

UFRRJ
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOSSANIDADE E BIOTECNOLOGIA APLICADA

DISSERTAÇÃO

IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PLANTAS DE
FEIJÃO-CAUPI OBTIDAS POR MEIO DE RETROCRUZAMENTO
RESISTENTES AOS VÍRUS *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) e
***Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV).**

GISLANNE BRITO BARROS

2010



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E
BIOTECNOLOGIA APLICADA**

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PLANTAS DE
FELJÃO-CAUPI OBTIDAS POR MEIO DE RETROCRUZAMENTO
RESISTENTES AOS VÍRUS *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) e
Cowpea aphid borne mosaic virus (CABMV).**

GISLANNE BRITO BARROS

Sob orientação do Professor

Dr. Carlos Frederico de Menezes Veiga

e Co-orientação

Dr. Francisco Rodrigues Freire Filho

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, área de concentração em Fitopatologia.

Seropédica, RJ
Agosto de 2010

631.84

B277i

T

Barros, Gislanne Brito, 1982-.

Identificação e caracterização de plantas de feijão-caupi obtidas por meio de retrocruzamento resistentes aos vírus Cowpea severe mosaic vírus (CPSMV) e Cowpea aphid borne mosaic vírus (CABMV) / Gislanne Brito Barros - 2010.

54 f.: il.

Orientador: Carlos Frederico de Menezes Veiga.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada.

Bibliografia: f. 33-40.

1. Feijão-de-corda - Cultivo - Teses. 2. Feijão-de-corda - Doenças e pragas - Teses. 3. Ensino profissional - Teses. 4. Aprendizagem - Teses. I. Veiga, Carlos Frederico de Menezes, 1957-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada. III. Título.

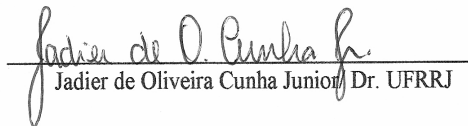
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E
BIOTECNOLOGIA APLICADA


GISLANNE BRITO BARROS

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, área de concentração em Fitopatologia Aplicada.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 05/08/2010


Carlos Frederico de Menezes Veiga/ Dr. UFRRJ
(Orientador)


Jadier de Oliveira Cunha Junior/ Dr. UFRRJ


Daniel Vazquez Figueiredo/ Dr. IST – Paracambi, RJ

“Pesquisar é ver o que outros viram, e pensar o que nenhum outro pensou”.

(Albert Szent-Gyorgyi)

“No meio de qualquer dificuldade encontra-se a oportunidade”.

(Albert Einstein)

À minha família, em especial aos meus pais, Gildete e Mirson, exemplo de amor e honestidade. Aos meus irmãos, Pollyanna e Maciel pelo carinho e amizade. E ao meu noivo, Junior pelo apoio.

Amo vocês.

Enfim, a todos que lutam para vencer seus próprios limites.

Dedico e Ofereço

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por me permitir chegar até aqui;

À **Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)**, pelo apoio institucional, e à **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela concessão da bolsa de estudo;

Ao Dr. **Francisco Rodrigues Freire Filho** (EMBRAPA MEIO-NORTE), pessoa responsável por eu está aqui hoje. Obrigada por todos os ensinamentos proporcionados ao longo desses anos e principalmente pelo incentivo a pesquisa;

Ao meu orientador **Dr. Carlos Frederico de Menezes Veiga**, pelo apoio à realização do trabalho e decisiva colaboração para a conclusão do curso;

À **Dra. Maria do Socorro da Rocha Nogueira**, pela amizade e apoio na condução dos trabalhos;

Ao **Dr. Marcelo Eiras** pela enorme contribuição na identificação dos isolados virais e ensinamentos na área de Virologia;

Ao curso de **Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada**, em especial à coordenação e ao corpo docente, pela amizade e pelos ensinamentos repassados durante o mestrado;

À **Embrapa Meio-Norte**, pela disponibilidade da estrutura física para a condução do trabalho;

À professora **Elen de Menezes**, por todo o apoio;

Ao Dr. **Valdenir Queiroz Ribeiro**, pela ajuda nas análises estatísticas;

Aos membros da banca, **Dr. Daniel Vazquez Figueiredo** e **Dr. Jadier de Oliveira Cunha Junior**, por se disponibilizarem em avaliar meu trabalho e por suas valiosas contribuições;

Ao **Dr. Paulo Sérgio Torres Brioso**, pela atenção e ensinamentos durante a realização deste trabalho;

Aos meus pais, **Gildete Oliveira Brito Barros** e **Mirson Umbelino Barros** por respeitarem as minhas escolhas e me apoiarem;

Ao meu noivo, **Francisco Calista Araújo Júnior** por estar sempre ao meu lado;

A toda **minha família**: irmãos, avós, tios, tias, sobrinhos, primos e amigos, pelo carinho;

À minha amiga **Cláudia Roberta Ribeiro de Oliveira** pela amizade e grande contribuição na realização desse trabalho;

A toda a equipe do **Projeto Feijão-Caupi (EMBRAPA MEIO-NORTE)**: Dr. Francisco Rodrigues Freire Filho, Dr. Maurisrael de Moura Rocha, Dr. Kaesel Jackson Damasceno e Silva, Ivo de Sousa Pinto, Manoel Gonçalves da Silva, Agripino Ferreira do Nascimento, Francisco Gregório Chaves e Paulo Sérgio Monteiro.

À todos os **estagiários do Programa de Melhoramento de Plantas da Embrapa Meio-Norte**, pela amizade e ajuda na condução do trabalho.

Aos meus amigos **Zacarias de Souza Costa e Rhadison Reinaldo Silva do Nascimento**, pela recepção e amizade, durante minha passagem pela UFRRJ.

À minha amiga, **Sandra Santana de Lima** pela amizade, cuidado e agradável convivência durante essa fase da minha vida longe da minha família.

À **Vera Lúcia da Silva Santos**, minha amigona do mestrado, que sempre esteve comigo nas horas mais difíceis. Por assistir meus seminários antes que fossem apresentados aos professores e por dar várias sugestões aos mesmos. E acima de tudo pela amizade.

Aos **colegas de curso** pela boa convivência durante esse período.

Aos **professores e colegas do Laboratório de Fitopatologia**: Dr. Paulo Sérgio Torres, Dra. Helena Guglielmi, Dr. João Pedro Pimentel, Dr. Luis Antônio Siqueira, Dr. Jadier Cunha, Rhadison do Nascimento, Ana Rosa Figueiredo, Ivanete Ferreira de Oliveira, Elayne Cristina Azevedo, Soraya de Assunção Monteiro da Silva e Alexandre Pinho de Moura pela boa convivência durante esse período e amizade.

Às **colegas da Residência Universitária**: Jaciane, Danúbia, Fernanda, Eline, Cristiana, Renata, Geisi, Queli, Ana Paula, Vivian, onde passei esse período que foi muito importante para mim.

Ao **peçoal de apoio técnico do Laboratório de Entomologia e Fitopatologia da UFRRJ**.

À **todos** que de alguma forma contribuíram direto ou indiretamente para a realização desse trabalho.

A todos, o meu muito obrigada!!!

RESUMO

BARROS, Gislanne Brito. **Identificação e caracterização de plantas de feijão-caupi obtidas por meio de retrocruzamento resistentes aos vírus *cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) e *cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV)**. 2010. 40 p. Dissertação (Mestre em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada). Instituto de Biologia, Departamento de Entomologia e Fitopatologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2010.

Diversas doenças causadas por diferentes espécies de patógenos podem afetar a cultura do feijão-caupi, promovendo redução considerável do seu potencial produtivo. Dentre as doenças de larga ocorrência se destacam as viroses, merecendo maior ênfase as causadas pelos vírus das famílias *Comoviridae* e *Potyviridae*, com as espécies *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) e *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV), respectivamente. Considerando a eficiência da resistência genética no controle dessas doenças, esse trabalho foi conduzido com o objetivo de obtenção e caracterização de plantas de feijão-caupi com resistência aos vírus CPSMV e CABMV, visando o desenvolvimento de cultivares essencialmente derivadas e de novas cultivares. Foram realizados oito cruzamentos utilizando a linhagem TE 97-309G-9 e a cultivar Patativa como parentais doadores dos genes de resistência aos vírus CPSMV e CABMV, e as cultivares BR3-Tracuateua, BRS-Urubuquara, BRS-Novaera, BRS-Guariba e a cultivar local Pretinho como parentais recorrentes. Os isolados virais usados nas inoculações das plantas das gerações F₂ e F₂RC₁ foram coletados no campo experimental da Embrapa Meio-Norte, e mantidos em linhagens diferenciadoras. A pureza dos isolados foi avaliada e confirmada no laboratório de Fitovirologia, do Instituto Biológico, em São Paulo. Cruzamentos biparentais e cruzamento triplo foram realizados para a obtenção da geração F₁ e submetidos à autofecundação para a obtenção de sementes F₂. As plantas da geração F₂ foram inoculadas com a mistura dos vírus CPSMV (sorotipos I e II) e CABMV. Em seguida, as plantas F₂ resistentes foram retrocruzadas com o respectivo parental recorrente para a obtenção de sementes F₁RC₁. As plantas da geração F₁RC₁ foram autofecundadas para a obtenção de sementes F₂RC₁. As plantas F₂RC₁ foram também inoculadas com a mistura dos vírus, como mencionado anteriormente e as resistentes foram caracterizadas. Foram avaliados os seguintes caracteres: número de dias para o início da floração; comprimento da vagem; número de grãos por vagem; peso de cem grãos; produção de grãos por planta. As segregações das gerações F₂ dos cruzamentos biparentais e cruzamento triplo e F₂RC₁ foram analisadas pelo teste χ^2 (Qui-Quadrado) para verificar a frequência esperada de 15 plantas suscetíveis: 1 planta resistente. Todas as F₂ dos cruzamentos biparentais e cruzamento triplo e F₂RC₁ ajustaram-se a frequência esperada de 15:1. Os caracteres avaliados nos parentais e nas gerações F₂RC₁ foram submetidos a análise estatística. As médias das plantas F₂RC₁ resistentes, de cada retrocruzamento, foram comparadas com a média do seu respectivo parental recorrente pelo teste 't' e as médias dos retrocruzamentos foram comparadas pelo teste de Scott-Knott. Foi detectada grande variabilidade genética entre e dentro os retrocruzamentos para todos os caracteres. Pode-se concluir com base nos resultados que todos os retrocruzamentos são promissores para obtenção de cultivares essencialmente derivadas resistentes aos vírus CPSMV e CABMV e que os retrocruzamentos que obtiveram como parentais recorrentes as cultivares BRS-Urubuquara e BRS Novaera são muito promissores para a obtenção de novas cultivares com resistência aos vírus CPSMV e CABMV.

Palavras-Chaves: *Vigna unguiculata*, cultivares, resistência a vírus.

ABSTRACT

BARROS, Gislanne Brito. **Identification and characterization of cowpea plants obtain by backcross resistant to viruses *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) and *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV).** 2010. 40 p. Dissertation (Master Science in Phytosanity and Applied Biotechnology). Instituto de Biologia, Departamento de Entomologia e Fitopatologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

Several diseases caused by different pathogen species can affect the cowpea culture, causing considerable reduction in its productive potential. Among the diseases of large occurrence are the viral illnesses. The viruses caused by the families *Comoviridae* and *Potyviridae*, represented by the species *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) and *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) respectively, are considered of great importance. Considering the efficiency of the genetic resistance in the control of these diseases, this work was carried out aiming at the obtention and characterization cowpea plants with resistance to viruses CPSMV and CABMV, in order to obtain new and essentially derived cultivars. Eight crosses were performed using the line TE 97-309G-9 and the cultivar Patativa as parental donors of resistance to CPSMV and CABMV, and cultivars BR3-Tracuateua, BRS-Urubuquara, BRS-Novaera, BRS-Guariba and the landrace Pretinho as recurrent parents. The isolated virus used in the inoculation of F₂ and F₂RC₁ plants were collected in Embrapa Meio-Norte experimental field, and maintained in differential lines. The purity of the isolated was evaluated and confirmed in the Laboratory of Fitovirologia, of Biological Institute, in São Paulo. Biparental crosses and triple were made to obtain F₁ generations, and then submitted to self pollinated to develop F₂ seeds. These F₂ plants were inoculated with the mixture of the viruses CPSMV (sorotype I and II) and CABMV. Afterward, the resistant F₂ plants were backcrossed with the respective recurrent parent to obtain F₁RC₁ seeds. The plants of F₁RC₁ generation were self pollinated to develop F₂RC₁ seeds. The F₂RC₁ plants were also inoculated with the same mixture of the viruses, as previously mentioned, and resistant plants were characterized. The following characters were used: number of days to the first flower; pod length; number of seeds per pod; weight of 100 seeds; seed color; and seed yield per plant. The segregation of the F₂ generation of biparental crosses and triple and the F₂RC₁ were analyzed to check the expected frequency of 15 susceptible plants: 1 resistant plant by the χ^2 (Qui square) test. All the F₂ biparental crosses and F₂RC₁ backcrosses were adjusted to the expected frequency of 15:1. The characters evaluated in parents and F₂RC₁ were submitted to statistical analysis. The averages of the resistant plants F₂RC₁ in each backcross were compared with the average of respective recurrent parent by the t-test and the averages within crosses were compared by the Scott-Knott test. The existence of great genetic variability within and among backcrosses were detected based on all characters. It can be concluded by this study that all backcrosses are promising for obtaining essentially derived cultivars resistant to the viruses CPSMV and CABMV and that the backcrosses who obtained as recurrent parents cultivars BRS-Urubuquara and BRS Novaera are very promising for obtaining new cultivars with multiple resistance to the viruses CPSMV and CABMV.

Key words: *Vigna unguiculata*, cultivars, resistance to virus .

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características dos genitores selecionados para a pesquisa. Teresina-PI, 2010..15

Tabela 2. Cruzamentos com seus respectivos códigos. Teresina- PI, 2010.....18

Tabela 3.Dados da reação dos genitores e plantas da geração F₂ do cruzamento biparental e cruzamento triplo, inoculados mecanicamente com a mistura dos vírus *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) sorotipos I e II e *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) no primeiro ciclo de inoculações e teste de heterogeneidade. Teresina-PI, 2010.....23

Tabela 4. Dados da reação dos genitores e plantas da geração F₂RC₁, inoculados mecanicamente com a mistura dos vírus *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) sorotipos I e II e *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV), no segundo ciclo de inoculações e teste de heterogeneidade. Teresina-PI, 2010.....24

Tabela 5. Quadrados médios, coeficientes de variação (CV) de características agrônômicas das plantas F₂RC₁ resistentes oriundas de oito retrocruzamentos de feijão-caupi para identificação e caracterização de plantas resistentes aos vírus *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) e *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). Teresina, 2010.....26

Tabela 6. Comparação de médias das plantas F₂RC₁ resistentes com seus respectivos genitores recorrentes. Teresina-PI, 2010.....29

Tabela 7. Comparação de médias de retrocruzamentos de feijão-caupi visando a obtenção de cultivares essencialmente derivadas e novas cultivares, resistentes aos vírus *Cowpea severe mosaic virus* – CPSMV e *Cowpea aphid-borne mosaic virus* – CABMV para as características NDIF, CV, NGV, PCG, PGP, pelo teste Scott e Knott ao nível de 5% de probabilidade. Teresina, 2010.....31

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Árvore genealógica do parental doador de resistência aos vírus CPSMV e CABMV, a linhagem TE 97-309G-9.....14
- Figura 2.** Árvore genealógica do parental doador de resistência aos vírus CPSMV e CABMV, a cultivar Patativa.....15
- Figura 3. Figura 3.** Sintomas do mosaico severo do caupi, em plantas de caupi inoculadas com *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV).....16
- Figura 4.** Sintomas do mosaico do caupi transmitido por afídeos em plantas de caupi inoculadas com *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV).....16
- Figura 5.** Cruzamentos, obtenção das populações segregantes e seleção de plantas resistentes a vírus.....19
- Figura 6. A.** Telado utilizado na condução dos experimentos. **B.** Plantas F₂RC₁ com resistência múltipla aos vírus CPSMV e CABMV, em fase de floração.....21
- Figura 7.** Sintomas observados nas plantas inoculadas com os vírus CPSMV sorotipos I e II e CABMV na geração F₂RC₁. **A:** Mosaico severo; **B:** Lesões locais cloróticas e clareamento das nervuras; **C:** Bolhosidade; **D:** Lesões locais cloróticas e necróticas.....25

LISTA DE ABREVIACOES, SIGLAS OU SÍMBOLOS

CPSMV- Cowpea severe mosaic virus;
CABMV- *Cowpea aphid borne mosaic virus*;
CMV- *Cucumber mosaic virus*;
CGMV- *Cowpea golden mosaic virus*;
BICMV- *Blackeye cowpea mosaic virus*;
CGVBV- *Cowpea green vein banding virus*;
SBMV- *Southern bean mosaic virus*;
CMeV- *Cowpea mottle virus*;
PCR- Polymerase Chain Reaction;
RT PCR- Reverse Transcriptase- Polymerase Chain Reaction
ELIZA- Enzyme linked immunosorbent assay;
NDIF- Número de dias para o início da florao;
CPV- Comprimento da vagem;
NGV- Número de gros por vagem;
PCG- Peso de cem grãos;
PGP- Produo de gros por planta;
Kb- Kilobases
MNC- Meio Norte Caupi;
RC- Retrocruzamento;
 χ^2 - Qui-Quadrado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Aspectos gerais do Feijão-caupi	3
2.1.1 Centro de origem e distribuição	3
2.1.2 Nomes vulgares e classificação botânica	3
2.1.3 Características morfológicas	3
2.1.4 Métodos de hibridação	4
2.1.5 Importância da cultura	5
2.2 Doenças prejudiciais à cultura	6
2.2.1 <i>Cowpea severe mosaic virus</i> (CPSMV)	7
2.2.2 <i>Cowpea aphid-borne mosaic virus</i> (CABMV)	9
2.3 Infecções mistas	11
2.4 Técnicas de diagnóstico de vírus	12
2.4.1 Gama parcial de hospedeiro	12
2.4.2 Sorologia	12
2.4.3 Técnicas moleculares	12
2.5 Melhoramento genético visando à resistência a vírus	13
3 MATERIAIS E MÉTODOS	14
3.1 Material genético do feijão-caupi	14
3.2 Material genético viral	16
3.3 Purificação, manutenção e multiplicação dos isolados virais	17
3.3.1 <i>Cowpea severe mosaic virus</i> (CPSMV)	17
3.3.2 <i>Cowpea aphid-borne mosaic virus</i> (CABMV)	17
3.4 Obtenção de populações segregantes	17
3.5 Cruzamentos	20
3.6 Método de inoculação	20
3.7 Caracterização morfoagronômica das plantas resistentes	20
3.8 Área experimental	20
3.9 Análises estatísticas	21
3.9.1 Teste do Qui-Quadrado	21
3.9.2 Análise de variância	21
3.9.3 Análise de médias	21
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1 Caracterização das plantas	22
4.2 Análise de variância	26
4.3 Análise de médias	26
4.3.1 Comparação da média do retrocruzamento com a média do parental recorrente	26
4.3.2 Comparação da média entre retrocruzamentos	27
5 CONCLUSÕES	32
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

1 INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma das leguminosas mais adaptadas e versáteis entre as diversas espécies cultivadas, sendo importante alimento e componente essencial dos sistemas de produção nas regiões secas dos trópicos, cobrindo parte da Ásia, Oceania, Estados Unidos, Oriente Médio, Américas Central e do Sul (SINGH et al., 2002). Nessas regiões, constitui-se uma das principais fontes de proteína vegetal, notadamente para as populações de menor poder aquisitivo (GRANGEIRO et al., 2005), com alto valor nutritivo, além de menor custo de produção.

