



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE BIOCÊNCIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**CLÁUDIA JULIANA TABOSA LOPES DE  
CRASTO**

**PROTEÔMICA COMPARATIVA DE DUAS VARIEDADES DE FEIJÃO-CAUPI  
FRENTE AO VÍRUS DO MOSAICO DO FEIJÃO-CAUPI TRANSMITIDO POR  
AFÍDEOS**

**RECIFE**

**2017**

**CLÁUDIA JULIANA TABOSA LOPES DE CRASTO**

**PROTEÔMICA COMPARATIVA DE DUAS VARIEDADES DE FEIJÃO-CAUPI  
FRENTE AO VÍRUS DO MOSAICO DO FEIJÃO-CAUPI  
TRANSMITIDO POR AFÍDEOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas.

Orientadora: Professora Doutora Maria Tereza dos Santos Correia (UFPE)

Co-orientador: Doutor Antonio Félix da Costa (IPA)

**RECIFE  
2017**

Catálogo na Fonte:  
Bibliotecária Elaine Cristina Barroso, CRB4/1728

Crasto, Cláudia Juliana Tabosa Lopes de

Proteômica comparativa de duas variedades de feijão-caupi frente ao vírus do mosaico do feijão-caupi transmitido por afídeos / Cláudia Juliana Tabosa Lopes de Crasto – 2017.

145 f. : il., fig., tab.

Orientadora: Maria Tereza dos Santos Correia

Coorientador: Antônio Félix da Costa

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Recife, 2017.

Inclui referências e anexos.

1. Feijão-caupi 2. Vírus 3. Estresse (Fisiologia) I. Correia, Maria Tereza dos Santos (orient). II. Costa, Antônio Félix da (coorient.). III. Título.

583.74

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2022-176

**CLÁUDIA JULIANA TABOSA LOPES DE CRASTO**

**PROTEÔMICA COMPARATIVA DE DUAS VARIEDADES DE FEIJÃO-CAUPI  
FRENTE AO VÍRUS DO MOSAICO DO FEIJÃO-CAUPI  
TRANSMITIDO POR AFÍDEOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas.

Orientadora: Professora Doutora Maria Tereza dos Santos Correia (UFPE)

Co-orientador: Doutor Antonio Félix da Costa (IPA)

Aprovada: 17 de fevereiro de 2017.

Banca examinadora:

---

Profa. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia  
Departamento de Bioquímica - UFPE

---

Prof. Dr. Antônio Félix da Costa  
Instituto Agrônômico de Pernambuco - IPA

---

Profa. Dra. Márcia Vanuza da Silva  
Departamento de Bioquímica - UFPE

---

Profa. Dra. Elba Verônica Matoso Maciel de Carvalho  
Departamento de Bioquímica - UFPE

---

Prof. Dr. Wagner Fontes  
Universidade de Brasília - UnB

Dedico este trabalho aos meus pais, Dora e  
Neto, meus irmãos Paulo Antônio, Erika e João  
Paulo, meus sobrinhos, e meu noivo, Erinaldo.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força em começar, continuar e concluir este Doutorado;

À minha família pelo amor, carinho, apoio, incentivo e colaboração nos anos de estudo, me apoiando nas ausências;

Ao meu noivo, Erinaldo Freitas pelo amor, carinho, apoio e incentivo nos momentos difíceis; Ao programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas pela oportunidade concedida;

À Universidade Federal de Pernambuco pela acolhida;

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pela concessão da bolsa de doutorado;

À professora Maria Tereza Santos Correia pela orientação, carinho e amizade;

Ao Instituto Agrônomo de Pernambuco, pelo acolhimento e execução do projeto;

Gostaria de agradecer, especialmente, ao **Dr. Antonio Félix da Costa**, pelos três anos de orientação, ensinamentos e conversas. Muito obrigada pela amizade verdadeira, pelo nosso saudável convívio, pelas palavras de conforto, pelas cobranças e incentivos, pelas valorosas e incontáveis discussões científicas e, principalmente, ser um profissional tão exemplar. Minha eterna gratidão por ter sido meu pai-científico e um co-orientador tão presente;

À Embrapa – Cernagen pelo acolhimento e realização de experimento;

À doutora Angela Mehta pela orientação, amizade, conselhos, acolhimento e carinho durante o período em que estive em seu laboratório;

Aos amigos do Laboratório de Genômica e Proteômica da Embrapa – Cenargen que me acolheram com muito carinho;

À Universidade de Brasília (UnB) pela execução de experimento; Ao Dr. Wagner Fontes pelo acolhimento e orientação;

Aos amigos da turma de doutorado Carla Regine, Francinete Carla, Maria do Carmo, Araeska Carena e Inácio pelas conversas e momentos de descontração;

Aos meus **companheiros do laboratório**, que ao longo de todos esses anos me acompanharam na rotina diária, na alegria de quando os experimentos deram certo e na frustração de quando os experimentos deram errado. Não citarei todos os nomes, pois, ao longo de todo esse tempo, muitos passaram pelo laboratório e todos contribuíram de alguma forma. São todos especiais demais para mim;

Às amigas que se tornaram para mim cúmplices, companheiras, formadoras de opinião, exemplos de vida, o meu muito obrigado a Emmanuelle Rodrigues, Luciana Oliveira,

Ana Patrícia e Mariele Leão.

“Meu caminho é feito de uma alma com  
pés valentes, mesmo quando cansados  
arriscam mais um passo. É essa doce  
valentia que me trouxe até aqui”.  
(JÁCOMO, 2022, p.1)

## RESUMO

O feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] é uma leguminosa originária do continente africano com ampla distribuição em regiões tropicais e subtropicais, constituindo um dos principais componentes da dieta alimentar, especialmente na zona rural das regiões Nordeste e Norte do Brasil. Essa cultura tem sido constantemente atacada por vírus, causando grandes perdas na produção. Diante do exposto, o presente trabalho objetivou selecionar e identificar variedades de feijão-caupi susceptível e resistente bem como as proteínas diferencialmente abundantes envolvidas durante a interação *Vigna unguiculata* (L.) Walp.- *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV). Foram utilizadas neste estudo as variedades de feijão-caupi Sempre Verde Luís Eduardo Magalhães – susceptível, e TVU 966 – resistente ao vírus CABMV para o estudo da proteômica. As plantas foram borrifadas com carborundo e inoculadas com água (controle) e com CABMV e, posteriormente, coletadas em triplicatas biológicas nos tempos controle e 72 horas após a inoculação. Proteínas totais foram extraídas com fenol, precipitadas com acetato de amônio em metanol e, em seguida, digeridas com tripsina. As proteínas digeridas foram injetadas no equipamento ESI- LC-MS/MS (*Thermo Scientific*). A análise de dados foi realizada por meio do software *Progenesis® QI for proteomics (Non linear Dynamics)* e a identificação das proteínas, por meio do software *Peaks®* (Bioinformatics Solutions). Este estudo revelou um total de 250 proteínas diferencialmente abundantes em ambas as variedades. Com a análise dos resultados foi possível observar diversas proteínas identificadas pela sua classificação funcional nas seguintes categorias: metabolismo, fotossíntese, estresse e resposta à defesa da planta, tradução, dentre outras. A obtenção dos dados mostrou pela primeira vez os perfis protéicos susceptível (LEM) e resistente (TVU 966) infectados com o CABMV o que representa o caráter inédito do presente trabalho auxiliando dentro dos programas de melhoramento genético de feijão-caupi e que vem a contribuir cada vez mais para o aumento da produtividade dessa cultura.

**Palavras-chave:** *Vigna unguiculata*; Vírus; Estresse biótico; Proteômica.

## ABSTRACT

The cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] is a legume originating from the African continent with a wide distribution in tropical and subtropical regions, constituting one of the main components of the diet, especially in the rural zone of the Northeast and North regions of Brazil. This culture has been constantly attacked by viruses, causing great losses in production. Therefore, the present work aimed to select and identify susceptible and resistant cowpea varieties as well as the differentially abundant proteins involved during the interaction *Vigna unguiculata* (L.) Walp.- Cowpea aphid borne mosaic virus (CABMV). It was used varieties in this study “Sempre Verde Luís Eduardo Magalhães” - susceptible, and TVU 966 - resistant to the CABMV virus for the study of proteomics. The plants were sprinkled with carborundum and inoculated with water (control) and CABMV and later collected in biological triplicates at the control and 72 hours times after inoculation. The total proteins were extracted with phenol, precipitated with ammonium acetate in methanol and then digested with trypsin. The digested proteins were injected into the ESI-LC-MS / MS (Thermo Scientific) equipment. Data analysis was performed using Progenesis® QI for proteomics software (Non linear Dynamics) and identification of proteins using Peaks® software (Bioinformatics Solutions). This study revealed a total of 250 differentially abundant proteins in both varieties. It was possible to observe several proteins identified by their functional classification in the following categories: metabolism, photosynthesis, stress and response to plant defense, translation among others. The data collection showed for the first time the susceptible (LEM) and resistant protein profiles (TVU 966) infected with the CABMV, which represents the unprecedented nature of the present work, aiding in the genetic improvement programs of cowpea and that comes to contribute increasingly to increase the productivity of the present crop.

**Keywords:** *Vigna unguiculata*; Virus; Biotic stress; Proteomic.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|                                                                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 — Variação da coloração das sementes de feijão-caupi .....                                                                                          | 22 |
| Figura 2 — Planta com sintoma do vírus do mosaico do caupi .....                                                                                             | 26 |
| Figura 3 — Pulgões (afídeos) em planta de feijão-caupi .....                                                                                                 | 29 |
| Figura 1 — Produtividade de grãos de feijão-caupi cultivar BRS Tumucumaque em função de diferentes espaçamentos entre covas.....                             | 55 |
| Figura 1 — Plantas da variedade LEM com clorose, um dos sintomas do CABMV .....                                                                              | 83 |
| Figura 2 — Classificação funcional das proteínas diferencialmente abundantes em folhas de feijão-caupi das variedades LEM e TVu966 no tempo de 72 horas..... | 84 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 — Espaçamentos empregados e população de plantas por hectare para as cultivares BRS Tumucumaque (espaçamento entre fileiras de 50 e 60 cm) e Miranda IPA 207 (espaçamento entre fileiras de 80 cm), de porte semiereto e semiprostrado, respectivamente..... | 48 |
| Tabela 2 — Manejo populacional de feijão-caupi, tipo semiereto e semiprostrado, BRS Tumucumaque e Miranda IPA 207, respectivamente.....                                                                                                                               | 49 |
| Tabela 3 — Resumo da análise de variância para produtividade da cultivar Miranda IPA 207, em dois anos agrícolas (2009 e 2010), e em duas regiões (Ibimirim e Goiana – PE), utilizando diferentes espaçamentos.....                                                   | 50 |
| Tabela 4 — Produtividade de grãos (kg/ha) de feijão-caupi cultivar Miranda IPA 207, cultivados em dois anos agrícolas (2009 e 2010) e em dois municípios de Pernambuco (Ibimirim e Goiana).....                                                                       | 51 |
| Tabela 5 — Produtividade de grãos (kg/ha) de feijão-caupi cultivar Miranda IPA 207, cultivados em dois anos agrícolas (2009 e 2010) e em dois municípios de Pernambuco (Ibimirim e Goiana).....                                                                       | 52 |
| Tabela 6 — Resumo das análises de variância para produtividade da cultivar BRS Tumucumaque, em dois anos agrícolas (2009 e 2010), e em duas regiões (Ibimirim e Goiana – PE), utilizando diferentes espaçamentos.....                                                 | 53 |
| Tabela 7 — Produtividade (kg/ha) de grãos de feijão-caupi cultivar BRS Tumucumaque em função do desdobramento da interação do espaçamento entre fileiras e locais....                                                                                                 | 54 |
| Tabela 8 — Produtividade (kg/ha) de grãos de feijão-caupi cultivar BRS Tumucumaque em função do desdobramento da interação do espaçamento entre fileiras e anos....                                                                                                   | 55 |
| Tabela 9 — Produtividade (kg/ha) de grãos (kg/ha) e peso de 100 sementes (g) em função do manejo populacional da cultivar Miranda IPA 207 nos anos agrícolas 2011 e 2012.....                                                                                         | 57 |
| Tabela 10 — Produtividade de grãos (kg/ha) e peso de 100 sementes (g) em função do manejo populacional da cultivar BRS Tumucumaque nos anos agrícolas 2011 e 2012..                                                                                                   | 58 |
| Tabela 1 — Cultivares de feijão-caupi selecionadas quanto a susceptibilidade e tolerância ao vírus CABMV.....                                                                                                                                                         | 75 |

