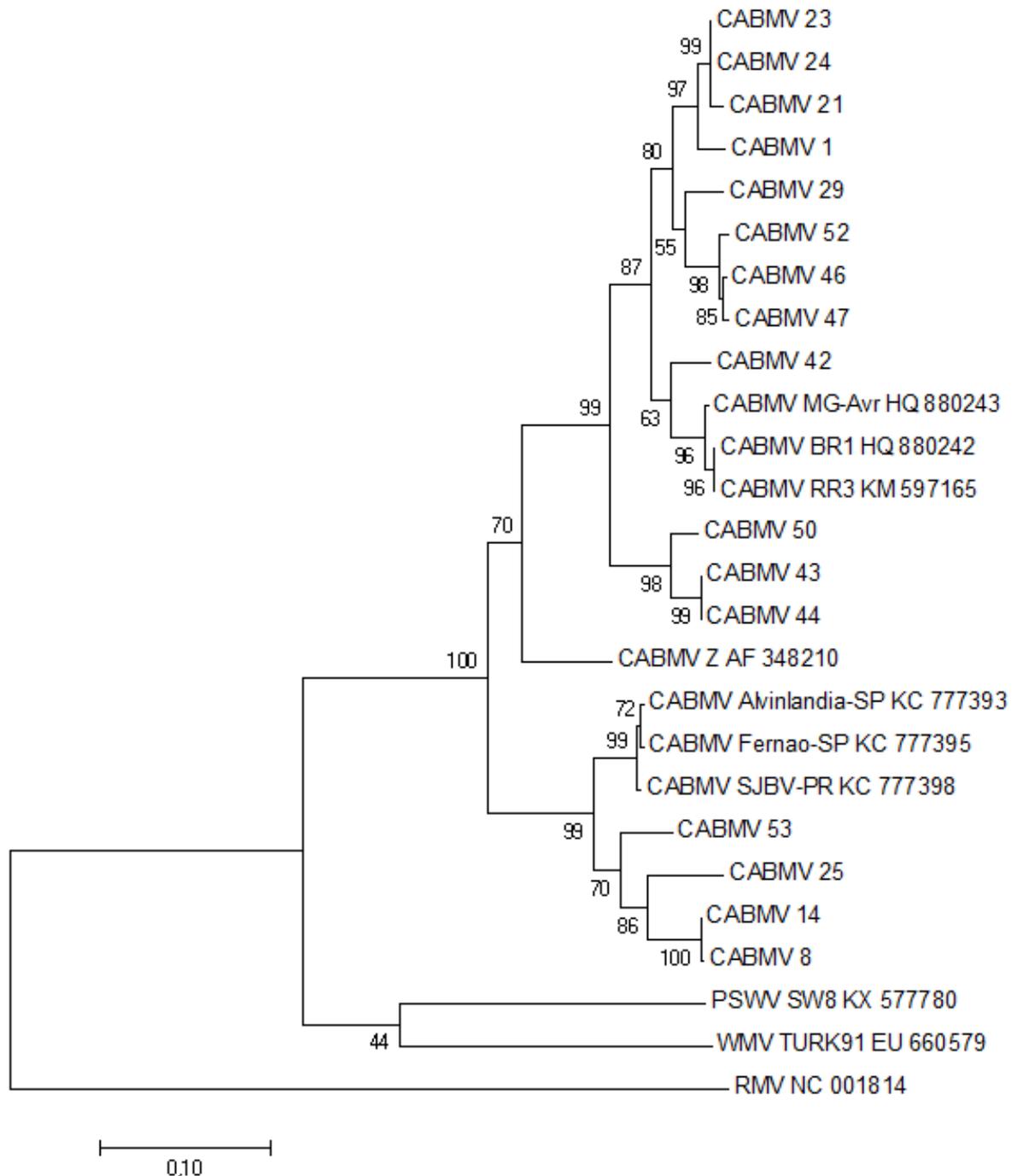
	1	8	14	21	23	24	25	29	42	43	44	46	47	50	52	53	MG-Avr	SJBV/PR
1		83	83	96	97	97	83	94	93	91	91	94	94	91	94	84	93	83
8	94	--	99	81	82	82	93	83	83	83	83	84	84	82	84	91	83	91
14	94	100	--	81	82	82	92	83	82	83	83	84	83	82	84	92	83	91
21	99	93	92	--	99	99	82	94	93	90	90	95	94	90	94	83	93	83
23	100	94	94	99	--	100	83	95	93	90	90	95	95	91	95	84	93	84
24	99	95	94	98	99	--	84	95	94	90	90	95	95	91	95	84	94	84
25	94	99	99	92	93	94	--	83	82	82	82	83	83	81	83	91	83	90
29	99	95	94	99	99	98	97	--	93	91	91	95	95	91	95	84	92	84
42	98	93	92	97	98	97	96	97	--	90	93	93	93	91	93	84	95	83
43	97	94	93	96	97	97	96	96	96	--	100	91	91	97	91	84	90	84
44	97	94	93	96	97	97	99	96	96	100	--	91	91	97	91	84	90	84
46	99	94	93	96	99	99	99	99	97	96	96	--	99	90	99	84	93	84
47	100	94	94	99	100	99	99	99	98	97	97	99	--	90	98	84	93	83
50	96	94	93	95	96	97	96	96	96	97	97	96	96	--	90	84	91	84
52	99	94	93	99	99	98	99	99	97	96	96	99	99	96	--	84	93	83
53	94	98	97	93	94	94	95	95	94	95	95	94	94	95	94	--	85	93
MG-Avr	97	95	94	96	97	97	94	97	97	96	96	97	97	96	97	95	--	84
SJBV/PR	92	97	97	91	92	92	96	92	91	93	93	91	92	93	91	97	93	--

11

12 Para determinar o relacionamento evolutivo dos isolados de CABMV deste
 13 estudo, uma árvore filogenética foi construída com isolados de CABMV depositados
 14 no GenBank que apresentaram maior identidade de nucleotídeos por BLASTn

1 (Figura 7). Os isolados deste estudo agruparam com isolados brasileiros MG-Avr,
 2 BR1, Alvinlândia-SP, Fernão-SP e SJBV-PR), indiano (RR3) e africano (Z), com
 3 *bootstrap* de 100%.

4



5

6 Figura 7. Árvore filogenética obtida a partir do alinhamento de sequências
 7 nucleotídicas do gene CI de isolados de *Cowpea aphid-borne mosaic virus*
 8 (CABMV). A árvore foi construída usando o método da máxima verossimilhança. O
 9 comprimento dos ramos é indicado por escala na base da árvore, e os valores de

1 *bootstrap* (1000 repetições) são indicados acima dos internódios. *Ryegrass mosaic*
 2 *virus* (RMV) foi usado como *outgroup*.

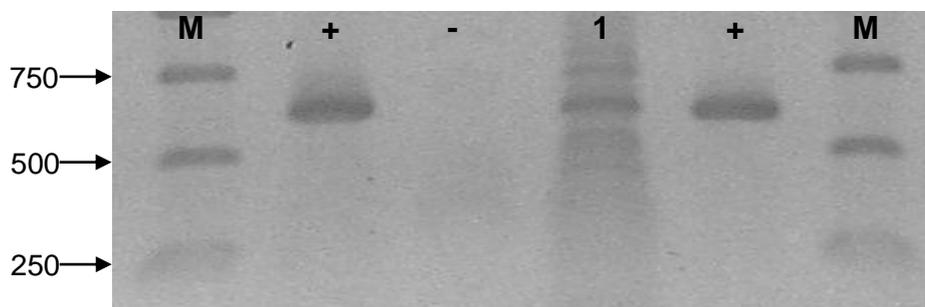
3

4 Curiosamente, houve a formação de dois agrupamentos: o primeiro (com
 5 *bootstrap* de 99%) foi formado com os isolados 1, 21, 23, 24, 29, 42, 43, 44, 46, 47,
 6 50 e 52 deste estudo, juntamente com os isolados MG-AVr, BR1 e RR3. O segundo
 7 grupo (com *bootstrap* de 99%) foi formado com os isolados 8, 14, 25 e 53,
 8 juntamente com os isolados Alvinlândia-SP, Fernão-SP e SJBV-PR (Figura 7). Ou
 9 seja, não houve correlação entre origem geográfica, nem por hospedeiro, uma vez
 10 que os isolados MG-AVr, Alvinlândia-SP, Fernão-SP e SJBV-PR foram obtidos de
 11 maracujá, o isolado BR1 de amendoim, enquanto o isolado RR3 foi obtido de feijão-
 12 caupi.