A produção de feijão-caupi está mais concentrada nas regiões Norte e Nordeste do Brasil. Entretanto, a região Centro Oeste e Sudeste, especialmente o Rio de Janeiro, pode vir a ser outro produtor de importância nacional, devido à expansão crescente do seu cultivo (PASSOS, 1999; NASCIMENTO, 2008).

É uma espécie que possui uma ampla variabilidade genética, o que a torna bastante versátil, podendo ser utilizada em diferentes sistemas de produção tanto tradicionais quanto modernos. Devido a sua rusticidade, tem uma boa capacidade de adaptação, sendo tolerante a altas temperaturas e à seca, além de ser pouco exigente quanto a fertilidade do solo.

Quando comparado a outras culturas, o feijão-caupi tem o seu potencial genético pouco explorado, no entanto, já foram obtidas em condições experimentais, produtividade de grãos secos acima de 3 t ha⁻¹ (BEZERRA, 1997). As evidências indicam que seu potencial genético ultrapassa a 6 t ha⁻¹. Desse modo, para se chegar a esse nível de produtividade é necessário que haja mais investimento em pesquisas na cultura (FREIRE FILHO et al., 2007).

Um dos fatores que contribuem para a baixa produtividade da cultura são as doenças, sobretudo as ocasionadas por vírus, que despontam como um dos problemas de maior importância para a cultura, devido causar grandes prejuízos (LIMA et al., 2005b).

Dentre os vírus que infectam a cultura no Brasil merecem destaque os seguintes: *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) (família *Comoviridae*), *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) (família *Potyviridae*), *Cowpea golden mosaic virus* (CPGMV) (família *Geminiviridae*), *Cucumber mosaic virus* (CMV) (família *Bromoviridae*), *Blackeye cowpea mosaic virus* (BICMV) (família *Potyviridae*), e *Cowpea green vein banding virus* (CGVBV) (família *Potyviridae*) (LIMA e SANTOS, 1988).

As doenças ocasionadas por vírus são responsáveis por perdas em até 70% da produção de feijão-caupi, nas cultivares mais suscetíveis (SANTOS, 1987), grupo em que se incluem a maioria das cultivares tradicionalmente utilizadas, e nos genótipos que apresentam infecções precoces. Vale ressaltar que quanto mais cedo a planta é infectada, maiores são as perdas na produção.

Várias são as técnicas para a identificação dessas viroses, entre elas destacam-se os testes biológicos, baseados nas propriedades biológicas dos vírus, sorológicos (detecção de proteínas) e moleculares (detecção do ácido nucléico viral) (ZERBINI et al., 2002; BLUM et al., 2006).

Além da existência de infecções viróticas isoladamente, pode ocorrer também infecções mistas, nas quais relações sinérgicas ou antagônicas podem acarretar sintomas mais severos nas plantas.

Nas regiões Norte e Nordeste, principalmente na região Nordeste, ocorrem vários tipos de vírus, contudo destacam-se os vírus CPSMV e CABMV, o primeiro pela severidade dos sintomas e o segundo pela ampla ocorrência.

Há várias medidas que podem ser adotadas para o controle de viroses, entretanto os programas de controle de vírus de plantas, inclusive o de feijão-caupi, envolvem medidas que se destinam a reduzir as fontes de inóculo dentro e fora dos plantios e evitar a transmissão pelos vetores (LIMA et al., 2005b). Entretanto, uma das medidas mais eficientes é a utilização da resistência genética.

Desta forma, com vista a contribuir para um melhor controle de viroses e, conseqüentemente, reduzir perdas na produção decorrentes desse tipo de doença, esse trabalho teve como objetivo identificação e caracterização de plantas de feijão-caupi, obtidas por meio de retrocruzamento, resistentes aos vírus CPSMV e CABMV, visando o desenvolvimento de cultivares essencialmente derivadas e de novas cultivares.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais do Feijão-caupi

2.1.1 Centro de origem e distribuição

O gênero *Vigna* inclui cerca de 170 espécies de distribuição pantropical, das quais 120 ocorrem na África (66 endêmicas), 22 na Índia e sudeste da Ásia (16 endêmicas) e algumas espécies nas Américas e na Austrália (GHAFOOR et al., 2001).

O feijão-caupi originou-se no continente africano, sendo constatados os maiores níveis de diversidade em países da África Ocidental, principalmente na Nigéria (FREIRE FILHO, 1988). Entretanto, Padulosi e Ng (1997) afirmam que provavelmente a região de Transvaal, na República da África do Sul, é a região de especiação do *Vigna unguiculata*.

As evidências indicam que o feijão-caupi foi introduzido no Brasil no século XVI, simultaneamente por colonizadores espanhóis e portugueses, pelo Estado da Bahia, e a partir daí foi levado para outras áreas do Brasil (FREIRE FILHO, 1988).

O maior produtor e consumidor mundial de feijão-caupi é a Nigéria, com uma área cultivada de 5 milhões de hectares e produção anual de 2,7 milhões de toneladas. Seguido do Níger com 3 milhões de hectares cultivados e produção anual de 690 mil toneladas. E em terceiro lugar destaca-se o Brasil com 1,5 milhões de hectares cultivados e produção anual de 491,558 mil toneladas (SINGH et al., 2002).

2.1.2 Nomes vulgares e classificação botânica

O feijão-caupi é conhecido por várias denominações: feijão-de-corda, feijão macassa ou macaçar (no Nordeste), feijão-de-praia e feijão-de-colônia (no Norte), feijão miúdo (no Sul) e feijão-fradinho no Rio de Janeiro. (ARAUJO et al., 1984).

É uma Eudicotiledônea que, segundo Padulosi e Ng (1997) pertence à ordem *Fabales*, família *Fabaceae*, subfamília *Faboideae*, tribo *Phaseoleae*, subtribo *Phaseolinae*, gênero *Vigna*, espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp.. Embora tenha sido classificada em outros gêneros, como *Phaseolus* e *Dolichos*, sua classificação atual como *Vigna* é mundialmente aceita (FREIRE FILHO, 1988).

O feijão-caupi cultivado pertence à subespécie *unguiculata*. No entanto, essa subespécie *unguiculata* é dividida em quatro cultigrupos: *unguiculata*, *sesquipedalis*, *biflora* e *textilis*. No Brasil, são cultivados apenas os cultigrupos *unguiculata* e o *sesquipedalis* (feijão-de-metro) (FREIRE FILHO et al., 2005).

2.1.3 Características morfológicas

O feijão-caupi é uma planta herbácea anual, de crescimento morfológico diversificado, apresentando variação de porte, desde ereto até prostrado, e hábito de crescimento determinado ou indeterminado. As plantas com hábito determinado param de crescer após a emissão da inflorescência na extremidade da haste principal. Já as plantas com hábito indeterminado, os ramos continuam crescendo até o fim do ciclo e não produzem inflorescência terminal (FREIRE FILHO et al., 2005).

A inflorescência do feijão-caupi é formada a partir de um eixo central que consiste de um racemo modificado, com seis a oito pares de gemas florais, no qual estão dispostos

alternadamente em uma sucessão acropetal. As flores são perfeitas (pistilo e estames na mesma flor) zigomórficas (simetria bilateral) e estão distribuídas aos pares no racemo, o qual se desenvolve a partir da axila da folha. Possuem cinco pétalas, três livres e duas fundidas: o estandarte, o qual está localizado na parte posterior da flor e duas asas que cobrem as pétalas inferiores. E essas pétalas apresentam coloração que pode variar de completamente branca a completamente roxa. As duas pétalas inferiores são fundidas e formam a quilha, a qual é reta e de coloração branca, independentemente da cor das outras pétalas. Os estames são em número de dez, sendo nove concrecidos formando um tubo estaminal e um livre. O estilete é piloso do lado interno e o estigma oblíquo (ROCHA et al., 2007).

A abertura da flor acontece por volta de 5h30 podendo prolongar-se até as 9h30. Entretanto, em dias nublados, as flores abrem-se mais tarde, algumas podendo até mesmo permanecer fechadas (ROCHA et al., 2001). O fruto novo aparece, aproximadamente, 24h após a abertura da flor (ARAÚJO et al., 1984). No caso de cruzamentos artificiais, a emasculação (retirada das anteras), para ser realizada com sucesso, deve ser completada 20 horas antes da abertura da flor e o pólen, se conservado em uma temperatura de 28° C e umidade relativa de 91%, permanece viável por aproximadamente 42 h e, se conservado em refrigerador a uma temperatura de 9° C e umidade relativa de 0%, pode permanecer viável por até 66 h. Porém, emasculações realizadas até 14 h antes da polinização têm sido eficientes (ROCHA et al., 2007).

O feijão-caupi embora seja uma planta autógama, apresenta uma pequena taxa de alogamia ou fecundação cruzada. Teófilo et al. (1999) estudando a hibridação natural em feijão-caupi encontraram uma taxa de cruzamento natural de 0,8%. Resultados semelhantes foram encontrados por Sousa et al. (2006), ao avaliar a taxa média de fecundação cruzada em seis cruzamentos de feijão-caupi. Esses autores encontraram uma taxa que variou entre 0,11 a 0,99%. Entretanto, de acordo com Blackhurst e Miller Junior (1980) existem alguns fatores que podem influenciar nessa taxa de alogamia, podendo destacar-se: condições ambientais, características das cultivares e populações de insetos polinizadores.

2.1.4 Métodos de hibridação

O feijão-caupi possui flores cleistógamas, isto é, quando elas se abrem no início da manhã, geralmente já estão polinizadas. Desse modo, para a obtenção de cruzamentos é necessário que a emasculação seja realizada antes da abertura da flor (TEÓFILO et al., 1999).

Rachie et al. (1975) relataram alguns fatores que limitam o sucesso da emasculação e polinização em leguminosas, entre eles: tamanho da flor, queda de flores, manipulação, condições ambientais desfavoráveis, insetos polinizadores, entre outros. Dentre os fatores citados, as condições ambientais têm importância fundamental no processo de polinização artificial. Teófilo et al. (2001) constataram que a temperatura baixa e umidade relativa do ar elevada contribuem para a baixa eficiência dos cruzamentos, e que para reduzir os efeitos ambientais, os cruzamentos devem ser realizados em condições controladas. Verificaram também, que a manipulação nas flores no momento da emasculação afetou o botão floral, ocasionando a queda antes mesmo da polinização.

São sempre recomendadas a realização dos cruzamentos nas primeiras flores do ciclo de floração, devido serem mais viáveis.

Conforme relatos feitos por Kheradnam e Niknejad (1971); Rachie et al. (1975); Blackhurst e Miller Junior (1980) há três métodos usados na hibridação do feijão-caupi,

diferindo entre si, quanto a técnica e hora da emasculação do botão floral, quanto à coleta e à utilização do pólen e quanto à hora da polinização:

Método 1- Emasculação do botão floral, coleta de pólen (flor aberta) e polinização na mesma manhã, portanto, 22 a 24 h antes da abertura natural do botão floral.

Método 2- Coleta do pólen (flor aberta) pela manhã, conservação em refrigerador. Emasculação e polinização do botão floral no fim da tarde, de 12 a 14 h antes de sua abertura natural.

Método 3- Emasculação do botão floral no fim da tarde do dia que antecede a sua antese natural. Coleta de pólen (flor aberta) e polinização no início da manhã do dia seguinte, de 12 a 16 horas após a emasculação do botão floral.

2.1.5 Importância da cultura

O feijão-caupi é uma espécie possuidora de uma grande variabilidade genética, e devido a sua rusticidade tem ampla capacidade de adaptação aos mais diferentes tipos de climas e solos. Possui um alto potencial produtivo e excelente valor nutricional (FREIRE FILHO et al., 2007).

A área ocupada com feijão-caupi no mundo está em torno de 14 milhões de hectares, do qual a África Ocidental contribui com cerca de 9.3 milhões de hectares, ou seja, 69% da área mundial de plantio, e uma produção anual com cerca de 2,9 milhões de toneladas. A outra parte da área cultivada está localizada na América do Sul, América Central e Ásia, com pequenas áreas espalhadas pelo sudoeste da Europa, sudoeste dos Estados Unidos e Oceania (SINGH et al., 2003).

Se comparada, ao feijão comum (*Phaseolus vulgares*), as qualidades do feijão-caupi são superiores, pois possui proteína de melhor digestibilidade com elevados teores de metionina, cisteína, triptofano e menores teores de fatores antinutricionais, vitaminas e minerais, além de possuir baixa quantidade de gordura (SALES e RODRIGUES, 1988). O consumo dos grãos dessa cultura ajuda a baixar os teores de colesterol, uma vez que é um grande fornecedor de fibras dietéticas do tipo solúveis (FROTA et al., 2008b). A Composição química do feijão-caupi foi estudada por Frota et al. (2008a) em sementes da cultivar BRS-Milênio, e os resultados indicaram que a mesma possui excelentes qualidade nutricional, tais como: alto conteúdo protéico e energético; alto teor de fibras alimentares e minerais (ferro, zinco, potássio, fósforo e magnésio); baixa atividade inibitória de tripsina; e baixo teor de lipídios.

No Brasil, o feijão-caupi é cultivado principalmente nas regiões Norte e Nordeste, regiões às quais é bem adaptado e onde é componente básico do hábito alimentar da população. Alcança 95% a 100% do total da área plantada com feijão nos estados do Amazonas, Pará, Maranhão, Piauí, Ceará e Rio Grande do Norte (SANTOS e ARAUJO, 2000).

O cultivo de feijão-caupi é feito tanto por pequenos quanto por médios e grandes produtores, e seu mercado vem se expandindo além das fronteiras das regiões Norte e Nordeste (VILARINHO e FREIRE FILHO, 2005).

Nas regiões Nordeste e Norte predomina a agricultura familiar, a produtividade média registrada para a cultura do feijão-caupi no Nordeste é de 356 kg/ha. Entretanto, essa produtividade não reflete o potencial genético das cultivares melhoradas, pois já foram obtidas, em condições experimentais, produtividades de grão secos acima de 3 t ha⁻¹ (BEZERRA, 1997). A baixa produção reflete principalmente a forma de cultivo feita, predominantemente, por pequenos agricultores numa exploração sem adoção de tecnologia, como controle de pragas e doenças.

Já na região Centro-Oeste onde o cultivo é feito com alta tecnologia, o feijão-caupi expressa o seu real potencial de produção, alcançando produtividade de 1.500 a 2000 kg/há (ROCHA et al., 2009). Na região Sudeste, o Rio de Janeiro, pode vir a ser outro produtor de importância nacional, devido à expansão do cultivo. Destacando-se na produção de feijão-caupi, principalmente os municípios de Cachoeiras de Macacu, Itaboraí, Itaguaí, Magé, Nova Iguaçu e Seropédica (NASCIMENTO, 2008).

O feijão-caupi é considerado pela Organização Mundial para Agricultura e Alimentação (Food and Agriculture Organization - FAO) como uma das melhores opções para o aumento de oferta de proteínas, em razão do baixo custo de produção (GRANGEIRO et al., 2005). Esta é a principal cultura de subsistência na região semi-árida do Nordeste brasileiro, que se caracteriza por baixa disponibilidade hídrica. Nessas condições, ele é cultivado praticamente durante todo o ano, seja em monocultivo ou em consórcio com outras culturas, em sequeiro ou em cultivos irrigados (CARDOSO et al., 2000). Além do seu alto valor nutritivo, o feijão-caupi apresenta ótima capacidade de fixação de nitrogênio atmosférico, através da simbiose com *Bradyrhizobium japonicum* (FREIRE FILHO et al., 2007), e capacidade de se desenvolver satisfatoriamente em solos de baixa fertilidade, apresentando ainda certa tolerância à salinidade (MELO et al., 2005).

