**CRIAÇÃO DE *Cerotoma arcuata* Oliv. (COLEOPTERA ;
CHRYSEMELIDAE) E TRANSMISSÃO DE UM ISOLADO DO
VÍRUS DO MOSAICO SEVERO DO CAUPI**

Fernando Javier Sanhueza Salas

Biólogo – Pesquisador Científico I

Instituto Biológico

Orientador: Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA

**Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiróz”, da Universidade de
São Paulo, para obtenção do título de Mestre em
Ciências, Área de concentração: Entomologia.**

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Janeiro - 1998

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Sanhueza Salas, Fernando Javier

Criação de *Cerotoma arcuata* Oliv. (Coleoptera : Chrysomelidae) e transmissão de um isolado do vírus do mosaico severo do caupi / Fernando Javier Sanhueza Salas. - Piracicaba, 1998.

95 p. : il.

Dissertação (mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1998.
Bibliografia.

1. Mosaico severo do caupi 2. Praga agrícola 3. Vaquinha 4. Vírus de planta I.
Título

CDD 632.36

**CRIAÇÃO DE *Cerotoma arcuata* Oliv. (COLEOPTERA;
CHRYSOMELIDAE) E TRANSMISSÃO DE UM ISOLADO DO
VÍRUS DO MOSAICO SEVERO DO CAUPI**

FERNANDO JAVIER SANHUEZA SALAS

Aprovada em: 17 de abril de 1998.

Comissão julgadora:

Prof. Dr. José Roberto Postali Parra

Prof. Dr. João Roberto Spotti Lopes

Prof^a. Dr^a. Maria Mércia Barradas

ESALQ/USP

ESALQ/USP

Instituto Biológico/SP

Prof. Dr. José Roberto Postali Parra
Orientador

***“ Hay hombres que luchan un día y son buenos.
Hay hombres que luchan un año y son mejores.
Hay quienes luchan muchos años y son muy buenos.
Pero hay los que luchan toda la vida: esos son los imprescindibles.”***

- Bertold Brecht

**A meus pais Gina e Fernando,
meus irmãos Rossana e Mauricio e a minha sobrinha Natalia,
pelo apoio, amor, união e principalmente pela compreensão,
em momentos difíceis e alegres. Dedico com muito carinho.**

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. José Roberto Postali Parra, pela oportunidade, orientação e conhecimentos transmitidos.

A professora Dra. Maria Mércia Barradas, pelo incansável apoio e idéias no trabalho, e acima de tudo pelos ensinamentos, compreensão e amizade dispendidos.

Ao professor Dr. José Albérico de Araújo Lima, pelo auxílio na identificação e caracterização do fitovírus empregado, realizado no Laboratório de Virologia do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal do Ceará.

Aos professores do Departamento de Entomologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, pelo conhecimento transmitido.

Aos Pesquisadores Científicos da Seção de Virologia Fitopatológica e Fisiopatologia, Addolarata Colariccio, Eliana Borges Rivas Montenegro, Jaime Carner, Lígia Maria Lembo Duarte e Maria Amélia Vaz Alexandre, pelo apoio constante e sugestões.

Ao Laboratório de Estudo de Vetores da Seção de Virologia Fitopatológica e Fisiopatologia pela cedência da área e apoio na parte prática.

Aos Engenheiros Agrônomos A. Emmanuel B. Alves de Sousa, Roberto Caracas de A. Lima, Célia Câmara do Vale, Maria de Fátima B. Gonçalves, Fernando Ivo F. Orlando, Desiré R. Bezerra Jr. e Ana Claudia

M. M. Miranda, que me auxiliaram na estadia e no desenvolvimento da parte prática na UFC/Ceará.

Ao Sr. Sérgio Viana, Chefe da Seção de Fotomicrografia do Instituto Biológico, pelos registros fotográficos.

Ao Dr. César Martins Chagas pela revisão do texto em inglês.

Ao Dr. Carlos Campaner do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, pela identificação dos espécimens empregados na criação.

Aos estagiários do Laboratório de Estudo de Vetores, Ana Claudia, Carlos Alberto, Fernanda Cabral, Mateus Luis Barradas Paciência, Marcos Facchini, Mariana N. Barbosa e Viviane T. Perri, pela ajuda na parte experimental envolvendo coletas e criação dos insetos.

Aos colegas do curso, em especial a Reginaldo Barros, Dirceu Pratissolli, Nelson Canal A. Daza, Francisco Deoclécio G. Paulino, Alcides Moino Junior e Geraldo A. Carvalho pelo apoio dispendido.

Aos meus amigos Luciana Camargo Castro ("Luca"), Alexandre Levi Rodrigues Chaves ("Alê"), Moacir Carnelós Filho ("Moa"), Patrick Jack Spencer ("França"), Charles Martins de Oliveira ("Mineiro"), Cláudio Marcelo Gonçalves de Oliveira ("Louva"), Fábio Carneiro Lima ("Biulo") e João Ezequiel ("Johnny"), pelo apoio e motivação transmitidos durante o desenvolvimento do trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Conselho de Apoio a Pesquisa (CAPES) pelas bolsas concedidas.

À Dra. Ivanete Kotait pelo apoio, oportunidades e confiança depositadas, principalmente na sua gestão junto a Diretoria Geral do Instituto Biológico, permitindo a implantação do Laboratório de Estudo de Vetores sem o qual não seria possível a conclusão do trabalho.

Ao Instituto Biológico de São Paulo, nas pessoas de seus dirigentes, que autorizaram minhas viagens de coleta de material imprescindíveis para o desenvolvimento do trabalho.

A Deus, por me fazer entender a necessidade de nunca esmorecer nos momentos difíceis e sempre continuar em frente.

A todas as mulheres que me acompanharam, tanto positiva como negativamente, durante o desenvolvimento do trabalho. Desde a minha avó - uma grande mulher - até a última companheira.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE QUADROS E TABELAS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xiii
RESUMO	xv
SUMMARY	xviii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Vírus transmitidos por coleópteros.....	4
2.2. O vírus do mosaico severo do caupi (CpSMV) :	
distribuição, características e transmissão	5
2.3. Coleópteros como vetores de fitovírus	6
2.4. O gênero <i>Cerotoma</i> sp. como vetor de fitovírus.....	8
2.5. Criação de <i>Cerotoma</i> sp.	10
2.6. Preferência alimentar de <i>Cerotoma</i> sp.	15
2.7. Mecanismo de transmissão e suscetibilidade	
da hospedeira.....	18
2.8. O papel dos estímulos físicos e químicos	
na transmissão de vírus de plantas.....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1. Vírus do mosaico severo do caupi –	
isolado de <i>Vigna luteola</i> (CpSMV-SP).....	24
3.1.1. Determinação do círculo de plantas	
hospedeiras e sintomatologia.....	24
3.1.2. Manutenção das plantas-fonte do vírus.....	25
3.2 Criação de <i>Cerotoma arcuata</i> Oliv.....	26
3.2.1 Coletas de adultos em campo.....	26
3.2.2 Postura e coleta de ovos em laboratório.....	26
3.2.3 Fase de larva.....	27
3.2.4 Fases de pré-pupa e pupa.....	28

3.2.5 Fase adulta.....	28
3.2.6 Criação de <i>Cerotoma arcuata</i> em dois tipos de substrato.....	29
3.3 Transmissão do CpSMV-SP por <i>Cerotoma arcuata</i> e outros artrópodos.....	30
3.3.1 Testes de transmissão do CpSMV-SP por diferentes artrópodos.....	30
3.3.2 Testes de transmissão por larvas de <i>Cerotoma arcuata</i>	31
3.3.3 Transmissão por adultos de <i>Cerotoma arcuata</i>	32
3.3.3.1 Comparação da transmissão por insetos coletados em campo e criados em laboratório.....	32
3.3.3.2 Comparação da transmissão por machos e fêmeas de <i>Cerotoma arcuata</i>	33
3.3.3.3 Avaliação do período de retenção do vírus por machos e fêmeas de <i>Cerotoma arcuata</i>	33
3.4 Testes de preferência alimentar de <i>Cerotoma arcuata</i> em diferentes hospedeiras (livre escolha).....	34
3.4.1 Plantas sadias (soja, feijão e caupi).....	34
3.4.2 Alimentação em plantas sadias e infectadas (soja e soja perene).....	35
4.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
4.1 Círculo de hospedeiras e sintomatologia.....	37
4.2 Criação de <i>Cerotoma arcuata</i> Oliv.	43
4.2.1 Criação de <i>Cerotoma arcuata</i> empregando diferentes relações sexuais.....	43

4.2.1.1	Duração das fases imaturas.....	43
4.2.1.2	Postura e viabilidade de ovos.....	44
4.2.1.3	Períodos de pré-oviposição e oviposição.....	46
4.2.1.4	Longevidade e fecundidade de adultos.....	49
4.2.2	Criação de <i>Cerotoma arcuata</i> em dois tipos de substrato.....	50
4.3	Transmissão do CpSMV-SP por <i>Cerotoma arcuata</i> e outros artrópodos.....	54
4.3.1	Testes de transmissão do CpSMV-SP por diferentes artrópodos.....	54
4.3.2	Transmissão por larvas de <i>Cerotoma arcuata</i>	58
4.3.3	Transmissão por adultos de <i>Cerotoma arcuata</i>	61
4.3.3.1	Comparação da transmissão por insetos coletados em campo e criados em laboratório.....	61
4.3.3.2	Comparação da transmissão por machos e fêmeas de <i>Cerotoma arcuata</i> (adultos).....	63
4.3.3.3	Avaliação do período de retenção do CpSMV-SP por machos e fêmeas de <i>Cerotoma arcuata</i>	65
4.4	Testes de preferência alimentar de <i>Cerotoma</i> <i>arcuata</i> em diferentes hospedeiras (em confinamento).....	67
4.4.1	Plantas sadias (soja, soja perene, feijão e caupi).....	67
4.4.2	Comparação da alimentação em plantas sadias e infectadas (soja e soja perene).....	70
5.	CONCLUSÕES	73
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75

LISTA DE QUADROS E TABELAS

	Página
Quadro 1 Fitovírus transmitidos por <i>Cerotoma</i> sp.....	9
Tabela 1 - Famílias e espécies vegetais inoculadas mecanicamente com o CpSMV e sintomatologia observada (após 15 dias).....	38
Tabela 2 - Características de oviposição de <i>Cerotoma</i> <i>arcuata</i> em colônias coletadas no campo e mantidas no laboratório, utilizando-se diferentes relações sexuais (♀ : ♂).....	46
Tabela 3 - Duração média (dias) dos períodos de pré-oviposição e oviposição de <i>Cerotoma arcuata</i> , utilizando-se diferentes relações sexuais (♀ : ♂).....	47
Tabela 4 - Duração das fases imaturas e ciclo total de <i>Cerotoma arcuata</i> em dois substratos	52
Tabela 5 - Avaliação da alimentação dos artrópodos nas fontes de vírus, ao final de 3 dias.....	54
Tabela 6 - Transmissão experimental do CpSMV - SP por diferentes artrópodos, para diversas espécies da família Leguminosae.....	56
Tabela 7 - Testes de transmissão por larvas de <i>Cerotoma arcuata</i>	59
Tabela 8 - Testes de transmissão do CpSMV-SP empregando adultos de <i>Cerotoma arcuata</i> coletados em campo e criados em laboratório.....	62

Tabela 9 - Avaliação do período de retenção do vírus do mosaico severo do caupi (CpSMV-SP), em plantas de feijão 'Carioca' por machos e fêmeas de <i>Cerotoma arcuata</i>	66
Tabela 10- Área foliar consumida (cm²) por <i>Cerotoma arcuata</i>, ao final de 24 horas.....	69
Tabela 11 – Área foliar consumida (cm²) por <i>Cerotoma arcuata</i>, ao final de 24 horas em plantas sadias e infectadas de soja e soja perene.....	71

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1 - Registros do vírus do mosaico severo do caupi (CpSMV) no Brasil.....	5
Figura 2 – Sintomas sistêmicos induzidos pelo CpSMV-SP em folhas de <i>Vigna</i> <i>luteola</i>	41
Figura 3 – Sintomas sistêmicos induzidos pelo CpSMV-SP em folhas de <i>Phaseolus vulgaris</i> 'Rajado'.....	41
Figura 4 – Sintomas locais e sistêmicos em <i>Glycine</i> <i>javanica</i>	42
Figura 5 – Sintomas locais nas folhas primárias de <i>Glycine max</i> 'Sta. Rosa'.....	42
Figura 6 – Ciclo de vida de <i>Cerotoma arcuata</i> : fases imaturas	45
Figura 7 – Exemplares adultos de <i>Cerotoma arcuata</i> obtidos em laboratório.....	45
Figura 8 - Postura diária de <i>Cerotoma arcuata</i> em laboratório, em colônias com diferentes relações sexuais (♀ : ♂)	49
Figura 9 - Sobrevivência de <i>Cerotoma arcuata</i> mantidos em colônias empregando relação sexual 2:1(♀ : ♂) alimentados com dieta natural (<i>Phaseolus vulgaris</i>).....	51
Figura 10 - Sobrevivência <i>Cerotoma arcuata</i> mantidos em colônias empregando relação sexual 1:1 (♀ : ♂) alimentados com dieta natural (<i>Phaseolus vulgaris</i>).....	51

Figura 11 - Valores acumulados das fases imaturas de <i>Cerotoma arcuata</i> criadas em dois substratos.....	52
Figura 12 - Peso de pupas (machos e fêmeas) de <i>Cerotoma arcuata</i> obtidas em laboratório, criadas em mistura de vermiculite + terra orgânica + areia (2:1:1).....	53
Figura 13 – Plantas de <i>Phaseolus vulgaris</i> : (feijão), apresentando sintomas após transmissão do CpSMV-SP por adultos de <i>Cerotoma arcuata</i>	60
Figura 14 - Transmissão do vírus do mosaico severo do caupi (CpSMV-SP) por machos e fêmeas de <i>Cerotoma arcuata</i> em diferentes combinações fonte de vírus x planta-hospedeira.....	64
Figura 15 – Teste de preferência alimentar de <i>Cerotoma arcuata</i> (adultos) em discos foliares de 4 espécies de leguminosas.....	68
Figura 16- Porcentagem de área foliar consumida por <i>Cerotoma arcuata</i> , ao final de 24 horas em diferentes espécies de leguminosas (2 experimentos).....	69
Figura 17- Porcentagem da área foliar consumida por <i>Cerotoma arcuata</i> , ao final de 24 horas, plantas sadias e infectadas de soja e soja perene (2 experimentos: I e II).....	70

CRIAÇÃO DE *Cerotoma arcuata* Oliv. (COLEOPTERA : CHRYSOMELIDAE) E TRANSMISSÃO DE UM ISOLADO DO VÍRUS DO MOSAICO SEVERO DO CAUPI

Autor: Fernando Javier Sanhueza Salas

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Postalí Parra

RESUMO

O coleóptero *Cerotoma arcuata* Oliv. ,1791 – “vaquinha-preta-e-amarela-da-soja” é vetor de diversos vírus de leguminosas, no Brasil, entre eles o mosaico severo do caupi (“cowpea severe mosaic *Comovirus*”- CpSM). Em 1991, detectou-se uma infecção viral em plantas de *Vigna luteola* Jacq. – Leguminosae - coletadas no litoral do estado de São Paulo e, posteriormente, o vírus foi identificado como um isolado deste *Comovirus*. Visando fornecer subsídios a uma melhor compreensão do processo de transmissão do fitovírus (CpSMV-SP), foram estudadas interações envolvendo: vírus x hospedeira, inseto x hospedeira e inseto x

vírus x hospedeira. Desenvolveu-se e adaptou-se uma técnica de criação para o vetor *C. arcuata*, em laboratório (Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; U.R.: $70 \pm 10\%$ e fotofase 12h). Na criação, utilizou-se como alimento, para as larvas, sementes pré-germinadas e, para os adultos, plântulas de feijão. Testaram-se colônias de insetos coletados em campo, mantidas em diferentes relações sexuais ($\text{♀} : \text{♂}$) (2:1, 1:1 e aleatória), visando determinar a que proporcionasse maior oviposição e longevidade. Avaliaram-se também dois substratos: terra orgânica e mistura de vermiculite + terra orgânica + areia (2:1:1). Constatou-se que as colônias com relação sexual $2\text{♀} : 1\text{♂}$ mostraram maior longevidade e oviposição. Quanto ao substrato, o melhor foi a mistura, que permitiu maior viabilidade e diminuição do ciclo total do inseto, propiciando implantar uma criação em pequena escala, para os experimentos de preferência alimentar e testes de transmissão. Determinaram-se altas taxas de transmissão (46,6 50,0% e 70,0%) em plantas de feijão, por *C. arcuata* adultos. O vírus foi transmitido ainda por larvas de 1º ínstar, com taxas de 10% (caupi) e 40% (feijoeiro). Não houve transmissão por artrópodes de outras Ordens (Homoptera : Aphididae; Homoptera : Aleyrodidae; Acari : Tetranychidae; Thysanoptera ; Thripidae) e outras espécies de coleópteros. No caso de *C. arcuata*, verificou-se que tanto os insetos coletados em campo como os obtidos em laboratório são vetores do CpSMV-SP, ressaltando-se que as taxas de transmissão variam com a hospedeira e a fonte de vírus. As fêmeas adultas mostraram maior eficiência na transmissão. Quanto à retenção do vírus no vetor, obtiveram-se valores de pelo menos 14 dias, para os machos, e no máximo 10 dias, para as fêmeas. Nos estudos de preferência alimentar, observou-se que *C. arcuata* prefere soja comum (*Glycine max*) e perene (*G. javanica*) a caupi (*Vigna unguiculata*) e feijão (*Phaseolus vulgaris*). Empregando-se soja comum e perene, infectada e sadia, houve preferência das plantas sadias, pelo menos no caso da soja. Com relação às hospedeiras de vírus, foram

mecanicamente inoculadas espécies de 5 famílias, e apenas duas responderam: *Chenopodiaceae* (*Chenopodium amaranticolor*) e *Leguminosae* (*Glycine javanica*, *G. max*, *Macroptilium lathyroides*, *Phaseolus lunatus*, *P. vulgaris*, *Vigna luteola*, *V. mungo* e *V. unguiculata*). O vírus isolado de *V. luteola* difere da estirpe – padrão do CpSMV principalmente quanto às hospedeiras, pois infecta grande número de cultivares de soja e feijão, enquanto caupi mostra menor suscetibilidade. Tais cultivares têm importância econômica no Brasil e, graças à presença de hospedeiras naturais perenes, presença do vetor e alta suscetibilidade dos cultivares testados – comumente plantados no estado de São Paulo -, a estirpe isolada de *V. luteola* pode vir a se constituir em risco para as culturas em questão.

**REARING OF *Cerotoma arcuata* OLIV. (COLEOPTERA:
CHRYSOMELIDAE) AND ITS EFFICIENCY IN TRANSMITTING AN
ISOLATE OF COWPEA SEVERE MOSAIC VIRUS**

Author: Fernando Javier Sanhueza Salas

Adviser: José Roberto Postali Parra

SUMMARY

The beetle *Cerotoma arcuata* Oliv., 1791 is vector of cowpea severe mosaic *Comovirus* (CpSMV) and of several leguminous viruses in Brazil. In 1991, an isolate of CpSMV, later designed as CpSMV-SP, was found on plants of *Vigna luteola* Jacq. – Leguminosae – from the coastal area of the São Paulo State. In order to obtain a better understanding into the CpSMV-SP transmission process, the following interactions were studied: virus x host, vector x host and vector x virus x host. A rearing technique for *C.*

arcuata was developed and adapted under laboratory conditions (Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; R.H.: $70 \pm 10\%$ and photophase 12h). Larvae were fed with pre-germinated bean seeds and adults with bean seedlings. To determine the sexual ratio providing the best oviposition and longevity, beetle colonies field – collected were tested keeping different sexual ratios ($\text{♀} : \text{♂}$) (2:1, 1:1 and with no defined relation). Two substrates were also evaluated: organic soil and vermiculite + organic soil + sand (2:1:1). Colonies keeping sexual ratio $2\text{♀}:1\text{♂}$ showed higher longevity and oviposition. As for the substrate, better results were obtained by using vermiculite + organic soil + sand; it gave higher viability and shortage of the total life-cycle of the beetle, thus permitting a small scale rearing. The transmission rates by adults of *C. arcuata* were high (46.6, 50 and 70%) on bean and by 1st instar larvae were 40% on bean and 10% on cowpea. Transmission by other arthropod Orders (Homoptera : Aphididae; Homoptera : Aleyrodidae; Acari : Tetranychidae; Thysanoptera ; Thripidae) and by other coleoptera species failed. *C. arcuata* field-collected and laboratory-reared can vector CpSMV-SP, but transmission rates vary with host and virus source. Adult females were more efficient vectors than males, but concerning virus retention males were able to transmit CpSMV-SP until at least 14 days and females until the maximum of 10 days. *C. arcuata* showed a feeding preference on soybean (*Glycine max*) and perennial soybean (*G. javanica*) than on cowpea (*V. unguiculata*) and bean (*Phaseolus vulgaris*). It was noted that *C. arcuata* preferentially fed on healthy than on virus infected soybean plants. Only species of 2 out of 5 families tested reacted with CpSMV-SP mechanical inoculation: Chenopodiaceae (*Chenopodium amaranticolor*) and Leguminosae (*Glycine javanica*, *G. max*, *Macroptilium lathyroides*, *Phaseolus lunatus*, *P. vulgaris*, *Vigna luteola*, *V. mungo* e *V. unguiculata*). As for plant hosts, CpSMV-SP differs from CpSMV (type-strain) by infecting bean and soybean cultivars in large numbers; cowpea showed lower susceptibility. The cultivars here tested are commonly planted in

São Paulo State. Their high susceptibility to the *V.luteola* isolate (CpSMV-SP), the presence of many perennial hosts and the presence of the vector may constitute an actual problem for leguminous crops.