13 A falta de correlação de origem geográfica de isolados brasileiros de CABMV
 14 foi observada por Abreu (2012) e Rodrigues et al. (2015). Ao mesmo tempo outros
 15 autores têm encontrado correlação positiva de origem geográfica (NASCIMENTO et
 16 al., 2004; BARROS et al., 2011) o que demonstra a necessidade de estudos mais
 17 aprofundados analisando mais regiões do genoma, considerando maior número de
 18 isolados e hospedeiros, afim de se compreender de forma mais clara a relação
 19 evolutiva entre eles.

20 Apenas a amostra 55 foi diagnosticada com infecção de comovírus, como
 21 revelado pela amplificação de um fragmento de 536 pb, correspondente a região
 22 conservada do gene codificante da subunidade maior (AWSTQV) e subunidade
 23 menor (RGPN/GFEN) da proteína capsidial (BRIOSO et al., 1996) (Figura 8).

24



25

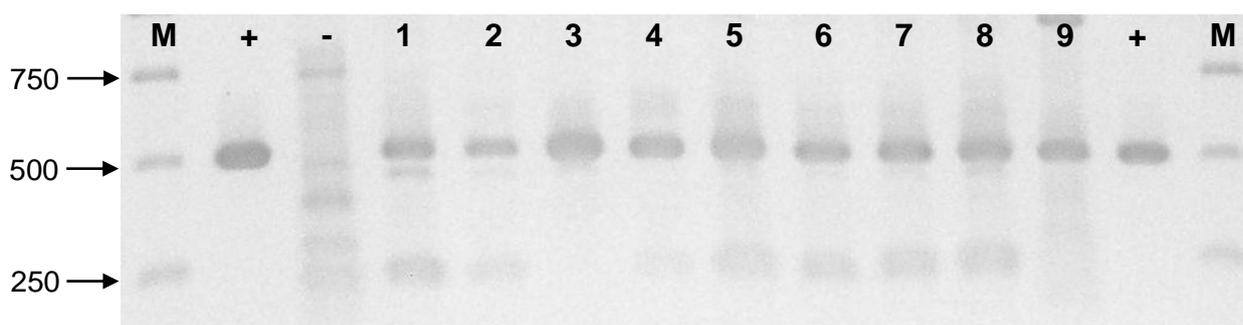
26 Figura 8. Padrão eletroforético em gel de agarose (1,0%) de fragmentos de DNA de
 27 um isolado de comovírus, amplificado por RT-PCR a partir de RNA total extraído de
 28 plantas de feijão-fava. M, marcador de comprimento (1 kb DNA ladder, em pb); +,
 29 controle positivo (feijão-caupi infectado com *Cowpea severe mosaic virus*); -,
 30 controle negativo (feijão-fava sadio); 1, amostra de feijão-fava coletada no município
 31 de Teresina.

32

1 O fragmento apresentou 92% de identidade de nt e 88% de aa com CPSMV
 2 PY2 (KF793280), obtido de feijão-caupi no Paraguai. Um dos critérios de
 3 demarcação de espécie para os comovírus é possuir mais de 75% de identidade na
 4 sequência de aminoácidos para a proteína do capsídeo (considerando sequências
 5 combinadas da CP) (ICTV, 2018). Esse resultado comprova a ocorrência natural do
 6 CPSMV em feijão-fava. É o primeiro relato da ocorrência do CPSMV infectando
 7 naturalmente o feijão-fava. Costa et al. (1991) encontrou um comovírus em plântula
 8 originada de semente infectada, na região de Jataí, Goiás. Entretanto, na época não
 9 foi possível identificar a espécie viral.

10 Os fragmentos de DNA amplificados dos 29 isolados de CPMMV
 11 apresentaram amplicons de 500 pb e correspondem a região de codificação da
 12 proteína RdRp, demonstrando que o feijão-fava estava infectado com este vírus
 13 (Figura 9).

14



15

16 Figura 9. Padrão eletroforético em gel de agarose (1,0%) de fragmentos de DNA de
 17 nove isolados de *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV), amplificado por RT-PCR a
 18 partir de RNA total extraído de plantas de feijão-fava. M, marcador de comprimento
 19 (1 kb DNA ladder, em pb); +, controle positivo (feijão-comum infectado com
 20 CPMMV); -, controle negativo (feijão-fava sadio); 1-9, amostras de feijão-fava com
 21 sintomas de mosaico coletados nos estados do PiauÍ e Ceará.

22

23 É a primeira vez que o CPMMV é encontrado infectando naturalmente o
 24 feijão-fava no mundo. Este vírus é considerado reemergente e também foi relatado
 25 com elevadas taxas de incidência em feijão-comum (80 a 100%) e em ampla gama
 26 de hospedeiros não cultivados no Nordeste do Brasil (LAMAS et al., 2017). A
 27 elevada incidência de CPMMV também em cultivos de feijão-fava reforçam a
 28 importância do manejo desse patógeno.

29 De 55 amostras de feijão-fava coletadas nesta pesquisa, 52 estavam
 30 infectadas com os vírus CMV, CABMV, CPSMV e CPMMV em infecções simples e
 31 mistas. No entanto, 3 amostras não apresentaram infecções por nenhum dos quatro

1 vírus estudados. Acredita-se que, possivelmente um quinto vírus esteja presente.
2 Amostras foliares dessas plantas serão analisadas por microscopia eletrônica de
3 transmissão (MET) visando nortear os próximos passos na diagnose da espécie
4 viral.

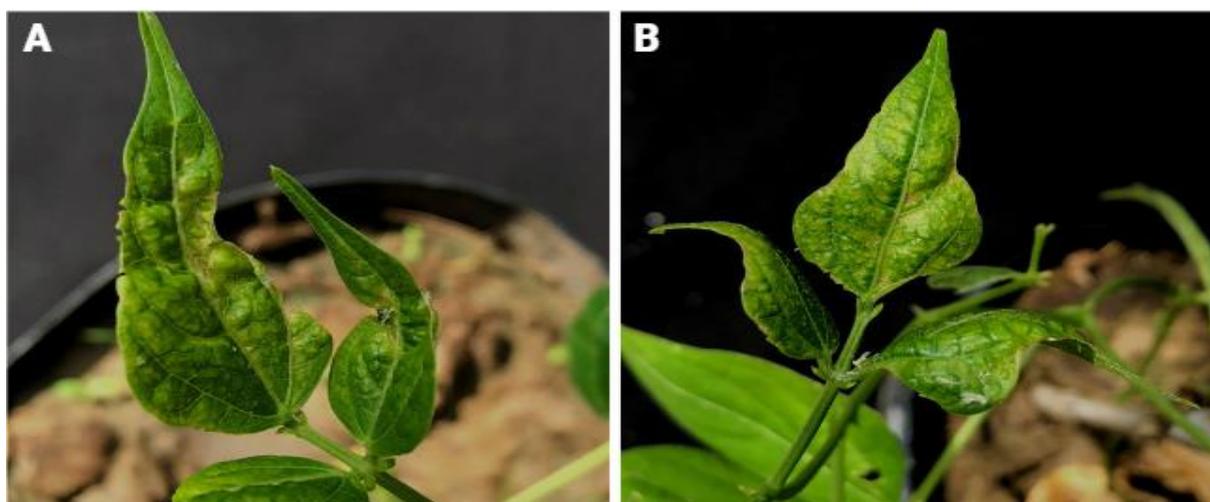
5

6 **4.2 Caracterização sintomatológica**

7

8 A inoculação mecânica com o isolado CMV oriundo de feijão-fava ocasionou
9 sintomas sistêmicos de mosaico leve em folhas jovens aos 20 dias após a
10 inoculação (Figura 10A); aos 40 dias foi observado mosaico em folhas jovens e em
11 algumas folhas velhas (Figura 10B). Não foi constatado outro sintoma em feijão-fava
12 inoculado com CMV. O CMV é conhecido por induzir sintomas de mosaico leve em
13 outras hospedeiras, como o feijão-caupi (OLIVEIRA et al., 2012) e *Eucharis*
14 *grandiflora* Plach. (espécie ornamental) (DUARTE et al., 2013).

15



16

17 Figura 10. Sintomas de mosaico provocados por *Cowpea mosaic virus* (CMV) em
18 folhas de plantas de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). Sintoma de mosaico leve em
19 folhas aos 20 (A) e 40 (B) dias após a inoculação.