O consumo humano dessa cultura pode ser na forma de vagem verde, grão verde e grão seco, além de outras formas de preparo, como o acarajé, por exemplo. Na forma de vagem verde, a colheita é feita quando as vagens estão bem desenvolvidas, mas com pouca fibra. Para o consumo na forma de grão verde, as vagens são colhidas no início do seu estágio de maturidade. Para produção de grão seco, as vagens são colhidas quando se apresentam totalmente secas (VIEIRA et al., 2000). Podendo também ser utilizada na alimentação animal, como forragem verde, feno, ensilagem e farinha (OLIVEIRA e CARVALHO, 1988).

2.2 Doenças prejudiciais à cultura

O termo doença pode ser definido como uma série de respostas visíveis e invisíveis das células e tecidos da planta a organismo patogênico ou fator ambiental resultando em alterações adversas na forma, no funcionamento e integridade da planta, podendo levar a uma insuficiência parcial, morte das partes da planta ou da planta inteira (AGRIOS, 2005).

Todas as plantas estão sujeitas as inúmeras doenças e pragas, e por mais cuidados que se tenha e inovações tecnológicas que se empreguem na produção, os fatores fitossanitários ainda são os principais entraves na produção agrícola, ocasionando grandes perdas para o produtor.

A maior ou menor severidade no ataque de uma doença é determinada, entre outras causas, pela suscetibilidade da cultivar, pelo efeito sinérgico entre patógenos, condições do ambiente e idade da planta na época da infecção (ARAÚJO et al., 1984; BRIOSO, 2006).

Na cultura do feijão-caupi, dentre os vários fatores que limitam sua produção no Brasil, encontram-se as doenças causadas por agentes patogênicos, as quais influenciam na qualidade e na quantidade de feijão-caupi produzido. Vários são os patógenos e as pragas, incluindo fungos, bactérias, nematóides e predação por insetos, especialmente na fase pós-colheita. Porém, o ataque por vírus apresenta-se como o mais limitante, podendo em alguns casos causar perda total da produção.

As doenças causadas por fungo no Brasil têm sua importância relacionada principalmente com a região, forma de cultivo e época de colheita. Desse modo, podemos destacar na região Norte, a mela (*Rhizoctonia solani* Kuhn), que também é muito importante no Nordeste. A antracnose (*Colletotrichum gloesporioides* (Penz.) Sacc) e a cercosporiose (*Pseudocercospora cruenta* (Sacc.) Deighton) nos cerrados da região Meio-

Norte e a murcha-de-fusarium (*Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *tracheiphilum* E. F. Smith, Synd. & Hans.) no sertão pernambucano. (ATHAYDE et al., 2005).

Conforme Pio Ribeiro et al. (2005) o crestamento bacteriano (*Xanthomonas axonopodis* pv. *vignicola* Burkholder) é a doença causada por bactéria de maior importância para a cultura do feijão-caupi, devido sua frequência e severidade. No entanto, existem outras doenças que passam despercebidas, devido a semelhanças de sintomas com doenças fúngicas, tais como: a pústula bacteriana (estirpe de *X. axonopodis* pv. *vignicola*), o crestamento do halo ou fogo selvagem (*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* Wolf & Foster) e murcha bacteriana (*Ralstonia solanacearum* Smith).

Já foram descritas mais de trinta espécies de nematóides associados à cultura do feijão-caupi, no entanto são poucas as espécies que causam danos na produção, exceção feita aos nematóides-das-galhas, gênero *Meloidogyne*, nematóide-das-lesões-radulares, gênero *Pratylenchus* e o nematóide-reniforme, espécie *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira (SILVA, 2005).

Além dos patógenos citados anteriormente, esta cultura enfrenta, sérios problemas quanto à sua conservação em armazéns. Os insetos da ordem coleóptera são os principais responsáveis pela contaminação dos grãos armazenados, sendo todas as espécies pertencentes à família Bruchidae (SILVA et al., 2005).

Dentre os fitopatógenos que atacam a cultura de feijão-caupi, os vírus são os agentes infecciosos de maior importância, responsáveis por perdas expressivas na produção. Sua incidência e severidade variam dependendo do hospedeiro, do vetor e da fonte de inóculo (CAMARÇO et al., 2009).

O cultivo extensivo dessa cultura faz com que as doenças virais sejam cada vez mais importantes, não apenas pelos danos diretos ocasionados nas plantas hospedeiras, mas também pela predisposição a invasores secundários (AKINJOGUNLA et al., 2008).

Segundo Santos (1987) algumas viroses que atacam o feijão-caupi podem reduzir em até 70% a produção de grãos nas cultivares mais suscetíveis, grupo em que se inclui a maioria das cultivares tradicionalmente utilizadas.

De acordo com Brioso (2006) em termos mundiais, o feijão-caupi apresenta suscetibilidade a cerca de 34 gêneros virais envolvendo mais de 119 espécies virais. Entretanto, os vírus mais importantes economicamente em nível de campo e que já foram identificados, no Brasil são: *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) (família *Comoviridae*), *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) (família *Potyviridae*), *Cowpea golden mosaic virus* (CPGMV) (família *Geminiviridae*), *Cucumber mosaic virus* (CMV) (família *Bromoviridae*), *Blackeye cowpea mosaic virus* (BICMV) (família *Potyviridae*), e *Cowpea green vein banding virus* (CGVBV) (família *Potyviridae*) (LIMA e SANTOS, 1988).

Para as fitoviroses têm-se como estratégias básicas de controle, as seguintes medidas: a obtenção e utilização de material propagativo livre de vírus; eliminação de fontes de vírus; atuação contra vetores; alteração do período e local do plantio; intervenção no ciclo de infecção; proteção cruzada; cultura de meristemas e uso de material resistente, obtido por melhoramento genético e, ou por indução de resistência (ANDRADE e PIO-RIBEIRO, 2001; BLUM et al., 2006).

2.2.1 *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV)

O vírus causador do mosaico severo do feijão-caupi apresenta-se sob forma de partículas isométricas, com aproximadamente 28 nm de diâmetro. Pertence à família *Comoviridae* e ao gênero *Comovirus*, possui genoma com um total de 9,73 Kb. É caracterizado por apresentar genoma bipartido, constituído de duas moléculas de RNA de fita simples, senso positivo, de 6.0 Kb (RNA1) e 3,73 kb (RNA 2), mais a região VPg Poly

A. Ambas moléculas de RNA são necessárias para que ocorra infecção, embora sejam encapsidadas em partículas distintas. Além dessas partículas, uma terceira partícula sem ácido nucléico pode existir, cuja presença e concentração dependem da estirpe envolvida (VAN REGENMORTEL et al., 2000; LIMA et al., 2005b).

No Brasil, o mosaico severo do feijão-caupi teve seu primeiro registro datado de 1947 (PIO-RIBEIRO et al., 2005). Desde então, a distribuição deste vírus atingiu todas as regiões produtoras de feijão-caupi do país, causando perdas na produção e deformação dos grãos. Já foi registrado a ocorrência do CPSMV nos seguintes estados brasileiros: Acre, Amapá, Amazonas, Bahia, Ceará, Goiás, Maranhão, Pará, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, São Paulo e no Distrito Federal (BRIOSO et al., 1994).

Além do Brasil, a distribuição geográfica desse vírus abrange Estados Unidos, Trinidad & Tobago, Porto Rico, El Salvador, Venezuela, Costa Rica, Suriname e Peru (PIO-RIBEIRO et al., 2005).

Não sendo transmitido por sementes (SANTOS, 1987; LIMA et al., 1989), fato observado também na espécie *Vigna radiata* (L.) R. Wilezek (BRIOSO et al., 1994), o CPSMV é de fácil transmissão mecânica e em condições naturais é eficientemente disseminado de forma semi-persistente por mais de dez espécies de coleópteros (LIMA et al., 2005b). Costa et al. (1978); Batista et al. (1988) destacaram o gênero *Cerotoma*, como o principal vetor desse vírus em campo. Entretanto, tendo sido constatadas, também, transmissões por *Diabrotica speciosa* e pelo manhoso (*Chalcodermus bimaculatus*) (ATHAYDE SOBRINHO et al., 2000).

A numerosa quantidade de hospedeiros naturais do CPSMV contribui para uma ampla distribuição geográfica do vírus e para dificuldade no manejo da doença (BRIOSO et al., 1994).

Lima et al. (2005a) destacaram a *Crotalaria paulinea* como mais um hospedeiro natural do vírus. Entretanto, o CPSMV pode infectar naturalmente: *Calopogonium mucunoides* Desvaux, *Crotalaria juncea* L., *Phaseolus vulgares* L., *Psophocarpus tetragonolobus* (L.) D.C., *Vigna radiata* (L.) Wilczek e *Vigna unguiculata* (L.) Walp. subsp. *sesquipedalis* (L.) Verdc. Outras espécies vegetais também funcionam como hospedeira do vírus, causando infecções localizadas nas folhas inoculadas, tais como: *Canavalia ensiformes* D.C., *Chenopodium álbum* L., *C. amaranticolor* Coste & Reyn, *C. quinoa* (L.) D.C., *Gomphrena globosa* L., *Datura stramonium* L. e *Phaseolus vulgares* L. (cvs. Pinto e Scotia) (LIMA et al., 2005b).

As plantas doentes de feijão-caupi apresentam modificações da coloração, sendo os sintomas geralmente visíveis em toda a parte aérea. Em plantas jovens ocorrem redução drástica de todas suas partes, necrose na extremidade superior do caule, morte de brotos apenas nos tecidos mais novos, reduzindo significativamente o seu desenvolvimento. Nas folhas, além da redução do tamanho e do mosaico intenso, verifica-se clareamento nas nervuras, bolhosidade e deformação do limbo foliar. Em algumas variedades, as vagens apresentam manchas irregulares de coloração verde-escura, e as sementes, embora não seja um meio de perpetuação do vírus, apresentam-se chochas e/ou malhadas com baixa taxa de germinação (LIMA et al., 2005b). Estudos citológicos demonstram que o CPSMV induz a formação de inclusões vacuoladas, visíveis ao microscópio óptico, na qual estão distribuídas nas células da epiderme (PIO-RIBEIRO et al., 2005).

Essa doença reduz a produção de feijão-caupi em até 80%, dependendo da idade da planta na época da infecção, número de plantas infectadas, susceptibilidade e ciclo da cultivar (ANDRADE e PIO-RIBEIRO, 2001). Mais recentemente, em um estudo realizado em Trinidad & Tobago foi constatada uma redução na produção variando de 50 a 85% em

plantas inoculadas com CPSMV aos 12 dias após a semeadura e as perdas foram mais consideráveis ainda, no período da seca (BOOKER et al., 2005).

Barros (2007) observou em plantas de feijão-caupi da cv. Sempre verde que a manifestação do vírus foi mais drástica quando a infecção ocorreu precocemente. Esses resultados corroboram com Brioso et al. (1994); Booker et al. (2005).

Conforme Hampton et al. (1997) já foram identificados nove sorotipos do CPSMV a nível mundial, entretanto apenas quatro grupos sorológicos foram identificados no Brasil: sorotipo I, sorotipo II, sorotipo III e sorotipo IV (LIN et al., 1981; LIN et al., 1984).

A maneira mais eficiente de controlar o CPSMV é por meio e uso de cultivares resistentes, sendo este meio a opção mais econômica e ambientalmente mais adequada.

No Brasil já foram relatadas por diversos autores várias fontes de resistência genética ao CPSMV. Lima et al. (1986) relataram quatro novos genótipos (TVu-379, TVu-382, TVu-966 e TVu-3961) imunes ao CPSMV, em um estudo que envolveu 248 genótipos. Posteriormente, em estudo realizado por Passos (1999) foi encontrado no Estado do Rio de Janeiro, fonte de resistência ao CPSMV sorotipo I, nas linhagens IT 89KD-260 e TE 94-277-3F; ao CPSMV sorotipo II nas linhagens TE 93-200-40F, TE 93-200-49F, TE 93-212-10F, TE 93-213-12F.1, TE 93-213-12F.2 e TE 94-277-3F e ao CPSMV sorotipo I e II na linhagem TE93-244-23F. Foi também confirmada a resistência das cultivares BR-14 Mulato e BR-17 Gurguéia aos sorotipos I e II do CPSMV. Paz et al. (1999) constataram a imunidade das Cultivares BR-14 Mulato, BR-17 Gurguéia, e BR-10 Piauí e das linhagens CNCx 249-272F e CNC-0434. Nogueira et al. (2006) identificaram MNC 99-508 F-12, MNC 99-510 G-7 e MNC 99-510 F-16 como resistentes ao CPSMV sorotipo I. Nogueira (2007) obteve as linhagens RJ 04-04; RJ 04-08; RJ 04-09; RJ 04-23; RJ 04-26; RJ 04-29; RJ 04-44; RJ 04-48; RJ 04-65; RJ 04-76 resistentes ao CPSMV I, entre essas se destacou a linhagem RJ-04-48, devido sua alta capacidade produtiva e ainda por possuir vagens grandes e grãos de coloração cinza mosqueado, características estas que atendem a preferência dos produtores e consumidores do Estado do Rio de Janeiro.

Contudo, podem ser utilizadas outras formas de controle, como: aplicação de inseticidas visando à redução das populações de insetos vetores e consequentemente o surgimento da doença, monitoramento na época do plantio e eliminação de plantas de feijão-caupi remanescentes de cultivos anteriores e de hospedeiros naturais, embora esta última não seja recomendável devido à ampla gama de hospedeiros naturais.

Vale e Lima (1995) ao pesquisar a herança da imunidade da cultivar Macaibo ao CPSMV observaram que a resistência ao vírus é monogênica conferida por um alelo recessivo. Assunção et al. (2005) estudando a herança genética para a resistência ao CPSMV verificaram que a herança das resistências presentes nas cultivares Macaibo e na CNC-0434 é monogênica recessiva, entretanto difere na herança da linhagem L 254.008, a qual embora sendo também recessiva é controlada por dois genes não ligados. Desse modo, a existência de um segundo gene de resistência ao CPSMV pode ser de grande importância, caso sejam selecionadas estirpes contra as quais a resistência conferida pelo gene presente nas cultivares Macaibo e CNC-0434 seja ineficiente.

2.2.2 Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV)

O vírus do mosaico do caupi transmitido por afídeos apresenta partículas filamentosas e flexuosas, com dimensões com cerca de 690 a 760 nm. Possui genoma do tipo RNA de fita simples, senso positivo, e um único tipo de proteína capsidial de aproximadamente 38 KDa (VAN REGENMORTEL et al., 2000). Pertence à família

Potyviriidae e ao gênero *Potyvirus*. Este gênero constitui o grupo taxonômico com o maior número de espécies virais que infectam plantas, e conseqüentemente, é o grupo de maior importância econômica (LIMA et al., 2005b).

O CABMV em feijão-caupi tem sido observado nos Estados Unidos, Itália, Holanda, Austrália, em países asiáticos como: Japão, Filipinas, China e africanos como: Marrocos e Zâmbia. Estudos apontam que há relatos dessa doença no Brasil, desde 1974 (PIO-RIBEIRO et al., 2005).

Esse vírus é transmitido mecanicamente de plantas infectadas para sadias pelo processo de transmissão experimental em casa de vegetação. Zerbini e Maciel-Zambolim (2000) enfatizaram que esse gênero, em condições naturais é transmitido de forma não-persistente, por mais 200 espécies de afídeos, destacando o *Aphis cracivora* Kock como um dos principais vetores. Contudo, sua disseminação também acontece por meio de sementes infectadas. Desse modo, o intercâmbio de sementes com outras regiões é responsável pela sua larga distribuição geográfica. Santos et al. (1999) observaram a transmissibilidade do CABMV por sementes de feijão-caupi de 0,16%, por meio do teste de ELISA indireto. Nogueira (2007) observou que embora a transmissibilidade do CABMV por sementes de feijão-caupi seja baixa, através da técnica de RT-PCR foi possível detectar a presença do vírus utilizando uma quantidade menor de sementes quando comparado ao teste de ELISA. Diante disso, a técnica de RT-PCR mostrou mais eficiência que o teste de ELISA na diagnose de sementes.

Já foram identificados vários hospedeiros desse vírus, entre eles se destacam espécies das famílias *Fabaceae* e *Passifloraceae*, além de alguns membros das famílias *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae*, *Solanaceae* e *Cucurbitaceae* (NASCIMENTO et al., 2006).

Os sintomas apresentados por plantas de caupi contaminadas com CABMV incluem mosaico severo com bolhosidade e deformação foliar (VALE e LIMA, 1994). Ocorre também clorose, manchas cloróticas, necrose sistêmicas e até ausência de sintomas em infecções latentes. Citologicamente, o CABMV induz a formação de inclusões citoplasmáticas nas células da epiderme, inclusões estas que apresentam aspectos de catavento se observada em microscópio eletrônico, sendo de grande importância para diagnose, uma vez que são características típicas do gênero *Potyvirus* (PIO-RIBEIRO et al., 2005). Os sintomas macroscópicos podem se manifestar de formas variadas, dependendo da cultivar envolvida, da época e forma de inoculação (LIMA et al., 2005b).

Vale e Lima (1994) estudaram as reações sintomatológicas do CABMV e observaram que as mesmas variaram de cultivar para cultivar. Enquanto cv. Setentão apresentou mosaico severo, bolhosidade e deformação foliar, as cvs Macaibo e CNC-0434 apenas mosaico e a cv. Pitiúba mosaico severo.