1. INTRODUÇÃO

Pragas do gênero *Cerotoma* são descritas em vários países da América Latina, como Costa Rica (González, 1978⁽¹⁾, citado por Gámez & Moreno, 1983), Colômbia (Gámez, 1972), El Salvador (Díaz, 1972), Porto Rico (Alconero & Santiago, 1973), Cuba (Kvicala et al., 1973) e Brasil (Link & Costa, 1978; CNPAF, 1988; Gallo et al., 1988). A espécie *Cerotoma arcuata* (= *Andreactor arcuatus*) Olivier, 1791 (Coleoptera, Chrysomelidae, Galerucinae) é polífaga, relatada em diversos estados do Brasil e, em alguns, constituindo-se em espécie limitante, principalmente para as culturas de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], nas regiões Norte, Nordeste e Central ; feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), nas regiões Sudeste e Sul; e soja [*Glycine max* (L.) Merril.], especialmente no Centro-Oeste, Sul e Sudeste do país. Estas culturas representam um grande percentual da produção agrícola nacional, sendo fonte de proteínas para a população brasileira. A área plantada com tais espécies agrícolas é de 11.299.199 ha para a soja e de 4.600.736 ha para o feijoeiro, com produção anual de 25.687.137 t e 2.770.627 t, respectivamente⁽²⁾. Para a cultura de caupi, a área plantada no Brasil é de 1.418.600 ha, com produção anual de 380.900 t (CNPAF, 1988).

¹ González, C.E. Identidad, transmisión por insectos crisomelídeos y epifitologia del virus del frijol de costa (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) en Costa Rica. Thesis de Doctorado, Universidad de Costa Rica, 1978.

² Fonte: IBGE - Levantamento Sistemático da Produção Agrícola, julho/97
<http://www.ibge.gov.br> (data de consulta : 20/09/97).

Os danos causados em ataques severos podem ser divididos em diretos, tais como desfolhamento de plantas, com posterior ataque às vagens, ou indiretos, facilitando a entrada de patógenos (fungos e bactérias, principalmente), além da transmissão de fitovírus.

Os fitovírus são transmitidos, na natureza, principalmente por vetores, que podem ser artrópodos, fungos e nematóides. Entre os artrópodos destacam-se os insetos sugadores - afídeos, tripes, cigarrinhas e moscas-brancas - e os mastigadores, com ênfase para os coleópteros (Matthews, 1991).

Em locais onde ocorre alta incidência de fitovírus veiculados por crisomelídeos, constata-se a presença de seus insetos vetores - com destaque para os gêneros *Cerotoma* e *Diabrotica* - e de suas plantas hospedeiras naturais em grande número.

Embora não se disponha de dados seguros sobre a biologia de *C. arcuata*, admite-se que seja semelhante à de *Diabrotica speciosa*, visto que as duas populações ocorrem simultaneamente nas culturas de soja e feijão. Em algumas regiões, estas leguminosas assumem posição de monoculturas, propiciando assim o ataque de pragas e doenças.

Espécies do gênero *Cerotoma* provocam intensa desfolha durante a segunda fase do ciclo da cultura do caupi (Castro et al., 1975; Neves et al., 1982). No feijoeiro, cultura bastante suscetível ao ataque de pragas, desde a germinação até a fase de armazenamento, adultos do gênero *Cerotoma* são descritos principalmente como fitófagos das partes aéreas, porém suas larvas também podem causar prejuízos às plantas em fase inicial de desenvolvimento, por se alimentarem, esporadicamente, de suas raízes. O ataque mais severo coincide com as fases de desenvolvimento vegetativo, sendo mais intenso em períodos quentes e úmidos (Bulisani et al., 1987).

No estado do Paraná, o ataque é mais importante na safra da "seca", quando a ocorrência de mais de 2 insetos por planta causa perda de 50% da

produção; isto pode ser explicado porque o coleóptero consome o broto apical, devido à redução de área foliar disponível, causando a morte da planta (Carvalho & Hohmann, 1982).

A soja tem acentuada importância na região Sul do país e a literatura relata danos causados principalmente por adultos de *Cerotoma* spp. nas flores, vagens e folhas da planta hospedeira. As larvas atacam as sementes em germinação, plântulas e raízes das plantas em desenvolvimento (Costa et al., 1978; Heineck, 1993; Link & Costa, 1978).

O presente trabalho teve por objetivo realizar uma avaliação da transmissão experimental do vírus do mosaico severo do caupi, isolado de *Vigna luteola*, por *Cerotoma arcuata*.

Consistiu de diferentes etapas:

- desenvolvimento de uma técnica de criação de *C. arcuata* para facilitar os testes de transmissão do fitovírus por esta espécie de crisomelídeo;
- realização de testes de transmissão do fitovírus por larvas e adultos de *C. arcuata*, machos e fêmeas;
- estudo da preferência alimentar de *C. arcuata* (entre caupi, feijão e soja), comparando-se plantas com e sem vírus;
- efeito da alimentação de *C. arcuata* na transmissão do vírus do mosaico severo do caupi - CpSMV.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Vírus transmitidos por coleópteros

Diversos autores (Dale, 1953; Walters, 1969; Fulton et al., 1987; Matthews, 1991) relacionam características importantes dos fitovírus transmitidos por coleópteros: são constituídos de ss-RNA ("single stranded - RNA" - RNA de fita simples), possuem partículas isométricas (25 - 30 nm de diâmetro), são transmitidos facilmente por inoculação mecânica, são bastante estáveis e imunogênicos e atingem elevada concentração nos tecidos infectados. Além disto, tais vírus tendem a ter círculo de plantas hospedeiras relativamente restrito, assim como seus vetores (Matthews, 1991).

Quanto ao número de vírus transmitidos por coleópteros, Fulton et al. (1980) listaram 32 sendo: 12 comovírus, 8 tymovírus, 4 bromovírus, 1 sobemovírus e 7 ainda não-classificados. Um pouco mais tarde, Harris (1981) compilou 39 fitovírus, assim distribuídos: 9 comovírus, 9 tymovírus, 4 bromovírus, 3 sobemovírus, 2 tobamovírus e 1 nepovírus, além de 11 não-classificados e ainda 1 viróide.

De acordo com Murphy et al. (1995), os vírus transmitidos por coleópteros, em número de 59, pertencem a 6 gêneros: *Bromovirus*, Família *Bromoviridae* (6 vírus); *Carmovirus*, Família *Tombusviridae* (4); *Comovirus*, Família *Comoviridae* (15); *Machlomovirus* (1); *Sobemovirus* (15); *Tymovirus* (18)

2.2 O vírus do mosaico severo do caupi (CpSMV): distribuição, características e transmissão

O vírus do mosaico severo do caupi ("cowpea severe mosaic virus" - CpSMV), que pertence ao gênero *Comovirus*, família *Comoviridae*, encontra-se bastante disseminado no Brasil (Figura 1).

Figura 1- Registros do vírus do mosaico severo do caupi (CpSMV) no Brasil

O CpSMV-SP, isolado de *Vigna luteola*, apresenta, entre outras características, partículas de aproximadamente 30nm de diâmetro, transmite-se mecanicamente, principalmente para espécies da família Leguminosae (*Phaseolus vulgaris* ' Carioca', 'Manteiga' e 'Top Crop' ; *V. luteola*; *V. mungo*; *V. umbellata* e *V. unguiculata* 'Vermelho Mundo'), e também pelo coleóptero *Cerotoma arcuata* (Barradas et al., 1991). Além disso, infecta experimentalmente *P. lunatus* - por inoculação mecânica -, embora os testes de transmissão pelo vetor, de *P. lunatus* para feijão

Manteiga, tenham sido negativos (Chaves et al., 1995).

Tal fato é característico dos vírus pertencentes ao grupo *Comovirus*, no qual os representantes possuem um restrito círculo de hospedeiras (Bos, 1981), em relação às famílias botânicas, porém relativamente amplo quando se consideram as espécies que a família abrange (Stace-Smith, 1981; Matthews, 1991). Conforme Valverde & Fulton (1996), o círculo de hospedeiras dos membros do gênero *Comovirus* é limitado, envolvendo principalmente uma família botânica. Quanto ao CpSMV, segundo os mesmos autores, apenas leguminosas têm sido relatadas como suas hospedeiras naturais.

2.3 Coleópteros como vetores de fitovírus

Nas 200 famílias da Ordem Coleoptera referidas no Brasil (Costa et al., 1988), existe um grande número de insetos fitófagos, classificados como pragas agrícolas. Porém, apenas quatro famílias têm representantes que transmitem vírus de plantas: Chrysomelidae, Coccinellidae, Curculionidae e Meloidae (Fulton et al., 1980).

Quanto à transmissão, pode-se dizer que, na grande maioria dos casos, é do tipo semi-persistente (Bos, 1983), pois o vírus pode ser transmitido por até alguns dias após a aquisição. As partículas virais são facilmente detectadas nas fezes, hemolinfa e no regurgitado dos insetos, sugerindo que estes fluidos tenham papel importante na transmissão destes vírus (Fulton et al., 1980; 1987; Gergerich et al., 1986, 1983)

Um outro aspecto relevante refere-se à importância das plantas hospedeiras envolvidas no processo de transmissão (Fulton, 1979). As espécies de leguminosas, por exemplo, bem como variedades de uma mesma espécie, podem afetar de forma significativa a eficiência na transmissão de vírus por coleópteros. Isto ocorre porque a infecção viral induz inúmeras

alterações bioquímicas na planta, inclusive no seu metabolismo secundário (Duarte, 1997), favorecendo não só a atratividade e a palatabilidade, como também causando alterações de cor, levando a uma maior preferência do coleóptero pela espécie ou cultivar (Edwards & Wratten, 1981; Lara, 1991).

A grande maioria dos coleópteros vetores pertence à família Chrysomelidae (Fulton et al., 1980; 1987), que inclui atualmente 6 subfamílias que possuem espécies já relatadas como vetores: Chrysomelinae, Criocerinae, Cryptocephalinae, Eumolpinae, Galerucinae e Hispinae. Destas, a mais importante, sem dúvida, do ponto de vista da transmissão de vírus, é a Galerucinae, que possui cerca de 17 gêneros com espécies vetoras. De acordo com Lawrence & Newton Jr. (1995), a subfamília Alticinae não mais constitui uma subfamília à parte; ela está incluída em Galerucinae. Mundialmente, os gêneros da família Galerucinae que se destacam na transmissão são: *Acalyma*, *Cerotoma*, *Colaspis*, *Diabrotica*, *Ootheca*, *Phaedon* e *Epitrix* (Fulton et al., 1979, 1980).

No Brasil, *Cerotoma arcuata* Oliv. (“vaquinha-preta-e-amarela-da-soja”) merece destaque como vetora dos vírus transmitidos por coleópteros (Kitajima, 1985; 1995), pois adultos desta espécie estão associados à disseminação da maioria dos fitovírus que assolam a cultura do feijoeiro, embora alguns destes vírus possam ser transmitidos também pela larva (Meyer et al., 1993).

Na família Coccinelidae, que se caracteriza por ser predadora, apenas o gênero *Epilachna* tem representantes fitófagos (King & Saunders, 1984). Já se mostrou que pelo menos a espécie *E. varivestis* é vetora de diversos vírus (Fulton et al., 1980; Gergerich & Scott, 1996; Harris, 1981;). No Brasil, existem 4 espécies fitófagas (*E. cacica*, *E. clandestina*, *E. marginella* e *E. paenulata*) que são pragas de cucurbitáceas (Buzzi 1994; Dutra et al., 1997), e com potencial de serem vetoras de vírus que infectam estas plantas.

Dentro da família Curculionidae, os vetores mais comuns pertencem

aos gêneros *Apion*, *Cionus* e *Sitona*. No Brasil, entretanto, apenas *Chalcodermus bimaculatus* ("manhoso") foi descrito como vetor por Lima & Gonçalves (1980), que fizeram experimentos de transmissão do mosaico do caupi ("cowpea mosaic *Comovirus*¹" – CpMV), com resultados positivos.

Na família Meloidae, a única espécie descrita como vetora, até 1990, era *Epicauta vittata*, para o vírus do mosqueado da vagem do feijoeiro ("bean pod mottle *Comovirus*"- BPMV) (Patel & Pitre, 1971). Em recentes estudos desenvolvidos no Laboratório de Estudo de Vetores / Seção de Virologia Fitopatológica e Fisiopatologia / Instituto Biológico, São Paulo (LEV/SVFF/IB), mostrou-se que, pelo menos experimentalmente, a espécie *E. atomaria* ("vaquinha ou burrinho-das-solanáceas") transmite 4 isolados do vírus do mosaico da berinjela ("eggplant mosaic *Tymovirus*" - EMV) (Salas & Barradas, 1990; 1992a; Barradas, 1994).

2.4 O gênero *Ceratomyza* sp. como vetor de fitovírus

Este gênero foi descrito como vetor de diversas famílias e gêneros de vírus de plantas no mundo inteiro (Fulton et al., 1980; Murphy et al., 1995), estes dados se encontram reunidos no Quadro 1.

As espécies do gênero *Ceratomyza* Chevrolat, 1843 (= *Andrector* Horn, 1872) têm sido relatadas com grande frequência em lavouras de soja (Heineck, 1993), podendo ocorrer esporadicamente em culturas de feijão (Zucchi et al., 1993) e caupi (Rios & Neves, 1989), podendo assim causar danos indiretos a estas culturas.

¹ Os nomes e siglas empregados para os vírus citados neste trabalho seguem o atual sistema de classificação proposto pelo "International Committee on Taxonomy of Viruses" - ICTV (Murphy et al., 1995). Os nomes em português estão de acordo com Kitajima et al. (1997).

Quadro 1.- Fitovírus transmitidos por *Cerotoma* sp.

Família	Vírus	Vetor	Referência
Família Bromoviridae/ Gênero <i>Bromovirus</i>	vírus do mosqueado clorótico do caupi – CpCMV ¹	<i>Cerotoma trifurcata</i>	Walters & Dodds, 1969
Família Comoviridae/ Gênero <i>Comovirus</i>	vírus do mosaico da abóbora – SqMV ¹	<i>C. arcuata</i>	Costa et al., 1983
	vírus do mosaico do caupi – CpMV (isolado Arkansas)	<i>C. arcuata</i>	Smith, 1924
		<i>C. atrofasciata</i>	Walters & Barnett, 1964
		<i>C. ruficornis</i>	Jansen & Staples, 1970b
	vírus do mosaico do caupi – CpMV (isolado amarelo)	<i>C. trifurcata</i>	Jansen & Staples, 1971
	vírus do mosaico do caupi – CpMV (mosaico da Vigna) ¹	<i>C. arcuata</i>	Caner et al., 1969
	vírus do mosqueado da vagem do feijoeiro – BPMV	<i>C. trifurcata</i>	Ross, 1963
	vírus do mosaico rugoso do feijoeiro – BRMV	<i>C. ruficornis</i>	Gaméz, 1972
	vírus do mosaico do "quail pea" – QPMV	<i>C. ruficornis</i>	Moore, 1973
	vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro – VMDeF ¹	<i>C. arcuata</i>	Sperandio & Costa, 1982
	vírus do mosaico severo do caupi – CpSMV (isolado feijoeiro) ¹	<i>C. arcuata</i>	Costa et al., 1981
	vírus do mosaico severo do caupi – CpSMV (isolado Vigna luteola) ¹	<i>C. arcuata</i>	Barradas et al., 1991
Gênero <i>Sobemovirus</i>	vírus do mosaico sulino do feijoeiro – SBMV ¹	<i>C. trifurcata</i>	Walters, 1964 ; Walters & Henry, 1970
		<i>C. arcuata</i>	Cupertino et al., 1980
Gênero <i>Tymovirus</i>	vírus da necrose branca do tomateiro – VNBT ¹¹	<i>C. arcuata</i>	Salas & Barradas, 1992b

¹ Descrição da transmissão por coleópteros vetores constatada no Brasil

2.5 Criação de *Cerotoma* sp.

Para os coleópteros da família Chrysomelidae, diversas técnicas¹ de criação têm sido descritas, tanto envolvendo dietas artificiais (Milanez, 1995; Rose & McCabe, 1973; Sutter et al., 1971), como naturais (Heineck & Corseuil, 1995; Haji, 1981; Herzog et al., 1974; Jackson, 1985; Milanez, 1995; Silva-Werneck et al., 1995).

Quanto ao gênero *Cerotoma*, a literatura contém informações sobre a criação de várias espécies, porém sempre com utilização de dietas naturais, isto é, plantas hospedeiras (Cardona et al., 1982; Carvalho & Hohmann, 1982; Gonzalez et al., 1982; Heineck, 1993; Heineck & Corseuil, 1995; Herzog et al., 1974; Holcomb & Fulton, 1978; Hoobs & Fulton, 1979; Rajnauth et al., 1987; 1988).

A espécie *C. arcuata* (Olivier, 1791) tem sido criada com diversas finalidades, tais como: estudo do ciclo biológico (Heineck, 1993; Heineck & Corseuil, 1995; Abreu Neto et al., 1997; Lima et al., 1997), determinação do consumo alimentar (Heineck, 1993; Heineck & Corseuil, 1995), avaliação de métodos de controle (Fernandes, 1986; Teixeira & Franco, 1997) e testes de transmissão de vírus (Rajnauth et al., 1987).

Para o início da criação, é necessário definir quais os métodos utilizados com sucesso na captura de adultos de *Cerotoma* sp. No caso de *C. trifurcata*, Hillhouse & Pitre (1974) realizaram coletas de campo, em cultura de soja, comparando dois métodos: pano de batida e rede de varredura, sendo que o pano de batida (60 cm de comprimento) mostrou ser superior à rede de varredura. Turnipseed⁽¹⁾ (1974, citado por Panizzi & Ferreira, 1978), realizou trabalho semelhante, também em cultura de soja, no qual os resultados se confirmaram quando, além da rede de varredura e do pano de batida,

¹ Turnipseed, S.G. Sampling soybean insects by various D-Vac, sweep, and grownd cloth methods. *Florida Entomologist*, 57(3): 217-223, 1974.

empregou-se um aparelho costal de sucção modelo D-Vac na coleta de *C. trifurcata*. No entanto, Gonzalez et al. (1982) obtiveram bons resultados empregando, em culturas de feijoeiro e soja em estágio de floração, um aparelho de sucção motorizada do mesmo modelo citado por Turnipseed (1978).

No Brasil, Link & Costa (1982) realizaram uma comparação entre as coletas de *Andreactor* (= *Ceratomyza*) *hybridus* e *Diabrotica speciosa* em cultura de soja, efetuadas com um pano de batida de 1 metro de comprimento, uma rede de varredura de 38 cm de diâmetro e um aspirador motorizado portátil. Os resultados mostraram que a rede de varredura mostrou-se mais eficiente na captura de *A. hybridus*. Magalhães et al. (1988), comparando a eficiência na coleta de *C. arcuata* em cultura de feijoeiro, na região de Goiânia, através de rede entomológica (40 cm de diâmetro) e pano de batida (1 m de comprimento e 50 cm de largura), obtiveram resultados melhores quando utilizaram o pano de batida.

Para a obtenção de ovos em laboratório, Herzog et al. (1974) individualizaram fêmeas grávidas de *C. trifurcata* em frascos de vidro (26mm x 55 mm), cobertos com uma tampa plástica perfurada, para ventilação. A alimentação era feita com folíolos ou plântulas de soja, com aproximadamente 4 - 8 cm de altura. Os ovos obtidos eram coletados com auxílio de pincel fino e transferidos, em grupos, para frascos plásticos, forrados com lenços de papel (2 cm x 2 cm) e fechados com tampa plástica. Após dois dias, os ovos foram tratados com uma solução de sulfato de cobre, a fim de evitar a contaminação por fungos. Um processo bastante semelhante foi empregado por Rajnauth et al. (1987) para a criação de *C. arcuata*, porém estes autores não efetuaram tratamento fungistático.

Holcomb & Fulton (1978) individualizaram exemplares de *C. trifurcata* em placas de Petri (4 coleópteros/placa) forradas com papel toalha e mantidas à temperatura ambiente, para a oviposição. Os indivíduos adultos

eram alimentados com folíolos de soja, feijoeiro ou caupi. Tanto o alimento quanto o papel toalha eram trocados a cada 2 dias, observando-se as posturas. O número de ovos por fêmea variou de 0 a 100.

Gonzalez et al. (1982) selecionaram fêmeas de *C. facialis*, que foram dispostas em placas de Petri (10 fêmeas/placa) medindo 14 cm de diâmetro x 2,5 cm de altura. A tampa era perfurada e coberta com tela fina, a fim de facilitar a ventilação. As placas eram revestidas com gaze umedecida, oferecendo-se, como alimento, folhas, flores e vagens de feijoeiro. Os ovos eram tratados com sulfato de cobre a 1% durante 5 minutos, para evitar contaminação por fungos.

Outra forma de obtenção de ovos de *C. arcuata* foi descrita por Fernandes (1986). O autor formou uma colônia de aproximadamente 70 insetos, em um frasco de criação (capacidade = 4 litros) forrado com papel de filtro, contendo alimento natural. A postura foi obtida em folhas de ervilha, feijão e caupi (colocadas para alimentação) e no papel de filtro. Depois de coletados, os ovos eram imersos em água contendo espalhante adesivo Agral durante 1 a 2 horas. Os ovos mais aparentes eram separados por agitação manual e com auxílio de pincel, sendo deixados em repouso até ocorrer a precipitação do material indesejável (fragmentos de folhas e fezes). A massa foi coada e retirada com auxílio de pincel e de piceta com água destilada.

Heineck (1993) e Heineck & Corseuil (1995) obtiveram bons resultados, no caso de *C. arcuata tingomariana*, quando colocaram placas de Petri (10 cm diâmetro x 2,5 cm altura) contendo terra como substrato para postura.

Alguns autores ressaltam que a fase larval constitui a etapa crítica da criação de crisomelídeos, devido ao alto índice de mortalidade por manuseio e problemas na sua alimentação (Milanez, 1995).

Após a eclosão das larvas de *C. trifurcata*, Herzog et al. (1974) analisaram a sobrevivência e o desenvolvimento das mesmas, quando

ofereciam como alimento sementes pré-germinadas de feijão-de-corda ("crowder pea"), caupi ("purple-hull") e feijoeiro ('Pinto'), tratadas com sulfato de cobre a 0,5%, durante 5-10 minutos, para evitar fungos. O alimento era trocado periodicamente e colocado nos respectivos frascos de criação. Os resultados evidenciaram que as larvas mostraram um melhor desenvolvimento quando feijoeiro foi utilizado na alimentação. Por outro lado, Rajnauth et al. (1987) obtiveram sucesso empregando plantas, cotilédones e sementes pré-germinadas de caupi.