|                                                                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabela 1 — Proteínas diferencialmente abundantes identificadas por ESI LC – MS/MS na variedade LEM.....           | 95  |
| Tabela 2 — Proteínas diferencialmente abundantes identificadas por ESI LC – MS/MS na variedade TVu 966.....       | 102 |
| Tabela 3 — Proteínas diferencialmente abundantes identificadas por ESI LC – MS/MS na variedade LEM e TVu 966..... | 105 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                               |                                                                   |
|-------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| AMV                           | Vírus do Mosaico da Alfafa                                        |
| BGMV                          | Bean golden mosaic virus                                          |
| CABMV                         | Cowpea aphid-borne mosaic vírus                                   |
| CPSMV                         | Cowpea severe mosaic vírus                                        |
| CMV                           | Cucumber mosaic vírus                                             |
| CONAB                         | Companhia Nacional de Abastecimento                               |
| Cm                            | Centímetro                                                        |
| Da                            | Daltons                                                           |
| DNA                           | Deoxyribonucleic Acid                                             |
| DTT                           | Ditiotreito                                                       |
| EDTA                          | Ethylenediamine tetraacetic acid                                  |
| ELISA                         | Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay                               |
| ESI                           | Ionização por eletron spray                                       |
| EST                           | Expressed <i>sequence</i> tag                                     |
| FACEPE                        | Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco |
| FAO                           | Food and Agriculture Organization                                 |
| °C                            | Graus Celsius                                                     |
| G                             | Gravidade                                                         |
| G                             | Grama                                                             |
| Ha                            | Hectare                                                           |
| HPLC                          | High Performance Liquid Chromatography                            |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | Peróxido de hidrogênio                                            |
| HCL                           | Ácido clorídrico                                                  |
| h                             | Hora                                                              |
| IBGE                          | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística                   |
| IEF                           | Focalização isoelétrica                                           |
| IPA                           | Instituto Agrônômico de Pernambuco                                |
| KLC                           | Cloreto de Potássio                                               |
| Kg                            | Quilograma                                                        |

|                                  |                                                             |
|----------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| LC                               | Cromatografia líquida                                       |
| L                                | Litro                                                       |
| LEM                              | Sempre Verde Luiz Eduardo Magalhães                         |
| MG                               | Minas Gerais                                                |
| MS                               | Mass Spectrometry                                           |
| MALDI -TOF                       | Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization –Time of Flight |
| Min                              | Minutos                                                     |
| Mrna                             | Messenger RNA                                               |
| ml                               | Milímetro                                                   |
| Mm                               | Milimolar                                                   |
| µL                               | Microlitros                                                 |
| Mg                               | Miligrama                                                   |
| NaCl                             | Cloreto de Sódio                                            |
| NCBI                             | National Center for Biotechnology Information               |
| NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> | Bicarbonato de amônio                                       |
| O <sub>3</sub>                   | Ozônio                                                      |
| ORF                              | Open Reading Frame                                          |
| Pi                               | Ponto isoelétrico                                           |
| PSD                              | Post Source Decay – decaimento após a fonte)                |
| PVX                              | Potato Virus X                                              |
| PIPO                             | Pretty Interesting Potyviridae                              |
| pH                               | Potencial Hidrogeniônico                                    |
| RNA                              | Ribonucleic Acid                                            |
| ROS                              | Espécies reativas de oxigênio                               |
| RT-PCR                           | Reação em cadeia da polimerase por Transcriptase reversa    |
| Rpm                              | Rotação por minuto                                          |
| SDS                              | Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis   |
| Subesp                           | Subespécie                                                  |
| TBSV                             | Tomate Bushy Vírus do conluio                               |

|       |                                    |
|-------|------------------------------------|
| TCA   | Ácido Tricloroacético              |
| TFA   | Ácido Trifluoracético              |
| TMV   | Vírus do Mosaico do Tabaco         |
| Tvu   | <i>Tropical Vigna Unguiculata</i>  |
| UFPE  | Universidade Federal de Pernambuco |
| var.  | Variedade                          |
| Walp. | Walpers                            |

## SUMÁRIO

|          |                                                                                                                                                       |            |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO .....</b>                                                                                                                               | <b>17</b>  |
| 1.1      | OBJETIVOS.....                                                                                                                                        | 18         |
| 1.1.1    | Objetivo geral.....                                                                                                                                   | 18         |
| 1.1.2    | Objetivos específicos.....                                                                                                                            | 18         |
| <b>2</b> | <b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>                                                                                                                      | <b>20</b>  |
| 2.1      | FEIJÃO-CAUPI: CONSIDERAÇÕES GERAIS .....                                                                                                              | 20         |
| 2.1.1    | Histórico, classificação botânica e características .....                                                                                             | 21         |
| 2.1.2    | Importância econômica .....                                                                                                                           | 23         |
| 2.1.3    | Estresse biótico e abiótico .....                                                                                                                     | 24         |
| 2.1.4    | Vírus do mosaico do caupi transmitido por afídeo (CABMV) .....                                                                                        | 26         |
| 2.1.5    | Proteômica.....                                                                                                                                       | 29         |
| 2.1.5.1  | Proteômica Shotgun.....                                                                                                                               | 31         |
| 2.1.5.2  | Proteômica Vegetal.....                                                                                                                               | 32         |
| 2.2      | REFERÊNCIAS .....                                                                                                                                     | 35         |
| <b>3</b> | <b>ESPAÇAMENTO COMO ESTRATÉGIA DE INCREMENTO DA<br/>PRODUTIVIDADE DE GRÃOS DE CULTIVARES DE FEIJÃO-CAUPI<sup>1</sup></b>                              | <b>44</b>  |
| <b>4</b> | <b>REAÇÃO DE CULTIVARES DE FEIJÃO-CAUPI (VIGNA<br/>UNGUICULATA (L.) WALP) AO VÍRUS DO MOSAICO.....</b>                                                | <b>64</b>  |
| <b>5</b> | <b>IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS ENVOLVIDAS NA INTERAÇÃO<br/>Vigna unguiculata. Cowpea aphid borne mosaic virus (CABMV) – por ESI<br/>LC-MS/MS .....</b> | <b>77</b>  |
|          | <b>CONCLUSÕES .....</b>                                                                                                                               | <b>111</b> |
|          | <b>REFERÊNCIAS .....</b>                                                                                                                              | <b>112</b> |
|          | <b>ANEXO 1- REVISTA CIÊNCIA AGRONÔMICA.....</b>                                                                                                       | <b>129</b> |
|          | <b>ANEXO 2 -PESQUISA AGROPECUÁRIA PERNAMBUCANA .....</b>                                                                                              | <b>136</b> |

|                                                           |            |
|-----------------------------------------------------------|------------|
| <b>ANEXO 3- NORMAS REVISTA JOURNAL OF PROTEOMICS.....</b> | <b>138</b> |
|-----------------------------------------------------------|------------|

## 1 INTRODUÇÃO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e o feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) são leguminosas de extrema importância social e econômica, consumidos em grandes quantidades, no Brasil e no mundo, por todas as classes sociais (YOKOYAMA, 2002; DEL PINO; LAJOLO, 2003). O Brasil destaca-se como um dos maiores produtores mundiais de feijão (FAO, 2014). O cultivo dessa leguminosa encontra-se distribuído em praticamente todo o território nacional (WANDER, 2005).

Nas regiões Norte e Nordeste, o feijão-caupi é a leguminosa com maior cultivo, representando aproximadamente 80% da produção total de grãos para alimentação humana, sejam verdes ou secos, constituindo uma importante fonte de proteínas (23-30%) e carboidratos (56-68%) (BRESSANI, 1993; HALL *et al.*, 2003). Entretanto, um dos fatores limitantes para a cultura são os estresses causados por fatores bióticos e abióticos, acarretando grandes perdas na sua produtividade. Qualquer uma destas condições pode retardar o crescimento e o desenvolvimento, reduzir a produtividade e, em casos extremos, levar a planta à morte (QIANG *et al.*, 2000; JIANG; ZHANG, 2002; OZTURK *et al.*, 2002; XIONG *et al.*, 2002).

As pragas estão entre os fatores bióticos que mais interferem no rendimento agrônomo da cultura. Entre as mais importantes, pelos seus danos diretos e indiretos, pela regularidade e intensidade de ocorrência, destacam-se: o pulgão preto, *Aphis craccivora* (KOCH, 1854) (Hemiptera: Aphididae), a cigarrinha-verde, *Empoasca* sp. (Hemiptera: Cicadellidae) e o manhoso, *Chalcodermus bimaculatus* (FIEDLER, 1936) (Coleoptera: Curculionidae) (SANTOS; QUINDERÉ, 1988; QUINTELA *et al.*, 1991; SILVA; CARNEIRO, 2000).

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

O vírus do mosaico do caupi (*Cowpea aphid-borne mosaic virus* - CABMV) é um potyvirus transmitido por diversas espécies de afídeos, de maneira não persistente. O cultivo extensivo dessa cultura faz com que as doenças virais sejam cada vez mais importantes, não apenas pelos danos diretos ocasionados nas plantas hospedeiras mas também pela predisposição a invasores secundários (AKINJOGUNLA *et al.*, 2008). Segundo Santos (1987), algumas viroses que atacam o feijão-caupi podem reduzir em até 70% a produção de

grãos nas cultivares mais suscetíveis, grupo em que se inclui a maioria das cultivares tradicionalmente utilizadas no Nordeste do Brasil. Esse vírus é transmitido mecanicamente de plantas infectadas para sadias pelo processo de transmissão experimental em casa de vegetação.