Taiwo e Akinjogunla (2006) observaram que infecções viróticas precoces envolvendo o CABMV causam maiores danos à produção. No mesmo estudo, foi possível observar que a qualidade nutricional das sementes também é afetada, tendo sido constatado um menor teor de proteína nas sementes das plantas inoculadas 10 dias após a semeadura. Com isso, podemos observar que infecções viróticas precoces têm um efeito qualitativo e quantitativo sobre o feijão-caupi, principalmente quando nessas infecções estão envolvidos mais de um vírus. Resultados semelhantes foram encontrados por Kareem e Taiwo (2007) ao estudarem o efeito da interação dos vírus CABMV, CMeV e SBMV no desenvolvimento e na produção, em plantas de feijão-caupi, observaram que os sintomas são mais severos quando as plantas são inoculadas 10 dias após o plantio, tanto em infecções simples quanto em infecções mistas, afetando com isso o seu desenvolvimento.

Taiwo et al. (2007) avaliando plantas inoculadas aos 10 dias após o plantio com o isolado do CABMV notaram que as mesmas possuíam uma concentração de vírus maior, quando comparadas com plantas inoculadas aos trinta dias após o plantio.

Vale ressaltar que a maneira mais eficiente para o controle dessa virose é a utilização de variedades resistentes. Lima et al. (1986) relataram que as linhagens Tvu 2331 (CE-115) e a cv. BR 1-Poty possui um elevado grau de resistência ao CABMV, além de apresentar boas características agrônômicas e alta produtividade, e ressalva que as mesmas já estão envolvidas em programas de melhoramento para o controle de Potyvirus, nos Estados do Piauí e Ceará. Figueiredo et al. (2000) identificaram fontes de resistência na cultivar Capela, nas linhagens IT 85F-2687, IT 860-716-2, IT 870-716-1, TE 96-282-22G e TE 96-290-5G. Rocha et al. (2003) destacam fonte de resistência nas linhagens IT 85F-2687 e IT 86D-716. Outros métodos de controle também podem ser utilizados, podendo destacar-se o uso de sementes saudáveis e a eliminação das plantas hospedeiras do vírus.

Nogueira (2003) estudando a herança da resistência do feijão-caupi ao CABMV, concluiu através de teste estatístico que a resistência tem herança monogênica e é controlada por um alelo recessivo.

2.3 Infecções mistas

Além das infecções causadas por um vírus isoladamente, também pode ocorrer infecções mistas, nas quais a planta pode ser infectada por dois ou mais vírus. Em infecções mistas, podem ocorrer relações sinérgicas ou antagônicas, causando modificação nos sintomas das doenças em relação a infecções isoladas. Podem ocorrer alteração na movimentação sistêmica dos vírus e aumento ou decréscimo da concentração dos vírus na planta, bem como aumento dos danos à produção (LIMA et al., 2005b). Normalmente, plantas com infecção mista exibem sintomas mais severos do que aquelas observadas em infecções isoladas. Shoyinka et al. (1997) constataram na Nigéria infecções múltipla de quatro a cinco vírus, entretanto, as infecções com apenas dois vírus foram as mais frequentes. Vale e Lima (1994) ao avaliarem os efeitos de infecções isoladas e mistas de vírus em feijão-caupi, observaram nas cultivares Pitiúba e Setentão, que combinações entre CPSMV e CABMV resultaram em necrose sistêmicas e morte de todas as plantas cinco dias após a inoculação. Barreto e Santos (1999) observaram que infecções simultâneas pelos vírus CABMV e CMV afetam seletivamente a resistência do feijão de corda. Santos et al. (1999) estudando infecção mista destes mesmos vírus concluíram que essa combinação resultou em índices elevados da doença e intensa severidade dos sintomas.

Lima et al. (2005b) ao avaliarem experimento no campo com dez cultivares resistentes, observaram plantas com infecção mista do CABMV e CMV manifestando sintomas de nanismo, diminuição do tamanho de todos os órgãos vegetativos, mosaico severo com bolhosidade, distorção das folhas, necrose sistêmica e baixa produção dos grãos. E que embora este último vírus não ocasione reduções significativas no crescimento e na produção da planta, o mesmo tem gerado problemas potenciais devido à maioria das cultivares serem suscetíveis, sendo capaz de interagir sinergicamente com os vírus do gênero *Potyvirus*. Kareem e Taiwo (2007) observaram que a combinação entre CABMV, CMeV e SBMV ocasionaram em perda completa da produção nas cultivares em estudo.

2.4 Técnicas de diagnóstico de vírus

O diagnóstico de uma doença de etiologia viral envolve uma série de testes para a sua comprovação. Em alguns testes os melhores resultados para essa detecção são naquelas amostras que apresentam uma maior concentração de partículas virais (BEDENDO, 1995).

No início do desenvolvimento da virologia vegetal, os sintomas representavam características importantes para a identificação do vírus. Entretanto, atualmente o uso exclusivo de sintomas é insuficiente para a diagnose, uma vez que podem variar de acordo com a cultivar envolvida, o clima e a estirpe do vírus. Embora muitos sintomas sejam ainda de grande importância para a caracterização do vírus, muitos testes vêm sendo utilizados para uma correta diagnose. Dentre os testes mais utilizados para a identificação de vírus em feijão-caupi, podemos destacar: gama parcial de hospedeiro, sorologia, microscopia óptica e eletrônica e testes moleculares (LIMA et al., 2005b; BLUM et al., 2006).

2.4.1 Gama parcial de hospedeiro

Este teste baseia-se na hipótese de que diferentes sintomas induzidos por vírus numa mesma espécie ou em diferentes hospedeiras ajudarão a formar um quadro sintomatológico, bastante útil na identificação de viroses. Segundo Marinho (2001) este é o teste mais antigo para detectar patógeno em planta infectada.

Ele consiste na identificação das plantas capazes de serem infectada pelo vírus, mediante inoculações artificiais ou naturais, enxertia, ou vetor em plantas indicadoras, em condições controladas de casa de vegetação (BLUM et al., 2006). Embora o quadro sintomatológico em uma única espécie vegetal seja insuficiente para uma correta identificação viral, os sintomas induzidos por uma espécie viral numa série de plantas testes, em condições de casa de vegetação, possuem um grande valor diagnóstico (NOGUEIRA, 2007). Este método pode também ser utilizado para separação de vírus em infecção mistas e até estirpes de um mesmo vírus. Segundo Blum et al. (2006) este teste é de custo reduzido, porém bastante eficiente como ferramenta na diagnose.

2.4.2 Sorologia

Os testes sorológicos constituem a ferramenta mais comumente utilizada na diagnose de infecções virais devido à sua rapidez, simplicidade e precisão. A grande limitação para o uso da sorologia é a disponibilidade de anti-soros de boa qualidade, uma vez que esse teste se baseia na reação específica entre um antígeno e um anticorpo (BLUM et al., 2006). O anticorpo é uma imunoglobina que animais de sangue quente produzem em resposta à introdução em seu organismo de uma substância estranha (antígeno), é utilizada principalmente a proteína da capa viral, a qual é a proteína viral mais abundante (MARINHO, 2001). Diversos testes sorológicos estão descritos na literatura, como Precipitina em tubos, Microprecipitina, difusão dupla em ágar, difusão simples em ágar, e Enzyme-linked immunosorbent assay – ELISA (ZERBINI JR et al., 2002).

2.4.3 Técnicas moleculares

Os primeiros trabalhos utilizando técnicas moleculares para a diagnose viral na cultura de feijão-caupi foram os conduzidos por Brioso et al. (1996), Passos (1999), Figueiredo et al. (2000) envolvendo o CPSMV e CABMV, de forma a diagnosticar

precocemente a espécie viral na cultura e selecionar plantas de feijão-caupi resistentes a vírus.

A técnica do PCR (Polymerase Chain Reaction) com suas diferentes modalidades constitui uma das principais técnicas moleculares utilizadas para a diagnose de fitovírus, devido ser bastante simples e versátil. Desse modo, tem sido bastante utilizadas em laboratórios de virologia vegetal.

Para a realização da técnica é necessário o conhecimento prévio da sequência de ácido nucléico que deseja amplificar. E a partir daí produzir milhões de cópias da sequência alvo, em um curto período de tempo (BLUM et al, 2006).

Brioso et al. (1996) ao identificar espécies do gênero comovirus através de RT-PCR obteve sondas moleculares para o CPSMV, a partir de produto amplificado com um par de oligonucleotídeos degenerado, permitindo assim, a diagnose deste vírus após o teste de Northern Blot. Passos (1999) realizou a seleção inicial de plantas de feijão-caupi resistentes aos sorotipos I e II do CPSMV a partir de oligonucleotídeos degenerados correspondentes às seqüências de aminoácidos conservados. Figueiredo et al. (2000) constataram por meio da técnica de RT-PCR, a infecção do CABMV em linhagens e cultivares de feijão-caupi e observaram após a eletroforese um fragmento de 759 p. Nogueira (2003), utilizando a mesma técnica conseguiu identificar o CPSMV, em sorotipos I e II utilizando primers degenerados. Nogueira (2007) após confecção de sondas moleculares específicas ao CPSMV e ao CABMV conseguiu identificar e selecionar plantas resistentes a estes vírus isoladamente, permitindo desta forma auxiliar o melhoramento genético na obtenção de linhagens de feijão-caupi resistente a esse vírus para o Estado do Rio de Janeiro.

2.5 Melhoramento genético visando à resistência a vírus

Em relação às outras culturas, o feijão-caupi é uma espécie ainda pouco melhorada, no entanto, possui uma ampla variabilidade genética para praticamente todos os caracteres agronômicos de interesse (BEZERRA, 1997).

Um dos principais objetivos do melhoramento genético de feijão-caupi está relacionado com a resistência múltipla a doenças e pragas (TIMKO e SINGH, 2008). O entendimento da forma de herança da resistência a vírus torna-se muito importante para um planejamento de um programa de melhoramento cuja finalidade é incorporar genes para a resistência em cultivares comerciais.

Em trabalhos realizados por Nogueira (2003) foi observado que a resistência aos vírus CPSMV e CABMV tem heranças monogênicas e são controladas por alelos recessivos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material genético do feijão-caupi

Os materiais genéticos utilizados nesse estudo foram os seguintes genótipos: Cultivares melhoradas BR3-Tracuateua, BRS-Urubuquara, BRS-Novaera, BRS-Guariba e a cultivar local Pretinho. As cultivares melhoradas são provenientes do Programa de Melhoramento do Feijão-caupi da Embrapa Meio-Norte e cultivar local é procedente da região Bragantina do estado do Pará, todas foram utilizadas como genitores recorrentes, escolhidas por possuírem alta capacidade de rendimento e uma grande aceitação comercial e por terem como fator limitante a suscetibilidade aos vírus *Cowpea severe mosaic virus* - CPSMV, sorotipos I e II e *Cowpea aphid borne mosaic virus* - CABMV. Como genótipos doadores foram utilizados a linhagem TE 97-309G-9, procedente da Embrapa Meio-Norte e a cultivar Patativa, procedente do estado do Ceará. Estes genitores foram escolhidos, em primeiro lugar pela resistência aos vírus CPSMV e CABMV e segundo por serem materiais de bom padrão produtivo. Nas Figuras 1 e 2 são apresentadas, respectivamente, as genealogias desses genitores.

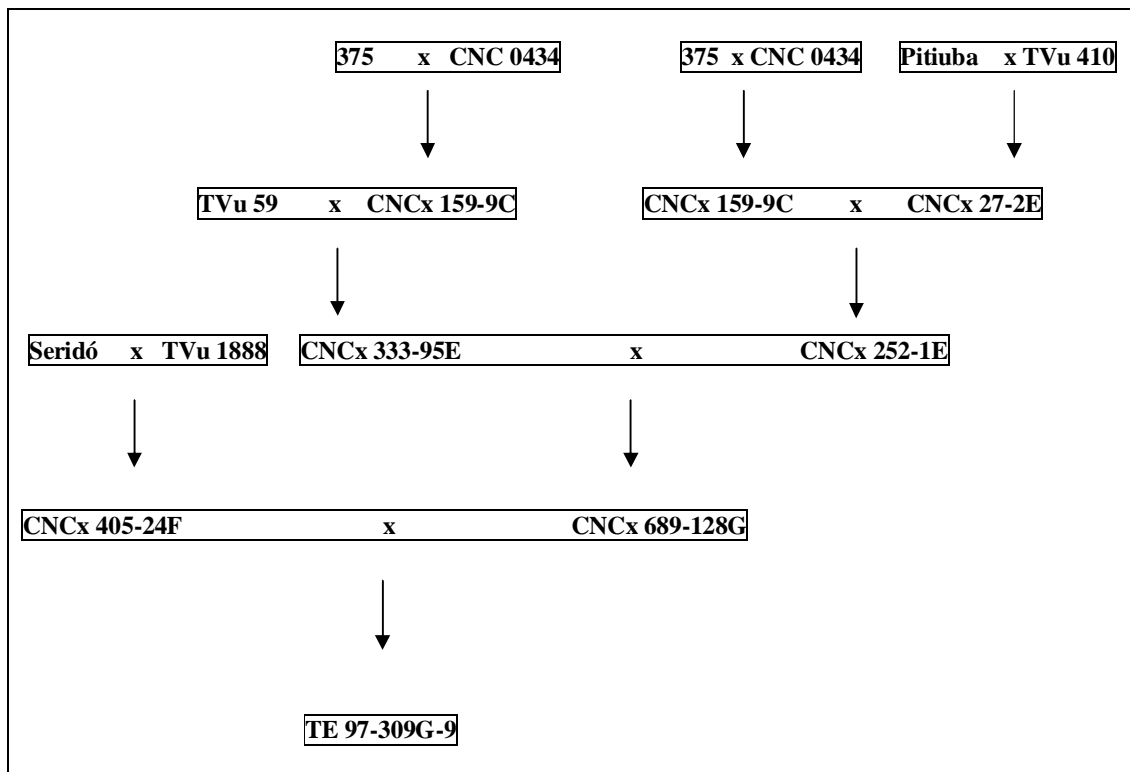


Figura 1. Árvore genealógica do parental doador de resistência aos vírus *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) e *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV), a linhagem TE 97-309G-9.

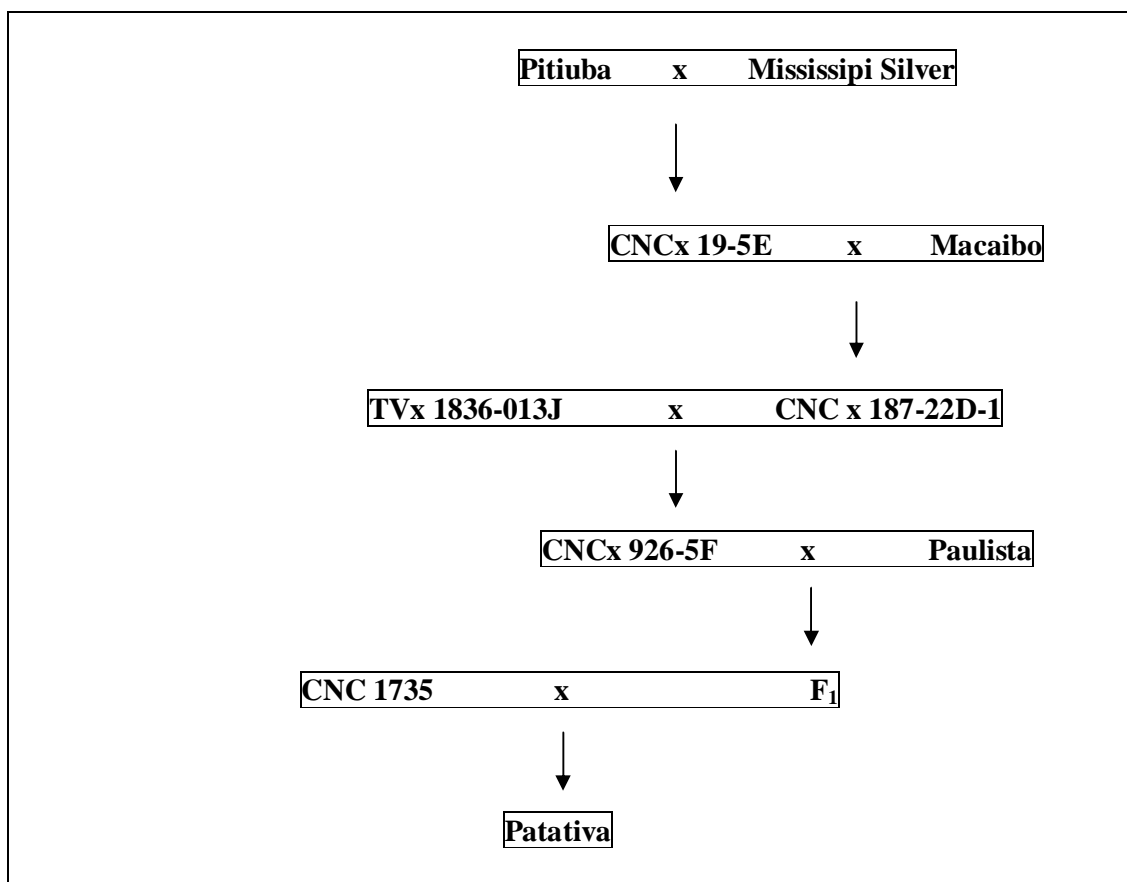


Figura 2. Árvore genealógica do parental doador de resistência aos vírus *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) e *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV), a cultivar Patativa.

É importante mencionar que a resistência a ambos os vírus são monogênicas e condicionadas por alelos recessivos (NOGUEIRA, 2003; ASSUNÇÃO et al., 2005). Na Tabela 1 são apresentadas algumas características desses genótipos.

Tabela 1. Características dos genitores selecionados para a pesquisa. Teresina-PI, 2010.

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

⁽¹⁾ peso de cem grãos em gramas;

⁽²⁾ s - representa o loco que confere resistência CPSMV (S - alelo dominante e s- alelo recessivo) e a- representa o loco que confere resistência ao CABMV (A - alelo dominante e a – alelo recessivo)

⁽³⁾ Cultivar local da região Bragantina do Estado do Pará.