Holcomb & Fulton (1978), estudando a biologia de *C. trifurcata*, obtiveram bons resultados quando utilizaram como fonte de alimento sementes germinadas de caupi 'Crimson', em estágio de emergência da radícula. Antes de fornecê-las para as larvas, estas eram colocadas durante 5 minutos em uma solução de hipoclorito de sódio a 10%, com o objetivo de esterilizar a superfície. Além deste procedimento alguns cotilédones receberam, durante 5 minutos, tratamento com solução de sulfato de cobre a 0,5%; posteriormente, eram colocados junto aos ovos, 2 dias antes da eclosão. Desta maneira, as larvas que eclodiam migravam para os cotilédones, facilitando sua transferência para as caixas de criação (30 cm x 16 cm x 9 cm), cobertas com tela de 0,6 cm de "mesh" contendo solo previamente esterilizado como substrato para desenvolvimento.

Gonzalez et al. (1982) e Cardona et al. (1982) obtiveram dados importantes quanto à preferência alimentar de larvas de *C. facialis*. Os autores utilizaram sementes pré-germinadas de feijão e milho, previamente tratadas com o fungicida CAPTAN (50 g/l de água), que eram dispostas em placas de Petri que continham as larvas recém-eclodidas, em uma proporção de 5 larvas por semente.

No Brasil, Fernandes (1986) também utilizou sementes de feijão na criação de *C. arcuata*. As sementes eram esterilizadas com hipoclorito de sódio (0,05%), e depois adicionadas às placas contendo os ovos. Após 10 dias, com

a eclosão das larvas, estas eram transferidas, junto com as sementes, para bandejas (35 cm x 30 cm x 6 cm) contendo solo estéril. Foram adicionadas às bandejas cerca de 150 sementes. Cada bandeja recebeu, em média, as larvas provenientes de 10 - 15 placas. Heineck (1993) e Heineck & Corseuil (1995) empregaram sementes pré-germinadas de soja tratadas com hipoclorito de sódio (0,5%) colocadas em placas de Petri, com algodão umedecido e cobertas com plástico transparente, obtendo bons resultados para o coleóptero *C. arcuata tingomariana*.

A exemplo do que ocorre em outras espécies de crisomelídeos, o maior problema da fase pupal de *C. arcuata* é a dessecação ou o excesso de umidade no substrato, neste último caso, facilitando o aparecimento de fungos (Milanez, 1995).

Herzog et al.(1974) transferiram *C. trifurcata*, na fase de pré-pupa, para copos de criação contendo areia grossa (1 cm de profundidade), possibilitando, assim, a formação da "célula pupal". Processo semelhante foi empregado por Gonzalez et al. (1982), que transferiram *C. facialis*, como pré-pupa, para placas de Petri que continham uma camada de areia fina (7 mm) levemente umedecida.

Outras técnicas foram utilizadas, por diversos pesquisadores, com bons resultados. Assim, Fernandes (1986) utilizou as próprias caixas de criação, onde se desenvolveram as larvas de *C. arcuata*, para desenvolvimento pré-pupal e pupal. Um aspecto positivo desta técnica é a diminuição no manuseio dos insetos, mais sensíveis nas fases imaturas. Rajnauth et al. (1987) individualizaram as pupas de *C. trifurcata* em placas de Petri, com papel de filtro levemente umedecido, facilitando sua visualização. Heineck (1993) e Heineck & Corseuil (1995) criaram as pupas de forma análoga às larvas de *C. arcuata tingomariana*, ou seja, foram individualizadas e mantidas em placas de Petri contendo uma fina camada de algodão levemente umedecida e coberta com plástico transparente, permitindo a manutenção da umidade.

Gonzalez et al. (1982) transferiram os adultos de *C. facialis* para recipientes cilíndricos de malha metálica, em condições de criação (28°C e U.R.: 80%), alimentados com folhas de feijoeiro.

Heineck & Corseuil (1995), para estudar esta fase do ciclo biológico de *C. arcuata tingomariana*, separaram os insetos adultos em casais, que foram dispostos em mangas de vidro, fechadas na base com uma tampa plástica de placa de Petri forrada com papel de filtro, e cobertas, na abertura superior, com tecido do tipo "filó", preso com elástico. Este processo havia sido anteriormente empregado por Heineck (1993), com relativo sucesso.

2.6 Preferência alimentar de *Cerotoma* sp.

No processo de dispersão de fitovírus, encontram-se envolvidas inúmeras associações de fatores bióticos e abióticos (Matthews, 1991). O principal trinômio envolvido é aquele que relaciona o vírus, o inseto-vetor e a cultura (planta hospedeira) em questão, lembrando que todos sofrem influência das condições ambientais. Quando se trata de estudar a transmissão por coleópteros, a interação entre a planta hospedeira e o inseto-vetor torna-se extremamente importante, visto que um grande número de besouros possui um círculo de plantas hospedeiras restrito, tanto para sua alimentação como para a sua reprodução (Lara, 1991).

Os crisomelídeos, de uma maneira geral, colonizam inúmeras plantas da vegetação espontânea, pertencentes, na sua maioria, às famílias Compositae, Cucurbitaceae, Leguminosae e Rosaceae, encontradas com grande frequência e extremamente importantes na epidemiologia de tais fitovírus (Risch, 1979¹ citado por Gaméz & Moreno, 1983). As larvas e os

¹ RISCH, S.J. Effect of plant diversity on the population dynamics of several species of beetle pests in monocultures and polycultures of corn, beans and squash in Costa Rica. PhD Thesis, Michingan University, 1979.

adultos de crisomelídeos apresentam, na maioria das vezes, o mesmo tipo de hábito alimentar, pois normalmente as fêmeas realizam a postura no solo, próxima à planta hospedeira, permitindo, assim, a alimentação da progênie. Ainda com relação aos coleópteros da família Chrysomelidae, pode-se afirmar que, na maioria dos casos, os adultos alimentam-se de partes aéreas, enquanto as larvas se alimentam das raízes das mesmas plantas (Panizzi & Parra, 1991).

Em resultados obtidos por Gonzalez et al. (1982), evidenciou-se a preferência das larvas de *C. facialis* por raízes de feijoeiro, visto que, quando estas foram dispostas em radículas de milho pré-germinado, houve mortalidade de 100%. No entanto, quando estas foram colocadas em plântulas de feijão, as larvas de 1º instar perfuraram o interior das raízes e do hipocótilo e, as de 2º e 3º ínstaes alimentaram-se das folhas primárias e cotilédones, destruindo completamente as sementes. Risch (1979, citado por Gámez & Moreno, 1983), classificou o vetor *C. ruficornis rogersii* como um “especialista relativo”, pois as larvas se alimentam somente de raízes de feijoeiro e de algumas outras leguminosas, porém os insetos adultos alimentam-se somente da folhagem do feijoeiro, e ocasionalmente, de folhas de abóbora.

Alguns fatores relativos ao ambiente, como por exemplo, temperatura e umidade, podem ser muito importantes na incidência do vírus em determinada região, estão relacionados com os insetos vetores e as plantas hospedeiras, cujo desenvolvimento e crescimento são intensamente influenciados pelos fatores climáticos (Walkey, 1985). Confirmando esta afirmação, Harrison (1981) relatou a interferência do clima restringindo a habilidade do vetor em transmitir o vírus, afetando sua reprodução, e agindo também sobre seus predadores e parasitóides., alterando também a suscetibilidade das plantas hospedeiras e a replicação viral nas plantas-fonte de inóculo. Ainda de acordo com este autor, os fatores ambientais mais importantes na disseminação do vírus são a direção e a velocidade do vento, a

turbulência do ar e a temperatura. Risch (1979, citado por Gaméz & Moreno, 1983), relatou que o movimento dos besouros influenciava a área e o padrão de dispersão dos fitovírus, uma vez que estes não permanecem em hospedeiras (no caso, milho) sombreadas, e em plantas com hastes longas; o autor também afirmou que tais insetos permanecem por pouco tempo em restos de cultura, migrando para outras plantas próximas.

Risch (1976) realizou experimentos com o objetivo de verificar a preferência alimentar de *C. ruficornis rogersii*, *Diabrotica balteata* e *D. adelpha* em campo, utilizando feijão e caupi, e no laboratório, empregando algumas variedades de caupi. Os resultados mostraram que: *D. balteata* e *D. adelpha* preferiram feijoeiro, enquanto *C. ruficornis rogersii* alimentou-se preferencialmente de plantas de caupi, fato comprovado por amostragens dos insetos através de coletas com redes entomológicas em ambas as culturas.

Rosseto et al. (1981), estudando a preferência na alimentação de adultos de *D. speciosa* e de *C. arcuata*, em algumas variedades de soja (*Glycine max*), obtiveram diferenças marcantes para *D. speciosa*, o que não ocorreu para *C. arcuata*. Comparando a área foliar consumida por três espécies de crisomelídeos em feijão [*Diabrotica balteata*, *Andreactor* (= *Cerotoma*) *ruficornis* e *Systema basalis*], variando-se a densidade e o tempo (dias) de duração do ataque em diferentes temperaturas, Risch (1976) observou que *D. balteata* foi a espécie mais voraz, seguida por *A. ruficornis* e *S. basalis*. O autor ressaltou a não-preferência de *C. ruficornis* por algumas variedades de caupi.

Em trabalhos posteriores de resistência de soja a diversos insetos, inclusive a *C. arcuata*, Lourenção & Miranda (1987) testaram 5 cultivares de soja, mostrando que o cultivar IAC 78-2318 apresentou um menor desfolhamento, evidenciando assim característica de resistência múltipla a insetos, inclusive a *C. arcuata*.

Rosseto et al., (1995) avaliaram 10 cultivares de *G. max* visando

resistência ao coleóptero *C. arcuata* , em testes de múltipla escolha, em condições de campo. Após duas avaliações (23 e 44 dias) obtiveram resultados positivos para o cultivar 'IAC 100', que mostrou resistência para os adultos de *C. arcuata*.

2.7 Mecanismo de transmissão e suscetibilidade da planta hospedeira

A transmissão de vírus por coleópteros pode ocorrer logo após a primeira tomada de alimento, quando a planta envolvida é suscetível (Fulton, 1979). Não há evidências de replicação do vírus no vetor, porém observou-se a existência de um período de latência do vírus no vetor, que pode alcançar de dias até algumas semanas. O tipo de relação existente entre os vírus e os coleópteros vetores é, aparentemente, o único que envolve a ingestão do vírus contido no tecido consumido pelo inseto e a sua devolução à superfície da planta, no processo de regurgitação, deixando clara, assim, a importância da planta hospedeira no processo (Matthews, 1991).

A aparente simplicidade envolvida no processo de transmissão de vírus de plantas por coleópteros depende de uma gama de relações mais complexas do que se supõe. Porém, os fatores primordiais nesta transmissão são a suscetibilidade da planta hospedeira e o fluido regurgitado, pois este último possui um caráter seletivo na transmissão do fitovírus pelo coleóptero (Gergerich et al., 1988; Gergerich & Scott, 1996). Os coleópteros-vetores adquirem o vírus rapidamente e seu tempo de retenção aumenta proporcionalmente aos períodos de alimentação (Fulton et al., 1987). Os vírus, quando adquiridos, aparecem rapidamente na hemolinfa dos coleópteros (Kim, 1979; Salas et al., 1995), quando a alimentação é realizada em uma planta infectada; porém, há registros de um período de latência, que pode variar entre 1 e 10 dias (Fulton & Scott, 1974; Storer, 1963), em diferentes espécies. Por

outro lado, há casos em que estes insetos, ao entrarem em período de dormência ou de hibernação, permanecem virulíferos por até alguns meses (Gergerich & Scott, 1996; Matthews, 1991; Walters, 1972).

Rios (1984) verificou que plantas de caupi, infectadas em campo com o vírus do mosaico severo do caupi, até os primeiros 20 dias após a germinação, apresentam perdas de até 80% na produção de grãos. Este prejuízo pode ser reduzido para 40% quando a infecção ocorre após o 30º dia.

Avaliando o comportamento de 248 genótipos de *Vigna unguiculata* quanto à infecção pelos dois principais vírus da cultura, no Ceará, o CpSMV e o CAMV (vírus do mosaico do caupi transmitido por pulgão - "cowpea aphid-borne mosaic *Potyvirus*"), Lima et al. (1986) mostraram que apenas 6 genótipos eram imunes, 4 resistentes e o restante enquadrava-se em suscetíveis e altamente suscetíveis à doença. Estes resultados demonstram a importância na escolha do cultivar, pois a possibilidade de perda na produção, devida a uma alta taxa de infecção pelo CpSMV, é bastante grande, quando na presença do vetor *C. arcuata*. Há de se ressaltar que as perdas causadas dependem, entre outros fatores, da idade em que a planta é infectada, do número de plantas afetadas, da suscetibilidade e do ciclo da planta (Walkey, 1985).

O processo de inoculação mecânica é utilizado tradicionalmente para a detecção de resistência de cultivares e/ou variedades em relação a diversos vírus (Lima et al., 1986). No entanto, por este processo, o vírus é introduzido de maneira diferente da que ocorre na natureza, dificultando às vezes a avaliação de características de resistência nestas plantas, quando se compara com a transmissão por vetores (Fulton et al., 1980).

A técnica do ferimento brusco ("gross wounding technique") foi desenvolvida por Monis et al. (1986), sendo empregada em diversos estudos realizados por Gergerich et al. (1983; 1986) e Gergerich & Scott (1988), que determinaram a atividade enzimática e a função da ribonuclease que se

encontra no material regurgitado pelo coleóptero, fator que assume um caráter seletivo na transmissão. Esta técnica permite simular o dano e o processo de transmissão do fitovírus pelos coleópteros, como ocorre na natureza. Em trabalho comparando não só o efeito do método de inoculação como também a suscetibilidade de cultivares de feijão e caupi, quando infectados com o CpSMV e o CpMV, Gergerich et al. (1991) observaram diferenças quanto à planta hospedeira e o tipo de transmissão

Um exemplo que pode ser citado é o trabalho desenvolvido por Jansen & Staples (1970b): comparando a transmissão do vírus do mosaico severo do caupi para plantas de soja e caupi, verificaram que a porcentagem de transmissão foi maior em plantas de caupi, quando a inoculação foi feita por coleópteros (*Epilachna varivestis*). No entanto, no caso de inoculação mecânica, as plantas hospedeiras mostraram-se igualmente susceptíveis.

Em outro trabalho dos mesmos autores (Jansen & Staples, 1970a), também foi comparada a transmissão do CpSMV por *C. trifurcata* e *Diabrotica undecimpunctata howardii* em soja e caupi, plantas utilizadas tanto como fonte de inóculo como plantas hospedeiras. Os resultados mostraram que o caupi foi melhor fonte de inóculo que a soja e também mais suscetível à infecção viral. Sugeriu-se então que as plantas de soja deveriam possuir algum inibidor que interferiria na ação do fitovírus.

Em testes de transmissão empregando-se *D. speciosa* e *C. arcuata*, coletados em cultura de caupi com alta taxa de infecção pelo CpSMV, Batista et al. (1988) conseguiram recuperar o vírus apenas de *C. arcuata*. Após realizarem a desinfecção destes insetos, através de várias transferências para plantas saudáveis, o resultado foi mantido. Um fato que merece ser destacado é que *D. speciosa* não se alimentou de plantas de caupi.

Apesar de a Ordem Coleoptera representar a segunda ordem em importância na transmissão de fitovírus, são poucos os trabalhos desenvolvidos

visando uma melhor compreensão do fenômeno. Considerando-se que uma das maneiras de combate às doenças causadas por vírus consiste no controle dos vetores, o conhecimento da sua biologia é de suma importância (Parra, 1994). Diversos laboratórios mantêm colônias de insetos sadios, criados em laboratório, para testes de transmissão (Holcomb & Fulton, 1978; Rajnauth et al., 1987), incrementando a investigação das diferentes associações entre vírus/vetor/planta hospedeira (Kitajima & Costa, 1983; Rios & Neves, 1989).

2.8 O papel dos estímulos físicos e químicos na transmissão de vírus de plantas

Entre os estímulos que atuam na preferência dos insetos por determinados alimentos, destacam-se os físicos e químicos. Muitos insetos são influenciados por estímulos físicos; por exemplo, diversas espécies de afídeos são atraídas por tons amarelados. Os vírus de plantas, que muitas vezes são transmitidos por afídeos, podem melhorar a qualidade da folha como alimento, beneficiando assim patógeno e inseto-vetor que coloniza as plantas hospedeiras (Edwards & Wratten, 1981). Link et al. (1982), realizando ensaios de preferência para plantas hospedeiras, com besouros crisomelídeos, em cultura de feijão, observaram que o nível de infestação de *Andreactor* (= *Cerotoma*) *hybridus* foi maior em variedades de sementes com tegumento preto.

Diversos estímulos químicos estão relacionados às interações que envolvem inseto-planta. Tais estímulos são de natureza complexa e contêm misturas de substâncias diferentes, destacando-se as provenientes do metabolismo secundário das plantas (Swain, 1977). Dentre estas substâncias, devem ser citados os aleloquímicos, que são um grupo de compostos que traduzem um significado comportamental, biológico ou de bem estar ecológico

a organismos originariamente de espécies diferentes (Lara, 1991).

Além disso, outro aspecto que merece destaque é o acúmulo de produtos secundários, como alcalóides, substâncias fenólicas, terpenos, glicosídeos esteroidais e cianogênicos, contribuindo para a defesa das plantas contra patógenos e herbívoros (Levin, 1976; Duarte, 1997).

Alguns estudos revelaram a preferência alimentar de afídeos, outros insetos fitófagos e ácaros por plantas infectadas por vírus (Kennedy, 1951; White, 1984), possivelmente porque estes patógenos, em alguns casos, induzem uma melhoria na qualidade da folha como alimento, beneficiando dessa forma o patógeno e o inseto-vetor que ocorrem as plantas hospedeiras (Edwards & Wratten, 1981).

De acordo com White (1984), a preferência alimentar de alguns artrópodos por plantas infectadas poderia ser devida a um aumento na disponibilidade de nitrogênio solúvel, pela quebra de proteínas em aminoácidos e subsequente aumento no fluxo dessas substâncias pela translocação, via floema, para os locais de armazenamento ou de crescimento da planta. Um exemplo que pode ser citado é a preferência - tanto por alimentação como para colonização - de *Aphis fabae* e *Myzus persicae* por folhas de beterraba (*Beta vulgaris*) com formação de galhas, além de folhas infectadas por vírus (Kennedy, 1951). Boiteau & Singh (1982) mostraram que plantas infectadas sistemicamente com o vírus do enrolamento da folha da batata ("potato leafroll *Luteovirus*" - PLRV) são mais atrativas para o crisomelídeo *Leptinotarsa decemlineata* ("Colorado potato beetle"), porém resultando em maior mortalidade de fêmeas e menor oviposição. Os autores sugeriram que a diminuição na fecundidade do coleóptero era causada pelo desequilíbrio nutricional ou pelas substâncias secundárias encontradas nas plantas infectadas, principalmente os glicoalcalóides envolvidos.

Anos mais tarde, Hare & Dodds (1987), em trabalho semelhante ,

estudaram a sobrevivência de larvas de *L. decemlineata* em plantas de tomateiro infectadas com duas estirpes do vírus do mosaico do fumo - estirpe fraca e severa - ("tobacco mosaic *Tobamovirus*" - TMV). Os autores determinaram que a infecção causada pelo TMV alterava significativamente a concentração total de nitrogênio na planta, porém não havia variação significativa na sobrevivência dos insetos (formas jovens e adultos), concluindo-se que a relação planta/patógeno/inseto, neste caso, é uma associação ecológica casual.

Lourenção et al. (1996) observaram que o lepidóptero *Anticarsia gemmatalis*, alimentado com plantas de soja infectadas com o vírus do mosaico comum da soja ("soybean common mosaic *Potyvirus*" - SMV), apresentou reduções na duração das fases larval e pupal, porém concluíram que a alimentação em plantas doentes não interferia na capacidade de reprodução do inseto.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), em Piracicaba, SP e no Laboratório de Estudo de Vetores da Seção de Virologia Fitopatológica e Fisiopatologia do Instituto Biológico (LEV/SVFF/IB), em São Paulo, SP. Os experimentos foram realizados com a espécie *Cerotoma arcuata* (Oliv., 1791) (Coleoptera: Chrysomelidae), em condições de laboratório, não controladas.

3.1 Vírus do mosaico severo do caupi – isolado de *Vigna luteola* (CpSMV)

O vírus empregado nos experimentos foi isolado de plantas de *Vigna luteola* Jacq. (Leg.-Fabaceae), coletadas no município de Praia Grande, SP (Barradas et al., 1991) e foi sorologicamente identificado como uma estirpe do vírus do mosaico severo do caupi, gênero *Comovirus*, família Comoviridae, (Salas et al., 1996a, b) e que, devido a sua procedência, foi designado CpSMV-SP.

3.1.1 Determinação do círculo de plantas hospedeiras e sintomatologia

Foram inoculadas 48 espécies de 5 famílias botânicas: Amaranthaceae, Chenopodiaceae, Cucurbitaceae, Leguminosae e Solanaceae

As fontes de inóculo do fitovírus foram mantidas através de repicagens sucessivas e/ou por armazenamento de material foliar desidratado com CaCl_2 , em diferentes temperaturas.

O inóculo constou de extrato preparado a partir de material desidratado de folhas de *Phaseolus lunatus* e *Vigna luteola*, macerado em tampão fosfato 0,5M pH 7,5 ou solução de sulfito de sódio a 0,5% (Yarwood, 1952; 1969). As plantas (10 de cada espécie) foram previamente polvilhadas com o abrasivo “carburundum” e inoculadas 15 dias após o transplante das sementes pré-germinadas.

A evolução de sintomas foi acompanhada durante 10-15 dias, realizando-se observações diárias, principalmente na folhagem das plantas. O controle constou de plantas “inoculadas” apenas com tampão ou sulfito.

A fim de comprovar a presença do vírus nas plantas inoculadas, apresentando ou não sintomas, foram realizados teste de recuperação (retroinoculações) em plantas de *P. lunatus*. Também foram feitos testes sorológicos de dupla difusão, empregando-se gel de ágar preparado com 0,85% (p/v) de agarose; 0,85%(p/v) de NaCl e 0,05%(p/v) de NaN_3 (de acordo com Lima & Nelson, 1974; Brioso et al., 1994). O preparo do antissoro contra o CpSMV-SP encontra-se descrito em trabalho anterior (Salas et al., 1996a).

3.1.2. Manutenção das plantas-fonte do vírus

A partir de fontes com sintomas sistêmicos, isto é, generalizados na planta toda e caracterizados por alterações tais como mosaico, deformação foliar, pontos cloróticos e nanismo, foram inoculadas diversas espécies da família Leguminosae, para a obtenção de fontes de vírus. O vírus foi mantido de 3 formas: a) através de repicagens sucessivas em plantas hospedeiras; b) através de material foliar desidratado com CaCl_2 , armazenado em baixas temperaturas (Barradas & Silberschmidt, 1973; Barradas, 1978; 1992); c)

extrato foliar bruto , armazenado em baixas temperaturas (Barradas et al, 1993).