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

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

Neste trabalho se propõe apresentar pela primeira vez os perfis protéicos dos feijoeiros resistentes (TVU 966) e susceptível (Sempre Verde Luiz Eduardo Magalhães - LEM) infectados com o vírus do mosaico do caupi transmitido por afídeos (CABMV).

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

- Selecionar e identificar genótipos resistente e susceptível ao vírus do mosaico do feijão-caupi transmitido por afídeos;
- Identificar e analisar a proteômica comparativa de duas variedades de feijão-caupi resistente e susceptível ao vírus do mosaico do feijão-caupi transmitido por afídeos.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos de espaçamentos de plantio e o número de plantas por área sobre a produtividade de grãos do feijão-caupi;
- Selecionar cultivares de feijão-caupi ao vírus do mosaico do feijão-caupi transmitido por afídeos, buscando identificar cultivares com diferentes graus de reação para

embasar o estudo da proteômica (CABMV);

- Analisar o perfil de proteínas com expressão diferencial entre as variedades resistente e suscetível de feijão-caupi ao vírus do mosaico do feijão-caupi transmitido por afídeos (CABMV);
- Identificar as proteínas diferencialmente expressas relacionadas ao estresse a esse vírus.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 FEIJÃO-CAUPI: CONSIDERAÇÕES GERAIS

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma leguminosa originária do continente africano, com ampla distribuição em regiões tropicais e subtropicais como África, América Latina e Sudeste Asiático. A história do feijão-caupi data de cinco ou seis mil anos atrás, nas lavouras de cereais da antiga África Ocidental, onde estava intimamente associada ao cultivo de sorgo e milho (DAVIS *et al.*, 1991).

A Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) aponta que a produção mundial de feijão tem se concentrado em países que são os maiores produtores e, ao mesmo tempo, também são os maiores consumidores. Dentre os países produtores de feijão-caupi, a Nigéria classifica-se como maior produtor e consumidor mundial, por apresentar cerca de cinco milhões de hectares de área cultivada, fato que reflete sua produção anual, estimada em dois milhões de toneladas. Após a Nigéria, Niger e Brasil são considerados os maiores produtores, apresentando uma safra anual estimada em 1.800,000 t, 1.500,000 t e 600.000 t, respectivamente (FAOSTAT, 2014).

No Brasil, o feijão-caupi é cultivado predominantemente no sertão semi-árido da região Nordeste e em pequenas áreas na Amazônia. Representa 95% a 100% do total das áreas plantadas com feijão nos estados do Amazonas, Ceará, Maranhão, Piauí e Rio Grande do Norte. No Nordeste, a produção e a produtividade são de 429.375 t e 303,5 kg/ha, respectivamente (DAMASCENO- SILVA, 2009).

Constitui um dos principais componentes da dieta alimentar, especialmente na zona rural das regiões Nordeste e Norte do Brasil. O grão é uma excelente fonte de proteínas (23-25% em média), apresentando a maioria dos aminoácidos essenciais, carboidratos (aproximadamente 62%), vitaminas e minerais, além de possuir grande quantidade de fibras dietéticas, baixa quantidade de gordura (teor de óleo de 2%) e não conter colesterol. Apresenta ciclo curto (60 a 90 dias) e baixa exigência hídrica para se desenvolver em solos de baixa fertilidade (DAVIS *et al.*, 1991).

Pelo seu valor nutritivo, é cultivado principalmente para produção de grãos (secos ou verdes) e consumo humano. Além disso, o feijão-caupi também é utilizado como forragem verde, feno, ensilagem, farinha para alimentação animal, adubação verde e proteção do solo (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2003).

A cultura do feijão-caupi exige um mínimo de 300 mm de precipitação para que produza a contento, sem a necessidade de utilização da prática da irrigação. As regiões cujas cotas pluviométricas oscilem entre 250 e 500 mm anuais são consideradas aptas para a implantação da cultura. Entretanto, a limitação em termos hídricos encontra-se mais diretamente condicionada à distribuição do que à quantidade total de chuvas ocorridas no período (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2003).

A faixa ideal de temperatura para seu desenvolvimento está entre 18 e 34 °C (VALADARES *et al.*, 2010). Contudo, temperaturas baixas (<19 °C) influenciam negativamente a produtividade do feijão-caupi, retardando o aparecimento de flores e aumentando o ciclo da cultura (LEITE *et al.*, 1997), podendo contribuir para a ocorrência de várias enfermidades, principalmente aquelas associadas às altas umidades relativas do ar, condições estas que frequentemente ocorrem quando o cultivo é feito em condições de sequeiro.

#### **2.1.1 Histórico, classificação botânica e características**

O feijão-caupi é originário da África, onde é amplamente cultivado, porém há controvérsias se teria surgido no Oeste Africano, na Nigéria, há cinco ou seis mil anos, onde estaria associado ao cultivo de milho e sorgo (DAVIS *et al.*, 1991), ou na região de Transvaal, na África do Sul, região de especiação de *V. unguiculata* (PADULOSI; NG, 1997).

O feijão-caupi é uma dicotiledônea pertencente à ordem *Fabales*, família *Fabacea*, subfamília *Faboideae*, tribo *Phaseoleae*, subtribo *Phaseolinae*, gênero *Vigna*, espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp.) (ONOFRE, 2008).

Trata-se de uma planta herbácea, anual, de estações quentes, que necessita de uma temperatura mínima de 18 °C para se desenvolver bem, no entanto, seu crescimento ótimo encontra-se à temperatura de 28 °C. As sementes provenientes dos tipos cultivados e mais conhecidos de feijão-caupi pesam entre 80 e 320 mg, variam do formato arredondado até o reniforme. As mesmas têm a capacidade de permanecer viáveis ou dormentes no solo até que a umidade esteja favorável, algo que caracteriza a germinação dessa cultura como de alta percentagem (KIGEL *et al.*, 2015; MEENA *et al.*, 2015).

O tegumento da semente varia em textura (liso, enrugado ou áspero), coloração (branco, creme, verde, opaco, vermelho, marrom ou preto - figura 1), e uniformidade (sólida, mesclada ou manchada). A emergência da plântula, após a germinação, é considerada epígea,

e esse tipo de emergência torna a plântula mais suscetível a injúria, visto que a mesma não consegue formar ramos abaixo da inserção dos cotilédones. As primeiras duas folhas verdadeiras são opostas, sésseis e inteiras, ao passo que as folhas restantes são alternadas, pecioladas e trifolioladas. A estrutura da planta madura varia dependendo do genótipo, temperatura durante o crescimento, e do fotoperíodo em que a planta cresce. A maioria apresenta porte ereto, semiereto, semiprostrado e prostrado, além de crescimento indeterminado, todavia, algumas das novas variedades com maturação precoce apresentam fenótipo para crescimento determinado (TIMKO *et al.*, 2007).

As vagens apresentam entre oito e 21 sementes, com formato cilíndrico, curvado ou em linha reta. A presença de longos pedúnculos é uma característica marcante da espécie, sendo algo que facilita a colheita manual. Vale ressaltar que genótipos de feijão-caupi com floração precoce podem produzir vagens secas em até 60 dias, ao passo que genótipos com floração tardia podem requerer mais de 90 dias para amadurecer, dependendo ainda do fotoperíodo (MEENA *et al.*, 2015).

Figura 1-Variação da coloração das sementes de feijão-caupi



Fonte: Nathália Leite

Recebe outras denominações de acordo com a região e Estado onde é cultivado, tais como feijão macassar, feijão de corda, feijão verde, feijão de praia, feijão de estrada, feijão

miúdo, feijão catador (FREIRE FILHO *et al.*, 1999).

As sementes de feijão-caupi são nutritivas, apresentando 63,6% de carboidrato, 24,8% de proteína, 6,3% de fibras e apenas 1,9% de gordura, além de vitaminas como tiamina, riboflavina e niacina (DAVIS *et al.*, 1991). Devido ao seu valor protéico, é utilizado na alimentação humana sob a forma de grãos secos ou verdes e como vagens, mas seus ramos e folhas também são utilizados na alimentação animal sob a forma de forragem (SILVA; FREIRE FILHO, 1999).

A produção mundial de feijão-caupi, no ano de 2007, alcançou a 36 países, destacando-se entre os maiores produtores a Nigéria, o Níger e o Brasil, respectivamente, que representam 84,1% da área plantada e 70,9% da produção mundial (SILVA, 2011).

A produção de feijão-caupi no Brasil corresponde a 58% de toda a produção de feijões no país, dos quais 84% são produzidos na região Nordeste. A área plantada com feijão-caupi no Brasil está em torno de 30% da área total de feijão e na Região Nordeste corresponde a 60%. Esses dados demonstram a importância do feijão-caupi para a economia do país e principalmente da região Nordeste, onde se torna a base alimentar da população. A área cultivada com esse feijão está em torno de 1.600.000 ha, com os estados do Ceará e Piauí apresentando as maiores áreas cultivadas e as maiores produções do Brasil (FREIRE FILHO *et al.*, 1999). Para a safra de 2014-2015, a estimativa de produção foi de 532,2 toneladas (CONAB, 2016).

### **2.1.2 Importância econômica**

O feijão-caupi apresenta grande importância socioeconômica e desempenha papel fundamental na produção agrícola, além de ser uma das principais fontes proteicas da alimentação humana. A planta é pouco exigente em fertilidade do solo e apresenta boa capacidade de fixar nitrogênio atmosférico, pela simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium* (ANDRADE JUNIOR *et al.*, 2003).

Além de ser uma excelente fonte de proteína, apresenta a maioria dos aminoácidos essenciais, como também é fonte de carboidratos, vitaminas, sais minerais, fibras dietéticas e baixo teor de gordura, podendo ser consumido por todas as populações, em todas as faixas etárias. Em função do seu valor nutritivo, o feijão-caupi é cultivado, principalmente, para a produção de grãos secos e verdes, sendo consumido *in natura*, na forma de conserva ou desidratado; também é utilizado como adubo verde e na alimentação animal como forragem

e ensilagem ou feno (FREIRE FILHO *et al.*, 2005a).

A cultura do feijão-caupi é explorada principalmente por pequenos agricultores em regiões com alta incidência de seca e em sistema de sequeiro, utilizando baixa tecnologia em todo o processo produtivo da lavoura. A baixa produtividade da cultura nas regiões de clima semi-árido está relacionada diretamente ao fato dos agricultores utilizarem cultivares tradicionais de porte ramador, baixo nível de tecnologia, ciclo tardio e suscetíveis a pragas e doenças, como também devido às irregularidades pluviométricas (TEIXEIRA *et al.*, 2007).

O feijão-caupi, há alguns anos, está se expandindo dos ecossistemas de caatinga e transição caatinga-cerrado para as áreas de cerrado das regiões Norte e Nordeste do Brasil, e nos últimos anos, para os cerrados da região Centro-Oeste (FREIRE FILHO *et al.*, 2009). O Brasil apresenta aproximadamente uma área cultivada de 1.300,000 hectares, produção de 505.233 toneladas, e produtividade média de 388 kg/ha<sup>-1</sup> (FREIRE FILHO *et al.*, 2011).