3.2 Material genético viral

Os isolados virais do *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV), sorotipos I e II e do *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) utilizados no trabalho foram obtidos de plantas de feijão-caupi naturalmente infectadas apresentando sintomas de bolhosidade, mosaico severo e clareamento das nervuras (Figuras 3 e 4), coletadas no campo experimental da Embrapa Meio-Norte, em Teresina, Piauí.



Figura 3. Sintomas do mosaico severo do caupi, em plantas de caupi inoculadas com *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV).



Figura 4. Sintomas do mosaico do caupi transmitido por afídeos, em plantas de caupi inoculadas com *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV).

3.3 Purificação, manutenção e multiplicação dos isolados virais

3.3.1 *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV)

Os isolados foram inoculados em plantas diferenciadoras do *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV), sorotipos I e II, as linhagens TE 97-200-49F e TE 94-256-2E, respectivamente, descritas por Passos (1999), para a purificação biológica.

Em seguida, a multiplicação do inóculo foi realizada na linhagem IT 85F-2687, a qual é suscetível aos CPSMV sorotipos I e II e resistente ao *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV). A multiplicação foi realizada em gaiolas com tela antiafídeo, utilizando-se inoculação mecânica via extrato de folhas de plantas infectadas.

Para comprovação da pureza do vírus, folhas infectadas de feijão-caupi com os isolados do CPSMV sorotipos I e II purificados biologicamente foram enviadas ao Laboratório de Fitovirologia, no Instituto Biológico, em São Paulo, para análise, tendo sido comprovados por meio de testes sorológico (ELISA) e molecular RT-PCR a pureza dos vírus.

3.3.2 *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV)

Na purificação e manutenção biológica desse vírus e para evitar uma possível contaminação do CABMV por CMV, frequentemente encontrado na natureza, foi utilizada a cultivar Pampo, imune ao *Cucumber mosaic virus* (CMV) e suscetível ao CABMV (PONTE e ALVES, 1994).

Amostras foliares de feijão-caupi infectada com o isolado purificado do CABMV foram enviadas ao Laboratório de Fitovirologia, no Instituto Biológico, em São Paulo, para verificação da pureza do isolado viral. Os testes sorológico (ELISA) e molecular RT-PCR confirmaram a pureza do vírus.

3.4 Obtenção de populações segregantes

Para a transferência dos genes de resistência aos vírus CPSMV sorotipos I e II e CABMV, realizaram-se dois ciclos de cruzamentos. No primeiro ciclo foram realizados sete cruzamentos biparentais e um cruzamento triplo para obtenção de sementes F₁ (Tabela 2). Realizou-se a semeadura das sementes F₁ que por autofecundação natural produziram sementes F₂. Os parentais juntamente com sementes F₂, foram semeadas em copos plásticos com capacidade de 250 ml contendo solo esterilizado, constituído por esterco, terra e palha de arroz numa proporção de 3:2:1, respectivamente. Para cada parental foram semeados 10 copos e para cada cruzamento 150 copos. Tanto para os parentais quanto para os cruzamentos utilizaram-se quatro sementes por copo. Após a germinação, realizou-se o desbaste, cultivando apenas duas plantas por copo.

Tabela 2. Cruzamentos com seus respectivos códigos. Teresina- PI, 2010.

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

Seis dias após o plantio foi realizada a primeira inoculação nas plantas F_2 e nos parentais, com a mistura dos isolados virais do CPSMV sorotipo I e II e CABMV, numa proporção de 0,33g (CPSMV I), 0,33g (CPSMV II) e 0,33g (CABMV) para 9 ml de tampão fosfato, pH= 7,5. Uma semana após a primeira inoculação, efetuou-se a re-inoculação para evitar escapes.

Durante 30 dias após a segunda inoculação as plantas foram inspecionadas periodicamente, e aquelas que apresentaram sintomas de mosaico, bolhosidade e/ou lesão necrótica foram descartadas.

As plantas consideradas resistentes foram transplantadas para telado, algumas que apresentaram sintomas tardiamente foram eliminadas. As plantas resistentes foram utilizadas para o segundo ciclo de cruzamentos, ou seja, para o retrocruzamentos com o respectivo parental recorrente. Desses retrocruzamentos foram obtidas as sementes F_1RC_1 . Essas sementes foram semeadas em telado, utilizando-se seis sementes por cova para autofecundação natural e obtenção de sementes F_2RC_1 .

As sementes F_2RC_1 de cada retrocruzamento juntamente com os respectivos parentais foram semeadas em bandejas, contendo solo esterilizado. Para cada parental foram semeadas 16 células e para cada retrocruzamento em torno de 512 células, dependendo da disponibilidade das sementes, em ambos os casos foram utilizadas duas sementes por célula. Após a germinação realizou-se o desbaste, deixando-se uma planta por célula.

As inoculações foram realizadas seis dias após a germinação com a mistura dos isolados virais do CPSMV sorotipos I e II e CABMV na mesma proporção utilizada na inoculação da F_2 do cruzamento biparental e cruzamento triplo. A re-inoculação foi realizada nas plantas que não apresentaram sintomas, uma semana após a primeira inoculação, para evitar escape. Após a segunda inoculação as plantas foram inspecionadas periodicamente, durante 30 dias e aquelas que apresentaram sintomas de mosaico, bolhosidade e, ou lesão necrótica foram eliminadas. O esquema seguido nessa etapa está apresentado na Figura 5.

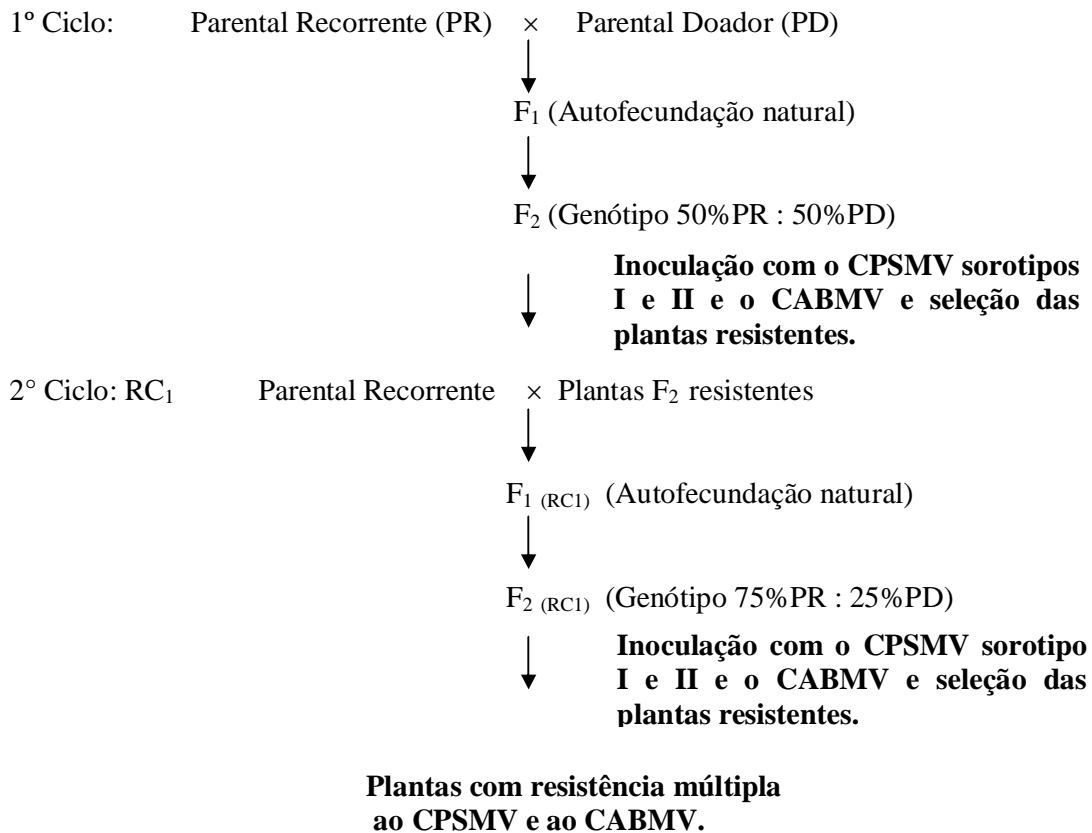


Figura 5. Cruzamentos, obtenção das populações segregantes e seleção de plantas resistentes a vírus.

Para estimar o número adequado de plantas a serem inoculadas na geração F₂ do cruzamento biparental e cruzamento triplo e na geração F₂RC₁ para se obter, com uma probabilidade de 90%, pelo menos uma planta que assegurasse a presença dos genes de resistência aos vírus CPSMV e CABMV, utilizou-se a equação apresentada por Sedcole (1977); Ramalho et al. (1993).

$$n = \log(1-P) / \log(1-p),$$

em que:

n = número mínimo de plantas F₂ que devem ser inoculadas para que se obtenha pelo menos uma planta com genótipo *ssaa*;

P = probabilidade desejada;

p = probabilidade de ocorrência do genótipo.

Determinou-se, por essa equação, que seria necessário inocular, no mínimo, 36 plantas para que se obtivesse pelo menos uma planta com resistência aos dois vírus. Para assegurar a presença das plantas resistentes, na geração F₂ foram inoculadas 300 plantas e na geração F₂RC₁, em torno de 512 plantas, dependendo da disponibilidade das sementes.

3.5 Cruzamentos

Os cruzamentos e retrocruzamentos foram realizados utilizando-se o método 2, que consiste na coleta do pólen pela manhã e conservação em refrigerador, emasculação e polinização no fim da tarde (RACHIE et al., 1975; ASSUNÇÃO et al., 2005) e o método 3, que consiste na emasculação do botão floral no fim da tarde que antecede a sua antese, com a coleta de pólen e polinização no início da manhã do dia seguinte (RACHIE et al., 1975; BLACKHURST e MILLER JUNIOR, 1980).

A emasculação foi realizada seguindo a técnica de Kheradnam e Niknejad (1971) e aperfeiçoada por Manoel Gonçalves da Silva em 1997 (Freire Filho et al., 2005), no qual realizou a abertura do botão floral pela parte ventral, com um leve corte longitudinal, não havendo necessidade de remoção das pétalas. Com isso, após a emasculação e a polinização, o estandarte, as asas e a quilha voltam à posição original, recobrando o estigma.

3.6 Método de inoculação

A inoculação mecânica dos vírus para a avaliação da resistência das plantas da geração F₂ do cruzamento biparental e cruzamento triplo e da geração F₂RC₁, consistiu na maceração de tecido foliar infectado, em almofariz, na presença de tampão fosfato de sódio 0,01M, pH 7,5, acrescido de Celite (Sigma) 0,1 g/g de folha, numa proporção de 1g de tecido foliar para 9 ml da solução. As plantas foram inoculadas seis dias após a semeadura. Após a inoculação, as mesmas foram lavadas com o auxílio de um pissete, utilizando água de torneira, para retirada do excesso do inóculo e em seguida mantidas em telado para a observação dos sintomas (NOGUEIRA, 2007).

3.7 Caracterização morfoagronômica das plantas resistentes

As plantas consideradas resistentes, ou seja, que não apresentaram nenhum sintoma dos vírus inoculados foram transplantadas para telado, para realização da caracterização morfoagronômica.

O espaçamento utilizado entre plantas foi de 0,5 m e entre fileira 1,4 m. Foram avaliados os seguintes caracteres morfoagronômicos: número de dias para o início da floração (NDIF), comprimento de vagem (CPV), número de grãos por vagem (NGV), peso de cem grãos (PCG), produtividade de grãos por planta (PGP). Para a coleta de dados das características CPV e NGV utilizou-se cinco vagens tiradas ao acaso de cada planta.

O cultivo foi realizado em telado sob irrigação, utilizando-se sistema de gotejamento. Os tratos culturais constituíram de capinas manuais e pulverizações, seguindo-se as recomendações de manejo para a cultura. As colheitas foram iniciadas em torno de 70 dias após a semeadura, tendo sido realizadas quatro colheitas com intervalos de uma semana.

3.8 Área experimental

Os experimentos foram conduzidos em telado, na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, no Centro de Pesquisa Agropecuária do Meio-Norte - CPAMN, em Teresina-PI, localizada a 05° 05' de latitude Sul, 42°48' de longitude Oeste, com 72 metros de altitude e clima classificado como Tropical sub-úmido quente, junto ao Programa de Melhoramento Genético de Feijão-caupi (Figura 6).



Figura 6. **A.** Telado utilizado na condução dos experimentos. **B.** Plantas F_2RC_1 resistentes aos vírus CPSMV e CABMV, em fase de floração.

3.9 Análises estatísticas

3.9.1 Teste do Qui-Quadrado

As frequências das segregações observadas foram avaliadas em relação às frequências esperadas, em todos os cruzamentos e retrocruzamentos, pelo teste não-paramétrico do χ^2 (Qui-Quadrado), tanto na geração F_2 dos cruzamentos biparentais e cruzamento triplo quanto nas gerações F_2RC_1 . E em seguida realizou-se o teste de heterogeneidade das segregações segundo Mather (1951).

3.9.2 Análise de variância

Antes de proceder à análise estatísticas dos dados, realizou-se uma análise de resíduo para os caracteres em todos os retrocruzamentos, conforme a metodologia adotada por Parente (1984); Garcia et al. (2002). Essa análise tem a finalidade de avaliar a existência de dados discrepantes, a heterocedasticidade de variâncias, distribuição normal dos erros e pressuposição da independência dos erros. Para as características NDIF e NGV optou-se pela transformação dos dados para \sqrt{x} em todos os cruzamentos.

A análise de variância foi realizada segundo o modelo inteiramente casualizado com número de repetições desiguais, utilizando o programa estatístico SAS (SAS INSTITUTE, 2000).

3.9.3 Análise de médias

O teste 't' de Student foi utilizado para a comparação das médias das plantas F_2RC_1 resistentes, de cada retrocruzamento, com seu respectivo parental recorrente e o teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade para o agrupamento de médias dos retrocruzamentos. (ZIMMERMANN, 2004).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização das plantas

As plantas das cultivares utilizadas como genitores recorrentes, inoculadas com os vírus *Cowpea severe mosaic virus* - CPSMV sorotipos I e II e *Cowpea aphid-borne mosaic virus* - CABMV apresentaram sintomas de mosaico severo, lesões locais cloróticas e necróticas, confirmando a suscetibilidade aos citados isolados virais. Enquanto que a cultivar Patativa e a linhagem TE 97-309G-9 utilizadas como genitores resistentes não apresentaram sintomas de infecção, confirmando-se desse modo a resistência de ambas aos isolados virais de CPSMV e CABMV.

Na geração F₂ dos cruzamentos biparentais e cruzamento triplo, o número de plantas que não apresentaram sintomas de infecção variou de 14 a 17 plantas, sendo estas consideradas resistentes, e o número de plantas suscetíveis variou de 274 a 285. Os resultados mencionados acima estão apresentados na Tabela 3.

O teste de heterogeneidade para a segregação das gerações F₂, envolvendo os oito cruzamentos, mostrou que houve homogeneidade na segregação, na proporção de 15 suscetíveis: 1 resistente (Tabela 3).

Na geração F₂RC₁, o número de plantas suscetíveis variou de 304 a 507 plantas, e o número de plantas resistentes variou de 10 a 43 (Tabela 4).

Na segregação das gerações F₂RC₁, o teste de heterogeneidade incluindo os oito retrocruzamentos, mostrou que não houve homogeneidade na segregação. Esse resultado pode ser justificado pelos valores de χ^2 muito acima do esperado nos retrocruzamentos [(BR3 Tracuateua × Patativa) × BR3 Tracuateua] e {[BRS-Guariba × (Pretinho × TE 97-309G-9)] × BRS-Guariba}. As evidências indicam que os desvios nesses retrocruzamentos ocorreram devido ao ataque de fungo, possivelmente o *Colletotrichum truncatum* (Schw.) Andrus & Moore, ataque esse que causou morte de muitas plantas que haviam sido selecionadas como resistentes. Entretanto, fazendo-se o teste de heterogeneidade excluindo essas duas populações, as segregações mostraram-se homogêneas, na proporção de 15 suscetíveis: 1 resistente. Na Tabela 4, é apresentado o teste de heterogeneidade realizado com os oito retrocruzamentos e em seguida somente com os seis retrocruzamentos nos quais houve morte apenas de um pequeno número de plantas.

Os sintomas apresentados nas plantas suscetíveis na geração F₂ do cruzamento biparental e cruzamento triplo, bem como na geração F₂RC₁ foram: mosaico severo, clareamento das nervuras, bolhosidade, lesões locais cloróticas e necróticas, e estão de acordo com os descritos por Lima et al. (1998) (Figura 7).

A análise da segregação das plantas F₂ dos cruzamentos biparentais e cruzamento triplo, está de acordo com a proporção conjunta esperada 15: 1 (suscetíveis: resistentes) avaliada pelo teste do χ^2 (Tabela 3).

Tabela 3. Dados da reação dos genitores e plantas da geração F₂ do cruzamento biparental e cruzamento triplo, inoculados mecanicamente com a mistura dos vírus *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) sorotipos I e II e *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) no primeiro ciclo de inoculações e teste de heterogeneidade. Teresina-PI, 2010.