3.2 Criação de *Cerotoma arcuata* Oliv.

3.2.1 Coletas de adultos em campo

Para o início dos estudos do ciclo biológico do inseto, em dieta natural, procedeu-se a coletas sucessivas de adultos em áreas cultivadas com feijão, soja e diversas cucurbitáceas, localizadas no campo experimental da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, em Piracicaba, SP (“Fazenda Areião”), na Estação Experimental do Instituto Biológico, em Campinas, SP (“Fazenda Mário d’Ápice”), e em áreas vinculadas à Casa de Agricultura de Salto de Pirapora, Divisão Regional Agrícola de Sorocaba, SP. Para tal , utilizaram-se rede entomológica e aspirador bucal.

Os adultos foram transferidos para sacos de coleta feitos com tela plástica (30 cm x 15 cm), onde se colocaram plantas hospedeiras oriundas de campo para alimentação. A fim de se manter a umidade, acrescentou-se algodão umedecido, garantindo assim a sobrevivência dos insetos no transporte ao laboratório.

3.2.2 Postura e coleta de ovos em laboratório

Os adultos, no laboratório, foram mantidos em câmara climatizada modelo 100F, Eletrolab ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; U.R.: $80 \pm 20\%$ e fotofase de 12h), em frascos de vidro, com capacidade de 5 litros (medindo 17 cm de altura e 12 cm de diâmetro), tampados com tecido tipo “voil”, a fim de permitir a ventilação. O fundo foi forrado com papel de filtro e, para auxiliar a manutenção da umidade, foi empregado um algodão umedecido diariamente. Foram alimentados com

plântulas e folíolos de feijão, mantidos em um frasco-suporte com água destilada para evitar que secassem. Tanto a água como o alimento eram trocados a cada 2 dias.

Como substrato de postura, utilizaram-se placas de Petri (9,5 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura), contendo uma mistura de terra + vermiculite + areia (2:1:1), cobertas com papel de filtro e gaze tingida de preto, previamente umedecida, conforme Silva-Werneck et al. (1995) e Milanez (1995).

Os ovos foram retirados com auxílio de pincel e água destilada, sendo posteriormente transferidos ou para placas de Petri (9,5 cm diâmetro e 1,5 cm de altura), contendo terra esterilizada e sementes pré-germinadas de *Phaseolus vulgaris* 'Carioca', para alimentação, a fim de dar início à criação do inseto, ou para placas de ELISA, previamente forradas com papel de filtro umedecido, sendo cobertas com Parafilm® e mantidas em câmaras climatizadas, a fim de se observar o desenvolvimento, o período de incubação e respectiva viabilidade.

3.2.3 Fase de larva

As larvas recém-eclodidas foram transferidas para caixas de germinação "Gerbox" (11 cm de lado e 5 cm de altura) contendo sementes pré-germinadas, com terra previamente esterilizada, segundo metodologia descrita por Fernandes (1986). A alimentação das larvas constou de sementes de feijão 'Carioca' e 'Manteiga Rajado', tratadas com uma mistura dos fungicidas thiabendazole (1 g/ kg de sementes) e CAPTAN (1,5 g/ kg de sementes), sendo trocada e/ou adicionada, de três em três dias. Para cada semente eram colocadas 10 larvas. Em cada placa foram colocadas no máximo 150 larvas, e as placas foram mantidas em câmara climatizada (Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; U.R.: $70 \pm 20\%$; fotofase de 12h).

Foram avaliados o peso médio das larvas e a duração da fase larval.

3.2.4 Fases de pré-pupa e pupa

Os exemplares que atingiram as fases de pré-pupa e pupa foram retirados das caixas de germinação, com auxílio de pincel umedecido, e individualizados em copos plásticos (4 cm de altura x 5 cm de largura) contendo uma mistura de terra + vermiculite + areia (2:1:1).

Os copos eram colocados em caixas plásticas (10 cm de altura x 25 cm comprimento x 20 cm de largura) cobertas com tampa telada. Para manter a umidade foi colocado um chumaço de algodão, que era umedecido diariamente.

Realizou-se a pesagem de pupas, 24 h após a sua detecção, tendo-se separado machos e fêmeas, baseando-se na presença de um par de papilas existente na porção ventral das fêmeas, próximo ao ápice do abdômen (Krysan, 1986). A pesagem foi efetuada em balança analítica, com aproximação de 3 casas decimais. Foram determinadas a duração e viabilidade da fase pupal.

3.2.5 Fase adulta

A fim de se obterem dados de longevidade e fecundidade, foram separadas duas colônias, empregando-se diferentes proporções de relações sexuais (♀:♂) (1:1 e 2:1), que foram comparadas com uma colônia onde não se determinou a relação sexual (aleatória). As colônias foram colocadas em frascos de vidro (17 cm de altura x 12 cm de diâmetro), cobertas com tecido tipo "voil" para ventilação. Sobre a abertura para ventilação colocou-se algodão, umedecido diariamente, para auxiliar na manutenção da umidade. Na colônia de relação sexual 1:1, foram colocados 18 insetos, em duas repetições. Na 2:1, 27 insetos, em duas repetições. Em ambas as colônias foi colocada uma placa de Petri, como anteriormente descrito no item 3.2.2, para a obtenção de ovos, que foram coletados diariamente até a morte do último exemplar. Os

insetos foram alimentados com folhas de feijão 'Manteiga Rajado' e 'Carioca' - acondicionadas em um frasco de boca fina contendo água destilada para manutenção da turgidez das plantas. — tendo sido observados todos os dias, até a morte do último exemplar, comparando-se a sobrevivência e a postura, nas três colônias. Foram observados, além da fecundidade e longevidade, períodos de pré-oviposição e oviposição nas três condições de estudo. A sobrevivência foi estudada nas colônias de relação sexual 2:1 e 1:1, através do modelo de Weibul (Sgrillo, 1982).

3.2.6 Criação de *Cerotoma arcuata* em dois tipos de substrato

Após as primeiras tentativas de criação a fim de se descobrir a melhor relação sexual a ser empregada, iniciou-se um experimento com a finalidade de selecionar o melhor substrato para criação de *Cerotoma arcuata*. Para tal, empregaram-se dois substratos diferentes: a) terra orgânica; b) mistura de vermiculite + terra orgânica + areia (2:1:1). Foram utilizados insetos obtidos em laboratório (30 insetos, em relação sexual 2:1 (♀:♂), que foram submetidos ao mesmo processo descrito anteriormente (itens 3.2.2 a 3.2.4) para obtenção de ovos. Após a postura, estes foram distribuídos em "terrários" com os dois diferentes substratos. Foram empregados aproximadamente 100 ovos em 3 repetições. A alimentação foi feita com sementes pré-germinadas de feijoeiro 'Carioca', observando-se o aparecimento de fungos (sementes retiradas e eliminadas assim que constatado o ataque), a umidade (evitando a dessecação) e falta de alimento. Avaliou-se a duração em dias das fases de ovo, larva, pré-pupa e pupa. Os insetos foram mantidos em câmara climatizada B.O.D. Eletrolab mod. 100 (Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; U.R.: $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h).

Procedeu-se à análise estatística, realizando-se a análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey (nível de 5% de probabilidade).

3.3 Transmissão do CpSMV-SP por *Cerotoma arcuata* e outros diferentes artrópodos

3.3.1 Testes de transmissão do CpSMV-SP por diferentes artrópodos

A fim de estudar a possível gama de artrópodos vetores que colonizam a cultura de feijão, mesmo que esporadicamente, foram realizados testes de transmissão, envolvendo algumas espécies pertencentes a Ordens com potencial de serem transmissoras do CpSMV-SP : a) Coleoptera (*Cerotoma arcuata* – “vaquinha-preta-e-amarela-da-soja”, *Diabrotica speciosa* – “brasileirinho”, *D. bivitulla* – “vaquinha-das-cucurbitáceas” e *Epicauta atomaria* – “burrinho-das-solanáceas”); b) Hemiptera - Homoptera (*Myzus persicae* – “pulgão-da-batata”- adultos ápteros e *Bemisia* sp. – “mosca-branca” - adultos); c) Thysanoptera (*Caliothrips* sp. - possivelmente *C. phaseolus* – “tripes-do-feijão”- ninfas e adultos). Incluiu-se também, nos testes, um ácaro da família Tetranychidae (*Tetranychus urticae* – “ácaro rajado” - adultos). Os insetos e ácaros foram coletados em campo e trazidos ao Laboratório de Estudo de Vetores da Seção de Virologia Fitopatológica e Fisiopatologia do Instituto Biológico de São Paulo, onde se procedeu à manutenção das colônias em plantas de *Phaseolus vulgaris* ‘Carioca’.

Após a adaptação das colônias no laboratório (aproximadamente 10 dias), foram separados alguns exemplares dos artrópodos citados e colocados em plantas comprovadamente sadias de *P. vulgaris*, para verificar se estavam isentos de vírus (teste de desinfecção ou limpeza).

A partir da confirmação de resultados negativos, os insetos e ácaros foram alimentados por 12 horas (Período de Acesso de Aquisição - P.A.A.) em plantas-fonte de *Vigna luteola* e *P. lunatus* apresentando sintomas sistêmicos induzidos pelo CpSMV-SP, sendo transferidos para plantas-teste de *Canavalia ensiformis*, *P. vulgaris* (3 cultivares), *Vigna mungo* e *V. unguiculata*.

comprovadamente sadias, com idade de 15 dias após a semeadura. No caso da “mosca-branca”, utilizou-se *Glycine max* ‘Sta. Rosa’ na aquisição. Foram utilizados 3 exemplares de artrópodos por planta, nos ensaios com os coleópteros e 10 exemplares para os demais grupos de artrópodos (Período de Acesso a Inoculação - P.A.I.).

Foram empregadas 10 plantas em cada teste de transmissão, exceto no ensaio com a “mosca-branca” (6 plantas) e nos ensaios com *C. arcuata* para feijoeiro ‘Manteiga Rajado’ e ‘Manteiga’ (15 plantas)

O controle negativo constou de plantas de *P. lunatus* onde se colocaram artrópodos não-virulíferos, isto é, não submetidos ao período de acesso à aquisição. Também foram inoculadas plantas mecanicamente (por extrato), para se comprovar se as fontes realmente continham o vírus, constituindo o controle positivo. Os insetos e ácaros foram eliminados manualmente após o experimento.

Foram realizadas avaliações diárias, observando-se o aparecimento (ou não) de sintomas durante 20 dias, procedendo-se a uma retroinoculação, ao final deste período, em plantas de *P. vulgaris* ‘Carioca’, para confirmar a presença do vírus.

3.3.2 Testes de transmissão por larvas de *Ceratomyxa arcuata*

Para a realização dos testes de transmissão com larvas de *C. arcuata*, 300 larvas de 1º ínstar (3 dias após a eclosão) foram separadas e colocadas em placas de Petri (50 larvas/placa), forradas com papel de filtro levemente umedecido e cobertas com Parafilm®. Nestas placas, as larvas ficaram confinadas, mantidas em jejum por 12 horas. Após o período de jejum, adicionaram-se às colônias raízes e folíolos novos de plantas de *Phaseolus vulgaris* ‘Carioca’ e *Vigna luteola*, infectadas sistemicamente, para que as larvas iniciassem o período de acesso à aquisição (24 horas).

Comprovada a alimentação das larvas, estas foram transferidas para plantas sadias de *Canavalia ensiformis* – “feijão-de-porco”; *P. vulgaris* – “feijoeiro”- ‘Carioca’ e ‘Manteiga’; *V. mungo* – “feijão mungo” e *V. unguiculata* – “caupi” - ‘Vermelho Mundo’, com 15 dias após o transplante. Foram empregadas 3 larvas por planta indicadora. A fim de facilitar a alimentação, retirou-se uma porção da terra do vaso, deixando-se assim as raízes à mostra, no local onde foram colocadas as larvas. O período de acesso à inoculação foi de 12 horas, tendo-se empregado 10 plantas em cada ensaio.

O controle constou de plantas que receberam larvas não submetidas ao período de acesso à aquisição. Os sintomas foram observados diariamente durante 15 - 20 dias e a presença de vírus foi confirmada por retroinoculação em *P. vulgaris* ‘Carioca’.

3.3.3 Transmissão por adultos de *Cerotoma arcuata*

3.3.3.1 Comparação da transmissão por insetos coletados em campo e criados em laboratório

Adultos de *C. arcuata* coletados em campo e os obtidos no laboratório foram mantidos de acordo com o item 3.2.2, até a formação de colônias homogêneas. A partir destas colônias, foram selecionados aleatoriamente 30 exemplares, sem separação de sexo, e deixados por um período de acesso à aquisição (12 horas) em plantas de *Vigna luteola* e *Phaseolus vulgaris* ‘Carioca’ infectadas sistemicamente com o CpSMV.

Os insetos foram transferidos para plantas sadias de *P. vulgaris* ‘Carioca’ (1 inseto/planta hospedeira), com idade de 15 dias após o transplante, para o período de acesso à inoculação. Os coleópteros foram retirados quando comprovada a tomada de alimento pelo último exemplar (aproximadamente 12 horas).

As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação e avaliadas diariamente quanto ao aparecimento (ou não) de sintomas durante 15 - 20 dias. A presença do vírus foi confirmada sorologicamente, através da técnica de dupla difusão em gel de ágar (item 3.1.1).

3.3.3.2 Comparação da transmissão por machos e fêmeas de *Cerotoma arcuata*

Adultos de *C. arcuata* foram separados por sexo, baseando-se na dilatação do 2º antenômero, presente apenas nos machos (Gonzalez et al., 1982). Além desta característica, Holcomb & Fulton (1978) ressaltam a diferença na coloração da face, na área situada entre os olhos: os machos possuem esta região preta e, as fêmeas, uma mancha amarela.

Foram separados 84 machos e 84 fêmeas, para a realização dos testes de transmissão, com procedimento idêntico ao descrito no item 3.3.3.1; empregou-se 1 inseto por planta hospedeira

Realizaram-se 7 experimentos, variando-se a planta-fonte do CpSMV-SP (inoculada mecanicamente e apresentando sintomas) e a planta hospedeira (comprovadamente sadia, com idade de 15 dias após o transplante).

Os testes foram realizados com 12 repetições, empregando-se: *Glycine max* / *G. max*; *G. max* / *Phaseolus vulgaris*; *G. max* / *Vigna unguiculata*; *P. vulgaris* / *P. vulgaris*; *P. vulgaris* / *G. max*; *P. vulgaris* / *V. unguiculata* (planta-fonte/planta-hospedeira).

3.3.3.3 Avaliação do período de retenção do vírus por machos e fêmeas

Os mesmos insetos virulíferos empregados no teste anterior (item 3.3.3.2), envolvendo *Phaseolus vulgaris* (como planta-fonte e planta-teste),

foram separados e alimentados por 9 transferências sucessivas em diferentes períodos (1, 2, 4, 5, 6, 7, 10, 12 e 14 dias após a acesso à aquisição do vírus), em plantas sadias de *P. vulgaris*, a fim de se verificar por quanto tempo o coleóptero permaneceria virulífero. Em cada teste, foram empregadas 8 plantas, sendo 4 na transmissão por fêmeas e 4 por machos. As plantas foram levadas a casa-de-vegetação, sendo avaliadas diariamente, por um período de um mês. Para se confirmar a presença do vírus, todas as plantas, apresentando ou não sintomas, foram submetidas a testes sorológicos de dupla difusão em ágar (item 3.1.1)

3.4 Testes de preferência alimentar de *Cerotoma arcuata* em diferentes plantas hospedeiras (livre escolha)

3.4.1 Plantas sadias (soja, feijão e caupi)

Para avaliar a preferência do inseto em algumas leguminosas, realizaram-se ensaios em confinamento, coletando-se discos da 1ª folha trifoliolada de *Phaseolus vulgaris* 'Manteiga Rajado' (feijão), *Vigna unguiculata* 'Macaibo' (caupi), *Glycine max* 'IAC-2' (soja) e *G. javanica* (soja perene).

Empregou-se técnica semelhante àquela utilizada por Risch (1976). O experimento foi realizado em placas de Petri (9,5 cm de diâmetro por 0,5 cm de altura) forradas com papel de filtro umedecido, formando-se uma câmara úmida, com auxílio de copos plásticos transparentes (capacidade 300 ml), furados com alfinete para permitir a ventilação. Colocou-se um algodão umedecido para evitar a dessecação, tanto dos discos foliares como dos insetos. Cada placa de Petri constituiu uma "arena".

Os discos foliares, com área total de 1,13 cm², foram obtidos

com ajuda de um vasador de rolha. Foram realizados 2 experimentos. Os coleópteros empregados foram criados em laboratório, utilizando-se sempre os mesmos, submetidos a um período de jejum de 12 h entre cada ensaio.

Na arena, colocou-se 1 besouro para 4 discos foliares, sustentados por alfinetes coloridos, para facilitar a leitura, sendo 1 para cada espécie botânica (*Phaseolus vulgaris* 'Manteiga Rajado'; *Glycine javanica*, *G. max* e *Vigna unguiculata*), com 20 repetições em cada experimento. Os discos permaneceram em água destilada por duas horas, antes do teste, a fim de não perderem a turgidez.

A avaliação foi realizada através da diferença entre a área total do disco foliar - não danificada pelo inseto - antes do teste, e a área após ter sofrido dano. Para tal, os discos eram desenhados sobre papel milimetrado, antes de serem oferecidos aos insetos.

Após 24 horas, a área foliar consumida era demarcada, procedendo-se à avaliação

Os resultados foram analisados estatisticamente, realizando-se análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey (nível de 5% de probabilidade).

3.4.2 Alimentação em plantas sadias e infectadas (soja e soja perene)

Após a escolha das espécies pelas quais *C. arcuata* mostrou preferência alimentar - *Glycine max* (soja) e *G. javanica* (soja perene) -, foram realizados ensaios semelhantes, visando comparar plantas infectadas e sadias, empregando-se o mesmo procedimento do item anterior, num total de 20 repetições. No caso da soja, o cultivar empregado foi o 'Sta. Rosa', diferente do mencionado no item anterior ('IAC-2'), por que

este não mais estava disponível, no momento.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Círculo de hospedeiras e sintomatologia

Os resultados obtidos nos testes de inoculação mecânica (Tabela 1 e Figuras 2 a 5), mostraram que, das 5 famílias botânicas testadas, apenas duas mostraram espécies suscetíveis: *Chenopodiaceae* (*Chenopodium amaranticolor*) e *Leguminosae* (*Glycine javanica*, *G. max*, *Macroptilium lathyroides*, *Phaseolus lunatus*, *P. vulgaris*, *Vigna luteola*, *V. mungo* e *V. unguiculata*). Tal fato é característico dos vírus pertencentes ao grupo *Comovirus*, no qual os representantes possuem um restrito círculo de hospedeiras (Bos, 1983), em relação às famílias botânicas, porém relativamente amplo quando se consideram as espécies que a família abrange (Stace-Smith, 1981; Matthews, 1991). Conforme Valverde & Fulton (1996), o círculo de hospedeiras dos membros do gênero *Comovirus* é limitado, envolvendo principalmente uma família botânica. Quanto ao CpSMV, segundo os mesmos autores, apenas leguminosas têm sido relatadas como suas hospedeiras naturais.

Os resultados da Tabela 1 foram confirmados por sorologia (testes de dupla difusão em gel de ágar): em todos os casos de ausência de sintomas (sinal – na tabela), não houve reação sorológica com o antissoro contra o CpSMV-SP e, nos casos de presença de sintomas (sinal +), sempre houve reação sorológica. Portanto, todas as espécies e

cultivares que não apresentaram sintomas são imunes ao vírus, não tendo se detectado hospedeiros latentes. Com relação às espécies e cultivares suscetíveis a maioria apresentou sintomas sistêmicos. Somente três espécies reagiram exclusivamente com lesões locais (cloróticas, no caso de *C. amaranticolor* e necróticas, em *P. lunatus* e *P. vulgaris* 'Rico 23').

Tabela 1 - Famílias e espécies vegetais inoculadas mecanicamente com o CpSMV-SP e sintomatologia observada (após 15 dias)

Famílias e espécies	Sintomas	
	LOCAIS	SISTÊMICOS
Amaranthaceae		
<i>Gomphrena globosa</i>	-	-
Chenopodiaceae		
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	+(LC)	-
<i>C. quinoa</i>	-	-
Cucurbitaceae		
<i>Cucumis vulgaris</i>	-	-
Leguminosae		
<i>Canavalia brasiliensis</i>	-	-
<i>C. ensiformis</i>	-	-
<i>Cassia occidentalis</i>	-	-
<i>Clitoria ternatea</i>	-	-
<i>Crotalaria spectabilis</i>	-	-
<i>Glycine javanica</i>	+(LC)	+(M)
<i>Glycine max</i>		
cv. IAC-2	+(LC)	+(CN, MD, NA)
cv. IAC 8-2	+(LC)	+(DF, M)
cv. IAC 15	+(LC)	+(Mo, M)
cv. IAC 17	-	+(M, NA)
cv. IAC 18	-	-
cv. IAC 19	+(LN)	+(CN, M)
cv. IAC 20	-	+(M)
cv. IAC 100	-	+(CN, DF, MD)
cv. IAC PL-1	-	+(Mo, M, MD)
cv. Santa Rosa	+(LC, LN)	+(LN, M)
<i>Macroptilium atropurpureum</i>	-	-
<i>M. lathyroides</i>	-	+(Mo, CN, M, DF)
<i>Phaseolus lunatus</i>	+(LN)	-
<i>Phaseolus vulgaris</i>		
cv. Carioca	+(LN)	+(M, DF)
cv. Jalo	-	+(M)

cv. Manteiga	-	+ (Mo, DF)
cv. Preto	+(LN)	+(M)
cv. Manteiga Rajado	-	+(M, DF)
cv. Rico 23	+(LN)	-
cv. Top Crop	-	+(Mo, DF)
<i>Psodocarpus tetranoglobus</i>	-	-
<i>Vigna luteola</i>	-	+ (MD, DF)
<i>Vigna mungo</i>	-	+ (M, DF)
<i>Vigna umbellata</i>	-	-
<i>Vigna unguiculata</i>		
cv. Branquinho (CE-034)	-	-
cv. Big Boy-43 (CE-110)	-	-
cv. Carrapicho (CE-066)	-	-
cv. Costa Rica/v41 (CE-195)	+(LC)	+ (M, DF)
cv. Macaibo (CE-524)	-	-
cv. Pitiúba (CE-031)	-	-
cv. Praiano (CE-074)	-	-
cv. Ritinha (CE-008)	-	-
cv. Seridó (CE-001)	-	-
cv. TVU – 379	-	-
cv. TVU – 382	-	-
cv. TVU – 3961	-	-
cv. Vermelho Mundo	+ (LC)	+(M, DF)
cv. V - 14 (CE – 202)	-	-
cv. V - 33 (CE – 206)	-	-
cv. 1250 (CE – 150)	-	-
Solanaceae		
<i>Cyphomandra betacea</i>	-	-
<i>Datura stramonium</i>	-	-
<i>Lycopersicon esculentum</i>		
cv. Santa Cruz	-	-
<i>Nicotiana glutinosa</i>	-	-
<i>Nicotiana tabacum</i>		
cv. White Burley	-	-
cv. TNN	-	-

- : plantas sem sintomas; + : plantas com sintomas; LC: lesões cloróticas; M: mosaico; MD: mosaico amarelo; CN: clareamento de nervuras; NA: necrose apical; DF: deformação foliar; Mo: mosqueado; LN: lesões necróticas

Os sintomas sistêmicos mais freqüentes induzidos pelo CpSMV-SP consistiram de mosaico, mosqueado, clareamento de nervuras e deformação foliar.