De acordo com o IBGE (2016) o Brasil apresenta uma produção de 1.384.283 toneladas de feijão. Apesar da produção se concentrar principalmente nas regiões Norte e Nordeste, já se verifica uma expansão no Centro-Oeste, onde grandes produtores da região estão adotando o cultivo do feijão-caupi, devido ao seu baixo custo de produção, proporcionando, assim, melhor retorno econômico. No ano de 2011, a Região Centro-Oeste apresentou uma produção com aproximadamente 3%, a Região Norte com 11% e Nordeste com 86% da produção no Brasil (FREIRE FILHO *et al.*, 2011).

O mercado externo tem preferência por feijão-caupi da classe comercial branco e subclasse fradinho, cuja característica são grãos brancos com coloração preta em volta do hilo. Esse tipo de grão é também importado por cerealistas brasileiros para atender aos mercados das regiões sul e sudeste do Brasil. A cultivar ‘Poços de Caldas-MG’ foi a primeira cultivar de grãos tipo fradinho lançada no Brasil (VILARINHO *et al.*, 2008).

Diante da importância da cultura do feijão-caupi para o Brasil e da expansão de seu cultivo, torna-se cada vez mais importante buscar alternativas de melhoria em seu sistema de cultivo, como cultivares adequadas, pois o aumento da sua produtividade é de grande interesse para o setor agrícola nacional.

### **2.1.3 Estresse biótico e abiótico**

Diferentes tipos de estresses podem afetar o desenvolvimento geral das plantas, caracterizados por condições externas de adversidade que afetam o crescimento, o desenvolvimento e/ou a produtividade. Estes podem ser bióticos, impostos por organismos, como bactérias, fungos, vírus, nematóides e insetos (SANTOS *et al.*, 1999; KORTH, 2003) ou abióticos, incluindo excesso ou deficiência de fatores do ambiente físico ou químico (AGRIOS, 1997; STICHER *et al.*, 1997; DIAS; RANGEL, 2007; SOARES; MACHADO, 2007).

Dentre os fatores abióticos estão o estresse hídrico (excesso ou a falta de água), variações na temperatura (frio ou calor), deficiência mineral no solo, excesso de salinidade, excesso ou falta de luz, além da chuva e vento. Compostos fitotóxicos como o O<sub>3</sub> (ozônio) também podem causar danos nos tecidos das plantas (ECKEY-KALTENBACK *et al.*, 1997; SANZ *et al.*, 2002; KRUPA, 2003).

A temperatura pode contribuir para a ocorrência de várias doenças, principalmente aquelas associadas às altas umidades relativas do ar, condições estas que frequentemente ocorrem quando o cultivo é feito em condições de sequeiro. Temperaturas baixas (<19 °C) influenciam negativamente a produtividade do feijão-caupi, retardando o aparecimento de flores e aumentando o ciclo da cultura (LEITE *et al.*, 1997).

A radiação solar pode ser considerada um fator de grande importância para o crescimento e desenvolvimento vegetal, pois influencia diretamente na fotossíntese das plantas. Sob condições favoráveis de solo e clima e quando pragas e doenças deixam de ser fatores limitantes, a máxima produtividade de uma cultura passa a depender principalmente da taxa de interceptação de luz e da assimilação de dióxido de carbono pelas plantas. O estresse biótico constitui uma das principais causas de redução da produtividade das lavouras de várias espécies agrícolas. Em muitos casos pode ocorrer redução de até 100% no rendimento (FRITSCHÉ-NETO; BORÉM, 2012).

Na situação de ataque por patógenos, em geral, as plantas apresentam uma variedade de respostas, envolvendo, desde a alteração da expressão gênica e do metabolismo celular até a alteração da taxa de crescimento e mudanças na produtividade (STASKAWICZ *et al.*, 1995; MORAES, 1998). Entretanto, estas respostas (resistência, tolerância ou suscetibilidade) dependem não somente da duração, severidade, número de exposições e da combinação desses fatores de estresse, mas também do tipo de órgão e tecido, idade de desenvolvimento, genótipo e espécie ou variedade das plantas (STASKAWICZ *et al.*, 1995).

O feijão-caupi também pode ser afetado por diversos vírus, que incluem o *Cowpea severe mosaic vírus* (CPSMV) (gênero *Comovirus*, família *Secoviridae*); *Cowpea aphid borne mosaicvírus* (CABMV) (gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae*); *Cucumber mosaic vírus* (CMV) (gênero *Cucumovirus*, família *Bromoviridae*) e (BGMV) (gênero *Begomovirus*, família *Geminiviridae*)(BESERRA JUNIOR *et al.*, 2011).

O estudo do vírus do mosaico do caupi que é transmitido por pulgões tem se tornado cada vez mais relevante, por ser um dos mais importantes fatores limitantes da produção da cultura, tantopela forma de disseminação, bem como pela dificuldade no controle (LIMA; SITTOLIN; LIMA, 2005; GHORBANI *et al.*, 2008).

Os sintomas mais comuns são mosaíco intenso do limbo foliar, formado por áreas amareladas em alternância com áreas de verde normal, faixas verdes nas nervuras (Figura 2), distorção das folhas e redução do porte da planta quando esta se apresenta severamente infectada (BOCK; CONTI, 1974). O CABMV é transmitido pelas sementes, bem como por várias espécies deafídeos de forma não-persistente (BRUNT *et al.*, 1990).

Figura 2- Planta com sintoma do vírus do mosaíco do feijão-caupi



Fonte: Cláudia Crasto

#### 2.1.4 Vírus do mosaico do caupi transmitido por afídeo (CABMV)

A família *Potyviridae* possui cerca de 30% dos vírus de plantas já descritos e é uma das famílias mais estudadas entre os fitovírus. Atualmente as espécies podem ser classificadas em sete gêneros (*Potyvirus*, *Rymovirus*, *Tritimovirus*, *Bymovirus*, *Ipomovirus*, *Macluravirus* e *Brambyvirus*). Esta divisão é baseada de acordo com o inseto vetor e o número de componentes do genoma viral, que é conservado dentro da família, com exceção do gênero *Bymovirus* que apresentagenoma bipartido (KING *et al.*, 2012).

A família *Potyviridae* constitui a maior e economicamente mais importante família de vírus de plantas, com ampla gama de hospedeiros que englobam dicotiledôneas e monocotiledôneas (HULL, 2002; KING *et al.*, 2012). O gênero *Potyvirus* é o mais estudado dentro da família *Potyviridae*, tendo 146 espécies já caracterizadas (KING *et al.*, 2012). São vírus compostos de RNA de fita simples, sentido positivo que ao ser traduzido gera uma poliproteína que se autocliva em 10 proteínas maduras (KING *et al.*, 2012). Recentemente uma pequena ORF incorporada na região codificadora para a proteína P3 foi identificada e denominada de Pretty Interesting Potyviridae ORF PIPO (CHUNG *et al.*, 2008).

O vírus do mosaíco do caupi transmitido por afídeos apresenta partículas filamentosas e flexuosas, com dimensões aproximadas de 690 a 760 nm. Possui genoma do tipo RNA de fita simples, senso positivo, e um único tipo de proteína capsidial de aproximadamente 38 kDa (VAN REGENMORTEL *et al.*, 2000). Este gênero constitui o grupo taxonômico com o maior número de espécies virais que infectam plantas e, conseqüentemente, é o grupo de maior importância econômica (LIMA *et al.*, 2005b).

Em relação à organização do genoma dos *potyvirus*, a proteína capsidial apresenta uma região amino-terminal altamente variável em tamanho e sequência, uma região central altamente conservada, contendo de 215 a 227 aminoácidos, e uma região carboxi-terminal com 18-20 aminoácidos. As regiões amino e carboxi-terminal estão voltadas para o exterior da partícula viral e são responsáveis pelas propriedades antigênicas da proteína e, conseqüentemente, da partícula viral (BOCK; CONTI, 1974).

O RNA dos *potyvirus* é covalentemente ligado a uma proteína de origem viral denominada Vpg (genome-linked viral protein) em sua extremidade 5' e apresenta uma cauda poliadenilada, de origem viral, em sua extremidade 3' (ALISSON *et al.*, 1986). O RNA genômico apresenta uma única fase aberta de leitura (open reading frame, ORF) localizada entre duas regiões não codificadas denominadas 5'NTR e 3'NTR. A tradução da ORF origina potencialmente uma poliproteína com peso molecular de aproximadamente 350 kDa (ALISSON *et al.*, 1986), que é processada por meio da atividade de três proteases (P1, HC-PRO e NIa) contidas na própria sequência, gerando oito a dez produtos finais.

As proteases P1 e HC-PRO catalisam unicamente suas próprias clivagens em cis. A protease NIa, além de catalisar sua própria clivagem em cis, catalisa seis clivagens adicionais em trans. Uma característica das proteínas sintetizadas pelos *Potyvirus* é o seu caráter multifuncional. Cada proteína é geralmente responsável por várias funções durante o ciclo de infecção (CARRINGTON *et al.*, 1990).

Entre as medidas mais eficientes de controle do vírus, o controle químico do inseto vetor (pulgão) é o mais utilizado. Contudo este tipo de controle é dificultado devido à constante migração de grandes populações do inseto de lavouras mais velhas para as mais novas, também pela rápida resistência adquirida aos inseticidas, além de elevar drasticamente os custos de produção (FARIA *et al.*, 2000).

O uso de variedades resistentes poderá ser efetivo, uma vez que os demais métodos têm eficiência parcial. Sendo assim, a identificação de fontes de resistência é de grande importância no manejo das viroses de um modo geral. No caso do CABMV já se encontrou algum nível de resistência em acessos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) (FISHER; KYLE, 1996).

O gênero *Potyvirus* inclui os vírus transmitidos por afídeos e com um componente genômico (BERGER *et al.*, 2005) e parece englobar os vírus mais bem sucedidos em infectar as plantas (RYBICHI; PIETERSEN, 1999). O controle de doenças causadas por Potyvirus é dificultado pelo caráter da transmissão via inseto vetor e pela ampla gama de hospedeiros do vírus. O tipo de transmissão inviabiliza o controle do vírus pelo controle químico do vetor (ZERBINI; MACIEL- ZAMBOLIM, 2000).

O vírus pode ser controlado por meio de práticas culturais, que incluem a semeadura precoce e consorciação de feijão-caupi com cereais, e isso pode, eventualmente, diminuir a incidência do vírus (KANNAIYAN; HACHIWA 1993). Uso de sementes livres de vírus é potencialmente importante, sobretudo na prevenção da disseminação a novas áreas (ZETTLER; EVANS, 1972).

As medidas de controle utilizadas visam reduzir as fontes de infecção dentro ou fora da cultura, limitar a disseminação de vetores e minimizar o efeito da infecção na produção. De modo geral, tais medidas não oferecem nenhuma solução permanente para o problema das doenças causadas por vírus (MATTHEWS, 1991). Apesar da considerável quantidade de pesquisa na área, não existe nenhum composto que possa ser aplicado rotineiramente para controlar de forma direta os vírus que atacam as plantas. A toxicidade e os custos elevados tornam inviável a comercialização de compostos antivirais (FRASER, 1990). Além disso, como os vírus não têm metabolismo próprio e são intimamente dependentes do hospedeiro para sua multiplicação, qualquer composto que bloqueie a multiplicação viral também afetará o desenvolvimento da célula hospedeira (VICENTE; DE FAZIO, 1982).