Populações	Geração	N° de plantas		Segregação esperada	χ^2 1 gl	P
		Suscetível	Resistente			
BRS-Tracuateua	Parental	20	-	-	-	-
BRS-Urubuquara	Parental	20	-	-	-	-
BRS-Guariba	Parental	20	-	-	-	-
BRS-Novaera	Parental	20	-	-	-	-
Pretinho	Parental	20	-	-	-	-
TE97-309G-9	Parental	-	20	-	-	-
Patativa	Parental	-	20	-	-	-
(BRS-Tracuateua × TE97-309G-9)	F ₂	274	14	15:1	0,94	0,50-0,25
(BRS-Urubuquara × TE97-309G-9)	F ₂	284	16	15:1	0,43	0,75-0,50
(BRS-Novaera × TE97-309G-9)	F ₂	285	15	15:1	0,80	0,50-0,25
(Pretinho × TE97-309G-9)	F ₂	285	15	15:1	0,80	0,50-0,25
(BR3 Tracuateua × Patativa)	F ₂	283	17	15:1	0,17	0,75-0,50
(BRS-Urubuquara × Patativa)	F ₂	285	15	15:1	0,80	0,50-0,25
(BRS-Novaera × Patativa)	F ₂	284	16	15:1	0,43	0,75-0,50
[BRS-Guariba × (Pretinho × TE97-309-9)]	F ₂	283	17	15:1	0,17	0,75-0,50
Total	F ₂	2263	125	15:1	4,54	-

Teste de heterogeneidade

Geração	Segregação esperada		G.L.	Probabilidade
F ₂	15:1	$\sum \chi^2$	4,54	8
		χ^2 do total das classes	4,20	1
		Heterogeneidade ⁽¹⁾	0,34	7

⁽¹⁾ Teste de heterogeneidade da geração F₂ dos cruzamentos biparentais e cruzamento triplo estudados;

Tabela 4. Dados da reação dos genitores e plantas da geração F₂RC₁, inoculados mecanicamente com a mistura dos vírus *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) sorotipos I e II e *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV), no segundo ciclo de inoculações e teste de heterogeneidade. Teresina-PI, 2010.

Populações	Geração	Nº de Plantas		Segregação Esperada	χ^2 1 gl	Probabilidade
		Suscetível	Resistente			
BRS-Tracueteua	Parental	16	-	-	-	-
BRS-Urubuquara	Parental	16	-	-	-	-
BRS-Guariba	Parental	16	-	-	-	-
BbRS-Novaera	Parental	16	-	-	-	-
Pretinho	Parental	16	-	-	-	-
TE97-309G-9	Parental	-	16	-	-	-
Patativa	Parental	-	16	-	-	-
[(BRS-Tracueteua × TE97-309G-9) × BRS-Tracueteua]	RC ₁ F ₂	241	23	15:1	2,73	0,10-0,05
[(BRS-Urubuquara × TE97-309G-9) × BRS-Urubuquara]	RC ₁ F ₂	468	27	15:1	0,53	0,50-0,25
[(BRS-Novaera × TE97-309G-9) × BRS-Novaera]	RC ₁ F ₂	354	25	15:1	0,08	0,90-0,75
[(Pretinho × TE97-309G-9) × Pretinho]	RC ₁ F ₂	469	36	15:1	0,65	0,50-0,25
[(BR3 Tracueteua × Patativa) × BRS-Tracueteua]	RC ₁ F ₂	507	10	15:1	16,4	<0,01
[(BRS-Urubuquara × Patativa) × BRS-Urubuquara]	RC ₁ F ₂	466	21	15:1	3,10	0,10-0,05
[(BRS-Novaera × Patativa) × BRS-Novaera]	RC ₁ F ₂	304	24	15:1	0,66	0,50-0,25
{[BRS-Guariba × (Pretinho × TE97-309-9)] × BRS-Guariba}	RC ₁ F ₂	455	43	15:1	4,83	0,05-0,02
Total	RC ₁ F ₂	3264	209	15:1	28,98	-

Teste de heterogeneidade

Geração	Segregação esperada		G.L.	Probabilidade
F ₂ RC ₁	15:1	$\sum \chi^2$	28,98	8
		X ² do total das classes	0,24	1
		Heterogeneidade ⁽¹⁾	28,74	7

⁽¹⁾Teste de heterogeneidade da geração F₂RC₁ envolvendo os oito retrocruzamentos estudados;

Geração	Segregação esperada		G.L.	Probabilidade
F ₂ RC ₁	15:1	$\sum \chi^2$	7,75	6
		X ² do total das classes	0,04	1
		Heterogeneidade ⁽²⁾	7,71	5

⁽²⁾Teste de heterogeneidade da geração F₂RC₁ envolvendo apenas os seis retrocruzamentos que obedeceram a segregação esperada de 15 plantas suscetíveis :1 planta resistente;

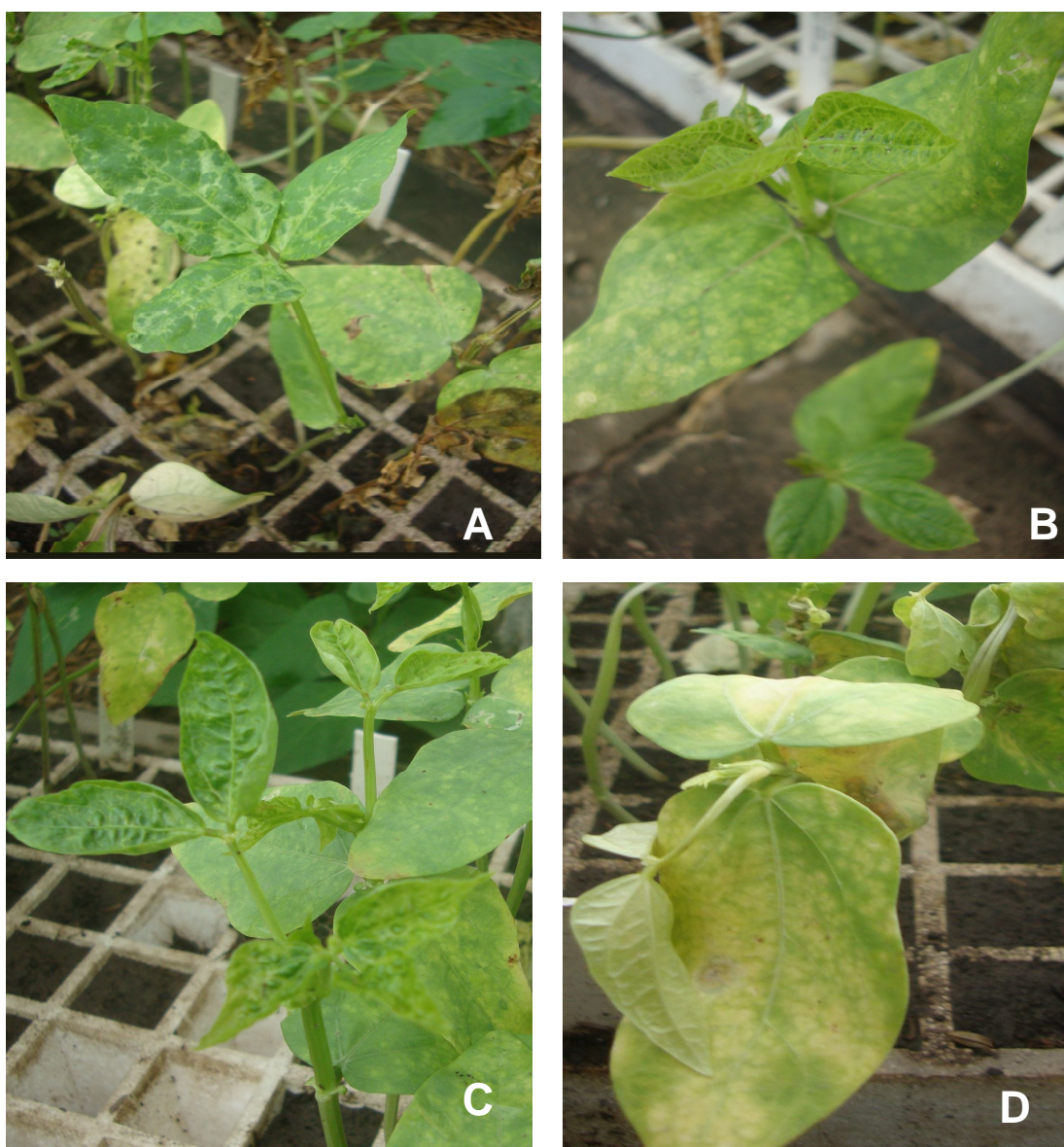


Figura 7. Sintomas observados nas plantas inoculadas com os vírus CPMV sorotipos I e II e CABMV na geração F₂RC₁. **A:** Mosaico severo; **B:** Lesões locais cloróticas e clareamento das nervuras; **C:** Bolhosidade; **D:** Lesões locais cloróticas e necróticas.

No que se refere a resistência da cultivar Patativa ao CPMV, como se trata de uma linhagem que tem em sua genealogia a cultivar Macaibo, imune a esse vírus (LIMA e NELSON, 1977), os resultados estão em acordo com o trabalho de Vale e Lima (1995). No caso da resistência da linhagem TE 97-309G-9 ao CPMV, uma vez que essa linhagem tem em sua genealogia a cultivar CNC-0434, imune ao CPMV (RIOS et al., 1982), os resultados estão de acordo com o trabalho de Nogueira (2003). Esses resultados também corroboram com Assunção et al. (2005) que identificaram herança monogênica recessiva nas cultivares Macaibo e CNC-0434.

No caso da resistência ao CABMV, não foi encontrada na literatura nenhuma referência que relatasse a ocorrência dessa resistência nos genitores da cultivar Patativa, supõe-se que a mesma provem da linhagem TVx 1836-013J (Figura 2). Entretanto, na

linhagem TE 97-309G-9, a resistência provem da linhagem TVu 410 (SANTOS et al., 1978) (Figuras 1) .

4.2 Análise de variância

Os valores dos quadrados médios e coeficientes de variação (CV) obtidos nas análises de variância dos retrocruzamentos são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Quadrados médios, coeficientes de variação (CV) dos caracteres agrônomicas das plantas F₂RC₁ resistentes oriundas de oito retrocruzamentos de feijão-caupi para identificação e caracterização de plantas resistentes aos vírus *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) e *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). Teresina, PI, 2010.

Fonte de variação	Grau de liberdade	Quadrados médios				
		Número de dias para o início da floração ⁽¹⁾	Comprimento da vagem	Número de grãos por vagem ⁽¹⁾	Peso de cem grãos	Produtividade de grãos da planta
Retrocruzamentos	7	1,9689**	63,2170**	2,0755**	108,6515*	7897,1331**
Resíduo	201	0,0338	1,7182	0,0475	1,0836	40,3717
Coeficiente de variação (%)		2,40	7,90	6,20	6,07	13,18

** 1% de probabilidade, pelo teste T;

⁽¹⁾: Análise realizada com dados transformados para \sqrt{x} ;

Para todos os caracteres estudados, os valores do quadrado médio diferiram significativamente pelo teste t ($P < 0,01$), evidenciando a existência de alta variabilidade genética para estas características. Estes resultados corroboram com Lopes et al. (2001) que também constataram valores significativos para estes caracteres avaliando linhagens de feijão-cupi.

Para os caracteres NDIF, CPV, NGV, PCG, a magnitude do CV foi inferior a 10%, somente o caráter PGP apresentou um CV superior a esse valor, indicando uma boa precisão experimental. Bezerra et al. (2008) encontraram um CV para este caráter de 14,60%.

4.3 Análise de médias

4.3.1 Comparação da média do retrocruzamento com a média do parental recorrente

O teste 't' de Student utilizado para a comparação de média do retrocruzamento com a média do parental recorrente permitiu detectar diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade para todos os caracteres nos retrocruzamentos [(BR3 Tracueteua × TE 97-309G-9) × BR3 Tracueteua], [(BRS Urubuquara × TE97-309G-9) × BRS Urubuquara], [(BRS Novaera × TE 97-309G-9) × BRS Novaera], [(BRS Urubuquara × Patativa) × BRS Urubuquara e o [(BRS Guariba × (Pretinho × TE 97-309G-9)) × BRS Guariba]. Apenas no retrocruzamento [(BRS Novaera × Patativa) × BRS Novaera] o caráter número de grãos por vagens foi significativo ao nível de 5% de probabilidade. Nos retrocruzamentos

[(Pretinho × TE 97-309G-9) × Pretinho] e [(BR3 Tracuateua × Patativa) × BR3 Tracuateua] o caráter comprimento de vagem obtiveram resultados não-significativos. Desse modo, o cálculo do intervalo de confiança das médias das plantas resistentes para esses cruzamentos foram de 25% e 50% de probabilidade, respectivamente.

As médias das plantas F_2RC_1 resistentes com suas variâncias, médias dos parentais recorrentes, teste 't' e o intervalo de confiança das médias estão apresentados na Tabela 6.

Para o caráter número de dias para o início da floração, as médias das plantas resistentes de todos os retrocruzamentos foram superiores ao seu respectivo parental recorrente, indicando que os mesmos são mais precoces que as plantas resistentes obtidas.

O caráter comprimento de vagem, nos retrocruzamentos [(BRS Urubuquara × TE97-309G-9) × BRS Urubuquara], [(BRS Novaera × TE97-309G-9) × BRS Novaera], [(BR3 Tracuateua × Patativa) × BR3 Tracuateua], [(BRS Urubuquara × Patativa) × BRS Urubuquara] e [(BRS Novaera × Patativa) × BRS Novaera], as médias das plantas resistentes apresentaram-se superiores a média do seu respectivo parental recorrente. E os retrocruzamentos com médias inferiores, apresentaram um intervalo de confiança maior ou muito próximo a média do parental recorrente. Isso significa que existem plantas nesses retrocruzamentos com médias superiores ou iguais ao parental recorrente.

Para o caráter número de grãos por vagens, as plantas resistentes de todos os retrocruzamentos superaram a média do seu respectivo parental recorrente.

No caráter peso de cem grãos, as médias dos parentais recorrentes foram superiores as médias das plantas resistentes de todos os retrocruzamentos. Embora as médias das plantas resistentes dos retrocruzamentos [(BRS Urubuquara × TE97-309G-9) × BRS Urubuquara], [(Pretinho × TE97-309G-9) × Pretinho] e [(BRS Urubuquara × Patativa) × BRS Urubuquara] tenha sido inferior as médias dos parentais recorrentes, os intervalos de confiança desses retrocruzamentos apresentavam-se muito próximo das médias dos parentais recorrentes, indicando que existem plantas resistentes que possuem média muito próxima ao seu respectivo parental recorrente.

Para o caráter produtividade de grãos da planta, em todos os retrocruzamentos, as médias das plantas resistentes foram superiores as médias dos parentais recorrentes. Exceção feita aos retrocruzamentos que tinham como parental recorrente a cultivar BR3 Tracuateua “[(BR3 Tracuateua × TE97-309G-9) × BR3 Tracuateua] e [(BR3 Tracuateua × Patativa) × BR3 Tracuateua] que apresentam média de 89,70g, superior as médias das plantas resistentes obtidas nesses dois retrocruzamentos. As plantas resistentes obtidas desses retrocruzamentos serão bastante importante para o programa de melhoramento de plantas, visando obtenção de novas cultivares, uma vez que são resistentes aos principais vírus, CPSMV e CABMV, que infectam a cultura do feijão-caupi e bastante produtivas.

4.3.2 Comparação da média entre retrocruzamentos

Os resultados da comparação de médias entre os retrocruzamentos pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade, estão apresentados na Tabela 7. Este teste permitiu detectar diferenças entre os retrocruzamentos para todos os caracteres, confirmando a existência de variabilidade genética também entre retrocruzamentos.

A média geral para o caráter número de dias para o início da floração, dados transformados para \sqrt{x} , foi de 7,67. Os retrocruzamentos foram separados em seis grupos, com as médias variando de 7,34 a 8,89 dias. O retrocruzamento que se apresentou como mais precoce foi [(BR3 Tracuateua × TE 97-309G-9) × BR3 Tracuateua] (7,34 dias)

diferindo estatisticamente dos demais. Esta média indica que plantas oriundas desse retrocruzamento representam uma importante fonte de genes para o desenvolvimento de cultivares precoces.

O caráter comprimento da vagem teve uma média geral de 16,60 cm e os retrocruzamentos foram divididos em cinco grupos. Dois retrocruzamentos se destacaram por possuir a média de comprimento de vagem acima de 17,00 cm. O retrocruzamento {[BRS Guariba × (Pretinho × TE 97-309G-9)] × BRS Guariba} foi o que apresentou o maior comprimento de vagem (18,69 cm), seguido do retrocruzamento [(Pretinho × TE 97-309G-9) × Pretinho] (17,96 cm), mas ambos diferiram significativamente entre si. O retrocruzamento [(BR3 Tracuateua × TE 97-309G-9) × BR3 Tracuateua] apresentou o menor comprimento de vagem (13,94 cm), diferindo estatisticamente dos demais. Oliveira et al. (2002), em um estudo envolvendo linhagens e cultivares de feijão-caupi, encontraram valores médios variando de 17,0 cm a 26,0 cm. Lopes et al. (2001); Teixeira et al. (2007) obtiveram média geral de 17,09 cm e 14,55 cm, respectivamente.

Para o caráter número de grão por vagens, os retrocruzamentos foram separados em quatro grupos e com média geral de 3,51 grãos/vagens, dados transformados para \sqrt{x} . Destacou-se para este caráter, o retrocruzamento [(Pretinho × TE 97-309G-9) × Pretinho] (3,91 grãos/vagens) diferindo estatisticamente dos demais e apresentando uma média superior a média geral. O retrocruzamento [(BR3 Tracuateua × TE 97-309G-9) × BR3 Tracuateua] foi o que apresentou a menor média para esse caráter, não diferindo estatisticamente dos retrocruzamentos [(BRS Urubuquara × TE 97-309G) × BRS Urubuquara], [(BR3 Tracuateua × Patativa) × BR3 Tracuateua] e [(BRS Novaera × Patativa) × BRS Novaera]. Matos Filho et al. (2009) avaliando o potencial produtivo em progênies de feijão-caupi, encontraram valor médio para esse caráter de 7,15 grãos/vagem, semelhante a média geral dos retrocruzamentos.