É importante ressaltar que, no Brasil, apenas dois vírus foram isolados de *Vigna luteola* com infecção natural, até o momento: um *Geminivirus* (Barradas & Chagas, 1982) e o *Comovirus* utilizado no

presente trabalho, o CpSMV-SP (Barradas et al., 1991; Chaves et al., 1995; Salas et al., 1996a,b). Os sintomas induzidos pelos dois vírus, nesta leguminosa, são bastante semelhantes, consistindo principalmente de intenso mosaico amarelo. Entretanto, o *Geminivirus* só pôde ser transmitido por enxertia e pela “mosca-branca”, *Bemisia tabaci* (Barradas & Chagas, 1982), enquanto o CpSMV-SP transmite-se com facilidade por inoculação mecânica.

Chama a atenção o fato de que, apesar da identificação do *Comovirus* como o vírus do mosaico severo do caupi (CpSMV-SP), por Salas et al. (1996a, b), notam-se sensíveis diferenças com a estirpe padrão (De Jager, 1979), no que se refere ao círculo de hospedeiras. O vírus isolado no município de Praia Grande, SP, infecta um grande número de cultivares de soja (9, de um total de 10) e feijão (todos os 7 testados) e um número reduzido de cultivares de caupi (2, de um total de 16) (Tabela 1). A estirpe original afeta um grande número de cultivares de caupi e leguminosas perenes (De Jager, 1979; Kurstak, 1981).

Uma outra estirpe do CpSMV, descrita no Brasil por Briosso et al. (1994), isolada de *Vigna radiata* (mungo verde), tem círculo de hospedeiras que difere do isolado de *V. luteola*, principalmente pela reação positiva mostrada por *Vigna unguiculata* (caupi) ‘Seridó’: lesões locais cloróticas e sintomas sistêmicos do tipo clareamento de nervuras e mosaico. No caso do CpSMV-SP (isolado de *V. luteola*), não há indução de sintomas em caupi ‘Seridó’ (Tabela 1).

Quanto ao emprego de *V. luteola* como hospedeira experimental de vírus, parece ser esporádico. Há um relato de trabalho desenvolvido em Cuba (Blanco Sanchez, 1978), com uma estirpe do vírus do mosqueado amarelo do feijoeiro, incluindo esta espécie entre as plantas-teste, que mostrou ser suscetível, respondendo com lesões locais (pontos cloróticos e necróticos).

Figura 2 – Sintomas sistêmicos induzidos pelo CpSMV-SP em folhas de *Vigna luteola*: intenso mosaico amarelo e deformação foliar

Figura 3 – Sintomas sistêmicos induzidos pelo CpSMV-SP em folhas de *Phaseolus vulgaris* 'Manteiga Rajado': leve mosaico e deformação foliar

Figura 4 – Sintomas locais (lesões cloróticas, nas folhas primárias), e sistêmicos (mosaico nas folhas novas) em *Glycine javanica*

Figura 5 – Sintomas locais nas folhas primárias de *Glycine max* 'Sta. Rosa', caracterizados por lesões locais cloróticas e necróticas

4.2. Criação de *Cerotoma arcuata* Oliv.

As fases de desenvolvimento do crisomelídeo *Cerotoma arcuata*, criado no Laboratório de Estudo de Vetores / Seção de Virologia Fitopatológica e Fisiopatologia / Instituto Biológico, são mostradas nas Figuras 6 e 7. Os insetos obtidos na criação não apresentaram diferenças morfológicas em relação àqueles coletados em campo. Tanto os exemplares coletados em campo como os obtidos em laboratório foram identificados, como a espécie *C. arcuata* pelo Dr. Carlos Campaner, do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo.

4.2.1 Criação de *Cerotoma arcuata* empregando diferentes relações sexuais

4.2.1.1 Duração das fases imaturas

Entre as dietas naturais testadas – feijão ‘Jalo’, ‘Manteiga Rajado’ e ‘Manteiga’ - a melhor adaptação em laboratório ocorreu quando se empregaram sementes pré-germinadas de feijão ‘Carioca’, utilizadas de maneira rotineira na manutenção das colônias, permitindo o desenvolvimento da espécie *Cerotoma arcuata*.

Observou-se que, ao se empregar feijoeiro, houve um acréscimo na duração das fases de larva, pré-pupa e pupa, resultando em um ciclo mais longo. Apesar de este inseto ser descrito como possuidor de hábito alimentar polífago e os espécimens terem sido coletados, na sua grande maioria, em feijoeiro, mostrou-se que esta planta, empregada na criação, consegue suprir as exigências nutricionais do coleóptero, porém não deve possuir as proporções adequadas de nutrientes exigidos para uma nutrição normal,

resultando assim em um desenvolvimento mais lento e inadequado (Panizzi & Parra, 1991), quando se comparam os resultados obtidos aos de outros autores empregando plântulas de caupi e soja (Rajnauth et al., 1987; Quintela et al., 1991; Heineck & Corseuil, 1995).

A média total da duração das fases larva – adulto, nas primeiras tentativas de criação, foi 38,55 dias (dados obtidos pelo autor). No entanto, a literatura cita resultados variáveis, isto é, períodos mais curtos obtidos para o ciclo de *Cerotoma arcuata*, que oscilam de 21,2 (Heineck & Corseuil, 1995) a 29,0 dias (Rajnauth et al., 1987). Este fato pode ser atribuído às inúmeras alterações referentes à dieta empregada, tipo de substrato e condições gerais da criação (temperatura, umidade relativa e fotofase).

4.2.1.2 Postura e viabilidade de ovos

Nas colônias de *Cerotoma arcuata* mantidas em diferentes padrões de relação sexual (Tabela 2), verificou-se maior postura (511,0 ovos/10 dias) e viabilidade dos ovos (52,12%) utilizando-se a relação 2♀:1♂, quando em comparação às posturas das colônias sem padrão de relação sexual (166,55 ovos/10 dias) e daquelas com relação sexual 1:1, onde se obtiveram 243,87 ovos/10 dias e viabilidade de 38,88%. Estes valores indicam que, nestas condições, a relação 2♀:1♂ é a mais indicada. Tais resultados, porém, diferem dos obtidos por Gonzalez & Cardona (1979) e Gonzalez et al. (1982), que mostraram ser a relação sexual 1:1 a mais indicada para o coleóptero *C. facialis*.

Figura 6 – Fases imaturas de *Cerotoma arcuata* (A = ovo; B = larva; C = pré-pupa; D = pupa)

Figura 7 – Exemplares adultos de *Cerotoma arcuata* obtidos em laboratório (à esquerda: macho; à direita: fêmea)

Tabela 2 - Características de oviposição de *Cerotoma arcuata* em colônias coletadas no campo e mantidas no laboratório, utilizando-se diferentes relações sexuais (♀ : ♂)

Parâmetro considerado	Relação sexual		
	a	b	c
nº mínimo de ovos	7	4	8
nº máximo de ovos	302	109	178
média ovos/fêmea (10 dias)	166,55	243,87	511,00
nº médio de ovos/ fêmea	*	27,09	28,38
viabilidade de ovos(%)	*	38,88	52,12

* : valores não observados.

a = os insetos coletados em campo não foram diferenciados sexualmente; portanto, nesta colônia, a relação sexual não foi determinada (relação sexual aleatória)

b = relação sexual 1:1

c = relação sexual 2:1

4.2.1.3 Períodos de pré-oviposição e oviposição

Verificou-se que a oviposição de *Cerotoma arcuata* é realizada, na sua grande maioria, em grupos, porém observaram-se alguns ovos isolados, dado também registrado por Gonzalez & Cardona (1979) e Heineck (1993). A grande maioria era depositada sobre a placa de postura, montada segundo Milanez (1995), no caule das plantas de feijão ou então no algodão utilizado como suporte das plantas, junto ao frasco com água, concordando com observações de Gonzalez & Cardona (1979). Os dados dos períodos de pré-oviposição e oviposição encontram-se na Tabela 3.

O período médio de oviposição, para colônias de campo, é menor que os encontrados por Heineck (1993) e Heineck & Corseuil (1995), mas deve-se lembrar que as condições de laboratório empregadas no presente

trabalho foram diferentes das dos citados autores. No entanto, os dados da Tabela 3 encontram-se dentro do intervalo de variação mencionado por Herzog et al. (1974). Ainda com relação à Tabela 3, os valores do período de oviposição para todas as colônias, indiferentemente da relação sexual empregada, estão abaixo daqueles obtidos por Heineck (1993), para *C. arcuata tingomariana*.

Tabela 3 - Duração média (dias) dos períodos de pré-oviposição e oviposição de *Cerotoma arcuata*, utilizando-se diferentes relações sexuais (♀ : ♂)

Parâmetro observado	Relação sexual		
	A	B	C
pré-oviposição*	40,90 ± 24,95	13,83 ± 5,86	15,55 ± 7,68
I.V. ^(d)	3 – 84	1 – 109	1 – 178
Oviposição	49,91 ± 22,07	38,42 ± 8,66	44,82 ± 9,37
I.V.	1 – 97	28 – 58	32 – 55

a = os insetos coletados no campo não foram diferenciados sexualmente; portanto, nesta colônia, a relação sexual não foi determinada (relação sexual aleatória)

b = relação sexual 1:1

c = relação sexual 2:1

d = I.V.: intervalo de variação

* = refere-se ao período que antecedeu a colocação de ovos.

Segundo Parra (1995), entre os aspectos bioecológicos que envolvem a oviposição e o acasalamento de insetos, a proporção de machos e fêmeas a ser empregada deve ser levada em consideração, pois ocorrem problemas que podem interferir no desenvolvimento da colônia. Assim, para o sucesso da implantação da colônia, é recomendado que se procure imitar as condições da natureza.

Os dados obtidos podem ter sido decorrentes das variações empregadas na criação em laboratório, por exemplo, o tamanho do vidro de criação utilizado, bem menor que a gaiola recomendada por Singh & Moore (1985) para a criação de crisomelídeos, que possui dimensões de 91 cm de comprimento x 76 cm de largura x 56 cm de altura.

O baixo número de ovos obtido nas colônias nas quais a relação sexual foi aleatória pode ser atribuído à quantidade excessiva de insetos empregada, dificultando assim a cópula. Segundo Peters & Barbosa (1977), existe um espaço ideal necessário para cada fase de desenvolvimento do inseto. Além do fator espaço, os valores de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), fotofase (12h) e umidade relativa ($70 \pm 10\%$) empregados na criação de *Cerotoma arcuata* também foram sensivelmente diferentes daqueles utilizados por outros autores, que obtiveram melhores resultados (Gonzalez et al., 1982; Herzog et al., 1974; Holcomb & Fulton, 1978; Heineck, 1993; Heineck & Corseuil, 1993 e Rajnauth et al. 1987).

As posturas foram observadas durante 10 dias (Figura 8), obtendo-se os seguintes valores para as colônias 1 : 1 e 2 : 1 (♀ : ♂), respectivamente: número mínimo de ovos = 4 e 8; número máximo de ovos = 109 e 178. Resultados semelhantes foram observados *C. trifurcata* (Gonzalez & Cardona, 1979) e *C. facialis* (Herzog et al., 1974).

Quanto ao número médio de ovos por fêmea, determinou-se o valor 32,11 (1 ♀ : 1 ♂), confirmando dados obtidos por Heineck & Corseuil (1995). No entanto, para as colônias com relação 2 ♀ : 1 ♂, os resultados (68,6 ovos/10 dias) foram superiores aos encontrados para *C. facialis* (Herzog, 1974) e *C. trifurcata* (Gonzalez & Cardona, 1979), mas inferiores ao número médio observado por Quintela et al. (1979) para *C. arcuata*; porém, deve-se assinalar que estes valores foram obtidos considerando-se apenas as fêmeas individualizadas que realizaram posturas, sem levar em conta a colônia como um todo.

É importante ressaltar o escasso número de trabalhos específicos que envolvem variações de relação sexual nas colônias, fator primordial na implantação de uma criação em baixa escala de coleópteros crisomelídeos para estudos em laboratório, onde as condições diferem daquelas encontradas

no campo.

Figura 8 - Postura diária de *Cerotoma arcuata* em laboratório, em colônias com diferentes relações sexuais (♀ : ♂) (Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; U.R.: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 12 h).

4.2.1.4 Longevidade e fecundidade de adultos

A longevidade de adultos de *Cerotoma arcuata* diferiu em função das proporções de relação sexual (♀ : ♂) empregadas nas colônias. A longevidade média estimada para os machos com base no Modelo de Weibull foi de 26,14 dias (nas colônias 2 : 1) e 32,05 dias (1 : 1) e, para as fêmeas, 37,70 dias (2 : 1) e 18,95 dias (1 : 1) (Figuras 9 e 10).

As curvas de sobrevivência para ambos os sexos obedeceram ao modelo de Weibull (Figuras 9A, 9B, 10A, 10B e 10C), com os valores dos parâmetros de forma ($\hat{\alpha}$) maiores que 1, o que caracteriza como sendo do tipo 1, as quais, segundo Sgrillo (1982), evidenciam uma taxa de mortalidade que aumenta com o tempo. A única exceção foi, referente à curva de sobrevivência de machos na colônia com relação sexual $2\text{♀} : 1\text{♂}$, cujo parâmetro de forma foi inferior a 1, mostrando que a taxa de mortalidade decresceu com o tempo neste caso (Figura 9C). Este fato pode ser atribuído à menor quantidade de energia dispendida no vôo à procura de fêmeas para efetuar a cópula e também à

maior disponibilidade de alimento.

Os resultados obtidos são conflitantes com as informações de Peters & Barbosa (1977), que concluíram que, de maneira geral, as fêmeas, quando submetidas a superpopulações, sofrem diminuição na sua longevidade. No entanto, Parra (1995) afirma que o aumento da densidade corrobora com um aumento de longevidade para as fêmeas e um decréscimo para os machos.

4.2.2 Criação de *Cerotoma arcuata* em dois tipos de substrato

O desenvolvimento de crisomelídeos é largamente influenciado pelas propriedades físico-químicas do substrato empregado na criação (Milanez, 1995). Assim, nesta pesquisa, conforme se observa na Tabela 4 e na Figura 11, constatou-se uma diminuição no ciclo biológico (ovo – adulto) de *C. arcuata* quando se empregou a mistura vermiculite + terra orgânica + areia (2:1:1) (36,12 dias), em relação ao substrato terra orgânica (43,6 dias). Resultados semelhantes foram obtidos por Holcomb & Fulton (1978) para *C. trifurcata*, empregando um substrato constituído por areia + solo + vermiculite + esterco fino (3:1:1:1), que permitiu redução no ciclo biológico quando comparado com o substrato terra orgânica.

Heineck (1993) concluiu que o controle da umidade e a utilização de substrato adequado na manutenção das fases imaturas (pré-pupa e pupa), proporcionariam valores mais altos de viabilidade. Maior sucesso na manutenção de colônias criadas em substratos do tipo mistura, principalmente quando se inclui vermiculite, deve-se a sua maior capacidade de retenção de água.

Figura 9- Sobrevivência de fêmeas + machos (A), fêmeas (B) e machos (C) de *Cerotoma arcuata* mantidos em colônias empregando relação sexual 2:1 (♀ : ♂), alimentados com dieta natural (*Phaseolus vulgaris*). Valores estimados pela equação de Weibull . Condições da colônia: Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; U.R.: $70 \pm 10\%$ e fotofase :12h

Figura 10 - Sobrevivência de fêmeas + machos (A), fêmeas (B) e machos (C) de *Cerotoma arcuata* mantidos em colônias empregando relação sexual 1:1 (♀ : ♂), alimentados com dieta natural (*Phaseolus vulgaris*). Valores estimados pela equação de Weibull. Condições da colônia: Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; U.R.: $70 \pm 10\%$ e fotofase :12h

Tabela 4 - Duração das fases imaturas e ciclo total de *Cerotoma arcuata* em dois substratos (Temp.: 25 ± 2 °C; U.R.: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 12h)

Fases	Duração (dias)	
	Substrato A	Substrato B
ovo	$17,93 \pm 5,23$	$10,91 \pm 4,19$
larva	$13,66 \pm 3,14$	$15,56 \pm 2,12$
pré-pupa	$8,75 \pm 4,50$	$3,39 \pm 1,99$
pupa	$3,28 \pm 1,70$	$6,26 \pm 3,04$
Ciclo total ⁽¹⁾	43,62a	36,12b

(1) Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (nível de 5% de probabilidade)

A = terra orgânica

B = mistura de vermiculite + terra orgânica + areia (2:1:1)

Figura 11 - Valores acumulados das fases imaturas de *Cerotoma arcuata* criadas em dois substratos: terra orgânica e mistura de vermiculite + terra orgânica + areia (2:1:1) (Temp.: 25 ± 2 °C; U.R.: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 12h).

Porém, nestes casos, deve-se ressaltar que as plantas empregadas na criação foram caupi e soja, enquanto no presente trabalho utilizaram-se plantas de feijão.

A duração média da fase de larva foi $13,66 \pm 3,14$ (terra orgânica) e $15,56 \pm 2,12$ dias (vermiculite + terra orgânica + areia, 2:1:1), valores semelhantes aos encontrados por Heineck (1993) e Rajnauth et al. (1987): 13,40 e 11 a 14 dias, respectivamente. O peso médio de larvas de 1º ínstar foi $0,915 \pm 0,042$ mg, superior ao descrito por Heineck (1993), o que sugere maior alimentação, porém uma nutrição não adequada (Panizzi & Parra, 1991).

A fase de pré-pupa teve uma duração média, em terra orgânica, de $8,75 \pm 4,5$ dias, enquanto no substrato vermiculite + terra orgânica + areia (2:1:1), obtiveram-se $3,39 \pm 1,99$ dias, valor este menor que o anterior (substrato terra orgânica). Tais dados aproximam-se daqueles relatados por Rajnauth et al. (1987) (4 a 8 dias).

Avaliando-se o peso de pupas (Figura 12), não se verificou diferença significativa entre machos ($8,66 \pm 2,10$ mg) e fêmeas ($8,50 \pm 1,90$ mg) de *Cerotoma arcuata*, o que confirma dados observados por Heineck (1993).

Figura 12 - Peso de pupas (machos e fêmeas) de *Cerotoma arcuata* obtidas em laboratório, criadas em mistura de vermiculite + terra orgânica + areia (2:1:1)(Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; U.R.: $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h).

4.3 Transmissão do CpSMV-SP por *Cerotoma arcuata* e outros artrópodos

4.3.1 Testes de transmissão do CpSMV-SP por diferentes artrópodos

Durante o período de acesso à aquisição (P.A.A.), a fim de constatar-se a tomada de alimento dos diferentes artrópodos, em plantas infectadas com o CpSMV-SP, verificou-se que todas as espécies avaliadas, com exceção de *Diabrotica bivitulla*, alimentaram-se das plantas-fonte nas quais foram colocadas (Tabela 5).

Tabela 5 - Avaliação da alimentação dos artrópodos nas fontes de vírus, ao final de 3 dias

Artrópodo	Fonte de vírus	Avaliação da alimentação (danificação foliar)
ACARI: TETRANYCHIDAE		
<i>Tetranychus urticae</i>	<i>Phaseolus lunatus</i>	++
COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE		
<i>Cerotoma arcuata</i>	<i>Vigna luteola</i>	++++
<i>Diabrotica speciosa</i>	<i>V. luteola</i>	+++
<i>D. bivitulla</i>	<i>V. luteola</i>	-
COLEOPTERA: MELOIDAE		
<i>Epicauta atomaria</i>	<i>V. luteola</i>	+
HEMIPTERA: ALEYRODIDAE		
<i>Bemisia sp.</i>	<i>Glycine max</i> 'Sta. Rosa'	(+)
HEMIPTERA: APHIDIDAE		
<i>Myzus persicae</i>	<i>V. luteola</i>	(+)
THYSANOPTERA: THRIPIDAE		
<i>Caliothrips sp.</i>		
Adultos	<i>V. luteola</i>	++
	<i>P. lunatus</i>	++
formas jovens	<i>V. luteola</i>	++
	<i>P. lunatus</i>	++

(1) Notas atribuídas à alimentação, de acordo com a área foliar danificada (consumida ou raspada)

- ++++ = ótima (> 75%)
- +++ = boa (50 – 75%)
- ++ = regular (25 – 50%)
- + = baixa (< 25%)
- = nula

(+) Avaliação diária, constatando-se tomada de alimento (picada) porém não foi possível comparar com os demais casos, onde se observa dano foliar

As Tabelas 6 e 7 evidenciam que, entre as 8 espécies de artrópodos testados, apenas *Cerotoma arcuata* foi comprovado como vetor do CpSMV-SP, tanto na forma adulta quanto no estágio de larva (ver próximo item – 4.3.2).

Na transmissão de fitovírus por coleópteros, estão envolvidas a ingestão do vírus contido no tecido adquirido pelo inseto e a posterior devolução à superfície da planta-hospedeira, no processo de regurgitação, característico dos coleópteros (Costa, 1990) que difere da forma de transmissão dos demais artrópodos testados, os quais apresentam hábitos alimentares do tipo sugador (*Myzus persicae* e *Bemisia* sp.) ou raspador-sugador (*Caliothrips* sp. e *Tetranychus urticae*). É bastante importante a presença de uma ribonuclease no trato digestivo dos coleópteros, a qual possui caráter seletivo na transmissão de fitovírus (Gergerich et al., 1983; 1986; 1988).