O CABMV é transmitido mecanicamente de plantas infectadas para sadias pelo processo de transmissão experimental. Zerbini e Maciel-Zambolim (2000) enfatizaram que

esse gênero em condições naturais é transmitido, de forma não persistente, por mais de 200 espécies de afídeos, destacando-se o *Aphis craccivora* Kock como um dos principais vetores (Figura 3). Contudo, sua disseminação também acontece por meio de sementes infectadas. Desta forma, o intercâmbio de sementes com outras regiões é responsável por sua larga distribuição geográfica. Santos et al. (1999) observaram a transmissibilidade do CABMV por sementes de feijão-caupi de 0,16%, por meio do teste de ELISA indireto. Nogueira (2007) observou que, embora a transmissibilidade do CABMV por sementes de feijão-caupi seja baixa, por meio da técnica de RT-PCR foi possível detectar a presença do vírus utilizando uma quantidade menor de sementes quando comparado ao teste de ELISA. Diante disto, a técnica de RT-PCR mostrou-se mais eficiente que o teste de ELISA na diagnose do vírus em sementes.

Figura 3 -Pulgões (afídeos) em planta de feijão-caupi



Fonte: Cláudia Crasto

### 2.1.5 Proteômica

A proteômica surgiu como uma das vertentes da era pós-genômica e vem contribuindo

significativamente para o entendimento global e integrado dos sistemas biológicos. O estudo do proteoma envolve todo o conjunto de proteínas expressas pelo genoma de uma célula, mas pode também ser direcionado somente àquelas que se expressam diferencialmente em condições específicas (MEIRELES, 2007).

A proteômica tem se desenvolvido principalmente por meio da separação das proteínas por eletroforeses em gel bidimensional e técnicas cromatográficas (EBERLIN, 2005). Mas é na espectrometria de massas que a proteômica tem encontrado uma de suas principais aliadas.

A técnica é comumente utilizada para analisar moléculas com relação à sua razão massa/carga ( $m/z$ ). Esse procedimento consiste em ionizar as moléculas de forma que elas recebam ou doem prótons, ficando carregadas positiva ou negativamente para, posteriormente, serem submetidas a um campo elétrico, que faz com que esses íons se desloquem no interior do analisador, de acordo com as características químicas dessas moléculas.

A proteômica envolve a análise funcional dos produtos gênicos dentro da área denominada “genômica funcional”, que inclui a identificação em larga escala, localização e compartimentalização das proteínas, além de estudos e construção de redes de interação protéica (AEBERSOLD; MANN, 2003).

Nos anos recentes, as tecnologias na proteômica, particularmente a identificação de proteínas baseada em espectrometria de massas (MS – mass spectrometry), têm sido amplamente aperfeiçoadas em virtude de avanços na instrumentação, na preparação de amostra e na análise computacional. Há uma década, o sequenciamento e a identificação de uma proteína individual eram um grande desafio, enquanto que, atualmente, a identificação e a quantificação de grande parte das proteínas expressas são alcançáveis em um único experimento (ALTELAAR; MUNOZ; HECK, 2013).

A proteômica estuda o conjunto de proteínas sintetizadas por uma célula ou conjunto de células em determinado estágio de desenvolvimento ou condições ambientais específicas definidas. A separação das proteínas por eletroforese bidimensional confere visualização geral (sistema aberto) do proteoma de uma amostra biológica e permite a pré-separação das proteínas conforme seu ponto isoelétrico (pI) e massa molecular (MM). Desta forma, é possível realizar a caracterização geral do proteoma com identificação do maior número possível de proteínas ou daquelas proteínas diferencialmente expressas entre duas amostras contrastantes.

Mais além, ao contrário do genoma que é constante num organismo, o proteoma é

altamente dinâmico e dependente do ciclo celular, influências ambientais e tipo de tecido/célula.

#### 2.1.5.1 Proteômica Shotgun

A proteômica *shotgun* é uma abordagem alternativa que envolve a digestão de proteínas em misturas complexas, que visa o estudo qualitativo do proteoma, seguida de análise espectrométrica de massa dos peptídeos para identificação de proteínas (OLD *et al.*, 2005). Esta abordagem apresenta maior rendimento em relação às outras tecnologias proteômicas baseadas em MS, como, por exemplo, o sequenciamento de proteínas intactas (REID; MC LUCKEY, 2002) e análise de proteínas baseadas em gel. O alto rendimento desta abordagem se dá por alguns fatores, como a digestão proteolítica de proteínas em peptídeos, permitindo um melhor sequenciamento, pois os peptídeos são mais fáceis de serem fragmentados do que as proteínas intactas; e também a realização da análise sem a utilização de gel que, em nível proteico, simplifica o manuseio da amostra, aumentando a eficiência dos dados. Por outro lado, a análise e interpretação, dos dados são mais difíceis, pois é necessário o processamento de grandes volumes de dados MS/MS (ZHOU *et al.*, 2002; YAO *et al.*, 2001).

Esta metodologia está em contínuo desenvolvimento e aperfeiçoamento e se baseia na cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas (LC-MS). A LC-MS está aparecendo como um dos principais métodos de quantificação, sendo, conseqüentemente, o alicerce da proteômica atualmente. Equipamentos modernos de LC-MS conseguem identificar milhares de proteínas de uma amostra complexa com uma única injeção (IWASAKI *et al.*, 2010; MICHALSKI *et al.*, 2011; THAKUR *et al.*, 2011) e identificar as proteínas pouco abundantes que costumam ser identificadas apenas com as técnicas baseadas na ligação com um anticorpo específico, que são técnicas caras e costumam demandar muito tempo.

As principais etapas para uso dessa técnica são: 1) extração e digestão de proteínas; 2) análise LC-MS/MS e 3) análise computacional dos espectros obtidos para dedução das sequências de peptídeos (AEBERSOLD; MANN, 2003; BUTS *et al.*, 2014). A identificação dos peptídeos presentes na amostra e suas proteínas correspondentes podem ser feitas por meio da busca em banco de dados (NCBI e Swiss-Prot) e por meio do sequenciamento de novo dos espectros não anotados.

Para reduzir a complexidade da amostra e permitir, assim, o sequenciamento de grande número de peptídeos são necessárias várias separações cromatográficas de dimensões. A separação e os passos da espectrometria de massa podem ser automatizados, o que compreende uma identificação muito maior de proteínas por amostra (WILMARTH; RIVIERE; DAVID, 2009). Para a identificação dos peptídeos os espectros MS/MS são confrontados com uma base de dados de sequências de proteínas, por isso foram desenvolvidas inúmeras ferramentas de pesquisa em banco de dados automatizados, como alguns programas de origem comercial (MANN; WILM, 1994; REID; MC LUCKEY, 2002; FIELD *et al.*, 2002).

#### 2.1.5.2 Proteômica Vegetal

O estudo proteômico de espécies vegetais tem diversas finalidades, podendo auxiliar em programas de melhoramento vegetal, por exemplo, na identificação de proteínas que causam alergias ao homem (SCHENK *et al.*, 2011) ou, ainda, entender como as proteínas estão envolvidas na proteção e resposta de plantas submetidas a estresses bióticos e abióticos (KOSOVÁ *et al.*, 2011).

Segundo Park (2004), a proteômica vegetal encontra-se menos avançada em relação à pesquisa proteômica para os organismos unicelulares e leveduras. Grande parte do maior avanço no caso destes organismos pode ser explicada pela rápida disponibilidade de suas sequências genômicas completas.

A análise proteômica em plantas foi iniciada com milho (*Zea mays*) (TOUZET *et al.*, 1996) e *Arabidopsis thaliana* (SAHNOUN *et al.*, 2000), porém a primeira revisão em proteômica vegetal foi publicada apenas em 1999 (THIELLEMENT *et al.*, 1999). A maioria destes estudos estava baseada na comparação dos níveis de expressão, sem a atual identificação das proteínas, e tinha como objetivo a identificação de marcadores para diferentes situações.

Além dessas plantas, estudos têm sido realizados em outras espécies de dicotiledôneas tais como feijão, uva, linho, ervilha, papoula, batata, tabaco, tomate, espinafre, etc. Estes estudos têm fornecido um grande número de aplicações de novas tecnologias para a preparação da amostra e proteomas de materiais vegetais de diferentes estágios do desenvolvimento, passando por estresses ambientais e interações planta-microrganismo (AGRAWAL *et al.*, 2005).

Com o desenvolvimento e surgimento de novas técnicas, vários estudos têm sido realizados, objetivando a determinação de proteomas sub-celulares ou complexos protéicos, como proteínas de membrana, núcleo, mitocôndria e cloroplastos (VAN WIJK, 2001) para diminuir a complexidade da amostra. Isto é consequência do grande número de proteínas celulares presentes em níveis variáveis de abundância e diversidade de *pI*, hidrofobicidade e massa. Além disso, esse tipo de abordagem fornece a caracterização de organelas individuais e a localização da proteína, relacionando-a à sua função.

Uma das maiores dificuldades da proteômica vegetal é a capacidade de identificação de proteínas em genomas não sequenciados. A identificação e caracterização de proteínas são aceleradas pela disponibilidade de sequências genômicas e de ESTs. *A. thaliana* foi a primeira planta a ter seu genoma totalmente sequenciado (Arabidopsis Genome Initiative, 2000).

Para contornar os problemas de falta de sequências genômicas, duas alternativas são possíveis: se sequências EST estão disponíveis, proteínas podem ser identificadas por sequências *tags* obtidas por ESI-MS/MS ou usando-se MALDI-TOF PSD (*post source decay* – decaimento após a fonte), mas é fortemente dependente do tamanho e qualidade dos bancos de dados EST. Outro caminho seria realizar buscas baseadas na homologia, preferencialmente usando-se sequências obtidas de MS/MS, MALDI-TOF PSD, ou sequenciamento de Edman. Proteínas vegetais, em geral, compartilham uma quantidade significativa de identidade/homologia entre elas (VAN WIJK, 2001).

Boa preparação da amostra, isto é, a extração do máximo número de proteínas de uma dada célula, tecido, órgão ou organismo (WILKINS *et al.*, 1996), é o mais importante passo para a subsequente separação, resolução e identificação das proteínas. A preparação de amostras de material vegetal é reconhecidamente mais difícil devido à rigidez das paredes celulares e ao acúmulo de uma ampla gama de metabólitos secundários no vacúolo central. A prevalência destes

compostos possivelmente representa o problema mais significativo associado com a análise de proteomas vegetais (ROSE *et al.*, 2004). A baixa concentração de proteína neste material também representa outro obstáculo. Um protocolo de extração ideal reproduziria a captura e solubilização total de proteínas em uma dada amostra, minimizando artefatos pós-extração e contaminantes não protéicos (ROSE *et al.*, 2004).