O caráter peso de cem grãos, apresentou uma amplitude de 13,46g a 19,33g, com uma média geral de 17,15g. Para esse caráter foram formados cinco grupos de retrocruzamentos, com destaque para o retrocruzamento [(BRS Novaera × Patativa) × BRS Novaera]. Entretanto quatro retrocruzamentos apresentaram o peso de cem grãos acima da média geral. Vieira et al. (2000) estudando o comportamento de feijão-caupi do tipo fradinho na Zona da Mata de Minas Gerais, encontraram valor médio para esse caráter 13,70g em um experimento na cidade de Ponte Nova; Lopes et al. (2001), obtiveram valor médio de 12,84g. Ambos inferiores, se comparado com a média geral de cada retrocruzamentos. Passos et al. (2007) avaliando a divergência genética em feijão-caupi, obtiveram média geral para peso de cem grãos em genótipos de porte ereto e prostrado de 14,5g e 18,5g, respectivamente. Teixeira et al. (2007) encontraram valor médio de 17,13 para esse caráter. É importante mencionar que o tamanho do grão é um caráter bastante importante, pois quanto maior o grão, melhor a aceitação de mercado.

Para o caráter produtividade de grãos da planta houve a formação de cinco grupos com a média variando de 68,97g a 18,51g. A média geral foi de 48,21g. Entretanto os retrocruzamentos [(BRS Urubuquara × TE 97-309G-9) × BRS Urubuquara], [(BRS Novaera × TE 97-309G9) × BRS Novaera], [(Pretinho × TE 97-309G-9) × Pretinho] e {[BRS Guariba × (Pretinho × TE 97-309-9)] × BRS Guariba} apresentaram médias de produção superior à média geral. O retrocruzamento que mais se destacou para esse caráter foi o [(BRS Urubuquara × TE 97-309G-9) × BRS Urubuquara], diferindo estatisticamente dos demais. As plantas resultantes deste retrocruzamento são bastante promissoras para o programa de melhoramento de plantas, pois além de possuírem os genes de resistências aos vírus CPSMV e CABMV, são bastante produtivas.

Tabela 6. Comparação de médias das plantas F₂RC₁ resistentes com seus respectivos genitores recorrentes. Teresina-PI, 2010. ‘Continua’

Retrorruzamentos	Caracteres	Plantas resistentes da F ₂ RC ₁		Média Parental recorrente	Teste T	Intervalo de confiança ⁽¹⁾
		Médias	Variância			
[(BR3 Tracuateua × TE 97-309G-9) × BR3 Tracuateua]	NDIF	53,89	0,04	43,70	16,55**	52,15<m<55,63
	CPV	13,94	1,86	15,50	-5,48**	13,14<m<14,74
	NGV	9,97	0,07	7,90	5,80**	8,97<m<10,98
	PCG	15,99	1,63	25,60	-36,08**	15,25<m<16,75
	PGP	17,10	70,13	89,70	-41,58**	12,18<m<22,02
[(BRS Urubuquara × TE 97-309G-9) × BRS Urubuquara]	NDIF	58,37	0,03	41,00	35,93**	57,02<m<59,71
	CV	15,50	1,70	13,80	6,80**	14,81<m<16,20
	NGV	10,91	0,06	7,90	9,43**	10,02<m<11,80
	PCG	18,29	0,92	19,90	-8,74**	17,78<m<18,80
	PGP	68,97	9,41	29,00	67,71**	67,33<m<70,61
[(BRS Novaera × TE 97-309G-9) × BRS Novaera]	NDIF	65,37	0,02	41,40	45,95**	63,91<m<66,83
	CV	15,96	2,40	14,60	4,37**	15,09<m<16,82
	NGV	12,30	0,06	10,10	6,44**	11,35<m<13,26
	PCG	17,64	0,75	22,00	-25,15**	17,15<m<18,12
	PGP	62,01	33,27	24,30	32,69**	58,78<m<65,24
[(BRS Pretinho × TE 97-309G-9) × BRS Pretinho]	NDIF	56,76	0,06	49,60	11,95**	55,13<m<58,40
	CV	17,57	1,20	17,70	-0,71 ^{ns ++}	17,36<m<17,78
	NGV	15,31	0,03	14,20	4,80**	14,68<m<15,94
	PCG	13,46	1,08	14,50	-6,02**	12,98<m<13,93
	PGP	59,01	42,22	15,70	39,99**	56,06<m<61,96
[(BR3 Tracuateua × Patativa) × BR3 Tracuateua]	NDIF	68,58	0,02	43,70	30,80**	65,96<m<71,21
	CV	15,51	1,96	15,50	0,02 ^{ns+}	15,20<m<15,82

‘Tabela 6. Continuação’.

Retrocruzamentos	Caracteres	Plantas resistentes da F ₂ RC ₁		Média Parental recorrente	Teste T	Intervalo de confiança ⁽¹⁾
		Médias	Variância			
	NGV	10,76	0,07	7,90	5,24**	8,99<m<12,53
	PCG	16,41	1,59	25,60	-22,99**	15,11<m<17,71
	PGP	18,51	45,78	89,70	-33,22**	11,55<m<25,46
[(BRS Urubuquara × Patativa) × BRS Urubuquara]	NDIF	58,26	0,01	41,00	48,07**	57,24<m<59,28
	CV	16,19	1,60	13,80	8,67**	15,40<m<16,97
	NGV	11,93	0,05	7,90	12,31**	11,00<m<12,86
	PCG	18,37	1,07	19,90	-6,79**	17,72<m<19,01
	PGP	38,50	41,81	29,00	6,73**	34,48<m<42,51
[(BRS Novaera × Patativa) × BRS Novaera]	NDIF	62,32	0,03	41,40	37,57**	60,76<m<63,89
	CV	16,65	1,80	14,60	7,50**	15,88<m<17,42
	NGV	10,80	0,05	10,10	2,31*	10,17<m<11,42
	PCG	19,33	0,56	22,00	-17,49**	18,90<m<19,76
	PGP	40,65	39,73	24,30	12,71**	37,04<m<44,26
{[(BRS Guariba (Pretinho × TE 97-309G-9)] × BRS Guariba}	NDIF	56,23	0,03	41,40	35,29**	55,09<m<57,36
	CV	18,69	1,65	20,20	-7,68**	18,16<m<19,22
	NGV	14,12	0,02	13,60	3,02**	13,65<m<14,59
	PCG	18,20	1,28	21,60	-19,72**	17,73<m<18,66
	PGP	50,63	44,97	40,60	9,80**	47,87<m<53,39

Número de dias para o início da floração (NDIF); Comprimento de vagem (CV); Número de grãos por vagem (NGV); Peso de cem grãos (PCG) e Produtividade de grãos por planta (PGP). *,** : significativo pelo teste ‘t’ ao nível de 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

^{Ns}: Não significativo pelo teste ‘t’ a 5% e 1% de probabilidade. ^{+,++} significativo a 50% e 25% de probabilidade, respectivamente.

Tabela 7. Comparação de médias de retrocruzamentos de feijão-caupi visando a obtenção de cultivares essencialmente derivadas e novas cultivares resistentes aos vírus *Cowpea severe mosaic virus* – CPSMV e *Cowpea aphid-borne mosaic virus* – CABMV para as características NDIF, CV, NGV, PCG, PGP, pelo teste Scott e Knott ao nível de 5% de probabilidade. Teresina, 2010.

Cruzamentos	Características				
	Número de dias para o início da floração ⁽¹⁾	Comprimento da vagem	Número de grãos por vagem ⁽¹⁾	Peso de cem grãos	Produtividade de grãos da planta
[(BR3 Tracueteua × TE 97-309G-9) × BR3 Tracueteua]	7,34 f *	13,94 e	3,15 d	15,99 d	17,10 e
[(BRS Urubuquara × TE 97-309G-9) × BRS Urubuquara]	7,63 d	15,50 d	3,29 d	18,29 b	68,97 a
[(BRS Novaera × TE 97-309G-9) × BRS Novaera]	8,08 b	15,96 d	3,50 c	17,64 c	62,01 b
[(BRS Pretinho × TE 97-309G-9) × BRS Pretinho]	7,53 e	17,57 b	3,91 a	13,46 e	59,01 b
[(BR3 Tracueteua × Patativa) × BR3 Tracueteua]	8,28 a	15,51 d	3,27 d	16,41 d	18,51 e
[(BRS Urubuquara × Patativa) × BRS Urubuquara]	7,63 d	16,19 c	3,45 c	18,37 b	38,50 d
[(BRS Novaera × Patativa) × BRS Novaera]	7,89 c	16,65 c	3,28 d	19,33 a	40,65 d
{[(BRS Guariba (Pretinho × TE 97-309G-9)] × BRS Guariba}	7,50 e	18,69 a	3,75 b	18,20 d	50,63 c
Média geral	7,67	16,60	3,51	17,15	48,21

⁽¹⁾: Análise realizada com dados transformados para \sqrt{x} ;

* Médias seguidas por diferentes letras na coluna diferem estatisticamente, entre si, pelo Teste Scott e Knott a 5% de probabilidade.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nesta pesquisa permitem as seguintes conclusões:

- a) A segregação conjunta dos genes de resistência aos vírus CPSMV e CABMV obedeceu a proporção de 15:1 (suscetíveis: resistentes);
- b) Foi detectada variabilidade genética dentro e entre os cruzamentos para todos os caracteres avaliados;
- c) Todos os cruzamentos são promissores para a obtenção de cultivares essencialmente derivadas resistentes simultaneamente aos vírus CPSMV e CABMV.
- d) Os retrocruzamentos [(BRS-Urubuquara × TE 97-309G-9) × BRS-Urubuquara], [(BRS-Novaera x TE 97-309G -9) × BRS-Novaera], [(BRS-Urubuquara x Patativa) × BRS-Urubuquara] e [(BRS- Novaera x Patativa) × BRS-Novaera] além de se mostrarem promissores para a obtenção de cultivares essencialmente derivadas, apresentaram os maiores potenciais para obtenção de novas cultivares com resistência múltipla aos vírus CPSMV e CABMV.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, J. P. P.; RIOS, G. P.; WATT, E. E.; NEVES, B. P.; FAGERIA, N. K.; OLIVEIRA, I. P.; GUIMARÃES, C. M.; SILVEIRA-FILHO, A. **Cultura do Caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp; descrição e recomendações técnicas de cultivo.** EMBRAPA, Circular Técnica. 82p. 1984

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology.** San Diego, Academic Press, 2005. 948p.

ANDRADE, G. P de.; PIO-RIBEIRO, G. Estratégias e métodos aplicados ao controle de fitoviroses. In: MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. **Proteção de plantas na agricultura sustentável.** Recife-PE: UFRPE, Imprensa Universitária, p. 171-181, 2001.

ASSUNÇÃO, I. P.; M.- FILHO, L. R.; RESENDE, L. V.; BARROS, M. C. S.; LIA, G. S. A.; COELHO, R. S. B.; LIMA, J. A. A. Genes diferentes podem conferir a resistência ao Cowpea severe mosaic virus em caupi. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 274-278, 2005.

ATHAYDE SOBRINHO, C.; VIANA, F. M. P.; SANTOS, A. A. dos. Doença do Feijão-caupi. In: CARDOSO, M. J. **A cultura do feijão-caupi no Meio-Norte do Brasil.** Teresina: Embrapa Meio-Norte, p. 157-177. 2000. (Embrapa Meio-Norte Circular Técnica, 28).

ATHAYDE SOBRINHO, C.; VIANA, F. M. P.; SANTOS, A. Doenças Fúngicas e Bacterianas. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. (eds). **Feijão-caupi avanços tecnológicos.** Brasília, Embrapa Informação Tecnológica. p. 461-484, 2005.

AKINJOGUNLA, O. J.; TAIWO, M. A.; KAREEM, K.T. Immunological and molecular diagnostic methods for detection of viruses infecting cowpea (*Vigna unguiculata*). **African Journal of Biotechnology**. v. 7, p. 2099-2103, 2008.

BATISTA, M. F.; COSTA, C. L.; KITAJIMA, E. W.; LIN, M. T. Transmissão de um isolado do vírus do mosaico severo do caupi por besouro crisomelídeos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 13, p. 264-268, 1988.

BARRETO, P. D.; SANTOS, A. A. **Avaliação de genótipos de feijão-de-corda sob infecção simultânea por “Cowpea aphid-borne mosaic virus” e “Cucumber mosaic virus”.** Fortaleza: Embrapa – CNPAT, 1999, 15p. (Embrapa CNPAT. Boletim Técnico n. 25).

BARROS, M. C. da S. **Efeito do cowpea severe mosaic virus na taxa fotossintética e na produtividade de plantas de caupi *Vigna unguiculata* L. (walp) e avaliação da eficiência do acibenzolar-s-metil na indução de resistência ao mosaico severo.** 31p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2007

BLACKHURST, H. T.; MILLER JUNIOR., J. C. Cowpea. In: WALTER, R.; HENRY, H. H. **Hybridization of Crop Plants.** Madison. 1980. p. 327-337.

- BEDENDO, I. P. Vírus. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1 p.132-160.
- BEZERRA, A. A. de C. **Variabilidade e diversidade genética em caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] precoce, de crescimento determinado e porte ereto e semi-ereto**. 105f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal Rural de Pernambuco de Recife, Recife, 1997.
- BEZERRA, A. A. de C.; TÁVORA, F. J. A. F.; FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q. Morfologia e produção de grãos em linhagens modernas de feijão-caupi submetidas a diferentes densidades populacionais. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**. v. 8, n. 1, p.85-92, 2008.
- BLUM, L. E. B.; CARES, J. E.; UESUGI, C. H. **Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas**. Brasília, 2006. 265p.
- BOOKER, H. M.; UMAHARAN, P.; MCDAVID, C. R. Effect of Cowpea severe mosaic virus on Crop Growth Characteristics and Yield of Cowpea. **Plant Disease**. V.89, p. 515-520, 2005.
- BRIOSO, P. S. T.; DUQUE, F. F.; SAYÃO, F. A. D.; LOURO, R. P.; KITAJIMA, E.W.; OLIVEIRA, D. E. Vírus do mosaico severo do caupi - infecção natural em mungo verde, *Vigna radiata*. **Fitopatologia Brasileira**, v.19, p. 420-429, 1994.
- BRIOSO, P. S. T.; SANTIAGO, L. J. M.; ANJOS, J. R. N.; OLIVEIRA, D. E. Identificação de espécies do gênero comovirus através de “Polymerase Chain Reaction”. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 219-225, 1996.
- BRIOSO, P. S. T. Técnicas moleculares na identificação de vírus em Feijão-caupi. In: VI REUNIÃO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI e I CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE CAUPI. 57., 2006, Teresina. **Anais...** Teresina, Tecnologia para o agronegócio. Embrapa. 2006.
- CARDOSO, M. J.; RIBEIRO, V. Q.; MELO, F. de. B. Cultivos consorciados. In: CARDOSO, M. J. (Ed.) **A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2000. p.107-113. (Embrapa Meio-Norte. Circular Técnica, 28)
- CAMARÇO, R. F. E. A.; NASCIMENTO, A. K. da.; ANDRADE, E. C. de.; LIMA, J. A. A. Biological, serological and molecular comparison between isolates of *Cowpea severe mosaic virus*. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 4, p. 239-244, 2009.
- COSTA, C. L.; LIN, M. T.; KITAJIMA, E. W.; SANTOS, A. A.; MESQUITA, R. C. M.; FREIRE, F. R. F. *Cerotoma arcuata* (Oliv.) um crisomelídeo vetor do mosaico da *Vigna* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.3, n.2, p.81-82, 1978. (Suplemento)
- FIGUEIREDO, A. R.; FREIRE FILHO, F. R.; BRIOSO, P. S. T. Avaliação de linhagens e cultivares de caupi à infecção pelo Cowpea aphid borne mosaic virus e detecção do vírus por RT-PCR. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – UFRRJ, 10, Seropédica, 2000. **Resumos Expandidos**. p. 23-24.

- FREIRE FILHO, F. R. Origem, evolução e domesticação do caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) In: ARAÚJO, J. P. P. de; WATT, E.E. Org. **O Caupi no Brasil**. Goiânia: EMBRAPA-CNPAP/ Ibadan: IITA, 1988. p. 25-46.
- FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D.; SANTOS, A. A. Melhoramento genético. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. (eds). Feijão-caupi: Avanços tecnológicos. Brasília, **Embrapa Informação Tecnológica**. p. 27-92, 2005.
- FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D.; SANTOS, C. A. F. **Melhoramento genético de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] na região do Nordeste**. Disponível em: <<http://www.cpatia.embrapa.br>>. Acesso em: 10 abril. 2007.
- FROTA, K. M. G.; SOARES, R. A. M.; ARÊAS, J. A. G. Composição química do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS Milênio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.2, p.470-476, 2008a.
- FROTA, K. M. G.; MENDONÇA, S.; SALDIVA, P. H. N.; CRUZ, R. J.; ARÊAS, J. A. G. Cholesterol-lowering properties of whole cowpea seed and its protein isolate in hamsters. **Journal of Food Science**, v. 73, p. 235-240, 2008b.
- GARCIA, A. A. F.; BARBIN, D.; PIEDADE, S. M. de S. **LCE 602: estatística experimental (aulas práticas)**. Piracicaba, ESALQ, 2002. 63p.
- GHAFOOR, A.; SHARIF, A.; AHMAD, Z.; ZAHID, M. A.; RABBANI, M.A. Genetic diversity in blackgram (*Vigna mungo* L. Hepper). **Field Crops Research**, v. 69, p. 183-190, 2001.
- GRANGEIRO, T. B.; CASTELLÓN, R. E. R.; ARAÚJO, F. M. M. C. de.; SILVA, S. M. de S e.; FREIRE, E. de A.; CAJAZEIRAS, J. B.; NETO, M. A.; GRANGEIRO, M. B.; CAVADA, B. S. Composição bioquímica da semente. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. (eds). **Feijão-caupi: Avanços tecnológicos**. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica. p. 337-365, 2005.
- HAMPTON, R. O.; THOTTAPPILLY, G.; ROSSEL, H.W. Viral diseases of cowpea and their control by resistance-conferring genes. In: SINGH, B. B.; MOHAO RAJ, D.R.; DASHIRELL, R.E.; JACHAIL, L.E.N. (Eds.). **Advances in Cowpea Research**. Internacional Institute of Tropical Agriculture. Ibadan, 1997, p.159-175.
- KAREEM, K. T.; TAIWO, M. A. Interactions of viruses in cowpea: effects on growth and yield parameters. **Virology Journal**, v.4, n.15, p.1-7, 2007.
- KHERADNAM, M.; NIKNEJAD, M. Crossing Technique in Cowpeas. **Iranian Journal Agriculture Research**, Teheran. v.1, n.1, p.57-58, 1971.
- LIMA, J. A. A.; NELSON, M. R. Etiology and epidemiology of mosaic of cowpea in Ceará, Brasil. **Plant Disease Report**, Washington, v. 61. n.10, p. 864-867, 1977.