20

21 O isolado de CABMV inoculado mecanicamente em feijão-fava causou
22 sintomas sistêmicos em todas as plantas inoculadas, os quais foram visíveis a partir
23 de 8 dias após a primeira inoculação com mosaico leve em folhas jovens (Figura
24 11A); aos 20 dias as folhas jovens apresentaram mosaico, bolhosidade e
25 deformação do limbo e as folhas velhas apresentaram mosaico leve (Figura 11B-D);
26 aos 35 dias após a inoculação as folhas jovens apresentaram intensa bolhosidade e

1 deformação do limbo e as folhas velhas apresentaram mosaico e pontos necróticos
 2 (Figura 11E); aos 60 dias foi possível observar mosaico, bolhosidade e intensa
 3 deformação do limbo tanto em folhas jovens quanto em folhas velhas, pontos
 4 necróticos em folhas velhas e subdesenvolvimento da planta (Figura 11F-H). Os
 5 mesmos sintomas frequentemente são observados em cultivares de feijão-caupi
 6 inoculados mecanicamente com esse patógeno (LIMA et al., 1981; OLIVEIRA et al.,
 7 2012).

8



9

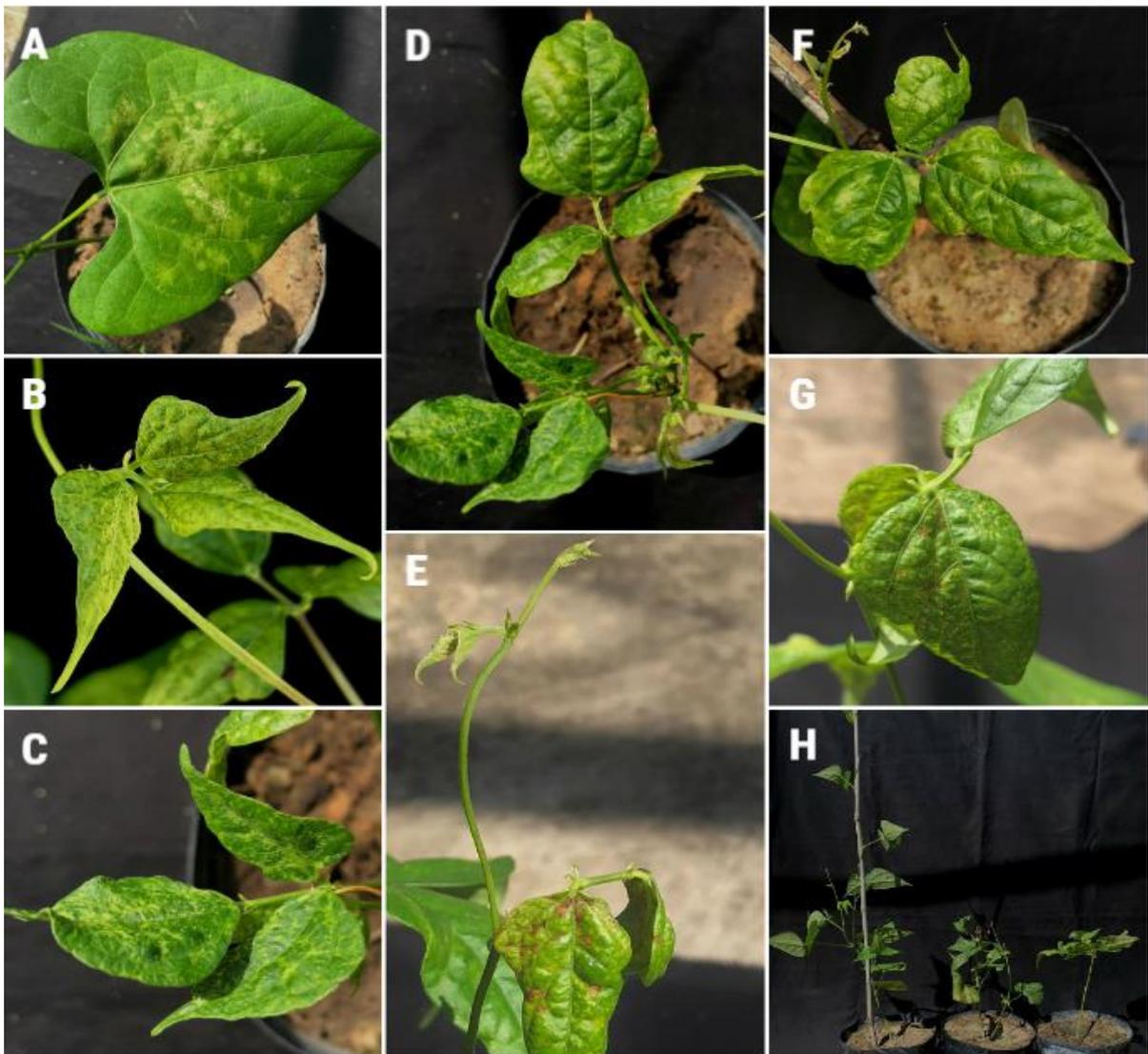
10 Figura 11. *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) em feijão-fava (*Phaseolus*
 11 *lunatus* L.). (A) sintoma de mosaico leve; (B) sintoma de mosaico; (C e D) sintoma
 12 de mosaico, bolhosidade e deformação do limbo; (E) sintoma de mosaico,
 13 bolhosidade, deformação do limbo e pontos necróticos; (F) sintoma de mosaico e

1 deformação do limbo; (G) sintoma de mosaico e subdesenvolvimento da planta; (H)
 2 intensa bolhosidade.

3

4 Sintomas locais foram observados em feijão-fava após 4 dias da inoculação
 5 mecânica com o isolado de CPSMV (Figura 12).

6



7

8 Figura 12. *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) em feijão-fava (*Phaseolus lunatus*
 9 L.). (A) Lesões cloróticas em folhas inoculadas; (B-D) sintoma de mosaico,
 10 bolhosidade e deformação do limbo; (E) sintoma de necrose na extremidade
 11 superior do caule e pontos necróticos; (F) sintoma de mosaico, bolhosidade e morte
 12 de brotos terminais; (G) sintoma de mosaico e pontos necróticos; (H) sintoma de
 13 nanismo.

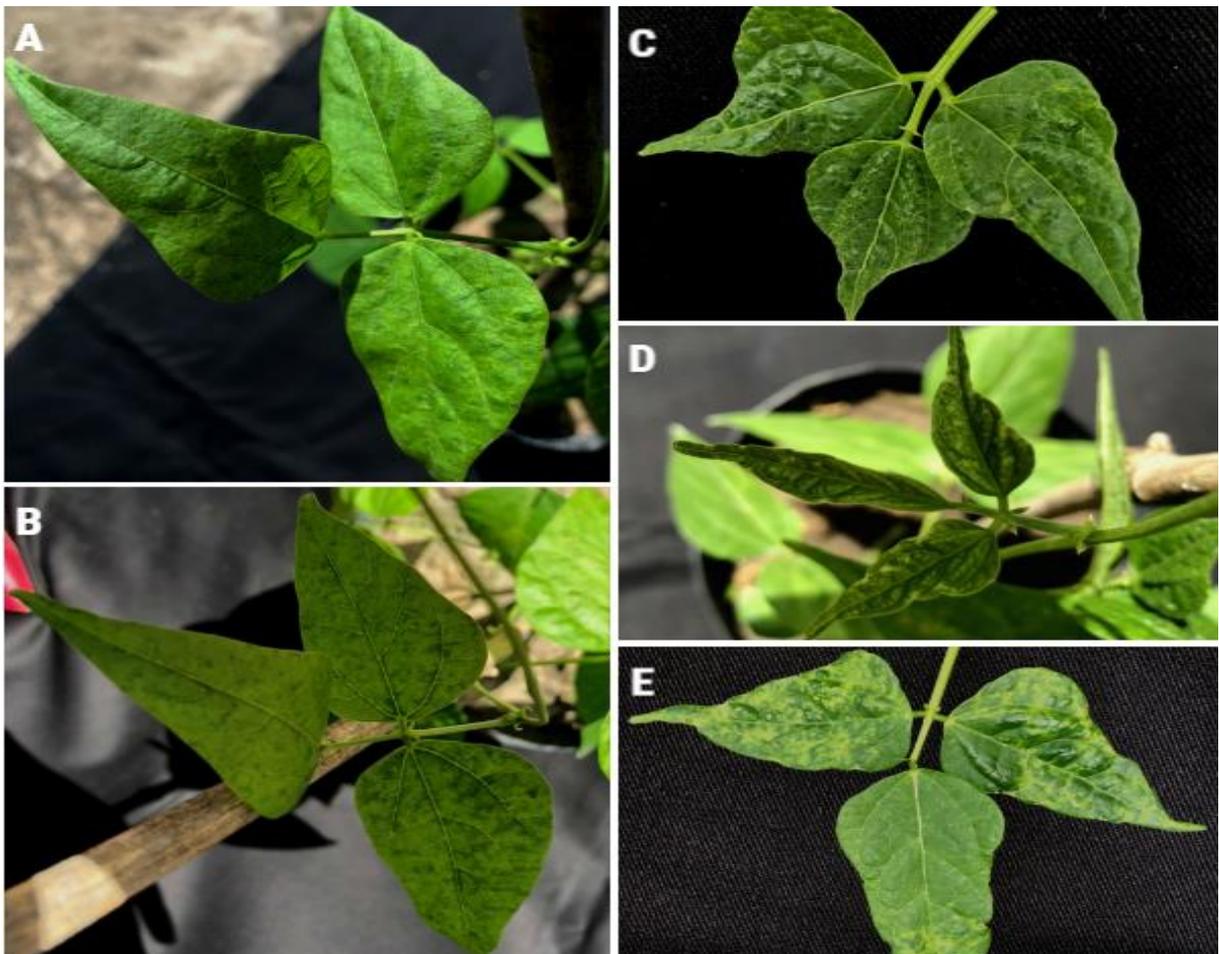
14

15 Em todas as plantas inoculadas, foi possível observar lesões cloróticas
 16 (Figura 12A); aos 7 dias, as folhas inoculadas e não inoculadas apresentaram
 17 mosaico, bolhosidade e deformação do limbo (Figura 12B-D); após 11 dias da