Vários métodos de preparação estão disponíveis para diferentes materiais vegetais (RABILLOUD, 1996). Um dos métodos mais comuns utilizados é o que utiliza ácido tricloroacético (TCA) e acetona (TCA/acetona) para a precipitação direta da proteína de um

dado material (GRANIER, 1988). Uma vantagem é a precipitação imediata das proteínas e a inativação simultânea de componentes envolvidos na degradação protéica, como as proteases. Entretanto, este método também envolve a precipitação de outras substâncias (sais, pigmentos e polifenóis) que interferem com a focalização isoeletrica (IEF) das proteínas.

A utilização de ferramentas proteômicas na investigação dos estágios da embriogênese somática e agregados celulares em meios diferenciais de *Ocotea catharinensis* é a identificação de suas possíveis proteínas específicas ou diferencialmente expressas, além de contribuir para o entendimento do desenvolvimento da embriogênese nessa espécie, podendo também ser utilizada para definir marcadores biológicos para acompanhar o desenvolvimento dos embriões somáticos.

As proteínas são produtos da expressão de um gene, sendo complementar ao genoma. O proteoma se refere a um conjunto de proteínas de um organismo biológico sob determinadas condições ambientais. O estudo das proteínas é denominado proteômica, e este estudo tem como objetivo identificar os componentes de um proteoma e analisar a expressão dessas proteínas sob a influência de diferentes estímulos. Pode-se então compreender os estados fisiológicos e patológicos de um determinado organismo mediante uma ampla análise dos processos biológicos envolvidos (TAO *et al.*, 2011; FOURNIER *et al.*, 2007).

Os estudos proteômicos foram iniciados em 1975 com O'Farrell que descreveu a eletroforese 1D em gel de poliacrilamida, técnica está conhecida como SDS-PAGE com capacidade de separar as proteínas de acordo com a sua massa molecular. Em seguida, com Klose foi possível descrever a eletroforese bidimensional em gel de poliacrilamida (2D-PAGE). Na eletroforese bidimensional ocorrem duas etapas, a focalização isoeletrica, onde as proteínas são agrupadas de acordo com o seu ponto isoeletrico e a eletroforese em gel, onde as proteínas são separadas de acordo com a sua massa molecular. O produto da eletroforese bidimensional é a distribuição de pontos formados por proteínas únicas ou mistura de proteínas (SALVATO; CARVALHO, 2010; PENNINGTON; DUNN, 2001).

Nos anos seguintes surgiu Ionização e Dessorção a Laser Assistida por Matriz (MALDI) (KARAS; HILLENKAMP, 1988), técnica de ionização utilizada em espectrometria de massa que permite a análise de biomoléculas que se fragmentam quando ionizadas por métodos convencionais. Há duas análises aplicadas à separação de proteínas e de identificação, a primeira denominada proteômica *top-down*, análise de proteínas intactas que permite deduzir a estrutura primária das proteínas e a segunda denominada proteômica *bottom-up*, nesta as proteínas são digeridas e os peptídeos analisados por Espectrometria de

Massa (MS) (SALVATO; CARVALHO, 2010; NESATY; SUTER, 2008).

O gel 2D é amplamente utilizado na proteômica vegetal para estudo da expressão de genes, resultando em mapas proteicos de diferentes genótipos e diferentes condições de tratamentos. Esta técnica é bastante utilizada no estudo de interação planta-patógeno a fim de identificar as proteínas diferencialmente abundantes durante a infecção (VILLETH *et al.*, 2009; CARMO *et al.*, 2013). Apesar das vantagens, esta técnica apresenta algumas limitações, como a cobertura incompleta das sequências das proteínas, a demanda de tempo para o processo e a dificuldade na detecção de proteínas menos abundantes (NESATY; SUTER, 2008). Tentando superar essas limitações, outras abordagens foram desenvolvidas para a separação de misturas complexas, posteriormente surgiu, então, a proteômica *shotgun* com base no acoplamento de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) e Espectrometria de Massa (MS), neste, milhares de espectros de massa em tandem (que se repetem) são comparados com os espectros de massa em tandem teórico, utilizando uma base de dados, procurando algoritmos para identificação das proteínas na amostra (FOURNIER *et al.*, 2007). Todas essas abordagens, combinadas com a pesquisa de banco de dados, permitiram que os campos da proteômica comesçassem a se expandir (ENG *et al.*, 1994).

## 2.2 REFERÊNCIAS

- AEBERSOLD, R.; MANN, M. Mass spectrometry-based proteomics. **Nature**, v. 422, p. 198–20, 2003.
- AGRAWAL, G. K.; YONEKURA, M.; IWAHASHI, Y.; IWAHASHI, H.; RAKWAL, R. System, trends and perspectives of proteomics in dicot plants. Part I. Technologies in proteome establishment. **Journal of Chromatograph B Analyt Technol Biomedical Life Sciences**, v. 815: p. 109–123, 2005.
- AGRIOS, G. N. Plant Pathology. **Academic Press**, San Diego, 635 p, 1997.
- AKINJOGUNLA, O. J.; TAIWO, M. A.; KAREEM, K. T. Immunological and molecular diagnostic methods for detection of viruses infecting cowpea (*Vigna unguiculata*). **African Journal of Biotechnology**, v. 7, p. 2099-2103, 2008.
- ALTELAAR, A. F.; MUNOZ, J.; HECK, A. J. Next-generation proteomics: towards an integrative view of proteome dynamics. **Nature Reviews Genetics**, v. 14, n. 1, p. 35-48, 2013.
- ANDRADE, G. P.; PIO-RIBEIRO, G. Estratégias e métodos aplicados ao controle de fitoviroses. In: MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife-PE:UFRPE, Imprensa Universitária, p. 171-181, 2001.

ANDRADE JÚNIOR, A. S. et al. Cultivo de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). Teresina: Embrapa-Meio Norte, 2003. 110 p. (Embrapa Meio-Norte. Sistema de Produção, 2).

ARAÚJO, J. P. P. et al. **Cultura do Caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp: descrição e recomendações técnicas de cultivo.** EMBRAPA, Circular Técnica. 82 p. 1984.

BERGER, P. H.; ADAMS, M. J.; BARNETT, O. W.; BRUNT, A. A.; HAMMOND, J.; HILL, J.H.; JORDAN, R. L.; KASHIWAZAKI, S.; RYBICKI, E.; SPENCE, N.; STENGER, D. C.; OHKI, S. T.; UYEDA, I.; VAN ZAAYEN, A. VALKONEN, A.; VETTEN, H. J. Potyviridae. In: Fauquet, C. M.; MAYO, M. A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L. A. **Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**, p. 819-841, 2005.

BESERRA JUNIOR, J. E. A.; ANDRADE, E. C.; CAMARÇO, R. F. R. A.; NASCIMENTO, A. K. Q.; LIMA, J. A. A. Sequence variability in the coat protein gene of Cowpea severe mosaic vírus isolates from north eastern Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, p. 121-124, 2011.

BLUM, L. E. B.; CARES, J. E.; UESUGI, C. H. **Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas.** Brasília, 265 p. 2006.

BOCK, K. R.; CONTI, M. **Cowpea aphid-borne mosaic virus.** CMI/AAB Description of Plant Viruses N°. 134, 1974.

BRESSANI, R. Grain quality of common beans. **Food Reviews International**, v. 9, n. 2, p. 237-297, 1993.

BRIOSIO, P. S. T. Técnicas moleculares na identificação de vírus em Feijão-caupi. In: VI REUNIÃO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI e I CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE CAUPI. 57., 2006, Teresina. **Anais [...]** Teresina, Tecnologiapara o agronegócio. Embrapa. 2006.

BRUNT, A.; CRABTREE, K.; GIBBS, A. **Viruses of tropical plants: descriptions and list from VIDE database.** Wallingford: ACIAR, 1990. 707 p.

BUTS, K.; MICHELSSSENS, S.; HERTOOG, M. L. A. T. M.; HAYAKAWA, E.; CORDEWENER, J.; AMERICA, A. H. P.; NICOLA, B. M.; CARPENTIE, S. C. Improving the identification rate of data independent label-free quantitative proteomics experiments on non-model crops: A case study on apple fruit. **Journal Proteomics**, v. 105, p. 31-45, 2014.

CAMARÇO, R. F. E. A. et al. Biological, serological and molecular comparison between isolates of Cowpea severe mosaic virus. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 4, p. 239-244, 2009.

CARMO, L. S. T.; RESENDE, R. O.; SILVA, L. P.; RIBEIRO, S. G.; MEHTA, A. Identification of host proteins modulated by the virulence factor AC2 of Tomato chlorotic mottle virus in *Nicotianabenthamiana*. **Proteomics**, v. 13, n. 12-13, p. 1947-1960, 2013.

CARRINGTON, J. C.; FREED, D. D.; OH, C. S. Expression of potyviral polyproteins in transgenic plants reveals three proteolytic activities required for complete processing. **EMBO Journal**, v. 9, p.1347–1353, 1990.

CHUNG, B. Y. W.; MILLER, A. W.; ATKINS, J. F.; FIRTH, A. E. An overlapping essential gene in the Potyviridae. **PNAS**, v. 105, n. 15, p. 5897–5902, 2008.

CONAB (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO). Disponível em: <http://www.conab.gov.br/>. Acesso em: 10 ago. 2016.

DAMASCENO-SILVA, K. J. **Estatística da produção de feijão-caupi**. Grupo cultivar, 2009. Disponível em: <http://www.grupocultivar.com.br/arquivos/estatistica.pdf>. Acesso em: 14 jun. 2018.

DAVIS, D. W. et al. **Cowpea**. University of Wisconsin-Madison, 1991.

DEL PINO, V. M. H.; LAJOLO, M. F. Efecto inhibitorio de los taninos del frijol carioca (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre la digestibilidad de la faseolina por dos sistemas multi enzimáticos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 49-53, 2003.

DIAS, G. B.; RANGEL, T. B. A. Indução de resistência em plantas: o papel do óxido nítrico. **Revista Capixaba de Ciencia e Tecnologia**, v. 3, p. 1-8, 2007.

EBERLIN, M. A proteômica e os novos paradigmas. **Jornal da Unicamp**, Campinas - SP, p. 3, 14a 27 de novembro de 2005.

ECKEY-KALTENBACK, H. et al. Differential transcript induction of parsley pathogenesis related proteins and of small heat shock protein by ozone and heat stress. **Plant Molecular Biology**, v. 33, p. 343-350, 1997.

ENG, J. K.; MCCORMACK, A. L.; YATES, J. R. An approach to correlate tandem mass spectral data of peptides with amino acid sequences in a protein database. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 5, n. 11, p. 976-989, 1994.

FARIA, J. L. et al. Situação atual das geminiviroses no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25, n. 2, p. 125-137, 2000.

FIELD, H. I.; FENYO, D.; BEAVIS, R. C. RADARS, a bioinformatics solution that automates proteome mass spectral analysis, optimises protein identification, and archives data in a relational database. **Proteomics**, v. 2, n. 1, p. 36, 2002.

FISHER, M. L.; KYLE, M. M. Inheritance of resistance to potyviruses in *Phaseolus vulgaris* L. IV. Inheritance, linkage relations, and environmental effects on systemic resistance to four potyviruses. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 92, p. 204-212, 1996.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAOSTAT). **Production: Beans 2012**. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QC/E>. Acesso em: 27 mar. 2014.