De acordo com a literatura, a espécie *C. arcuata* é vetora das estirpes do CpSMV relatadas no Brasil (Batista, 1979; Batista et al., 1988; Costa et al., 1978; 1981; Meyer et al., 1992). Apenas o sorotipo IV, descrito em feijoeiro, pôde ser transmitido também por *Diabrotica speciosa* (Costa et al., 1981; Lin et al., 1984). No caso do presente experimento, embora *D. speciosa* tenha se alimentado da planta-fonte *V. luteola* (Tabela 6), não transmitiu o vírus, indicando que o CpSMV-SP deve ser um sorotipo diferente do IV.

D. bivitulla, é uma praga de cucurbitáceas, esporadicamente coletada em feijoeiro e outras leguminosas; entretanto, os exemplares empregados no experimento de transmissão não se alimentaram das fontes *V. luteola* (Tabela 5), o que explica o resultado negativo da transmissão.

Epicauta atomaria é importante praga de solanáceas. O gênero *Epicauta* inclui duas únicas espécies de melóideos relatados como vetores: *Epicauta vittata*, do “bean pod mottle *Comovirus*” (Patel & Pitre, 1971) e do “eggplant mosaic *Tymovirus*” (Barradas, 1994; Salas & Barradas, 1990; 1992).

As taxas de transmissão do CpSMV-SP, por adultos de *C. arcuata*, foram 46,6, 50,0 e 70,0%, para plantas de feijoeiro ‘Carioca’, ‘Manteiga Rajado’ (Figura 13B) e ‘Manteiga’ (Figura 13A), respectivamente (Tabela 6). Rajnauth et al. (1988), ao empregarem diferentes espécies de crisomelídeos na

transmissão do CpSMV, para plantas de caupi 'Los Baños Bush Sitao nº1', conseguiram altas taxas com *C. arcuata* (77,7 a 100%) e *C. ruficornis* (60 a 83,3%), além de terem tido sucesso na transmissão por espécies de outros gêneros (*Gynandibrotica equestris* - 50 a 66,6% e *Systema s-littera* - 20%).

Tabela 6 - Transmissão experimental do CpSMV - SP por diferentes artrópodos, para diversas espécies da família Leguminosae

Artrópode	Fonte de vírus	Planta-teste	% de transmissão	Sintomatologia (dias após a inoculação)
ACARI:				
TETRANYCHIDAE⁽¹⁾				
<i>Tetranychus urticae</i>	<i>Phaseolus lunatus</i>	<i>P. vulgaris</i> 'Manteiga Rajado'	0%	-
COLEOPTERA:				
CHRYSOMELIDAE⁽²⁾				
<i>Cerotoma arcuata</i> Adultos	<i>Vigna luteola</i>	<i>P. vulgaris</i> 'Carioca' 'Manteiga' 'Manteiga Rajado'	+ (46,6%) +(70%) +(50%)	DF(9);CN, M (15) DF, M (11) DF, M (14)
		<i>V. mungo</i>	0%	-
		<i>V. unguiculata</i> 'Vermelho Mundo'	0%	-
		<i>Canavalia ensiformis</i>	0%	-
<i>Diabrotica bivitulla</i>	<i>V. luteola</i>	<i>P. vulgaris</i> 'Carioca'	0%	-
<i>D. speciosa</i>	<i>V. luteola</i>	<i>P. vulgaris</i> 'Carioca'	0%	-
COLEOPTERA : MELOIDAE⁽²⁾				
<i>Epicauta atomaria</i>	<i>V. luteola</i>	<i>P. vulgaris</i> 'Manteiga Rajado'	0%	-
		<i>V. luteola</i>	0%	-

HEMIPTERA:				
ALEYRODIDAE⁽¹⁾				
<i>Bemisia sp.</i>	<i>Glycine max</i> 'Sta. Rosa'	<i>P. vulgaris</i> 'Manteiga Rajado'	0%	-
HEMIPTERA :				
APHIDIDAE⁽¹⁾				
<i>Myzus persicae</i>	<i>V. luteola</i>	<i>P. vulgaris</i> 'Manteiga Rajado'	0%	-
THYSANOPTERA :				
THRIPIDAE⁽¹⁾				
<i>Caliothrips sp.</i>				
Adultos	<i>V. luteola</i>	<i>P. vulgaris</i> 'Manteiga Rajado'	0%	-
	<i>P. lunatus</i>	<i>P. vulgaris</i> 'Manteiga Rajado'	0%	-
formas jovens	<i>V. luteola</i>	<i>P. vulgaris</i> 'Manteiga Rajado'	0%	-
	<i>P. lunatus</i>	<i>P. vulgaris</i> 'Manteiga Rajado'	0%	-

(1) 10 insetos/planta hospedeira

(2) 3 insetos/planta hospedeira

- : ausência de sintomas e não-recuperação do vírus em feijão 'Carioca'

DF: deformação foliar

CN: clareamento de nervuras

M: mosaico

Batista et al. (1988) conseguiram recuperar o isolado viral a partir de espécimens de *C. arcuata* infectados com o CpSMV provenientes de campo, obtendo baixos valores na transmissão para plantas de caupi 'Seridó' (7,4 a 32,0%), quando comparados com os resultados do presente trabalho. Valores que variaram de 20 a 50% foram encontrados por Meyer et al. (1992), em testes de transmissão por *Ceratomyxa arcuata* para feijão 'Preto 153' e caupi 'Seridó'.

Inúmeros fatores encontram-se envolvidos na eficiência da transmissão de vírus de plantas por coleópteros. Existe uma grande influência da planta empregada nos testes, tanto a utilizada na aquisição como a que recebe o vírus (Fulton et al., 1980). A taxa de transmissão pode variar bastante

para uma dada espécie de besouro, dependendo do vírus. Alguns vírus são mais facilmente transmitidos por uma espécie de coleóptero e menos por outra (Gergerich & Scott, 1996). Este aspecto torna-se relevante, no caso do presente trabalho, pois diferentes estirpes do CpSMV já foram registradas no Brasil (Lin et al., 1981; 1984). Estas estirpes são distribuídas em 4 grupos sorológicos (sorotipo I, II, III e IV), todos disseminados por *C. arcuata*. Tais grupos sorológicos diferenciam-se principalmente quanto à cultura-hospedeira: caupi (sorotipos I, II e III) e feijoeiro (sorotipo IV), havendo variações quanto à porcentagem de transmissão (Meyer et al., 1992).

4.3.2 Transmissão por larvas de *Cerotoma arcuata*

Nos ensaios de transmissão com larvas de *C. arcuata* (1º ínstar), conforme mostra a Tabela 7, as taxas encontradas foram de 40,0% para feijoeiro 'Carioca' e 10,0% para caupi 'Vermelho Mundo' e negativos para as demais espécies testadas (feijoeiro 'Manteiga', *Vigna mungo* e *Canavalia ensiformis*).

Nota-se, comparando-se os dados das Tabelas 6 e 7 que o tempo de aparecimento dos sintomas (9 dias) e as taxas de transmissão por larvas e adultos, em feijoeiro 'Carioca', foram semelhantes. Entretanto, no caso de caupi 'Vermelho Mundo', as larvas conseguiram transmitir o vírus – embora com baixa eficiência – e os adultos, não. Observa-se também que os sintomas induzidos em feijoeiro, na transmissão por larvas, foram mais severos, incluindo nanismo (Tabela 7). Tal sintoma não foi constatado na transmissão por *C. arcuata* adultos (Tabela 6) e nem nos testes de inoculação mecânica (Tabela 1).

Meyer et al. (1993) estudaram a transmissão dos sorotipos II e IV do CpSMV, para caupi 'Seridó' e feijão 'Rosinha G12', respectivamente, variando o número de larvas de *C. arcuata* por planta. Detectaram os seguintes valores: 23 e 28% em feijão (taxas inferiores às do presente trabalho), utilizando 2 e 4 larvas, respectivamente e 6,6 e 13,5% em caupi.

Tabela 7 - Testes de transmissão por larvas de *Ceratomyxa arcuata* (3 larvas/planta) para diferentes espécies hospedeiras da família Leguminosae. Planta fonte = *Phaseolus lunatus*

Hospedeira	% de transmissão	Sintomatologia
<i>P. vulgaris</i> 'Carioca'	40%	DF(9); CN, M, Na (15)
'Manteiga'	0%	-
<i>Vigna mungo</i>	0%	-
<i>V. unguiculata</i> 'Vermelho Mundo'	10%	DF, M (9)
<i>Canavalia ensiformis</i>	0%	*

- : ausência de sintomas e não-recuperação do vírus em feijão 'Carioca'

DF: deformação foliar

CN: clareamento de nervuras

M: mosaico

Na: nanismo

No caso do presente trabalho, os resultados obtidos (40% em feijão e 10% em caupi; 3 larvas/planta) assemelham-se aos de Meyer et al.(1993), pois a eficiência de transmissão para feijão foi mais elevada que no caso de caupi. Deve-se lembrar que os cultivares empregados como hospedeiras foram diferentes, nos 2 trabalhos e, além disso, o CpSMV-SP ainda não foi adequadamente classificado, no nível de sorotipo.

Diversos outros fatores podem influenciar a transmissão, no caso de larvas, tais como, a diferente distribuição do fitovírus na planta infectada (Matthews, 1991; Meyer et al. , 1993), a preferência da larva pela planta-hospedeira (Lara, 1991), a suscetibilidade da planta ou cultivar infectado e/ou atacado (Matthews, 1991), além de condições abióticas (tipo de substrato e umidade).

Figura 13 – Plantas de *Phaseolus vulgaris*: (feijão), apresentando sintomas sistêmicos – mosaico e deformação foliar –após transmissão do CpSMV-SP por adultos de *Ceratomyza arcuata* (à direita = controles)

A = feijão 'Manteiga'. A seta indica a área foliar danificada pelo inseto, no teste de transmissão

B = feijão 'Manteiga Rajado'

4.3.3 Transmissão por adultos de *Ceratomyxa arcuata*

4.3.3.1 Comparação da transmissão por insetos coletados em campo e criados em laboratório

Nos testes para comparar a eficiência de transmissão de exemplares do coleóptero *Ceratomyxa arcuata*, coletados em campo e obtidos em laboratório (Tabela 8), observaram-se resultados positivos no caso de insetos de campo, quando foram empregadas plantas de *Vigna luteola* e *Phaseolus vulgaris* 'Carioca' como fontes de vírus. Quando a fonte foi *P. lunatus*, o resultado foi negativo. Considerando-se a mesma fonte – *V. luteola* –, a porcentagem de transmissão variou com a espécie de planta-teste, sendo elevada em feijoeiro (70 e 80%, respectivamente, nos cultivares 'Manteiga' e 'Carioca'), 40% em *Vigna unguiculata* 'Vermelho Mundo' e nula em *Canavalia ensiformis* e *V. mungo*. No ensaio no qual se utilizou feijoeiro 'Carioca', tanto como planta-fonte como hospedeira para o CpSMV-SP, a taxa de infecção foi de apenas 20%.

No caso de insetos criados em laboratório, os resultados foram positivos, tanto quando se utilizou como planta-fonte *Vigna luteola* (60%) como feijoeiro 'Carioca' (90%). Nos dois ensaios, a planta-teste empregada foi feijoeiro 'Carioca'.

De acordo com Rajnauth et al. (1988), os exemplares de *C. arcuata* coletados em campo conseguiram maior êxito na transmissão quando comparados com aqueles criados em laboratório. Estes autores empregaram variações de 5 a 18 insetos por planta, conseguindo uma taxa de infecção de 80% para exemplares criados em laboratório e 100% para aqueles coletados em campo. As plantas empregadas como fonte e hospedeira eram caupi 'Los Baños Bush Sitao nº1', altamente suscetível ao CpSMV.

Os resultados do presente trabalho (Tabela 8), pelo menos no caso da transmissão de feijoeiro para feijoeiro, não confirmam os experimentos de Rajnauth et al. (1988), pois a eficiência de transmissão foi maior para os

coleópteros obtidos no laboratório (90%, para o caso citado e 20%, para insetos de campo).

Um fator que deve ser levado em conta é que, nos dois casos, os insetos foram criados na mesma espécie de planta que foi utilizada nos testes de transmissão, sugerindo um condicionamento pré-imaginal (Lara, 1981).

Taxas de transmissão de 40%, inferiores às obtidas no presente trabalho, foram observadas por Silva & Santos (1992), quando empregaram 2 insetos/planta hospedeira, em "feijão macassar" (*V. unguiculata*).

Tabela 8 - Testes de transmissão⁽¹⁾ do CpSMV empregando adultos de *Cerotoma arcuata* coletados em campo e criados em laboratório.

Ocorrência de insetos	Fonte de vírus	Hospedeira	% de transmissão
Campo	<i>Vigna luteola</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	
		'Manteiga'	70,0%
		<i>P. vulgaris</i> 'Carioca'	80,0%
		<i>Canavalia ensiformis</i>	0%
		<i>Vigna unguiculata</i>	
		'Vermelho Mundo'	40,0%
		<i>V. mungo</i>	0%
		<i>P. vulgaris</i> 'Carioca'	20,0%
Laboratório	<i>Vigna luteola</i>	<i>P. lunatus</i>	0%
		<i>P. vulgaris</i> 'Carioca'	
		<i>P. vulgaris</i> 'Carioca'	60,0%
	<i>P. vulgaris</i> 'Carioca'	<i>P. vulgaris</i> 'Carioca'	90,0%

⁽¹⁾ Em todos os testes de transmissão o período de aquisição foi de 12h, com um período de transmissão também de 12h. O número de exemplares empregados nos testes foi de 3 insetos/planta hospedeira. Em cada teste, foram utilizadas 10 plantas hospedeiras

Batista et al. (1988) e Meyer et al. (1992) empregaram 1,79 (experimento em casa telada) e 1 inseto/planta hospedeira tendo conseguido

transmissão para plantas de caupi ' Seridó' e feijoeiro ' Preto 153 ' com taxas de 32% e 20 a 50%, respectivamente. Todos os ensaios foram realizados com populações de *C. arcuata* oriundas de campo. Há de se levar em conta a grande quantidade de variantes à qual é submetido um ensaio de transmissão, tais como a origem dos insetos empregados (idade, preferência alimentar) (Fulton et al., 1980), o número de insetos empregado por planta-teste (Meyer et al., 1992), a quantidade de alimento ingerido, os período de acesso à aquisição e inoculação (Walters, 1969), a planta utilizada (concentração de vírus nas diferentes partes, suscetibilidade à infecção viral) (Matthews, 1991), além das condições ambientais.

4.3.3.2 Comparação da transmissão por machos e fêmeas de *Cerotoma arcuata* (adultos)

Nos testes de transmissão do CpSMV - SP por adultos de *Cerotoma arcuata*, separados por sexo, utilizando-se diferentes combinações de fonte de vírus x planta-hospedeira, obtiveram-se dados positivos em todos os experimentos (Figura 14).

De maneira geral, a Figura 14 evidencia que as fêmeas foram mais eficientes na transmissão, fato que pode ser explicado pela maior necessidade de consumo de material foliar para obtenção de alimentos protéicos, indispensáveis para continuar as posturas (Panizzi & Parra, 1991). Assim, consumindo maior área foliar das plantas-fonte, as fêmeas adquirem maior quantidade de inóculo viral (Fulton et al., 1980), o que lhes proporciona maior probabilidade de transmissão. Estes dados são discordantes dos obtidos por Rajnauth et al. (1988), que constataram a mesma eficiência de machos (87,5%) e fêmeas (80%) como vetores do CpSMV-SP, em caupi. No entanto, sugerem-se pesquisas nesta área.

Ocorrem variações também quando se considera a associação fonte de vírus x hospedeira (Figura 14). Os menores valores foram obtidos quando se utilizaram plantas de feijão como fonte e caupi como planta-teste (33,3%). Os

valores mais elevados de taxa de transmissão ocorreram nos experimentos empregando-se feijão como fonte e planta-teste, tanto no caso de machos (91,6%) como fêmeas (100%). Tais resultados mostram que, comparando feijão e caupi, feijão é melhor hospedeira do CpSMV-SP, comprovando os testes de inoculação mecânica realizados (Tabela 1).

Figura 14 - Transmissão do vírus do mosaico severo do caupi (CpSMV-SP) por machos e fêmeas de *Cerotoma arcuata* em diferentes combinações fonte de vírus x planta-teste

Rajnauth et al. (1988), entretanto, detectaram elevadas taxas de transmissão em experimentos com caupi. É importante ressaltar que, nestes ensaios, os insetos (*C. arcuata*) foram criados em caupi, e a planta-fonte e a hospedeira empregadas foram caupi 'Los Baños Bush Sitao nº1', além do isolado de CpSMV empregado. Jansen & Staples (1970a) não avaliaram a eficiência de fêmeas e machos, mas também obtiveram valores elevados em experimentos utilizando caupi como hospedeira, fato que não se repetiu quando

os ensaios foram conduzidos em soja. Estes últimos autores citados enfatizam que, no processo de transmissão, um dos fatores primordiais é a suscetibilidade da hospedeira, pois variaram a planta-fonte de vírus (caupi ou soja) e os resultados não se alteraram.

Com relação a trabalhos realizados no Brasil, comparando a eficiência de coleópteros adultos machos e fêmeas como vetores de vírus, há poucas informações (Cabral et al., 1997; Chaves et al., 1994; Meyer et al., 1992). Constatou-se maior eficiência de machos na transmissão, por *C. arcuata*, do vírus do mosaico-em-desenho do feijoeiro – VMDeF, de feijoeiro ‘Manteiga’ para ‘Preto 153’ (Meyer et al., 1992) e do vírus da necrose branca do tomateiro – VNBT, por *Diabrotica speciosa*, de tomateiro para tomateiro ‘Santa Cruz’ (Cabral et al., 1997). Por outro lado mostrou-se eficiência semelhante de machos e fêmeas para o meloídeo *E. atomaria* como vetor do VNBT, usando plantas de *Datura stramonium* como fonte e hospedeira (Chaves et al, 1994).

Quanto à transmissão do CpSMV por *C. arcuata*, a eficiência de machos e fêmeas como vetores foi afetada pelo sorotipo do vírus (Meyer et al., 1992), porém se sugere, que numericamente às fêmeas foram mais eficientes.

Com relação ao presente trabalho, deve-se lembrar que a criação de *C. arcuata* foi desenvolvida utilizando-se feijão como alimento (sementes pré-germinadas, plântulas ou plantas), o que pode ter induzido um condicionamento pré-imaginal, de acordo com Lara (1991).

4.3.3.3 Avaliação do período de retenção do vírus por machos e fêmeas de *Cerotoma arcuata*

Os resultados (Tabela 9) mostram que ocorre transmissão para feijão ‘Carioca’ pelo menos até o 14º dia após a aquisição (8ª transferência), por machos, e no máximo até o 10º dia (6ª transferência), por fêmeas de *Cerotoma arcuata*.

O período de retenção do vírus no inseto-vetor é de suma importância quando se leva em consideração a epidemiologia dos fitovírus e a

possibilidade de dispersão em culturas suscetíveis (Gamez & Moreno, 1983; Walkey, 1985), que dependem, entre outros fatores, da mobilidade do vetor (Lopes, 1993)

Tabela 9 - Avaliação do período de retenção do vírus do mosaico severo do caupi (CpSMV-SP), em plantas de feijão 'Carioca' por machos e fêmeas de *Cerotoma arcuata* em dias (d) após a aquisição

Transferência	Dias após a aquisição	Nº plantas infectadas / Nº total de plantas	
		Machos	Fêmeas
1ª	2	0/4	1/4
2ª	4	1/4	1/4
3ª	5	0/4	0/4
4ª	6	2/4	2/4
5ª	7	4/4	0/4
6ª	10	1/4	2/4
7ª	12	0/4	0/4
8ª	14	1/4	0/4

(1) A presença do vírus foi confirmada por testes sorológicos (dupla difusão em ágar)

Kitajima & Costa (1983) afirmam que o tempo de retenção varia de acordo com o vírus transmitido e o coleóptero empregado, com altas taxas de transmissão nos primeiros dias após a aquisição, decaindo com o passar do tempo. Esta observação foi confirmada em experimentos realizados por Jansen & Staples (1970a) – empregando *C. trifurcata* – onde, após a 4ª transferência, ainda ocorreu transmissão do CpSMV. No entanto, Batista et al. (1988) mostraram que não houve transmissão por *C. arcuata* do CpSMV após a 2ª transferência, dados confirmados por Meyer et al. (1992), para o sorotipo IV.

Outro aspecto interessante que se observa no experimento realizado é a ocorrência de intermitência (Walters, 1969), que independe do sexo do vetor empregado, e já foi constatado por Meyer et al. (1992).

De acordo com Brunring (1978), os Comovírus podem manter-se nos besouros-vetores por dias, semanas ou mesmo por vários meses, nos casos de dormência dos insetos (Walters, 1969). No caso específico do CpSMV, a literatura menciona que os vetores podem permanecer infectivos por 1-2 semanas após a aquisição (De Jager, 1979). Fulton et al. (1987) e Gergerich & Scott (1996) enfatizam que o período durante o qual um coleóptero permanece virulífero, após se alimentar em uma planta infectada, depende da espécie de coleóptero envolvida e da quantidade de tecido consumida. Por exemplo, em estudos comparando os vetores *Epilachna varivestis* e *Cerotoma trifurcata*, Fulton & Scott (1974, citados por Gergerich & Scott, 1996)¹ mostraram que o 1º raramente consegue transmitir um dia após a aquisição e, o 2º transmite durante 6-8 dias, com taxas elevadas. É claro que há outros fatores que não podem ser esquecidos, como a planta hospedeira e as condições ambientais (Fulton et al., 1980).

Outro trabalho visando comparar a retenção de vírus por coleópteros machos e fêmeas foi desenvolvido com a espécie *Diabrotica speciosa* e o vírus da necrose branca do tomateiro – VNBT (Cabral et al., 1997). Mostrou-se que ambos retêm o vírus por no mínimo 60 h e ainda conseguem transmiti-lo, eficientemente, com taxas semelhantes (54% para as fêmeas e 64% para os machos).