1 primeira inoculação as plantas apresentaram necrose na extremidade superior do
2 caule e pontos necróticos em folhas jovens (Figura 12E); aos 17 dias foi observado
3 morte de brotos terminais, pontos necróticos e queda prematura das folhas (Figura
4 12G e F); aos 35 dias foi nítido a constatação de nanismo em plantas infectadas
5 com o CPSMV (Figura 12H). Sintomas semelhantes foram relatados por Lin, Kitajima
6 e Rios (1981); Coelho et al. (1992) e Oliveira et al. (2012) em feijão-caupi inoculados
7 mecanicamente com o CPSMV.

8 O isolado de CPMMV induziu sintomas sistêmicos de mosaico leve em folhas
9 jovens de feijão-fava a partir de 8 dias após a primeira inoculação mecânica (Figura
10 13A); aos 20 dias foi observado mosaico amarelo em folhas jovens e velhas,
11 bolhosidade e curvatura do limbo em folhas jovens (Figura 13B-E). Em infecção de
12 CPMMV em feijão-caupi nos Estados Unidos (EUA) e em feijão-comum no Nordeste
13 do Brasil também foram relatados sintomas de mosaico, bolhosidade e curvatura do
14 limbo (ROSARIO et al., 2014; LAMAS et al., 2017).

15



16

1 Figura 13. *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV) em feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.).
 2 (A) sintoma de mosaico leve; (B) sintoma de mosaico; (C-D) sintoma de mosaico,
 3 bolhosidade deformação do limbo; (E) sintoma de mosaico amarelo e bolhosidade.
 4

5 De forma geral as quatro espécies de vírus causaram sintomas em poucos
 6 dias após a primeira inoculação, além de induzirem mosaico, deformação do limbo
 7 foliar, bolhosidade e, no caso de CPSMV, nanismo (Tabela 5). Assim, não é possível
 8 distinguir o agente causal do mosaico em plantas de feijão-fava com base na
 9 sintomatologia, uma vez que esses vírus causam sintomas semelhantes.
 10

11 **Tabela 5** Reação de feijão-fava a inoculação mecânica com os isolados de
 12 *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV),
 13 *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) e *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV)

FAVA	SINTOMAS ^a							
	LOCAL				SISTÊMICO			
	CMV	CABMV	CPSMV	CPMMV	CMV	CABMV	CPSMV	CPMMV
Branquinha	-	LN	LN, N	-	ML, M	ML, M, B, DL, SU	M, B, DL, MBT, QPF, NA	ML, M, B, CL
Boca de Moça	-	LN	LN, N	-	ML, M	ML, M, B, DL, SU	M, B, DL, MBT, QPF, NA	ML, M, B, CL

14 ^a B = bolhosidade; CL = curvatura do limbo; DL = deformação do limbo; LN = lesão necrótica; MBT =
 15 morte dos brotos terminais; ML = mosaico leve; M = mosaico; N = necrose; NA = nanismo; SU =
 16 subdesenvolvimento; QPF = queda prematura de folhas.
 17

19 5. CONCLUSÕES

21 O feijão-fava é hospedeiro natural de: CMV, CABMV, CPSMV e CPMMV.

22 Os isolados de CMV encontrados pertencem ao Subgrupo IA.

23 Não foram encontrados outros potyvírus e comovírus infectando naturalmente
 24 o feijão-fava, à exceção de CABMV e CPSMV.

25 Os isolados de CMV, CABMV, CPSMV e CPMMV inoculados em feijão-fava
 26 induziram sintomas de mosaico leve e mosaico; CABMV, CPSMV e CPMMV
 27 causaram sintomas de bolhosidade e deformação do limbo; e apenas o CPSMV
 28 provocou lesões necróticas e nanismo.
 29

6. CONSIDERAÇÕES

Este é o primeiro estudo de identificação molecular de vírus ocorrendo naturalmente em feijão-fava no Brasil. Os estudos anteriores de identificação de vírus de RNA causadores de mosaico em feijão-fava no Brasil foram feitos por microscopia e características biológicas (para CMV e CPSMV), métodos estes incapazes de identificar o agente causal de forma precisa. O CABMV foi identificado anteriormente por ELISA com antissoro específico, método menos sensível que a RT-PCR, mas capaz de alcançar diagnóstico conclusivo. Nenhum estudo havia identificado o CPSMV e CPMMV nessa hospedeira no mundo. Assim, consideramos este estudo como o primeiro a diagnosticar de forma segura CMV, CPSMV e CPMMV infectando naturalmente o feijão-fava no Brasil.

Estes resultados servirão de base para estudos sobre o relacionamento dos vetores/vírus e o feijão-fava, identificação e desenvolvimento de variedades resistentes, e avaliação de transmissão desses patógenos por sementes, o que dará subsídio para o desenvolvimento de estratégias de manejo de CMV, CABMV, CPSMV e CPMMV em feijão-fava no Brasil, tais como controle cultural por meio de variedades resistentes e identificação de critérios de seleção de sementes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULLAHI, I.; IKOTUN, T.; WINTER, S.; THOTTAPPILLY, G.; ATIRI, G. I. Investigation on seed transmission of *Cucumber mosaic virus* in cowpea. **African Crop Science Journal**, v. 9, p. 677-684, 2001.
- ABREU, E. F. M. **Variabilidade genética do *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) e *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) no Brasil**. 2012. 110f. Tese (Doutorado em biologia molecular) – Universidade de Brasília, Brasília, 2012.
- ADAMS, M. J.; ANTONIW, J. F.; FAUQUET, C. M. Molecular criteria for genus and species discrimination within the family Potyviridae. **Archives of Virology**, v. 150, p. 459-479, 2005.
- ADAMS M. J, CANDRESSE, T.; HAMMOND J.; KREUZE, J. F.; MARTELLI, G. P.; NAMBA, S.; PEARSON, M. N.; RYU, K. H.; SALDARELLI, P.; YOSHIKAWA, N. Family Betaflexiviridae. In: KING, A. M. Q.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B.; LEFKOWITZ, E. J. (Eds). **Virus Taxonomy**. Ninth report of the international committee on taxonomy of viruses. San Diego: Elsevier Academic Press, 2012, p. 920-941.