FOURNIER, M. L.; GILMORE, J. M.; MARTIN-BROWN, S. A.; WASHBURN, M. P. Multidimensional separations-based shotgun proteomics. **Chemical Reviews**, v. 107, n. 8, p. 3654- 3686, 2007.

FRASER, R. S. S. The genetics of resistance of plant viruses. **Annual Review Phytopathology**,

v. 28, p. 197-200, 1990.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D.; SANTOS, C. A. F. Melhoramento genético de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) na região do Nordeste. In: QUEIROZ, M. A. de; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. (ed.). Recursos genéticos e melhoramento de plantas no Nordeste brasileiro. (on-line). Versão 1.0. Petrolina: Embrapa Semi-Árido; Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, nov. 1999. Disponível em: <http://www.cpatia.embrapa.br/catalogo/livroorg/caupinordeste.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2016.

FREIRE FILHO, F. R. et al. Melhoramento genético. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. deA.; RIBEIRO, V. Q. (Ed.). Feijão-caupi: avanços tecnológicos. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2005a. p. 29-92.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; ALCÂNTARA, J. P.; BELARMINO FILHO, J.; ROCHA, M. M. BRS Marataoã: novo cultivar de feijão-caupi com grão tipo sempre-verde. **Revista Ceres**, v.52, n. 303, p. 771-777, 2005b.

FREIRE FILHO, F. R. et al. BRS Milênio e BRS Urubuquara: cultivares de feijão-caupi para a região Bragantina do Pará. **Revista Ceres**, v. 56, n. 6, p. 749-752, 2009.

FREIRE FILHO, F. R. et al. **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2011. 84 p.

FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. **Melhoramento de plantas para condições de estresse abióticos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012. 248p.

GHORBANI, S. G. M.; SHAHRAEIN, N.; ELAGINIA, S. A. Serodiagnosis of cowpea (*Vigna unguiculata*) viruses in Guilan province, Iran. **Iranian Journal of Virology**, v. 1, p. 28-31, 2008.

GRANIER, F. Extraction of plant proteins for two-dimensional electrophoresis. **Electrophoresis**, v.9, p. 712-718, 1988.

HALL, A. E.; CISSE, N.; THIAW, S.; ELAWAD, H. O. A.; EHLERS, J. D. Development of cowpea cultivars and germplasm by the Bean/Cowpea CRSP. **Field Crops Research**, v. 82, p. 103-134, 2003.

HULL, R. **Matthews Plant Virology**. 4. ed. San Diego: Academic Press, 2002. 1001p.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). Disponível em: [ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Agricola/Levantamento\\_Sistematico\\_da\\_Producao\\_Agricola/\[mensal\]/Comentarios/lspa\\_201606comentarios.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola/[mensal]/Comentarios/lspa_201606comentarios.pdf). Acesso em: 10 ago.2016.

IWASAKI, M.; MIWA, S.; IKEGAMI, T.; TOMITA, M.; TANAKA, N.; ISHIHAMA, Y. One dimensional capillary liquid chromatographic separation coupled with tandem mass spectrometry unveils the *Escherichia coli* proteome on a microarrayscale. **Analytical Chemistry**, v. 82, p. 2616- 2620, 2010.

JIANG, M.; ZHANG, J. Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased

generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 379, p. 2401-2410, 2002.

KANNAIYAN, J.; HACIWA, H. C. Diseases of food legume crops for the scope of their management in Zambia. **FAO Plant Protection Bulletin**, v. 41, p. 73-90, 1993.

KARAS, M.; HILLENKAMP, F. Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. **Analytical chemistry**, v. 60, n. 20, p. 2299-2301, 1988.

KING, A. M. Q.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B.; LEFKOWITZ, E. J. **Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. London: Elsevier/Academic Press, 2012. 1327p.

KIGEL, J.; ROSENTAL, L.; FAIT, A. Seed physiology and germination of grain legumes. In: THARANATHAN, R. N.; MAHADEVAMMA, S. **Grain legumes**. New York: Springer New York, 2015.

KORTH, K. L. Profiling the response of plants to herbivorous insects. **Genome Biology**, v. 4, n. 7, p. 221, 2003.

KOSOVÁ, K.; VÍTÁMKAS, P.; PRÁŠIL, I. T.; RENAUT, J. Plant proteome changes under abiotic stress – Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. **Review Journal of Proteomics**, v. 74, p. 1301-1322, 2011.

KRUPA, V. S. Joint Effects of Elevated Levels of Ultraviolet-B Radiation, Carbon Dioxide and Ozone on Plants. **American Society for Photobiology**, p. 535-542, 2003.

LEITE, M. L.; RODRIGUES, J. D.; VIRGENS FILHO, J. S. Avaliação de cultivares de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) quanto à produtividade e componentes de produtividade, sob condições de estufa plástica. **Revista de Agricultura**, v. 72, n. 3, p. 375-385, 1997.

LIMA, J. A. A.; SITTOLIN, I. M.; LIMA, R. C. A. Diagnoses e Estratégias de Controle de Doenças Ocasionadas por Vírus. Melhoramento Genético. **Feijão-caupi: Avanços Tecnológicos**. In: FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; LIMA, J. A. A.; SILVA, P. H. S. p. 405- 459, 2005.

MACHADO, C. F.; FREIRE-FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; COSTA, D. S. S.; AMORIM, A. F. Herança da inflorescência composta da cultivar de feijão-caupi cacheado. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 5, p. 1347-1350, 2007.

MANN, M.; WILM, M. Error-tolerant identification of peptides in sequence databases by peptide sequence tags. **Analytical chemistry**, v. 66, n. 24, p. 4390-4399, 1994.

MATTHEWS, R.E.F. **Plant Virology**. 3. ed., San Diego: Academic Press, 1991. 835 p. 1991.

MEENA, H. K.; KRISHNA, K. R.; SINGH, B. Genetic variability, heritability and genetic advance in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. **The Journal of Plant Science Research**, v. 31, n. 1, p. 13, 2015.

MEIRELES, K. G. X. **Aplicações de proteômica na pesquisa vegetal**. Embrapa. Documentos 165. Setembro, 2007.

MICHALSKI, A.; DAMOC, E.; HAUSCHILD, J. P.; LANGE, O.; WIEGHAUS, A.; MAKAROV, A.; HORNING, S. Mass Spectrometry-based Proteomics Using Q Exactive, a High-performance Bench top QuadrupoleOrbitrap Mass Spectrometer. **Molecular & Cellular Proteomics**: MCP, p. 10, 2011.

MORAES, M. G. Mecanismos de resistência adquirida em plantas. **Revisão anual de Patologia Vegetal**, v. 6, p. 261-284, 1998.

NESATY, V. J.; SUTER, M. J. F. Analysis of environmental stress response on the proteome level. **Mass spectrometry reviews**, v. 27, n. 6, p. 556-574, 2008.

NOGUEIRA, F. C. S.; GONÇALVES, E. F.; JEREISSATI, E. S.; SANTOS, M.; COSTA, J. H.; OLIVEIRA-NETO, O. B.; SOARES, A. A.; DOMONT, G. B.; CAMPOS, F. A. P. Proteome analysis of embryogenic cell suspensions of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Plant Cell Reports**, v.26, p. 1333–1343, 2007.

OLD, W. M.; MEYER-ARENDT, K.; AVELINE-WOLF, L.; PIERCE, K. G.; MENDOZA, A.; SEVINSKY, J. R.; AHN, N. G. Comparison of label-free methods for quantifying human proteins by shotgun proteomics. **Molecular & cellular proteomics**, v. 4, n. 10, p. 1487-1502, 2005.

ONOFRE, A. V. C. **Diversidade genética e avaliação de genótipos de feijão-caupi contrastantes para resistência aos estresses bióticos e abióticos com marcadores SSR, DAF e ISSR**. 79 p. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.

OZTURK, Z. N.; TALAME, V.; DEYHOLOS, M.; MICHALOWSKI, C. B.; GALBRAITH, D. W.; GOZUKIRMIZI, N.; TUBEROSA, R.; BOHNERT, H. J. Monitoring large-scale changes in transcript abundance in drought- and salt-stressed barley. **Plant Molecular Biology**, v. 48, n. 5-6, p.551-73, 2002.

PADULOSI, S.; NG, N. Q. Origin taxonomy, and morphology of *Vigna unguiculata* (L.) Walp.). In: SINGH, B .B. et al. (eds). **Advances in Cowpea Research**. Tsukuba; IITA JIRCAS, 1997. p. 1- 12.

PARK, O. K. Proteomic studies in plants. **Journal Biochemistry & Molecular Biology**, v. 37, n. 1, p. 133–138, 2004.

PENNINGTON, S. R.; DUNN, M. J. **Proteomics: from protein sequence to function**. Garland Science, 2001.

QIANG, L.; NANMING, Z.; YAMAGUCH-SINOZAKI, K.; SHINOZKI, K. Regulatory role of DREB transcription factors in plant drought, salt and cold tolerance. **Chinese Science Bulletin**, v. 45, n. 11, p. 970- 975, 2000.

QUINTELA, E. D.; et al. **Principais pragas do caupi no Brasil**. Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, 1991, 38 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 35).

RABILLOUD, T. Solubilization of proteins for electrophoretic analyses. **Electrophoresis**, v. 17, n. 5, p. 813-829, 1996.

- REID, G. E.; MCLUCKEY, S. A. 'Top down' protein characterization via tandem mass spectrometry. **Journal of mass spectrometry**, v. 37, n. 7, p. 663-675, 2002.
- ROSE, J. K. C.; BASHIR, S.; GIOVANNONI, J. J.; JAHN, M. M.; SARAVANAN, R. S. Tackling the plant proteome: Practical approaches, hurdles and experimental tools. **Plant Journal**, v. 39, p. 715-733, 2004
- RYBICHI, E. P.; PIETERSEN, G. Plant virus disease problems in the developing world. **Virus research**, v. 53, p. 127-175, 1999.
- SAHNOUN, I.; DEHAIS, P.; VAN MONTAGU, M.; ROSSIGNOL, M.; ROUZE, P., PPMdb: a plant plasma membrane database, **Journal of Biotechnology**, v. 78, p. 235-246, 2000.
- SALVATO, F.; CARVALHO, M. C. D. C. G. Methods and strategies in proteomics and their applications in plants. **Ciência Rural**, v. 40, n. 3, p. 727-734, 2010.
- SANTOS, A. A. Transmissão de vírus através de sementes de Caupi (*Vigna unguiculata*) no Estado do Piauí. **Fitopatologia Brasileira**, v. 12, p. 90-91, 1987.
- SANTOS, J. H. R.; QUINDERÉ, M. A. W. Distribuição, importância e manejo das pragas do caupi no Brasil. In: ARAÚJO, J. P. P.; WATT, E. E. (org.). **O Caupi no Brasil**. Brasília: EMBRAPA, 1988. p. 619 – 621.
- SANTOS, F. M. L. et al. Infecções es simples e múltiplas de vírus em caupi no Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, p. 518-522, 1999.
- SANZ, M. J.; SANCHEZ, G.; CALATAYUD, V.; GALLEGU, M. T.; CERVERO, J. L. A contaminacion atmosferica de los bosques: Guia para la identificacion de los danos visibles causados por ozono. **Ministerio Del Medio Ambiente**, Madrid, pp. 161. 2002.
- SCHENK, M. F.; CORDEWENER, J. H. G.; AMERICA, A. H. P.; PETERS, J.; SMULDERS, M. J. M.; GILISSEN, L. J. W. J. Proteomic analysis of the major birch allergen Bet v I predicts allergenicity for 15 birch species. **Journal of Proteomics**, v. 74, p. 1290-1300, 2011.
- SILVA, P. H. S.; CARNEIRO, J. S. Pragas do feijão caupi e seu controle. In: CARDOSO, M. J. **A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: EMBRAPA MEIO-NORTE, 2000. 264p. (EMBRAPA MEIO-NORTE. Circular Técnica, 28).
- SILVA, K. J. D. Estatística da Produção de feijão caupi. 2009. Disponível em: <http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?id=34241>. Acesso em: 16 jun. 2016.
- SILVA, S. M. S., FREIRE FILHO, F. R. 1999. Proteínas de feijão Caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] caracterização e aplicação nutricional. Embrapa Documentos Número 44, Teresina, PI.
- SOARES, M. A. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Tropica - Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 1, p. 19, 2007.
- STASKAWICZ, B.; AUSUBEL, F.; BAKER, B.; ELLIS, J.; JONES, J. Molecular genetics of plant disease resistance. **Science**, v. 268, p. 661-667, 1995.