4.4 Testes de preferência alimentar de *Cerotoma arcuata* em diferentes hospedeiras (em confinamento)

4.4.1 Plantas saudáveis (soja, feijão e caupi)

As figuras 15 e 16 mostram os resultados obtidos quanto à preferência alimentar do coleóptero, entre 4 espécies de leguminosas.

¹ FULTON, J.P. & SCOTT, H.A. Virus-vectoring efficiencies of two species of leaf-feeding beetles. *Ann.Proc.Am.Phytopathol.Soc.*,1: 159, 1974 (abstracts)

Figura 15 – Teste de preferência alimentar de *Cerotoma arcuata* (adultos) em discos foliares de 4 espécies de leguminosas, com algodão ao centro, para manutenção da umidade
Preto = *Vigna unguiculata* ‘Macaibo’
Azul = *Phaseolus vulgaris* ‘Manteiga Rajado’
Branco = *Glycine max* (soja comum)
Vermelho = *G. javanica* (soja perene)

Constata-se preferência de alimentação na soja (‘IAC-2’ e soja perene), em relação a feijão ‘Manteiga Rajado’ e caupi ‘Macaibo’, nos dois experimentos. A Figura 16 indica também que não há diferença entre a alimentação em feijão e caupi. No caso da espécie *C. ruficornis*, entretanto, Risch (1976) observaram que este crisomelídeo prefere plantas de caupi a feijão, não tendo testado soja. Comparando os resultados do presente trabalho com os de Risch (1976), confirma-se o fato de que a preferência alimentar é altamente específica, diferindo para cada espécie de coleóptero, conforme assinalado por diversos autores, (Panizzi & Parra, 1991; Zucchi et al., 1993; Rosseto et al., 1981). Rosseto et al. (1981) observaram, ao avaliar danos induzidos em soja, por *Diabrotica speciosa* e *C. arcuata*, em diferentes

cultivares comerciais ('Paraná' e 'Sta. Rosa') e introduções (PI) portadoras de resistência a insetos, que *D. speciosa* prefere os cultivares comerciais. Entretanto, o mesmo não foi constatado para *C. arcuata*, que se alimentou indiferentemente dos cultivares e das introduções de soja.

Figura 16- Porcentagem de área foliar consumida por *Cerotoma arcuata*, ao final de 24 horas em, diferentes espécies de leguminosas (2 experimentos)

A análise estatística dos dados (Tabela 10) confirma a preferência alimentar mostrada nas Figuras 15 e 16.

Tabela 10- Área foliar consumida (cm²) por *Cerotoma arcuata*, ao final de 24 horas

Planta testada	Média ⁽¹⁾ de área foliar consumida(cm ²)
<i>Glycine max</i> 'IAC-2'	0,579 ± 0,119 a
<i>G. javanica</i> '	0,531 ± 0,0001 a
<i>Phaseolus vulgaris</i> 'Manteiga Rajado'	0,269 ± 0,024 b
<i>Vigna unguiculata</i> 'Macaibo'	0,279 ± 0,118 bc

(1) Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si, quando comparados pelo Teste de Tukey (5% de probabilidade)

4.4.2 Comparação da alimentação em plantas sadias e infectadas (soja e soja perene)

Nas porcentagens de área foliar consumida pelo crisomelídeo, comparando-se plantas sadias e infectadas (Figura 17) de *Glycine javanica* e *G. max*, nota-se preferência alimentar de *C. arcuata*, no caso de *G. max* (soja 'Sta. Rosa'), por folhas de plantas sadias, preferência esta que se repetiu nos dois experimentos (I e II). Quanto à *G. javanica* (soja perene), embora também se observe uma certa preferência por folhas de plantas sadias, em um dos experimentos (II), a análise estatística dos dados – considerando-se a média dos dois experimentos – revela que esta diferença não é significativa (Tabela 11).

Figura 17- Porcentagem de área foliar consumida por *Cerotoma arcuata*, ao final de 24 horas, em plantas sadias e infectadas de soja e soja perene (2 experimentos: I e II)

Por outro lado, com relação à soja 'Sta. Rosa', a análise confirma os dados da Figura 17, mostrando diferença significativa entre a alimentação em plantas sadias e infectadas (Tabela 11).

Tabela 11 – Área foliar consumida (cm²) por *Cerotoma arcuata*, ao final de 24 horas, em plantas saudias e infectadas de soja e soja perene

Planta testada	Média ⁽¹⁾ de área foliar consumida (cm ²)
<i>Glycine max</i> 'Sta. Rosa' – sadia	0,3415 ± 0,0391 a
<i>G. max</i> 'Sta Rosa' – infectada	0,1819 ± 0,0038 b
<i>G. javanica</i> (soja perene) – sadia	0,0,2019 ± 0,0603 b
<i>G. javanica</i> (soja perene) - infectada	0,1465 ± 0,02984 b

(1) Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si, quando comparadas pelo Teste de Tukey (5% de probabilidade)

Há várias referências, na literatura, sobre a preferência alimentar de insetos e ácaros em plantas infectadas por vírus, quando se compara com plantas saudias da mesma espécie (Edwards & Wratten, 1984; Kennedy, 1951; Wan & Barbosa, 1990; White, 1984). A maioria dos trabalhos nesta área envolve hemípteros – vetores, principalmente afídeos (Lourenção et al., 1996).

No caso específico de coleópteros, trata-se de uma área ainda carente de informações. Devem ser lembrados os trabalhos de Gibbs (1980) e Boiteau & Singh (1982). Gibbs (1980) verificou que *Psyllodes affinis* L., crisomelídeo-vetor do vírus do mosqueado da dulcamara – “dulcamara mottle *Tymovirus*” - tem preferência por plantas infectadas por este vírus. Boiteau & Singh (1982) constataram que fêmeas do crisomelídeo *Leptinotarsa decemlineata* – “Colorado potato beetle” – mostraram preferência pela folhagem de plantas de batata infectadas pelo vírus do enrolamento da folha (“potato leaf roll *Luteovirus*”).

No caso do presente trabalho, entretanto, os dados obtidos foram discordantes destes anteriores, pois *C. arcuata* preferiu plantas saudias, pelo menos no caso de soja 'Sta. Rosa'.

Tais resultados sugerem que a preferência de coleópteros por plantas doentes não deve ser uma regra geral e depende de vários fatores, tais

como o coleóptero empregado, a espécie botânica, o cultivar, as condições experimentais, o vírus, etc.

Outra linha de pesquisa envolvendo a alimentação de insetos em plantas sadias e infectadas por vírus diz respeito ao efeito da alimentação sobre diversos parâmetros biológicos do inseto. Por exemplo, o trabalho de Lourenção et al. (1996) com o lepidóptero *Anticarsia gemmatilis*, que avalia aspectos biológicos desta praga de soja, quando alimentada em plantas sadias e infectadas pelo vírus do mosaico comum da soja – “soybean mosaic *Potyvirus*”, mas não abrange estudos de preferência alimentar.

5. CONCLUSÕES

Os dados do presente trabalho permitem concluir que:

- O crisomelídeo *Cerotoma arcuata* é vetor do CpSMV-SP, isolado no Estado de São Paulo de plantas de *Vigna luteola*, leguminosa da vegetação espontânea.
- O vírus tem círculo de hospedeiras relativamente restrito, infectando principalmente leguminosas, sendo que cultivares de soja e feijão são mais suscetíveis que os de caupi.
- A técnica de criação de *C. arcuata*, utilizando-se plântulas de feijão, em substrato composto de vermiculite + solo orgânico + areia, mostra-se adequada para os objetivos do presente trabalho.
- A proporção entre fêmeas e machos na colônia altera a duração do ciclo, capacidade reprodutiva e a longevidade de *C. arcuata*, sendo a proporção 2:1 a melhor.
- Apenas *C. arcuata*, entre 8 espécies de artrópodos testados, é capaz de transmitir o CpSMV-SP.
- Tanto as larvas de 1º instar quanto adultos de *C. arcuata*, são vetores do CpSMV-SP, em condições de laboratório.
- A porcentagem de transmissão depende da combinação de espécies hospedeiras usadas como da planta-fonte e planta-teste.

- Machos e fêmeas adultos são capazes de transmitir o vírus, mas há indicações de que as fêmeas apresentam maior eficiência. Por outro lado, os machos conseguem reter o vírus por um período mais longo.
- A transmissão caracteriza-se, em ambos os sexos, por apresentar intermitência.
- O crisomelídeo *C. arcuata* adulto prefere alimentar-se em plantas sadias de soja (*Glycine max*) e soja perene (*G. javanica*) em relação a feijão (*Phaseolus vulgaris*) e caupi (*Vigna unguiculata*).
- Plantas sadias de soja são preferidas por *C. arcuata* quando comparadas àquelas infectadas pelo CpSMV-SP.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU NETO, J.R.M.V.; LIMA, R.C.A.; BARRETO, M.R. Influência da cor do substrato na oviposição de *Cerotoma arcuata* BECHYNÉ (COL: CHRYSOMELIDAE). 400p., In: 16º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, Salvador, **Resumos**, 1997. p.64.
- ALCONERO, R. & SANTIAGO, A. *Phaseolus lathyroides* as reservoir of cowpea mosaic virus in Puerto Rico. **Phytopathology**, v.63, p.120 - 123, January, 1973.
- BARRADAS, M.M. Caracterização do vírus da necrose branca do tomateiro (VNBT) e sua identificação como um tymovírus. São Paulo, 1983. 161p. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.
- BARRADAS, M.M. IB mantém coleção de fitovírus. **Comunicação da Pesquisa Agropecuária**, v.10(1), p.9, 1992.
- BARRADAS, M.M. Organização de uma coleção de vírus fitopatogênicos em tecidos foliares desidratados com cloreto de cálcio. **Biológico**, v.44 (1/3), p.221 - 229, 1978.

- BARRADAS, M.M. & CHAGAS, C.M. Mosaico dourado de *Vigna luteola* (Jacq.) Betham., leguminosa da vegetação espontânea. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 49(1/4), p.85 – 88, Jan./Dez.,1982.
- BARRADAS, M.M. & SILBERSCHMIDT, K.M. Conservação de vírus vegetais em tecidos secos de folhas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.40(4), p.375 - 379, 1973.
- BARRADAS, M.M.; Transmissão de vírus de plantas por coleópteros. **Comunicação da Pesquisa Agropecuária**, v.12(2),p.20-21,1994.
- BARRADAS, M.M.; SALAS, F.J.S.; BUITRÓN, I.P.G. Manutenção da infectividade de tymovírus em extrato de plantas. **Acta Botanica Brasilica**, v.6(2),p.15 – 26, 1993.
- BARRADAS, M.M.; SALAS, F.J.S.; BUITRÓN, I.P.G.; OLIVEIRA, J.M. Morfologia e transmissão de um vírus isolado de *Vigna luteola*. 71p., In: IV SEMINÁRIO SOBRE PRAGAS E DOENÇAS DO FEIJOEIRO, Campinas, **Anais**, p.13.
- BATISTA ,M.F. Identificação de vetores e aspectos epidemiológicos de dois vírus transmitidos por besouros (Coleoptera, Chrysomelidae). Brasília, 1979. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília.
- BATISTA, M.F.; COSTA, C.L.; KITAJIMA, E.W.; LIN, M.T. Transmissão de um isolado do vírus do mosaico severo do caupi por besouros crisomelídeos. **Fitopatologia. Brasileira**, v. 13 (3), p.264 - 268, Outubro, 1988.
- BLANCO-SANCHEZ, N. El víus del moteado amarillo del frijol (BySVc). Sus características y forma de transmisión en Cuba. **Ciencias de la Agricultura**, v. 3, p.127 – 133, marzo, 1978.

- BOITEAU, G. & SINGH, R.P. Effect of potato foliage infected with potato leafroll virus on fecundity and longevity of the colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE). **Canadian Entomologist**, v. 114, p.473 - 477, June, 1982.
- BOS, L. **Introduction of plant virology**. 1ª ed., New York, Ed. Longman, 1983. 159 p.
- 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(3), p.420 - 429, setembro, 1994.
- BRUENING, G. Comovirus group. C.M.I./A.A.B. **Descriptions of plant viruses**, nº 199, 1978.
- BULISANI, E.A.; ALMEIDA, L.D. de; ROSTON, A.J. A cultura do feijoeiro no Estado de São Paulo. In: E.A. BULISANI, Cord. **Feijão: Fatores de Produção e Qualidade**. Campinas, SP, Fundação Cargill, 1987. Cap. 2, p. 29-88.
- BUZZI, J.Z. **Coletânea de nomes populares de insetos no Brasil**. Curitiba, 1994, 230p.
- CABRAL, F.; BARBOSA, M.N.; BARRADAS, M.M. Transmissão do vírus da necrose branca do tomateiro por machos e fêmeas de *Diabrotica speciosa*. 143p., In: XX CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, São Paulo, **Resumos**, 1997, p.120.
- CANER, J.; SILBERSCHMIDT, K.; FLORES, E. Ocorrência do vírus do mosaico da *Vigna* no Estado de São Paulo. **Biológico**, v. 35(1), p.13 - 16, Janeiro, 1969.

- CARDONA, C.; GONZALEZ, R.; SCHOONHOVEN, A.V. Evaluation of damage to common beans by larvae and adults of *Diabrotica balteata* and *Cerotoma facialis*. **Journal of Economic Entomology**, v. 75(2), p. 327, april, 1982.
- CARVALHO, S.M. de & HOHMANN, C.L. Biologia e consumo foliar de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1842) em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L., 1753) em condições de laboratório. In: REUNIÃO ANUAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, Goiânia. **Anais**, EMBRAPA/CNPAP, 1982. p. 244-245.
- CASTRO, Z.B.; CAVALCANTE, R.D.; SANTOS, D.M.L.L.; CAVALCANTE, M.L.S. Ocorrência de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) em diversas culturas no Estado do Ceará. **Fitossanidade**, v.1(2), p.51-52, 1975.
- CHAVES, A.L.R.; SALAS, F.J.S.; BARRADAS, M.M. Comparative effectiveness in the the tomato white necrosis virus transmission by males and females of *Epicauta atomaria* (Coleoptera: Meloidae). Resumo V-09. In: VII ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA. São Lourenço/ MG , **Resumos**, 1994.
- CHAVES, A.L.R.; SILVA, M. de F.A. da; BARRADAS, M.M. Estudos sobre a transmissão de um provável comovírus isolado de *Vigna luteola* In: 18º CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 141p., Piracicaba, **Resumos**, 1995, p. 90.
- CNPAP **O caupi no Brasil** . EMBRAPA/CNPAP .Goiânia/Go. J.P.P. Araújo & E.E. WATT J.P.P., Eds, 1988. 722p.
- COELHO, L.M. Caracterização parcial e reação de cultivares de caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walpers, a um isolado pernambucano do vírus do mosaico severo do caupi. Pernambuco, 1991. 91p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco.

- COSTA, A.F. Efeito de infecções simples e duplas de quatro vírus do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) na produção e em algumas características da planta. Brasília, 1983, 99p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Brasília.
- COSTA, A.F.; FAJARDO, T.V.M.; MACIEL- ZAMBOLIM, E. BARROS, A.O.; CARVALHO, M.G. O vetor *Ceratomyza arcuata* do vírus do mosaico da abóbora SqMV. **Fitopatologia Brasileira**, v.18, p.278 – 279, Agosto, 1993 (res.).
- COSTA, C.; VANIN, S.A.; CASARI-CHEN, S.A. **Larvas de coleoptera no Brasil**. Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 282p. + 165 estampas, 1988.
- COSTA, C.L. Transmissão de fitovírus por afídeos e por besouros – um contraste. **Fitopatologia Brasileira**, v.15, p.367, Dezembro, 1990 (Res.).
- COSTA, C.L.; LIN, M.T.; KITAJIMA, E.W.; SANTOS, A.A.; MESQUITA, R.C.M.; FREIRE FILHO, F.R. *Ceratomyza arcuata* (Oliv.) um crisomelídeo vector do mosaico da *Vigna* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.3, p.81 - 82, Fevereiro, 1978 (Res.).
- COSTA, C.L.; LIN, M.T.; SPERANDIO, C.A. Besouros crisomelídeos vetores do sorotipo IV do “cowpea severe mosaic virus” isolado do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, p.523, Outubro, 1981. (Res.)
- CUPERTINO, F.P.; COSTA, C.L.; KITAJIMA, E.W.; MATTOS, J.K.A. Ocorrência do vírus do mosaico da *Vigna* no Distrito Federal. **Fitopatologia Brasileira**, v.16, p. 25, Janeiro, 1991. (Res.)

- CUPERTINO, F.P.; LIN, M.T.; KITAJIMA, E.W.; COSTA, C.L. Ocorrência no Brasil do vírus do mosaico-do-sul do feijoeiro ("Southern bean mosaic virus"). **Fitopatologia Brasileira**, v.5, p.395 - 396, Outubro, 1980.
- DALE, W.T. The transmission of plant viruses by biting insects, with particular reference to cowpea mosaic. **Annals of Applied Biology**, v.40, p.384-392, 1953.
- DE JAGER, C.P. Cowpea severe mosaic virus. C.M.I./ A.A.B. **Descriptions of plant viruses**, nº 209, 1979.
- DIÁZ, A.J. Estudio y caracterización de un mosaico del frijol de costa (*Vigna sinensis*) en El Salvador. **Phytopathology**, v.62,p. 754, 1972. (Abstr.).
- DUARTE, L. M. L. Efeito da infecção induzida pelo vírus X da batata no desenvolvimento e bioquímica de *Datura stramonium* L. São Paulo, 1997. 93p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Botânica, Universidade de São Paulo.
- DUTRA, D.; PEREIRA, M.J.B.; BARRETO, M.R.; ANJOS, N. Ciclo biológico de *Epilachna cacica* (GUÉRIN) (Coleoptera: Coccinelidae). 400p., In: 16º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, Salvador, **Resumos**, 1997.p. 55.
- EDWARDS, P.J. & WRATTEN, S.D. **Ecologia das interações entre insetos e plantas**. São paulo, E.P.U./EDUSP,71P., 1981.
- FERNANDES, P.M. Influência da temperatura, umidade relativa do ar e dose na eficiência de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Sobre *Cerotoma arcuata* Oliv. (COL.: CHRYSOMELIDAE). Piracicaba, 1986. 68p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo.

- FULTON, J.P. Transmission and biology of legume viruses transmitted by beetles. **Fitopatologia Brasileira**, v.4(2), p.171 -176, Junho, 1979.
- FULTON, J.P.; GERGERICH, R.C.; SCOTT, H.A. Beetles transmission of plant viruses. **Annual Review of Phytopathology**, v.25, p.111 - 123, 1987.
- FULTON, J.P.; SCOTT, H.A.; GAMEZ, R. Beetles.p. 115 - 132. In: **Vectors of Plant Pathogens** .HARRIS, K.F. & MARAMOROSH, K.(Ed.). Academic Press, New York, 467p., 1980.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D. **Manual de entomologia agrícola**. Piracicaba, SP. Ed. Agronômica Ceres Ltda., 1988. 649p.
- GÁMEZ, R. Los virus del frijol en Centro America. II. Algunas propiedades y transmission por crisomelideos del virus del mosaico rugoso del frijol. **Turrialba**, v. 22, p.249-257, Julio/Setembro, 1972.
- GÁMEZ, R. & MORENO, R.A. Epidemiology of beetle-borne viruses of grain legumes in Central America. In: PLUMB, R.T.; TRESH, J.M. (Ed.) **Plant virus epidemiology. The spread and control of insect-borne viruses**. Oxford: Blakwell, 1983. Cap. 9, p.103 -114.
- GERGERICH, R.C. & SCOTT, H.A. Comoviruses: transmission, epidemiology and control. In: HARRISON, B.D, & MURANTI, A.F. (Ed.) **The plant viruses. Polyhedral virions and bipartite genomes**. New York: Plenum Press, 1996, cap. 4, p.77 - 98.
- GERGERICH, R.C. & SCOTT, H.A. The enzymatic function of ribonuclease determines plant virus transmission by leaf-feeding beetles.

- Phytopathology**, v.78(3), p.270 - 272, Setembro, 1988.
- GERGERICH, R.C.; SCOTT, H.A.; FULTON, J.P. Evidence that ribonuclease in beetle regurgitant determines the transmission of plant viruses. **Journal of General Virology**, v.67, p.367 -370, October, 1986.
- GERGERICH, R.C.; SCOTT, H.A.; FULTON, J.P. Regurgitant as a determinant of specificity in the transmission of plant viruses. **Phytopathology**, v.73, p. 270-272, January, 1983.
- GERGERICH, R.C.; SCOTT, H.A.; WICKIZER, S.L. Determination of host resistance to beetle transmission of plant viruses. **Phytopathology**, v. 81 (10), p.1326 - 1329, June, 1991.
- GIBBS, A. A plant virus that partially protects its wild legume host against herbivores. **Intervirology**, v. 13, p.42 – 47, 1980.
- GONZALEZ, R. & CARDONA, C. Biología de *Cerotoma facialis* como plaga del frijol común, *Phaseolus vulgaris* L.. **Revista Colombiana Entomologia**, v. 5, p.3 – 8, 1979.
- GONZALEZ, R.; CARDONA, C.; VAN SCHOONHOVEN, A. Morfología y biología de los crisomelídeos *Diabrotica balteata* Le Conte y *Cerotoma facialis* ERICKSON como plagas del frijol común. **Turrialba**, v.32(3), p.257 - 264, Febrero, 1982.
- HAJI, F.N.P. Biología, danos e controle do adulto de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera, Chrysomelidae) em culturas de batatinha (*Solanum tuberosum* L.). Piracicaba, 1981. 76p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

- HARE, J.D. & DODDS, J.A. Survival of the Colorado potato beetle on virus-infected tomato in relation to nitrogen and alkaloid content. **Entomol. Exp. Appl.**, v.44, p.31 - 55, 1987.
- HARRIS, K.F. Arthropod and nematode vectors of plant viruses. **Annual Review of Phytopathology**, v.19, p. 391 – 426, 1981.
- HARRISON, B.D. Plant virus ecology: ingredients, interactions and environmental influences. **Annals of Applied Biology**, v.99,p.195-209, 1981.
- HEINECK, M.A. Ciclo vital, consumo alimentar e flutuação populacional de *Cerotoma arcuata tingomariana* (BECHYNÉ, 1951) (COL., CHRYSOMELIDAE) em soja (*Glycine max* (L.) MERRIL). Porto Alegre, 1993. 84p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio Grande do Sul.
- HEINECK, M.A. & CORSEUIL, E. Ciclo vital e consumo alimentar de adultos de *Cerotoma arcuata tingomariana* BECHYNÉ (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE) em soja. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, v.24(3), p.579 - 586, 1995.
- HERZOG, D.C.; EASTMAN, C.E.; NEWSON, L.D. Laboratory rearing of the bean leaf beetle. **Journal of Economic Entomology**, v.67(6), p. 794 - 795, December, 1974.
- HILLHOUSE, T.L. & PITRE, H.N. Comparsion of sampling techniques to obtain measurements of insect populations on soybeans. **Journal of Economic Entomology**, v.67(3), p. 411 - 414, 1974.
- HOBBS, H.A. & FULTON, J.P. Beetle transmission of cowpea chlorotic mottle. **Phytopathology**, v.69(3), p. 255 – 256, September, 1979.