- 1 AKHTAR, A.; ROOSSINCK, M. J. Analysis of quasispecies variation in single and
2 mixed viral infection. **Virus Evolution**, v. 3, vex037, 2017.
- 3
- 4 ALMEIDA, A. M. R.; PIUGA, F. F.; KITAJIMA, E. W.; GASPAR, J. O.; VALENTIN, N.;
5 BENATO, L. C.; MARIN, S. R. R.; BINNECK, E.; OLIVEIRA, T. G.; NBELINTANI, P.;
6 GUERZONI, R. A.; NUNES JÚNIOR, J.; HOFFMANN, L.; NORA, P. S.;
7 NEPOMUCENO, A. L.; MEYER, M. C.; ALMEIDA, A. L. **Necrose da haste da soja**.
8 Série Documentos 221, Embrapa Soja, Londrina, 48p., 2003.
- 9
- 10 AMAYO, R.; ARINAITWE, A. B.; MUKASA, S. B.; TUSIIME, G.; KYAMANYWA, S.;
11 RUBAIHAYO, P. R.; EDEMA, R. Prevalence of viruses infecting cowpea in Uganda
12 and their molecular detection. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, p. 14132-
13 14139, 2012.
- 14
- 15 ANDRADE, G. P.; SILVA, J. L.; PIO-RIBEIRO, G.; ALVES JÚNIOR, M.;
16 RODRIGUES, A. A. C. Infecção natural de fava com CABMV em Itambé e Terezinha
17 no Estado de Pernambuco. In: XXXIV Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2001,
18 São Pedro - SP. **Fitopatologia Brasileira**. Fortaleza - CE: Sociedade Brasileira de
19 Fitopatologia, v. 26. p. 511-512, 2001.
- 20
- 21 AZEVEDO, J. N.; FRANCO, L. J. D.; ARAÚJO, R. O. C. **Composição química de**
22 **sete variedades de feijão-fava**. Embrapa Meio Norte, Teresina, n. 152, 4 p., 2003.
23 (Comunicado Técnico).
- 24
- 25 BADGE, J.; BRUNT, A.; CARSON, R.; DAGLESS, E.; KARAMAGIOLI, M.;
26 PHILLIPS, S.; SEAL, S.; TURNER, R.; FOSTER, G. D. A carlavirus-specific PCR
27 primer and partial nucleotide sequence provides further evidence for the recognition
28 of *Cowpea mild mottle virus* as a whitefly-transmitted carlavirus. **European Journal**
29 **of Plant Pathology**, v. 102, p. 305-310, 1996.
- 30
- 31 BARREIRO NETO, M.; FAGUNDES, R. A. A.; BARBOSA, M. M.; ARRIEL, N. H. C.;
32 FRANCO, C. F. O.; SANTOS, J. F. Características morfológicas e produtivas em
33 acessos de feijão-fava consorciados. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**,
34 v. 9, p. 23-27, 2015.
- 35
- 36 BARROS, D. R.; ALFENAS-ZERBINI, P.; BESERRA JÚNIOR, J. E. A, ANTUNES, T.
37 F. S.; ZERBINI, F. M. Comparative analysis of the genomes of two isolates of
38 *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) obtained from different hosts. **Archives**
39 **of Virology**, v. 156, p. 1085-1091, 2011.
- 40
- 41 BASHIR, M.; AHMAD, Z.; GHAFOOH, A. *Cowpea aphid-borne mosaic* potyvirus: a
42 review. **International Journal of Pest Management**, v. 48, p. 155-168, 2002.
- 43
- 44 BAUDOIN, J. P.; ROCHA, O.; DEGREEF, J.; MAQUET, A.; GUARINO, L.
45 Ecogeography, demography, diversity and conservation of *Phaseolus lunatus* L. in
46 the central valley of Costa Rica. **Systematic and ecogeographic studies on crop**
47 **genepools 12**. Internacional Plant Genetic Resources Institute, 84 p., 2004.
- 48
- 49 BERTACINI, P. V.; ALMEIDA, A. M. R.; LIMA, J. A. A.; CHAGAS, C. M. Biological
50 and physicochemical properties of *Cowpea severe mosaic* comovirus isolated from

- 1 soybean in state of Paraná. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 41,
2 p. 409-416, 1998.
- 3
- 4 BETANCUR-ANCONA, D.; GALLEGOS-TINTORÉ, S.; CHEL-GUERRERO, L. Wet-
5 fractionation of *Phaseolus lunatus* seeds: partial characterization of starch and
6 protein. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, p. 1193-1201,
7 2004.
- 8
- 9 BITOCCHI, E.; RAU, D.; BELLUCCI, E.; RODRIGUEZ, M.; MURGIA, M. L.; GIOIA,
10 T.; SANTO, D.; NANNI, L.; ATTENE, G.; PAPA, R. Beans (*Phaseolus* spp.) as a
11 model for understanding crop evolution. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. p, 2017.
- 12
- 13 BOOKER, H. M.; UMAHARAN, P.; MCDAVID, C.R. Effect of *Cowpea severe mosaic*
14 *virus* on growth characteristics and yield of cowpea. **Plant Disease**, v. 89, p. 515-
15 520, 2005.
- 16
- 17 BRADSHAW, J. D.; ZHANG, C.; HILL, J. H.; RICE, M. E. Landscape epidemiology of
18 *Bean pod mottle comovirus*: molecular evidence of heterogeneous sources.
19 **Archives of Virology**, v. 156, p. 1615-1619, 2011.
- 20
- 21 BRIOSO, P. S. T.; DUQUE, F. F.; SAYÃO, F. A. D.; LOURO, R. P.; KITAJIMA, E. W.;
22 OLIVEIRA, D. E. Vírus do mosaico severo do caupi infecção natural em mungo verde,
23 *Vigna radiata*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 19, p. 420-429, 1994.
- 24
- 25 BRIOSO, P. S. T.; SANTIAGO, L. J. M. ANJOS, J. R. N.; OLIVEIRA, D. E.
26 Identificação de espécies do gênero *comovirus* através de “Polymerase chain
27 reaction”. **Fitopatologia Brasileira**, v. 21, p. 219-225, 1996.
- 28
- 29 BRITO, M.; FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, T.; GARRIDO, M. J.; MEJÍAS, A.;
30 ROMANO, M.; MARYS, E. First report of *Cowpea mild mottle* carlavirus on yardlong
31 bean (*Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis*) in Venezuela. **Viruses**, v. 4, p. 3804-
32 3811, 2012.
- 33
- 34 BROUGHTON, W. J.; HERNÁNDEZ, G.; BLAIR, M.; B, S.; GEPTS, P.;
35 VANDERLEYDEN, J. Beans (*Phaseolus* spp.): model food legumes. **Plant and Soil**,
36 v. 252, p.55-128, 2003.
- 37
- 38 CARVALHO, E. M. S.; BESERRA JR., J. E. A.; BARGUIL, B. M. Lima Bean
39 Diseases. In: FERREIRA, A. S. A.; LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.
40 (Org.). **Phaseolus lunatus: Diversity, Growth and Production**. New York: Nova
41 Science Publishers, p. 113-133, 2015.
- 42
- 43 CHACÓN-SÁNCHEZ, M. I.; MARTÍNEZ-CASTILLO, J. Testing domestication
44 scenarios of Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) in Mesoamerica: Insights from
45 genome-wide genetic markers. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. p, 2017.
- 46
- 47 CHANG, C. A.; CHIEN, L. Y.; TSAI, C. F.; LIN, Y. Y.; CHENG, Y. H. First report of
48 *Cowpea mild mottle virus* in cowpea and french bean in Taiwan. **Plant Disease**. v.
49 97, p. 1001, 2013.
- 50

- 1 CHEL-GUERRERO, L.; PÉREZ-FLORES, V.; BETANCUR-ANCONA, D.; DÁVILA-
2 ORTIZ, G. Functional properties of flours and protein isolates from *Phaseolus lunatus*
3 and *Canavalia ensiformis* seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.
4 50, p. 584-591, 2002.
5
- 6 CHRISTENHUSZ, M. J. M.; BYNG, J. W. The number of known plants species in the
7 world and its annual increase. **Phytotaxa**, v. 261, p. 201-217, 2016.
8
- 9 COELHO, L. M.; PIO-RIBEIRO, G.; LIMA, J. A.; BURITY, H. A.; MARIANO, R. L. R.;
10 KITAJIMA, E. W.; PADOVAN, I. P. Caracterização de um isolado pernambucano do
11 vírus do mosaico severo do caupi. **Fitopatologia Brasileira**, v. 17, p. 331-335, 1992.
12
- 13 COSTA, A. F. **Efeito de infecções simples e duplas de quatro vírus do feijoeiro**
14 **(*Phaseolus vulgaris* L.) na produção e em algumas características da planta.**
15 1983. 99f. Dissertação de Mestrado (mestrado em Fitopatologia) – Instituto de
16 Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 1983.
17
- 18 COSTA, A. S.; GASPAR, J. O.; VEJA, J. Mosaico angular do feijoeiro Jalo causado
19 por um carlavírus transmitido pela mosca branca *Bemisia tabaci*. **Fitopatologia**
20 **Brasileira**, v. 8, p. 325-337, 1983. (Resumo).
21
- 22 COSTA, A. F.; MATOS, F. S. A.; SANTOS, O. R.; KITAJIMA, E. W.; MEYER, M. C.
23 Um comovírus isolados de planta obtida de semente de *Phaseolus lunatus*, colhida
24 em Jataí, GO. **Fitopatologia Brasileira**, v.16, p. 25, 1991.
25
- 26 COSTA, A. F. Doenças causadas por vírus em hortaliças leguminosas. In: **Informe**
27 **Agropecuário**, v.17, p. 75-85, 1995.
28
- 29 COSTA, C. L. Vetores de vírus de plantas. I. Insetos. **Revisão Anual de Patologia**
30 **de Plantas**, v. 6, p. 103-71, 1998.
31
- 32 DIETZGEN, R. G.; MANN, K. S.; JOHNSON, K. N. Plant virus–insect vector
33 interactions: current and potential future research directions. **Viruses**, v. 8, p. 303-
34 304, 2016.
35
- 36 DUARTE, L. M. L.; RIVAS, E. B.; HARA KAVA, R.; VEAUUVY, M. C. D.; ALEXANDRE,
37 M. A. V. Genealogy of *Cucumber mosaic virus* isolated from ornamental species.
38 **American Journal of Plant Sciences**, v. 4, p. 1081-1087, 2013.
39
- 40 EDWARDSON, J. R.; CHRISTIE, R. G. Cucumoviruses. In **CRC Handbook of**
41 **Viruses Infecting Legumes**. CRC Press, p. 293-319, 1991
42
- 43 EIRAS, M.; BOARI, A. J.; COLARICCIO, A.; CHAVES, A. L. R.; BRIONES, M. R. S.;
44 FIGUEIRA, A. R.; HARA KAVA, R. Characterization of isolates of the *Cucumovirus*
45 *Cucumber mosaic virus* present in Brazil. **Journal of Plant Pathology**, v. 86, p. 61-
46 69, 2004.
47
- 48 ExPASy - **Expert Protein Analysis System**. Disponível em:
49 <<https://web.expasy.org/translate/>>. Acesso em 18 nov. 2018.
50