LIMA, J. A. A.; SANTOS, C. D. G.; SILVEIRA, L. F. S. Comportamento de genótipos de caupi em relação aos dois principais vírus que ocorrem no Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, v. 11, p. 151-161, 1986.

LIMA, J. A. A.; SANTOS, A. A. Vírus que infectam o caupi no Brasil. In: ARAÚJO, J. P. P.; WATT, E. E. (Eds) **O caupi no Brasil**. 1988. p. 509-545.

LIMA, J. A. A.; SILVEIRA, L. F. S.; OLIVEIRA, J. P. Não transmissibilidade de “Cowpea Severe Mosaic Virus” por sementes de *Vigna unguiculata* cvs. Pitiúba e Seridó. **Fitopatologia Brasileira**, v. 14, p. 50-44, 1989.

LIMA, J. A. A.; LIMA, R. C. A.; GONÇALVES, M. F. B.; SITTOLIN, I. M. Biological and serological characteristics of a genetically different *cowpea severe mosaic virus* strain. **Virus Reviews and Research**. São Paulo, v. 3, n ½, p. 57-65, 1998.

LIMA, J. A. A.; NASCIMENTO, A. K. Q.; SILVA, G. S.; CAMARÇO, R. F. E. A. *Crotalaria paulinea*, novo hospedeiro natural do vírus do mosaico severo do caupi. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, p. 429-433, 2005a.

LIMA, J. A. A.; SITTOLIN, I. M.; LIMA, R. C. A. Diagnoses e Estratégias de Controle de Doenças Ocasionadas por Vírus. Melhoramento Genético. **FEIJÃO-CAUPI: Avanços Tecnológicos**. In: Freire Filho, F. R.; Ribeiro, V. Q.; Lima, J. A. A.; Silva, P. H. S. p. 405-459, 2005b.

LIN, M. T.; ANJOS, J. R. N.; RIOS, G. P. Serological grouping of cowpea severe mosaic virus isolats from Cental Brazil. **Phytopathology**, v.71, p.435-438, 1981.

LIN, M. T.; HILL, J. H.; KITAJIMA, E. W.; COSTA, C. L. Two new serotypes of cowpea severe mosaic virus. **Phytopathology**, v.74, p.581-585, 1984.

LOPES, A. C. A.; FREIRE FILHO, F. R.; SILVA, R. B. Q.; CAMPOS, F. L.; ROCHA, M. R. Variabilidade e correlações entre caracteres agrônômicos em caupi (*Vigna unguiculata*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 36, n. 3, p. 515-520, mar. 2001.

MATHER, K. **The measurement of linkage in heredity**. 2. ed. London: Methuen, 1951. 149p.

MARINHO, V. L. A. Técnicas imunológicas e moleculares no diagnóstico de vírus de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo. v. 9, p. 383-402, 2001.

MATOS FILHO, C. H. A.; GOMES, R. L. F.; ROCHA, M. M.; FREIRE FILHO, F. R.; LOPES, A. C. A. Potencial produtivo de progênies de feijão-caupi com arquitetura ereta de planta. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.2, mar-abr, 2009.

MELO, F. de B.; CARDOSO, M. J.; SALVIANO, A. A. C. Fertilidade do solo e adubação. In: In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. (eds). **Feijão-caupi: Avanços tecnológicos**. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica. p. 231-242, 2005.

NASCIMENTO, A. V. S.; SANTANA, E. N.; BRAZ, A. S. K.; ALFENAS, P. F.; PIORIBEIRO, G.; ANDRADE, G. P.; CARVALHO, M. G.; ZERBINI, F. M. Cowpea

aphid-borne mosaic virus (CABMV) is widespread in passionfruit in Brazil and causes passionfruit woodiness disease. **Archives of Virology**, v. 151, p. 1797-1809, 2006.

NASCIMENTO, R. R. S. do. **Levantamento de Nematóides associados à cultura do Caupi no Estado do Rio de Janeiro e avaliação de linhagens de Caupi à infecção por *Meloidogyne incógnita* raça 1, *M. javanica* e *Rotylenchulus reniformis***. 54f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008.

NOGUEIRA, M. S. R. **Desenvolvimento de sondas moleculares, identificação de fontes de resistência e estudo da herança em caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) ao Cowpea severe mosaic virus e Cowpea aphid-borne mosaic vírus**. 80 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Vegetal) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2003.

NOGUEIRA, M. S. R.; FREIRE FILHO, F. R.; PEREIRA, R. C.; SILVA, J. R.; FIGUEIREDO, D. V.; BRIOSO, P. S. T. Resistência ao cowpea severe mosaic vírus sorotipo I em linhagens de feijão-caupi, oriundas do Piauí. Teresina (PI). In: VI REUNIÃO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI e I CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE CAUPI. 57., Teresina. **Anais..** Teresina, Tecnologia para o agronegócio. Embrapa, 2006. v. 121. p. 01-05.

NOGUEIRA, M. S. R. **Diferenciação molecular de sorotipos virais e estudo da resistência ao Cowpea severe mosaic virus e Cowpea aphid-borne mosaic virus em caupi**. Dissertação (Doutorado em biotecnologia vegetal) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

OLIVEIRA, I. P.; CARVALHO, A. M. A cultura do caupi nas condições de clima e solo dos trópicos úmidos de semi-árido do Brasil. In: ARAUJO, J. P. P.; WATT. E. E. (Org.) **O caupi no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa-CNPAP; Ibadá: IITA, 1988, p.65-96.

OLIVEIRA, A. P.; TAVARES SOBRINHO, J.; NASCIMENTO, J. T; ALVES, A. U; ALBUQUERQUE, I. C.; BRUNO, G. B. Avaliação de linhagens e cultivares de feijão-caupi, em Areia, PB. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 180-182, junho 2002.

PARENTE, R. C. P. **Aspectos da análise de resíduos**. 139p (Tese de Mestrado) – Universidade de São Paulo, USP, ESALQ, Piracicaba, 1984.

PAZ, C. D.; LIMA, J. A. A.; PIO-RIBEIRO, G.; ASSIS FILHO, F. M.; ANDRADE, G. P.; GONÇALVES, M. F. B. Purificação de um isolado do vírus do mosaico severo do caupi, obtido em Pernambuco, produção de antissoros e determinação de fontes de resistência em caupi. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.25, n.4, p.285-288, 1999.

PADULOSI S.; NG, N. Q. Origin, taxonomy and morphology of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In: SIGH B.B.; MOHAN, R.; DASHIELL, K. E.; JACKAI, L. E. N. (Ed.), **Advances in cowpea research**. Internacional Institute of Tropical Agriculture. Tsukuba: IITA: JIRCAS, 1997. p. 1-12.

PASSOS, M. M. **Fonte de Resistência, Diferenciação Biológica e Identificação Molecular de Sorotipos virais, e competição de genótipos de caupi no Estado do Rio**

de Janeiro. 48p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1999.

PASSOS, A. R.; SILVA, S. A.; CRUZ, P. J.; ROCHA, M. M.; CRUZ, E. M. O.; ROCHA, M. A. C.; BAHIA, H. F.; SALDANHA, R. P. Divergência genética em feijão-caupi. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 4, p. 579-586, 2007.

PIO-RIBEIRO, G.; ASSIS FILHO, F. M.; ANDRADE, G. P. Doenças do caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). In: KIMATI, H., AMORIM, I., REZENDE, J. A. M. BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia**. Doenças das plantas cultivadas. São Paulo. v. 2, p. 215-221, 2005.

PONTE, J. J. da.; ALVES, M. E. Reações do caupi cv. “Pampo” (*Vigna unguiculata*) em relação a três viroses. **Fitopatologia Brasileira**, v. 19, p. 92-94, 1994.

RACHIE, K.; RAWAL, K. M.; FRANCKOWIAK, J. D. A rapid method of hand crossing cowpeas. Ibadan, Nigéria: **Institute of Tropical Agriculture**, 1975. 5p. [IITA. Technical Bulletin, 2].

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; ZIMMERMANN, M. J. O. **Genética quantitativa em plantas autógamas**: aplicações ao melhoramento do feijoeiro. Goiânia: UFG, 1993. 271p.

RIOS, G. P.; WATT, E. E.; ARAÚJO, J. P. P. de.; NEVES, B. P. das. Cultivar CNC 0434 imune ao mosaico severo do caupi. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CAUPI, 1, 1982. Goiânia. **Resumo...** Goiânia: Embrapa-CNPAF, 1982, p. 113-115.

ROCHA, F. M. R. da; MOUSINHO, S. F.; FREIRE FILHO, F. R.; SILVA, S. M. de S.; BEZERRA, A. A. de C. Aspectos da biologia floral do caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CAUPI, 5, 2001, Teresina. Avanços tecnológicos o feijão-caupi: **Anais**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2001. p. 27-29. (Embrapa Meio-Norte. Documento, 56).

ROCHA, M. M.; LIMA, J. A. A.; FREIRE FILHO, F. R.; ROSAL, C. J. S.; LOPES, A. C. A. Resistência de genótipos de caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) de tegumento branco a isolados de vírus das famílias *Bromoviridae*, *Comoviridae* e *Potyviridae*. **Revista Científica Rural**, v.8, n.1, p. 85-92, 2003.

ROCHA, M. M.; FREIRE FILHO, F. R.; SILVA, K. J. D.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-caupi**: Biologia Floral. Teresina-PI: Embrapa Meio-Norte, 2007. (Folder).

ROCHA, M. M.; CARVALHO, K. J. M. de.; FREIRE FILHO, F. R.; LOPES, A. C. de A.; GOMES, R. L. F.; SOUSA, I. da S. Controle genético do comprimento do pedúnculo em feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.3, p.270-275, 2009.

SANTOS, A. A.; FREIRE FILHO, F. R.; MESQUITA, R. C. M.; SILVA, P. H. S. **Controle do mosaico do caupi (*Vigna sinensis* (L.) Savi.) por resistência varietal**. Teresina: Embrapa- UEPAE de Teresina, 1978. 10p. (Embrapa – UEPAE de Teresina. Comunicado Técnico, 10).

- SALES, M. G.; RODRIGUES, M. A. C. Consumo, qualidade nutricional e métodos de preparo do caupi. In: Araújo, J. P. P. Watt. E. E. (org). **O caupi no Brasil**. Brasília, ITTA, EMBRAPA, p. 695-722, 1988.
- SANTOS, A. A. Transmissão de vírus através de sementes de Caupi (*Vigna unguiculata*) no Estado do Piauí. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.12, p.90-91, 1987.
- SANTOS, F. M. L.; LIMA, J. A. A.; BARRETO, P. D. Infecções simples e múltiplas de vírus em caupi no Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n.4, p. 518-522, 1999.
- SANTOS, C. A. F.; ARAUJO, F. P. Produtividade e morfologia de genótipos de caupi em diferentes densidades populacionais nos sistemas irrigados e de sequeiros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.10, p. 1977-1984, 2000.
- SAS INSTITUTE (CARY, NC). **SAS/ STAT: User's guide**, version 8.1. Cary 2000. v.1. 943p.
- SEDCOLE, J. R. Number of plants necessary to recovery a trait. **Crop Science**, v. 17, p. 667-668, 1977.
- SHOYINKA, S. A.; THOTTAPPILY, G.; ADEBAYO, G. C.; ANNO-NYAKO, F. O. Survey on cowpea virus incidence and distribution in Nigeria. **International journal of pest management**, v. 43, n.2, p.127-132, 1997.
- SILVA, G. S. da. Nematóides. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. (eds). Feijão-caupi avanços tecnológicos. Brasília, **Embrapa Informação Tecnológica**. p. 485-497, 2005.
- SILVA, P. H. S.; CARNEIRO, J. da S.; QUINDERÉ, M. A. W. Pragás. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. (eds). Feijão-caupi avanços tecnológicos. Brasília, **Embrapa Informação Tecnológica**. p. 367-402, 2005.
- SINGH, B. B.; EHLERS, J.D.; SHARMA, B.; FREIRE FILHO, F. R. Recent progress in cowpea breeding. In: FATOKUN, C.A.; TARAWALI, S.A.; SINGH, B.B.; KORMAWA, P. M.; TAMO, M. (Ed.). **Challenges and opportunities for enhancing sustainable cowpea production**. Ibadan: IITA, 2002. p. 22-40.
- SINGH, B. B.; AJEIGBE, H.A.; TARAWALI, S.A.; FERNANDEZ-RIVERA, S.; ABUBAKAR, M. Improving the production and utilization of cowpea as food and fodder. **Field Crops Research**, v.84, n. 1-2, p.169-177, 2003.
- SOUSA, I. da S.; FREIRE-FILHO, F. R.; LOPES, A.C. de A.; ROCHA, M. de M.; RIBEIRO, V. Q.; GOMES, R. L. F.; RÊGO, M. de S. C. Determinação da taxa defecundação cruzada em feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. In: Congresso Nacional de feijão-caupi e VI Reunião Nacional de Feijão-caupi, 2006, Teresina. **Anais.. [CD-ROM]**. Teresina: Embrapa Meio-Norte.
- TAIWO, M. A.; AKINJOGUNLA, O. J. Cowpea viruses: Quantitative and qualitative effects of single and mixed viral infections. **African Journal of Biotechnology**. v. 5, p-1749-1756, 2006.

TAIWO, M. A.; KAREEM, K. T.; NSA, I. Y.; HUGHES, J.D'. A. Cowpea viruses: Effect of single and mixed infection on symptomatology and virus concentration. **Virology Journal**, v.4: 95, p.1-5, 2007.

TÉOFILO, E. M.; MAMEDE, F. B.; SOMBRA, N. S. Híbridação natural em feijão-caupi. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.23, n.4, p.1011-1012, 1999.

TÉOFILO, E. M.; PAIVA, J. B.; FILHO, S. M. Polinização artificial em feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.1, p.220-223, 2001.

TEIXEIRA, N. J. P.; MACHADO, C. F.; FREIRE FILHO, F. R.; ROCHA, M. M.; GOMES, R. L. F. Produção, componentes de produção e suas inter-relações em genótipos de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) walp.] de porte ereto. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 54, n. 314, p. 374-382, Jul/Ago, 2007.

TIMKO, M.P.; SINGH, B.B. Cowpea, a Multifunctional Legume. In: MOORE, P.H.; MING, R. (Eds.) **Genomics of Tropical Plants** (Plant Genetics and Genomics: Crops and Models). Springer, v. 1, p. 227-258, 2008.

VALE, C. C.; LIMA, J. A. A. Efeitos de infecção isoladas e mista de vírus de grupos distintos em caupi. **Fitopatologia Brasileira**, v.19, p.193-197, 1994.

VALE, C. C.; LIMA, J. A. A. Herança da imunidade da cultivar Macaibo de *Vigna unguiculata* ao vírus do mosaico severo do caupi. **Fitopatologia Brasileira**, v.20 p.30-32, 1995.

VAN REGENMORTEL, M. H. V., FAUQUET, C. M., BISHOP, D. H. L., CARSTENS, E. B., ESTES, M. K., LEMON, S. M., MANILOFF, J., MAYO, M. A., MCGEOCH D. J., PRINGLE, C. R.; WICKNER, R.B. Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses: **Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. San Diego: Academic Press, p.1167, 2000.

VIEIRA, R. F.; VIEIRA, C.; CALDAS, M. T. Comportamento do feijão-fradinho na primavera-verão na zona da mata de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.7, p.1359-1365, 2000.

VILARINHO, A. A.; FREIRE FILHO, F. R. **Avaliação de genótipos de Feijão-caupi de porte ereto no estado de Roraima**. Roraima: Embrapa Roraima, 2005. 8p. (Embrapa (Embrapa Roraima. Comunicado Técnico, 8), 2005.

ZERBINI, F. M.; MACIEL-ZAMBOLIM, E. A família Potyviridae – Parte II. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 8, p. 225-265, 2000.

ZERBINI JR, F. M.; CARVALHO, M. G de.; ZAMBOLIM, E. M. **Introdução a virologia vegetal**. Viçosa: UFV, 2002. 145p. (Caderno didático, 87).

ZIMMERNANN, F. J. P. **Estatística aplicada à pesquisa agrícola**. Santo Antônio de Goiás. GO: Embrapa Arroz e Feijão, 2004. 402p.