- HOLCOMB, C.E. & FULTON, J.P. Rearing the bean leaf beetle, *Cerotoma trifurcata*, for plant virus vector studies. **Plant Disease Reporter**, v.62(1), p. 12 - 14, Janeiro, 1978.
- JACKSON, J.J. *Diabrotica* spp. In: SINGH, P. & MOORE, R.F.(ed.) **Handbook of insect rearing**. Amsterdam: Elsevier Science, 1985. p. 237 – 254.
- JANSEN, W.P. & STAPLES, R. Transmission of cowpea mosaic virus by the Mexican bean beetle. **Journal of Economic Entomology**, v.65, p.1719-1720, 1970a.
- JANSEN, W.P. & STAPLES, R. Effect of cowpeas and soybeans as source or test plants of cowpea mosaic virus on vector efficiency and retention of infectivity on the bean leaf beetle and the spotted cucumber beetle. **Plant Disease Reporter**, v.54, p. 1053-1054, December, 1970b.
- JANSEN, W.P. & STAPLES, R. Specificity of transmission of cowpea mosaic virus by species within the subfamily Galerucinae, family Chrysomelidae. **Journal of Economic Entomology**, v.64,p. 365-367, 1971.
- KENNEDY, J.S. Benefits to aphids from feeding on galled and virus-infected leaves. **Nature**, 168: 825 - 826, 1951
- KIM, K.S. Ultraestructure of plant cells infected with the beetle-transmitted *Comoviruses*. **Fitopatologia Brasileira**, v.4, p.227 - 239, 1979.
- KING, A.B.S. & SAUNDERS, J.L.(eds.) **The invertebrate pests of annual food crops in Central America**. London, Overseas Development Administration, 166p., 1984.

- KITAJIMA, E.W. & COSTA, C.L. Recentes progressos sobre a biologia dos besouros crisomelídeos e o mecanismo da transmissão dos vírus de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v.8, p.528 - 530, Outubro, 1983.
- KITAJIMA, E.W. (Org.) Lista de publicações sobre viroses e enfermidades correlatas de plantas no Brasil (1911 - 1985). **Fitopatologia Brasileira**, Junho, 1986.(Suplemento Especial).
- KITAJIMA, E.W. (Org.) Lista de publicações sobre viroses e enfermidades correlatas de plantas no Brasil (1986 - 1993). **Fitopatologia Brasileira**, agosto, 1995.(Suplemento Especial).
- KITAJIMA, E.W.; CUPERTINO, F.P.; SILVA, G.S.; SPERANDIO, C.; COSTA, C.L. Relato preliminar sobre viroses em plantas cultivadas nos arredores de São Luiz, Maranhão. **Fitopatologia Brasileira**, v.7, p.540, 1982 (Res.).
- KITAJIMA, E.W.; DE AVILA, A.C.; RESENDE, R.O. Taxonomia de vírus de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, p.5 -24, 1997.
- KITAJIMA, E.W.; NODA, H.; LIN, M.T.; COSTA, C.L. Um mosaico em feijão de asa (*Psophocarpus tetragonolobus*) causado por um isolado do subgrupo severo do vírus do mosaico da *Vigna*. **Fitopatologia Brasileira**, v.4, p.519 - 524, Outubro, 1979.
- KITAJIMA, E.W.; RIBEIRO, R.L.D.; LIN, M.T.; LIN, M.T.; RIBEIRO, M.I.S.D.; KIMURA, O .; COSTA, C.L.; PIMENTEL, J.P. Lista comentada de vírus e organismos do tipo micoplasma em plantas cultivadas e silvestres do Estado do Rio de Janeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.9, p.607 - 625, 1984.
- KITAJIMA, E.W.; YANO, T.; COSTA, A.S. Purification and intracellular

localization of isometric viruslike particles associated with brazilian corn streak virus infection. **Ciência e Cultura**, v.28(4), p.427-430, 1976.

KRYSAN, J.L. Introduction, biology, distribution and identification of pest *Diabrotica*. In: KRYSAN, J.L. & MILLER, T.A., ed. **Methods for study of pest *Diabrotica***. New York, Springer-Verlog, 1986. Cap. 1, p. 1 - 23.

KVIKALA, B.A.; SMARZ, J.; BLANCO, N. A beetle-transmitted virus disease of cowpea in Cuba. **FAO. Plant Protection Bull.**, v. 21, p.27 - 29, 1973.

LARA, F.M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. São Paulo, Ícone, 1991. 336p

LAWRENCE, J.F. & NEWTON Jr., A.F. Families and subfamilies of Coleoptera (with selected genera, notes, references and data on family-group names) p. 779 -1092, In: J. PAKALUK & S. A. SLIPINSKI (eds.) **Biology, phylogeny and classification of Coleoptera: papers celebrating the 80th birthday of Roy A. Crowson**. Warszawa, Museum i Instytut ZoologiiPAN, 1995.

LEVIN, D.A. The chemical defenses of plants to pathogens and herbivores. **Annu. Rev. Ecol. Syst.**, v. 7, p. 121 - 159, 1976.

LIMA, J.A.A. & GONÇALVES, M.F.B. Transmissibilidade de "cowpea mosaic virus" pelo manhoso (*Chalcodermus bimaculatus*). **Fitopatologia Brasileira**, v.5, p.414-415, Outubro, 1980.(Res.)

LIMA, J.A.A. & NELSON, M.R. Purificação e identificação sorológica do "Cowpea Mosaic Virus" em *Vigna sinensis* Endl. no Ceará. **Ciência Agrônômica**, v. 3, p.5 - 8, Dezembro, 1974.

- LIMA, J.A.A.; ALMEIDA, M.A.; MARQUES, M.A.L.; VEJA, J. Gama de hospedeiros de um isolado do mosaico severo do caupi obtido de *Vigna unguiculata* no Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, v.18, p.566, 1993.(Res.)
- 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(1), p.151 - 161, Março, 1986.
- LIMA, R.C.A.; ABREU-NETO, J.M.V.; SILVEIRA, R.D. Marcação do local de postura por *Cerotoma arcuata* BECHYNÉ (COLEOPTERA ; CHRYSOMELIDAE), 400p., In: 16º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA , Salvador, **Resumos**, 1997. p.63.
- LIN, M.T.; ANJOS, J.R.N.; RIOS, G.P. Serological grouping of cowpea severe mosaic virus isolates from Central Brazil. **Phytopathology**, v. 71(4), p.435 - 438, September, 1981a.
- LIN, M.T.; HILL, J.H.; KITAJIMA, E.W.; COSTA, C.L. Two new serotypes of cowpea severe mosaic virus. **Phytopathology**, v.74(5), p.581 – 585, September, 1984.
- LIN, M.T.; KITAJIMA, E.W.; RIOS, G.P. Serological identification of several cowpea viruses in Central Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v.6, p.73 – 85, Fevereiro, 1981b.
- LINK, D & COSTA, E.C. Danos causados por besouros crisomelídeos em soja. **R.Cent.Ciênc.Rur.**, v.8(3), p.245 - 250, 1978.
- LINK, D. & COSTA, E.C. Influência do método de coleta na captura de Chrysomelidae em soja. **R. Cent. Ciênc. Rur.**, v.12(2/3), p.103 – 107, 1982.

- LINK, D.; COSTA, E.C.; MARIO, J.L., CERETTA, C.A.; SANTOS, O.S.
Preferência hospedeira de besouros crisomelídeos em variedades de feijoeiro. In: Reunião Nacional de Pesquisa de Feijão, Goiânia. **Anais. EMBRAPA - CNPAF**, 1982.p. 231 - 233.
- LOPES, J.R.S. Biology of maize chlorotic dwarf virus and mobility of its leafhopper vector, *Graminella nigrifrons* (Homoptera; Cicadellidae). Ohio, 1993. 143p. Thesis (PhD) - Ohio State University, USA.
- LOUGHRAN, J.C. & RAGSDALE, D.W. Lyfe cicle of the bean leaf beetle *Cerotoma arcuata* (Col., Chrysomelidae) in Southern Minessota. **Annals of Entomological Society of America**, v.79(1), p.34 - 38, 1986.
- LOURENÇÃO, A.L. & MIRANDA, M.A.C.de Resistência de soja a insetos: VIII. IAC 78-2318, linhagem com resistência múltipla. **Bragantia**, v.46(1), p.65 - 72, Julho, 1987.
- LOURENÇÃO, A.L.; COSTA, A.S.; PARRA, J.R.P.; AMBROSANO, G.M.B. Aspectos biológicos de *Anticarsia gemmatilis* Hübn em soja sadia e infectada com o vírus do mosaico comum (SMV). **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, v.25 (1), p.47 - 57, Abril, 1996.
- MAGALHÃES, B.P.; YOKOYAMA, M.; ZIMMERMANN, F.J.P. Métodos de amostragem e flutuação populacional de *Empoasca kraemeri* ROSS & MOORE, 1957 (HOMOPTERA, CICCDELIDAE), *Cerotoma arcuata* (Olivier, 1791) e *Diabrotica speciosa* (GERMAR, 1824) (COLEOPTERA, CHRYSOMELIDAE), no feijoeiro em Goiás. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, v.17(1), p.81 - 95, Setembro, 1988.
- MATTHEWS, R.E.F. (ed.) **Plant Virology**. 3 rd Ed., London, Ed. Academic Press, 1991.835p.

- MEYER, M.C.; COSTA, C.L.; SANTOS, O .R. Interrelações de *Cerotoma arcuata* (Coleoptera : Chrysomelidae) com quatro vírus de leguminosas. **Fitopatologia Brasileira**, v.17(3), p.314 – 320, Setembro, 1992.
- MEYER, M.C.; COSTA, C.L.; SANTOS, O.R. Transmissão de quatro vírus de leguminosas pelas larvas de *Cerotoma arcuata* (Coleoptera; Chrysomelidae). **Fitopatologia Brasileira**, v.18(1), p.97 - 101, Março, 1993.
- MILANEZ, J.M. Técnicas de criação e bioecologia de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1924) (Coleoptera: Chrysomelidae). Piracicaba, 1995. 102p., Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- MONIS, J.; SCOTT, H.A.; GERGERICH, R.C. Effect of beetle regurgitant on plant virus transmission using the gross wounding technique. **Phytopathology**, v.76, p.808-811, Fevereiro, 1986.
- MOORE, B.J. Quail pea mosaic: a new member of the comovirus group. **Plant Disease Reporter**, v.57, p.311-315, 1973.
- MURPHY, F.A.; FAUQUET, C.M.; BISHOP, D.H.L.; GHABRIAL, S.A., JARVIS, A.W., MARTELLI, G.P., MAYO, M.A.; SUMMERS, M.D. (Ed.) Virus Taxonomy - Classification and Nomenclature of Viruses. Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. **Arch. Virol.**, (Suppl. 10): 1 - 589, 1995.
- NADAL, R. de Aspectos econômicos da cultura do feijão. p. 23 -35. In: **A cultura do feijão em Santa Catarina.**, Florianópolis, EPAGRI, 1992,285p.
- NEVES, B.P.das; RIOS; G.P.; CARVALHO, J.R.P. de Flutuação populacional da *Empoasca kraemer*, *Cerotoma arcuata* e *Diabrotica speciosa* e seus

- efeitos na produção de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CAUPI, Goiânia. **Anais**. Goiânia, EMBRAPA-CNPAF, 1982. p.66.
- OLIVEIRA, M.A. Contribuição ao estudo dos vírus causadores de mosaico no feijão macassar (*Vigna* spp.). **Instituto Agronômico do Sul (Pelotas). Boletim Técnico**, v.1, p.1 – 36, Março, 1947.
- PANIZZI, A.R. & FERREIRA, B.S.C. Comparação de dois métodos de amostragens de artrópodos em soja. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, v.7(1), p.60 - 66, 1978.
- PANIZZI, A.R. & PARRA, J.R.P. **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo, Ed. Manole, 1991. 359 p.
- PARRA, J.R.P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. 2ª edição, Piracicaba, FEALQ/ESALQ, 1994. 192p.
- PATEL, V.C. & PITRE, N.H. Transmission of bean pod mottle virus to soybean by the striped blister beetle, *Epicauta vittata*. **Plant Disease Reporter**, v.55, p.628 – 629, 1971.
- PETERS, T.M. & BARBOSA, P. Influence of population density on size, fecundity and development rate of insects in culture. **Annual Review of Entomology**, v.22, p.432 – 452, 1977.
- QUINTELA, E.D.; SILVA, C.A. da; SÁ, G.S. de; ROBERTS, D.W. Biologia de *Cerotoma arcuata* Olivier (Col., Chrysomelidae). In: 13º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, Recife, **Resumos**, 1991. p. 67.
- RAJNAUTH, G.L.; PEGUS, J.E.; HAQUE, S.Q. Additional beetle vectors of cowpea severe mosaic virus in Trinidad. **Tropical Agriculture**, v.54, p.176

– 178, July, 1988.

RAJNAUTH, G.L.; PEGUS, J.E.; HAQUE, S.Q. Laboratory rearing of *Cerotoma arcuata* (Oliv.), a beetle vector of cowpea severe mosaic virus. **Tropical Agriculture**, v.64(2), p.191 - 192, April, 1987.

RIOS, G.P. Resistência ao vírus do mosaico severo do caupi. **Fitopatologia Brasileira**, v.9(2), p.309-310, Junho, 1984.

RIOS, G.P. & NEVES, B.P. Resistência de linhagens e cultivares de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). **Fitopatologia Brasileira**, v.7, p.175 – 184, Abril, 1982.

RIOS, G.P. & NEVES, B.P. das Dispersão do vírus do mosaico severo do caupi. **Fitopatologia Brasileira**, v.14(1), p.20 - 25, Abril, 1989.

RISCH, S. Effect of variety of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) on feeding preferences of three Chrysomelid beetles, *Cerotoma ruficornis rogersi*, *Diabrotica balteata* and *Diabrotica adelpha*. **Turrialba**, v.26(4), p.327 - 330, October/December, 1976.

ROSE, R.I. & Mc CABE, J.M. Laboratory rearing techniques for the Southern corn rootworm. **Journal of Economic Entomology**, v.66(2), p.398 - 400, 1973.

ROSS, J.P. Transmission of bean pod mottle virus in soybeans by beetles. **Plant Disease Reporter**, v.47, p.1049-1050, 1963.

ROSSETO, C.J.; NAGAI, V.; IGUE, T.; ROSSETO, D.; DE MIRANDA, M.A.C. Preferência de alimentação de adultos de *Diabrotica speciosa* (GERMAR) e *Cerotoma arcuata* (Oliv.) em variedades de soja. **Bragantia**, v.40, p.179 – 183, Janeiro, 1981.

- ROSSETTO, C.J.; RAZERA, L.F.; TISSELLI FILHO, O.; KANTHACK, R.A.D.; IGUE, T.; AGUILERA, V. Melhoramento de soja para resistência a adversidade do ambiente. II. Resistência de cultivares a *Cerotoma arcuata*. **Revista de Agricultura**, v.70(3), p.341 - 345, 1995.
- SALAS, F.J.S. & BARRADAS, M.M. *Epicauta atomaria*, a tymovirus experimental vector. p.292, In: 6º ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, São Lourenço,/MG, **Resumos**, 1992, p.179.
- SALAS, F.J.S. & BARRADAS, M.M. Transmissão experimental do vírus da necrose branca do tomateiro (VNBT) por *Epicauta atomaria* (Coleoptera - Meloidae). 208p., In: 5º ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, São Lourenço,/MG, **Resumos**, 1990, p.85.
- SALAS, F.J.S. & BARRADAS, M.M. Transmissão experimental do vírus da necrose branca do tomateiro (VNBT) pelo coleóptero *Cerotoma arcuata*.. In: 5ª REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, São Paulo, **Resumos**, 1992.p.5.
- SALAS, F.J.S.; BARRADAS, M.M.; SOUSA, A.E.B.A., LIMA, J.A.A. *Vigna luteola*, a natural host of cowpea severe mosaic virus (CpSMV) in São Paulo State, Brazil. In : 8º ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, São Lourenço,/MG, **Resumos**, 1996. p.280.
- SALAS, F.J.S.; LIMA, J.A.A.; SOUSA, A.E.B.A.; BARRADAS, M.M. Purification and serology of strain of cowpea severe mosaic virus isolated from *Vigna luteola* in São Paulo State, Brazil. In : 8º ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, São Lourenço,/MG, **Resumos**, 1996. p. 279.
- SALAS, F.J.S.; OLIVEIRA, J.M. de; BARRADAS, M.M. Detection of tomato white necrosis virus in the experimental vector *Epicauta atomaria*. In: ENCONTRO REGIONAL DE VIROLOGIA, Ribeirão Preto/SP, **Resumos**,

1995.

SANTOS, A.A.; FREIRE-FILHO, F.R.; CARDOSO, M.J.; FROTA, A.B.
Serodiagnose de viroses em caupi no Estado do Piauí. **Fitopatologia Brasileira**, v.15, p.84 – 86, Janeiro, 1990.

SGRILLO, R.B. A distribuição de Weibull como modelo de sobrevivência de insetos. **Ecossistema**, v.7, p.10 – 13, Setembro, 1982.

SILBERSCHMIDT, K.M.& NOBREGA, N.R. Notas sobre uma doença de vírus em feijão de porco e outra em feijoeiro comum. **Biológico**, v.8, p. 129 – 133, 1943.

SILVA, P.H.S. & SANTOS, A.A. Insetos vetores de vírus do feijão macassar no Estado do Piauí. p.31 – 37, *In*: 6º SEMINÁRIO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DO PIAUÍ, Teresina, PI, 1990. **Anais**. Teresina, EMBRAPA/UEPAE, 1992.

SILVA-WERNECK, J.O.; DE FARIA, M.R.; ABREU NETO, B.P.; MAGALHÃES, B.P.; SCHMIDT, G.V. Técnica de criação de *Diabrotica speciosa* (Germ.) (Coleoptera: Chrysomelidae) para bioensaios com bacilos e fungos entomopatogênicos. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, 24(1): 45 - 52, 1995.

SINGH, P. & MOORE, R.F. (eds.) **Handbook of insect rearing**. Elseiver, 2v., 1985

SMITH, C.E. Transmission of cowpea mosaic by bean-leaf beetle. **Science**, v.60, p. 268, 1924.

SPERANDIO, C.A. & COSTA, C.L. Besouros crisomelídeos vetores do mosaico-em-desenho do feijoeiro. *In*: Reunião Nacional de Pesquisa de

- Feijão, Goiânia. **Anais**. Goiânia: EMBRAPA - CNPAF, 1982. p. 231 - 233.
- STACE-SMITH, R. Comoviruses. cap. 8. p. 171 – 195, In: Kurstak, E. (ed.) **Handbook of plant virus infections and comparative diagnosis**. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1981, 943 p.
- SUTTER, G.R.; KRYSAN, J.L.; GUSS, P.L. Rearing the Southern corn rootworm on artificial diet. **Journal of Economical Entomology**, v.64(1), p.65 - 67, 1971.
- SWAIN, T. Secondary compounds as protective agents. **Annual Review of Plant Physiology**, v.28, p.479 - 501, 1977.
- TEIXEIRA, M.L.F. & FRANCO, A.A. Efeito de inseticidas sistêmicos na mortalidade de *Cerotoma* spp. (COLEOPTERA : CHRYSOMELIDAE) e na fixação biológica de nitrogênio em feijoeiro. 400p, In: 16º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA ,Salvador,/BA , **Resumos**, 1997. p. 174.
- VALVERDE, R. A. & FULTON, J.P. Comoviruses: identification and diseases caused. In: HARRISON, B.D. & MURANT, A.F. (ed.) **The plant viruses. Polyhedral virions and bipartite genomes**. New York: Plenum Press, 1996. Cap. 2, p. 17 – 33.
- WALKEY, D.G.A. Ecology and epidemiology of plant viruses. In: **Applied Plant Virology**. John Wiley & Sons, New York, 329p., p. 201 - 215, 1985.
- WALTERS, H.J. Beetle transmission of plant viruses. **Advances in Virus Research**, v.15, p.339 - 363, 1969.
- WALTERS, H.J. Transmission of southern bean mosaic virus by the bean leaf beetle. **Plant Disease Reporter**, v.48, p.935, October, 1964.

- WALTERS, H.J. & BERNETT, O. W.Jr. Bean leaf beetle transmission of Arkansas cowpea mosaic virus. **Phytopathology**, v.54, p.911, 1964.(Abstr.)
- WALTERS, H.J. & DODDS, N.L. Identification and beetle transmission of na isolate of cowpea chlorotic mottle virus from *Desmodium*. **Phytopathology**, v.59, p.1055, 1969. (Abstr.)
- WALTERS, H.J. & HENRY, D.G. Bean leaf beetle as a vector of the cowpea strain of southern bean mosaic virus. **Phytopatolgy**, v.60, p.177 – 178, 1970.
- WALTERS, H.J.; LEE, F.N.; JACKSON, K.E. Owerwintwring of bean pod mottle virus in bean leaf beetle. **Phytopathology**, v.62, p.808, 1972.(Abstr.)
- WAN, X.& BARBOSA, P. Growth, development, feeding preference, and food consumption by tobacco mosaic virus-infected and non-infected tobacco leaves. **Experientia**, v.46, p.521 – 524, 1990
- WHITE, T.C.R. The abundance of invertebrate herbivores in relation to the availability of nitrogen in stressed food plants. **Oecologia**, v.63, p.90 - 105, 1984.
- YARWOOD, C.E. Sulfite in plant virus inoculations. **Virology**, v.39, p.74–78, 1969.
- YARWOOD, C.E. The phosphate effect in plant virus inoculations. **Phytophatology**, v.42, p.137 – 143, 1952.
- ZUCCHI, R.A.; SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O. **Guia de identificação de pragas agrícolas**. 1ª edição, Piracicaba, FEALQ/ESALQ, 1993. 139p.