- 1 FERERES, A.; RACCAH, B. Plant virus transmission by insects. In: **eLS**. John Wiley
2 & Sons, Ltd: Chichester, 2015.
3
- 4 FLASINSKI, S.; SCOTT, S. W.; BARNETT, O. W.; SUN, C. Diseases of *Peperomia*,
5 *Impatiens* and *Hibbertia* caused by *Cucumber mosaic virus*. **Plant Disease**, v. 79, p.
6 843-848, 1995.
7
- 8 FREITAS, D. S.; MAIA, I. G.; ARRUDA, P.; VEGA, J. Molecular characterization and
9 evolutionary relationships of a potyvirus infecting *Crotalaria* in Brazil. **Archives of**
10 **Virology**, v. 147, p. 411-417, 2002.
11
- 12 FREITAS, A. S.; CEZAR, M. A.; AMBRÓSIO, M. M. Q.; SILVA, A. K. F.; ARAGÃO,
13 M. L.; LIMA, J. A. A. Ocorrência de vírus em cultivos de feijoeiro-caupi no Sertão da
14 Paraíba. **Tropical Plant Pathology**, v. 37, p. 286-290, 2012.
15
- 16 GALLITELLI, D. The ecology of *Cucumber mosaic virus* and sustainable agriculture.
17 **Virus Research**, v. 71, p. 9-21, 2000.
18
- 19 GASPARIN, M. D. G.; BIANCHINI, A.; SOUTO, E. R.; GASPAR, J. O.; ALMEIDA,
20 A. M. R.; KITAJIMA, E. W. Detecção do *Southern bean mosaic virus* no Paraná, e
21 separação do *Bean rugose mosaic virus* em feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.
22 30, p. 75-78, 2005.
23
- 24 GUIMARÃES, W. N. R.; MARTINS, L. S. S.; SILVA, E. F.; FERRAZ, G. M. G.;
25 OLIVEIRA, F. J. Caracterização morfológica e molecular de acessos de feijão-fava
26 (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v.
27 11, p. 37-45, 2007.
28
- 29 HA, C.; COOMBS, S.; REVILL, P. A.; HARDING, R. M.; VU, M.; DALE, J. L. Design
30 and application of two novel degenerate primer pairs for the detection and complete
31 genomic characterization of potyviruses. **Archives of Virology**, v. 153, p. 25-36,
32 2008.
33
- 34 HAGIWARA-KOMODA, Y.; CHOI, S. H.; SATO, M.; ATSUMI, G.; ABE, J.;
35 FUKUDA, J.; HONJO, M. N.; NAGANO, A. J.; KOMODA, K.; NAKAHARA, K. S.;
36 UYEDA, I.; NAITO, S. Truncated yet functional viral protein produced via RNA
37 polymerase slippage implies underestimated coding capacity of RNA viruses.
38 **Scientific Reports**, v. 6, n. p, 2016.
39
- 40 HOGENHOUT, S. A.; AMMAR, E. D.; WHITFIELD, A. E.; REDINBAUGH, M. G.
41 Insect vector interactions with persistently transmitted viruses. **Annual Reviews of**
42 **Phytopathology**, v. 46, p. 327–359. 2008.
43
- 44 IBGE. **Produção agrícola municipal culturas temporárias e permanentes**. Rio de
45 Janeiro, v. 44, p. 1-8, 2018.
46
- 47 ICTV. International Committee on Taxonomy of Viruses. Disponível em:
48 <https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/>. Acesso em: 23 out. 2018.
49

- 1 IVANOV, K. I.; ESKELIN, K.; LÖHMUS, A.; MÄKINEN, K. Molecular and cellular
2 mechanisms underlying potyvirus infection. **Journal of General Virology**, v. 95, p.
3 1415-1429, 2014.
4
- 5 IWAKI, M.; THONGMEEARKOM, P.; PROMMIN, M.; HONDA, Y.; HIBI, T. Whitefly
6 transmission and some properties of *Cowpea mild mottle virus* on soybean in
7 Thailand. **Plant Disease**, v. 66, p. 365-368, 1982.
8
- 9 JACQUEMOND, M. *Cucumber mosaic virus*. **Advances in Virus Research**, v. 84, p.
10 439-504, 2012.
11
- 12 JOHANSEN, E.; EDWARDS, M. C.; HAMPTON, R. O. Seed transmission of
13 viruses: Current Perspectives. **Annual Reviews of Phytopathology**, v. 32, p. 363-
14 368, 1994.
15
- 16 KIM, M. K.; JEONG, R. D.; KWAK, H. R.; LEE, S. H.; KIM, J. S.; KIM, K. H.; CHA, B.;
17 CHOI, H. S. First Report of *Cucumber mosaic virus* isolated from wild *Vigna angularis*
18 var. *nipponensis* in Korea. **The Plant Pathology Journal**, v. 30, p. 200-207, 2014.
19
- 20 KITAJIMA, E. W.; ALCÂNTARA, B. K.; MADUREIRA, P. M.; ALFENAS-ZERBINI, P.;
21 REZENDE, J. A. M.; ZERBINI, F. M. A mosaic of beach bean (*Canavalia rosea*)
22 caused by an isolate of *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) in Brazil.
23 **Archives of Virology**, v. 153, p. 743-747, 2008.
24
- 25 KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ, C.; TAMURA, K. MEGA 8: Mega X:
26 Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. **Molecular**
27 **Biology and Evolution**, v. 35, p. 1547-1549, 2018.
28
- 29 LAMAS, N. S.; MATOS, V. O. R. L.; ALVES-FREITAS, D. M. T.; MELO, F. L.;
30 COSTA, A. F.; FARIA, J. C.; RIBEIRO, S. G. Occurrence of *Cowpea mild mottle virus*
31 in common bean and associated weeds in Northeastern Brazil. **Plant Disease**, v.
32 101, p. 1828, 2017.
33
- 34 LIMA, J. A. A.; OLIVEIRA, F. M. E. W.; KITAJIMA, E. W.; LIMA, M. G. A.
35 Propriedades biológicas, citológicas e sorológicas de um *potyvirus* isolado de feijão-
36 de-corda no Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, p. 205-216, 1981.
37
- 38 LIMA, J. A. A.; SANTOS, C. D. G. Infecção natural de *Vicia faba* por uma estirpe de
39 *Cucumber mosaic virus*, no Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, v. 10, p. 182, 1985.
40 (Resumo).
41
- 42 LIMA, J. A. A.; SANTOS, C. D. G.; SILVEIRA, L. F. S. Comportamento de genótipos
43 de Caupi em relação aos dois principais vírus que ocorrem no Ceará. **Fitopatologia**
44 **Brasileira**, v. 11, p. 151-161, 1986.
45
- 46 LIMA, J. A. A.; SITTO LIN, I. M.; LIMA, R. C. A. Diagnoses e estratégias de controle
47 de doenças ocasionadas por vírus. In: FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; LIMA,
48 J. A. A.; SILVA, P. H. S. (Ed.). **Feijão-caupi: Avanços Tecnológicos**. 1.ed. Brasília:
49 Embrapa Informações Tecnológicas, 2005a. p. 405-459.
50

- 1 LIMA, J. A. A.; NASCIMENTO, A. K. Q.; SILVA, G. S.; CAMARÇO, R. F. E. A.
2 *Crotalaria paulinea*, novo hospedeiro natural do vírus do mosaico severo do caupi.
3 **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 429-433, 2005b.
- 4
5 LIN, M. T.; KITAJIMA, E. W.; RIOS, G. P. Serological identification of several cowpea
6 viroses in Brasil Central. **Fitopatologia Brasileira**, v. 5, p. 419, 1980. (Resumo).
- 7
8 LIN, M. T.; KITAJIMA, E. W.; RIOS, G. P. Detecção serológica de dois vírus
9 previamente desconhecidos em caupi (*Vigna unguiculata*) no Brasil Central.
10 **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, p. 73-85, 1981.
- 11
12 LIN, M. T.; ANJOS, J. R. N.; RIOS, G. P. *Cowpea severe mosaic virus* in five
13 legumes in central do Brazil. **Plant Disease**, v. 66, p. 67-70, 1982.
- 14
15 LIN, M. T.; SANTOS, A. A.; MUNOZ, J. O. Ocorrência de vírus do Mosaico do
16 pepino, no estado do Piauí. In: I Reunião Nacional de Pesquisa de Caupi, 1982,
17 Teresina. **Resumos**. Goiânia: Embrapa-CPAMF, p. 101-102, 1982.
- 18
19 LIN, M. T.; HILL, J. H.; KITAJIMA, E. W.; COSTA, C. L. Two new serotypes os
20 *Cowpea severe mosaic virus*. **Phytopathology**, v. 74, p. 581-585. 1984.
- 21
22 LIN, H. X.; RUBIO, L.; SMYTHE, A. B.; FALK, B. W. Molecular population genetics of
23 *Cucumber mosaic virus* in California: evidence for founder effects and reassortment.
24 **Journal of Virology**, v. 78, p. 6666-6675, 2004.
- 25
26 LONG, R.; TEMPLES, S.; MEYER, R.; SCHWANKL, L.; ODFREY, L.; CANEVARI,
27 M.; ROBERTS, P. **Lima bean production in California**. University of California,
28 ANR, n. 8505, p. 25, 2014.
- 29
30 LYMMAN, J. M. Adaptation studies on lima bean accessions in Colombia. **Journal of**
31 **the American Society for Horticultural Science**, v. 108, p. 369-373, 1983.
- 32
33 MACKIE, W. Origin, dispersal and variability of the lima bean, *Phaseolus lunatus*.
34 **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 15, n. 1, p. 1-31, 1943.
- 35
36 MAQUET, A.; VEKEMANS, X. Z.; BAUDOIN, J. P. Phylogenetic study on wild allies
37 of lima bean, *Phaseolus lunatus* L. (Fabaceae), and implications on its origin. **Plant**
38 **Systematics and Evolution**, v. 218, p. 43-54, 1999.
- 39
40 MARTELLI, G. P.; ADAMS, M. J.; KREUZE, J. F.; DOLJA, V. V. Family Flexiviridae:
41 a case study in virion and genome plasticity. **Annual Review of Phytopathology**, v.
42 45, p. 73-100, 2007.
- 43
44 MARTINIÉRE, A.; MACIA J-L.; BAGNOLINI, G.; JRIDI, C.; BAK, A.; BLANC, S.;
45 DRUCKER, M. VAPA, an Innovative “Virus-Acquisition Phenotyping Assay” opens
46 new horizons in research into the vector-transmission of plant viruses. **Plos One**, v.
47 6, n. p, 2011.
- 48
49 MARTÍNEZ-CASTILLO, J; ANDUEZA-NOH, R. H.; CHACÓN -SÁNCHEZ, M.I.
50 Recent advances in the study of the evolution of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) in

- 1 Mexico. In: FERREIRA, A. S. A., LOPES, A. C. A., GOMES, R. L. F. (Org.).
2 **Phaseolus lunatus: Diversity, Growth and Production**. New York: Nova Science
3 Publishers, p. 43-62, 2015.
4
- 5 MARUBAYASHI, J. M.; YUKI, V. A.; WUTKE, E. B. Transmissão do *Cowpea mild*
6 *mottle virus* pela mosca branca *Bemisia tabaci* biótipo B para plantas de feijão e
7 soja. **Summa Phytopathologica**, v. 36, p. 158-60, 2010.
8
- 9 MELGAREJO, T. A.; LEHTONEN, M. T.; FRIBOURG, C. E.; RÄNNÄLI, M.;
10 VALKONEN, J. P. T. Strains of BCMV and BCMNV characterized from lima bean
11 plants affected by deforming mosaic disease in Peru. **Archives of Virology**, v. 152,
12 p. 1941-1949, 2007.
13
- 14 MENZEL, W.; WINTER, S.; VETTEN, H. Complete nucleotide sequence of the type
15 isolate of *Cowpea mild mottle virus* from Ghana. **Archives of Virology**, v. 155, p.
16 2069-2073, 2010.
17
- 18 MINGOT, A.; VALLI, A.; RODAMILANS, B.; SAN LEÓN, D.; BAULCOMBE, D. C.;
19 GARCÍA, J. A.; LÓPEZ-MOYA, J. J. The P1N-PISPO *trans*-frame gene of *Sweet*
20 *potato feathery mottle* potyvirus is produced during virus infection and functions as
21 an RNA silencing suppressor. **Journal of Virology**, v. 90, p. 3543-3557, 2016.
22
- 23 NASCIMENTO, A. V. S.; SOUZA, A. R. R.; ALFENAS, P. A.; ANDRADE, G. P.;
24 CARVALHO, M. G.; PIO-RIBEIRO, G.; ZERBINI, F. M. Análise filogenética de
25 potyvírus causando endurecimento dos frutos do maracujazeiro no Nordeste do
26 Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p.378- 383, 2004.
27
- 28 NAVAS-CASTILLO, J.; FIALLO-OLIVÉ, E.; SÁNCHEZ-CAMPOS, E. Emerging virus
29 diseases transmitted by whiteflies. **Annual Review of Phytopathology**, v. 49, p.
30 219-248, 2011.
31
- 32 NDIAYE, M.; BASHIR, M.; KELLER, K. E.; Hampton, R. O. Cowpea viruses in
33 Senegal, West Africa: identification, distribution, seed transmission and sources of
34 genetic resistance. **Plant Disease**, v. 77, p. 999-1003, 1993.
35
- 36 NICOLINI, C.; RABELO FILHO, F. A. C.; RESENDE, R. O.; ANDRADE, G. P.;
37 KITAJIMA, E. W.; PIO-RIBEIRO, G.; NAGATA, T. Possible host adaptation as an
38 evolution factor of *Cowpea aphid-borne mosaic virus* deduced by coat protein gene
39 analysis. **Journal of Phytopathology**, v. 160, p. 82-87, 2012.
40
- 41 NOURI, S.; AREVALO, R.; FALK, B. W.; GROVES, R. L. Genetic structure and
42 molecular variability of *Cucumber mosaic virus* isolates in the United States. **Plos**
43 **One**, v. 9, e96582, 2014.
44
- 45 NWOKOLO, E. Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). In: NWOKOLO, E; SMARTT, J.
46 (Ed.). **Food and Feed from Legumes and Oil Seeds**. 1.ed. Boston: Springer, 1996.
47 p. 144-157.
48

- 1 OLIVEIRA, A. P.; ALVES, E. U.; DORNELAS, C. S. M.; SILVA, J. A.; PÔRTO, M. L.;
2 ALVES, A. V. Produção de feijão-fava em função do uso de doses de fósforo em um
3 Neossolo Regolítico. **Horticultura Brasileira**, v. 22, p. 543-546, 2004.
- 4
5 OLIVEIRA, C. R. R.; FREIRE FILHO, F. R.; NOGUEIRA, M. S. R.; BARROS, G. B.;
6 EIRAS, M.; RIBEIRO, V. Q.; LOPES, A. C. A. Reação de genótipos de feijão-caupi
7 revela resistência às coinfeções pelo *Cucumber mosaic virus*, *Cowpea aphid-borne*
8 *mosaic virus* e *Cowpea severe mosaic virus*. **Bragantia**, v. 71, p. 59-66, 2012.
- 9
10 ORAWU, M.; OBUO, J.; OMADI, R. Distribution and detection of cowpea viruses
11 infecting cowpea in Uganda. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, p. 574-581,
12 2015.
- 13
14 PALUKAITIS, P.; ROOSSINCK, M. J., DIETZGEN, R. G., FRANCKI, R. I. B.
15 *Cucumber mosaic virus*. **Advances in Virus Research**, v. 41, p. 281-341, 1992.
- 16
17 PALUKAITIS, P.; GARCÍA-ARENAL, F. Cucumoviruses. **Advances in Virus**
18 **Research**, v. 62, p. 242–323, 2003.
- 19
20 PAZ, C. D.; LIMA, J. A. A.; PIO-RIBEIRO, G.; ASSIS FILHO, F. M.; ANDRADE, G.
21 P.; GONÇALVES, M. F. B. Purificação de um isolado do vírus do mosaico severo do
22 caupi, obtido em Pernambuco, produção de antissoros e determinação de fontes de
23 resistência em caupi. **Summa Phytopathologica**, v. 25, p. 285-288, 1999.
- 24
25 PIO-RIBEIRO, G.; PAPPU, S. S.; PAPPU, H. R.; ANDRADE, G. P.; REDDY, D. V. R.
26 Occurrence of *Cowpea aphid-borne mosaic virus* in peanut in Brazil. **Plant Disease**,
27 v. 84, p. 760–766, 2000.
- 28
29 PIO-RIBEIRO, G.; ASSIS FILHO, F. M.; ANDRADE, G. P. Doenças do Feijão-Caupi.
30 In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; CAMARGO, L. F. A. **Manual de Fitopatologia.**
31 **Doenças das Plantas Cultivadas**, v. 2, p. 373-381, 2016.
- 32
33 PRUSS, G.; GE, X.; SHI, X. M.; CARRINGTON, J. C.; BOWMAN, V. V. Plant viral
34 synergism: the potyviral genome encodes a broad-range pathogenicity enhancer that
35 transactivates replication of heterologous viruses. **Plant Cell**, v. 9, p. 859-868, 1997.
- 36
37 RAMOS SOBRINHO, R.; XAVIER, C. A. D.; PEREIRA, H. M. B.; LIMA, G. S. A.;
38 ASSUNÇÃO, I. P.; MIZUBUTI, E. S. G.; DUFFY, S.; ZERBINI, F. M. Contrasting
39 genetic structure between two begomoviruses infecting the same leguminous hosts.
40 **Journal of General Virology**, v. 95, p. 2540-2552, 2014.
- 41
42 RODRIGUES, L. K.; SILVA, L. A.; GARCÊZ, R. M.; CHAVES, A. L. R.; DUARTE, L.
43 M. L.; GIAMPANI, J. S.; COLARICCIO, A.; HARAKAVA, R.; EIRAS, M. Phylogeny
44 and recombination analysis of Brazilian yellow passion fruit isolates of *Cowpea*
45 *aphid-borne mosaic virus*: origin and relationship with hosts. **Australasian Plant**
46 **Pathology Society**. v. 44, p. 31-41, 2015.
- 47
48 ROSARIO, K.; CAPOBIANCO, H.; NG, T. F. F.; BREITBART, M.; POLSTON, J. E.
49 RNA viral metagenome of whiteflies leads to the discovery and characterization of a
50 whitefly-transmitted carlavirus in North America. **PLoS One**, v. 9, e86748, 2014.

- 1
2 SANTOS, A. A.; FREIRE FILHO, F. R.; CARDOSO, M. J. **Ocorrência de viroses**
3 **em feijão macáassar *Vigna unguiculata* no estado do Piauí.** Circular Técnica.
4 Teresina: Embrapa. 1982. 11p.
5
- 6 SANTOS, F. M. L.; LIMA, J. A. A.; SANTOS, A. A.; BARRETO, P. D. Infecções
7 simples e múltiplas de vírus em caupi no Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, p.
8 518-522, 1999.
9
- 10 SANTOS, D.; COLLETT, F. M. F.; MENDES, J. E. M. F.; WANDERLEY-JUNIOR, J.
11 S. A. Produtividade e morfologia de vagens e sementes de variedades de fava no
12 Estado da Paraíba. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 1407-1412,
13 2002.
14
- 15 SERRANO-SERRANO, M. L.; HERNANDEZ-TORRES, J.; CASTILLO-VILLAMIZAR,
16 G.; DEBOUCK, D. G.; CHACÓN-SÁNCHEZ, M. I. Gene pools in wild lima bean
17 (*Phaseolus lunatus* L.) from the Americas: evidences for an Andean origin and past
18 migrations. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 54, p. 76-87, 2010.
19
- 20 SILVA, A. G.; BOIÇA JUNIOR, A. L.; SOUZA, B. H. S.; COSTA, E. N.; HOELHERT,
21 J. S.; ALMEIDA, A. M.; SANTOS, L. B. Mosca-Branca, *Bemisia tabaci* (Genn.)
22 (Hemiptera: Aleyrodidae) em feijoeiro: Características gerais, bioecologia e métodos
23 de controle. **EntomoBrasilis**, v. 10, p. 01-08, 2017.
24
- 25 SOUTO, E. R.; KITAJIMA, E. W. Propriedades biológicas de um potyvirus isolado de
26 “lava pratos” (*Cassia hoffmannseggii*) procedentes de Pernambuco. **Fitopatologia**
27 **Brasileira**, v. 16, p. 256–259, 1991.
28
- 29 SOUTO, E. R.; KITAJIMA, E. W. Purificação do vírus das manchas amarelas da
30 *Cassia*, eletroforese de proteínas e sorologia. **Fitopatologia Brasileira**, v.17, p. 292-
31 301, 1992.
32
- 33 SYLLER, J. Facilitative and antagonistic interactions between plant viruses in mixed
34 infections. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, p. 204-216, 2012.
35
- 36 TAKESHITA, M.; SHIGEMUNE, N.; KIKUHARA, K.; FURUYA, N.; TAKANAMI, Y.
37 Spatial analysis for exclusive interactions between subgroups I and II of *Cucumber*
38 *mosaic virus* in cowpea. **Virology**, v. 328, p. 45-51, 2004.
39
- 40 TAVASOLI, M.; SHAHRAEEN, N.; GHORBANI, S. H. Serological and RT-PCR
41 detection of *Cowpea mild mottle* carlavirus infecting soybean. **Journal of General**
42 **and Molecular Virology**, v. 1, p. 7-11, 2009.
43
- 44 TIAN, Z.; QIU, J.; YU, J.; HAN, C.; LIU, W. Competition between *Cucumber Mosaic*
45 *virus* subgroup I and II isolates in tobacco. **Journal of Phytopathology**, v.157, p.
46 457-464, 2009.
47
- 48 THOMPSON, J. R.; LANGENHAN, J. L.; FUCHS, M.; PERRY, K. L. Genotyping of
49 *Cucumber mosaic virus* isolates in western New York state during epidemic years.
50 **Virus Research**, v. 210, p. 169-177, 2015.

- 1
2 THOMPSON, J. R.; DASGUPTA, I.; FUCHS, M.; IWANAMI, T.; KARASEV, A. V.;
3 PETRZIK, K.; SANFAÇON, H.; TZANETAKIS, I. E.; VAN DER VLUGT, R.; WETZEL,
4 T.; YOSHIKAWA, N.; ICTV REPORT CONSORTIUM. ICTV Virus Taxonomy
5 Profile: *Secoviridae*, **Journal of General Virology**, v. 98, p. 529-531, 2017.
6
7 USDA-NASS. United States Department of Agriculture-National Agricultural Statistics
8 Service Information. Green lima bean production, price, and value by utilization –
9 States and United States: 2015-2017. **Vegetables 2017 Summary**. p. 20-21. 2018.
10
11 VIEIRA, R. F. A cultura de feijão-fava. **Informe Agropecuário**, v.16, p. 30-37,
12 1992.
13
14 WENDLAND, A.; MOREIRA, A. S.; BIANCHINI, A.; GIAMPAN, J. S.; LOBO JÚNIOR,
15 M. Doenças do Feijoeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; CAMARGO, L. F. A.
16 **Manual de Fitopatologia. Doenças das Plantas Cultivadas**, v. 2, p. 383-396,
17 2016.
18
19 WISLER, G. C.; DUFFUS, J. E.; LIU, H. Y.; LI, R. H. Ecology and epidemiology of
20 whitefly-transmitted closteroviruses. **Plant Disease**, v. 82, p. 270-280, 1998.
21
22 WYLIE, S. J.; ADAMS, M.; CHALAM, C.; KREUZE, J.; LÓPEZ-MOYA, J. J.; OHS
23 IMA, K.; PRAVEEN, S.; RABENSTEIN, F.; STENGER, D.; WANG, A.; ZERBINI, F.
24 M.; ICTV REPORT CONSORTIUM. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Potyviridae*.
25 **Journal of General Virology**, v. 98, p. 352-354, 2017.
26
27 ZANARDO, L. G.; SILVA, F. N.; BICALHO, A. A. C.; URQUIZA, G. P. C.; LIMA, A. T.;
28 ALMEIDA, A. M. R.; ZERBINI, F. M.; CARVALHO, C. M. Molecular and biological
29 characterization of *Cowpea mild mottle virus* isolates infecting soybean in Brazil and
30 evidence of recombination. **Plant Pathology**, v. 63, p. 456-465, 2014.