STICHER, L.; MAUCH MANI, B.; METRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 35, p. 235-270, 1997.

TAO, D.; ZHANG, L.; SHAN, Y.; LIANG, Z.; ZHANG, Y. Recent advances in micro-scale and nano-scale high-performance liquid-phase chromatography for proteome research. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 399, n. 1, p. 229-241, 2011.

TEIXEIRA, N. J. P. et al. Produção, componentes de produção e suas inter-relações em genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) de porte ereto. **Revista Ceres**, v. 54, n. 314, p. 374- 382, 2007.

THAKUR, S. S.; GEIGER, T.; CHATTERJEE, B.; BANDILLA, P.; FROHLICH, F.; COX, J.; MANN, M. Deep and highly sensitive proteome coverage by LC– MS/MS without pre fractionation. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 10, 2011.

THIELLEMENT, H.; BAHRMAN, N.; DAMERVAL, C.; PLOMION, C.; ROSSIGNOL, M.; SANTONI, V.; DE VIENNE, D.; ZIVY, M. Proteomics for genetic and physiological studies in plants. **Electrophoresis**, v. 20, p. 2013–2026, 1999.

TIMKO, M. P.; EHLERS, J. D.; ROBERTS, P. A. **Cowpea**. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2007. p. 49-67.

TOUZET, P.; DE VIENNE, D.; HUET, J. C.; OUALI, C.; BOUET, F.; ZIVY, M. Amino acid analysis of proteins separated by two proteins: an updated protocol and implications for a dimensional electrophoresis in maize: isoform detection and functional analysis of the genome. Electrophoresis 16, function identification. **Electrophoresis**, v. 17, p. 1393–1401, 1996a.

VALADARES, R. de N. et al. Adaptabilidade e estabilidade fenotípica em genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) de porte ereto/ semi-ereto nas mesorregiões leste e sul maranhense. **Agropecuária Científica no Semi-árido**, v. 6, p. 21-27, 2010.

VAN REGENMORTEL, M. H. V.; FAUQUET, C. M.; BISHOP, D. H. L.; CASTENS, E.; ESTES, M. K.; LEMON, S.; MANILOFF, J.; MAYO, J. A.; MCGEOCH, D. J.; PRINGLE, C. R.; WICKNER, R. (eds.) Virus Taxonomy. Seventh Report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses. **Academic Press: New York**, 2000. 1121p.

VAN WIJK, K. Challenges and prospects of plant proteomics. **Plant Physiology**, v. 126, p. 501- 508, 2001.

VICENTE, M.; DE FAZIO, G. Quimioterapia de fitovírus. In: Primeira Conferência Internacional Sobre O impacto das doenças virais no desenvolvimento dos países Latino americanos e da região do Caribe. Rio de Janeiro, RJ. **Anais [...]** v. 1, p. 298-307, 1982.

VILARINHO, A. A. et al. **BRS Xiquexique: Cultivar de feijão-caupi rica em ferro e zinco para cultivo em Roraima**. 2008. Disponível em: [http://www.cpatu.embrapa.br/publicacoes\\_online](http://www.cpatu.embrapa.br/publicacoes_online). Acesso em: 19 jan. 2012.

VILLETH, G. R.; RES, F. B.; TONETTO, A.; HUERGO, L.; De SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O.; MEHTA, A. Comparative proteome analysis of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in the interaction with the susceptible and the resistant cultivars of *Brassica oleracea*. **FEMS microbiology letters**, v. 298, n. 2, p. 260-266, 2009.

- WANDER, A. E. Introdução e importância econômica. In: COBUCCI, T.; BIAVA, M. (Ed.). Cultivo do feijão irrigado na Região Noroeste de Minas Gerais. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão; Campinas: Embrapa Informática Agropecuária, 2005. (Embrapa Arroz e Feijão. Sistemas de produção, 5).
- WILKINS, M. R.; PASQUALI, C.; APPEL, R. D.; OU, K.; GOLAZ, O.; SANCHEZ, J. C.; YAN, J. X.; GOOLEY, A. S.; HUGHES, G.; HUMPHERY-SMITH, I.; WILLIAMS, K. L.; HOCHSTRASSER, D. F. From proteins to proteomes: Large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. **Nature Biotechnology**, v. 14, 61-65, 1996.
- WILMARTH, P. A.; RIVIERE, M. A.; DAVID, L. L. Techniques for accurate protein identification in shotgun proteomic studies of human, mouse, bovine, and chicken lenses. **Journal of Ocular Biology, Diseases, and Informatics**, v. 2, n. 4, p. 223–234, 2009.
- XIONG, L.; SCHUMAKER, S. K.; ZHU, J. K. Cell Signaling during Cold, Drought, and Salt Stress. **The Plant Cell**, v. 14, p. 165-183, 2002.
- YAO, X.; FREAS, A.; RAMIREZ, J.; DEMIREV, P. A.; FENSELAU, C. Proteolytic 18O labeling for comparative proteomics: model studies with two serotypes of adenovirus. **Analytical Chemistry**, v. 73, n. 13, p. 2836-2842, 2001.
- YOKOYAMA, L. P. Cultivo do Feijoeiro comum: importância econômica. Disponível em: <http://sistemasdeproduca.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/importancia.html>. Acesso: 15 abril 2016.
- ZERBINI, F. M.; MACIEL-ZAMBOLIM, E. A família **Potyviridae** - Parte II. **Revisão Anual de Patologia de Plantas (RAPP)**, v. 8, p. 225-265, 2000.
- ZETTLER, F. W.; EVANS, I. R. HLa keye cowpea mosaic virus in Florida host range and incidence in certified cowpea seed. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 85, p. 99-101, 1972.
- ZHOU, H.; RANISH, J. A.; WATTS, J. D.; AEBERSOLD, R. Quantitative proteome analysis by solid-phase isotope tagging and mass spectrometry. **Nature biotechnology**, v. 20, n. 5, p. 512-515, 2002.

### **3 ESPAÇAMENTO COMO ESTRATÉGIA DE INCREMENTO DA PRODUTIVIDADE DE GRÃOS DE CULTIVARES DE FEIJÃO-CAUPI<sup>1</sup>**

A ser submetido a Revista Ciência Agronômica

#### **Espaçamento como estratégia de incremento da produtividade de grãos de cultivares de feijão-caupi<sup>1</sup>**

#### **Spacing as a strategy to increase productivity cowpea grains genotypes**

**RESUMO:** O feijão-caupi tem significativa importância socioeconômica como suprimento alimentar, na fixação de mão de obra no campo e como componente da produção agrícola, especialmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil. A densidade populacional é fator que influencia diretamente a produtividade do feijão-caupi e o manejo da cultura, sendo essencial no estabelecimento do equilíbrio entre os fatores de produção. Objetivou-se avaliar os espaçamentos de plantio e o número de plantas por área sobre a produtividade de grãos do feijão-caupi, com populações variando de 100.000 a 400.000 mil plantas/ha. Os experimentos foram executados nos municípios de Ibimirim e Goiana-PE, utilizando as cultivares Miranda IPA 207 (porte semiprostrado) e BRS Tumucumaque (semiereto) em dois anos agrícolas. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com quatro repetições, onde os fatores avaliados na análise conjunta foram anos agrícolas; espaçamento entre linhas (50, 60 e 80 cm) e espaçamento entre covas (25, 30, 40 e 50 e 60 cm). Observou-se para a cultivar BRS Tumucumaque que houve diferença significativa na interação entre as variáveis anos x espaçamentos entre linhas e que o melhor espaçamento verificado nos dois anos avaliados foi o de 50 cm. Os espaçamentos entre covas, e locais não alteraram a produtividade da cultivar Miranda IPA 207 nos dois anos agrícolas avaliados. Conclui-se que os espaçamentos de 25 e 30 cm entre covas proporcionaram maiores incrementos na produtividade; e indica-se os

espaçamentos de 80 cm x 25 cm e 50 cm x 25 cm, para cultivares de porte semiprostrado e de semiereto, respectivamente.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Vigna unguiculata*. Densidade populacional. Cultiva porte. semiprostrado. Cultivar porte semiereto. Pernambuco.

**ABSTRACT:** The cowpea bean has significant social and economic importance, as well as food supply, in the labor setting in the field and as a component of agricultural production, especially in the North and Northeast of Brazil. The population density is a factor that directly influences the cowpea productivity and crop management is essential in the average between the factors of productivity. The purpose of this work was to evaluate the different array spacings and the number of plants per area on the productivity of cowpea grains, with populations ranging from 100 to 400 thousand plants/ha. The bioassays were carried out in the Ibimirim and Goiana-PE municipalities using the Miranda IPA 207 (semi-prostrated) and BRS Tumucumaque (semi-erect) genotypes in two agricultural years. The experimental design was a randomized block with four replicates, where the factors evaluated in the pooled analysis were agricultural years; spacing (50, 60 and 80 cm) and spacing between in the hill row (25, 30, 40 and 50 and 60 cm). There was to BRS Tumucumaque a significant difference in the interaction between the variables years and row spacings and that the best spacing found in the two years evaluated was 50 cm. The spacing between hill, and places did not change the productivity of Miranda IPA 207 grow in the evaluated two agricultural years. The spacings 25 and 30 cm between plants provided were better on the productivity; and indicate to the spacings of 80 cm x 25 cm and 50 cm x 25 cm semi-prostrated and semi-erect genotypes, respectively.

**KEYWORDS:** *Vigna unguiculata*. Populational density. Genotype. Semi-prostrated. Semi-erect. Pernambuco.

## INTRODUÇÃO

O feijão-macassar [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], também conhecido como feijão-caupi, de praia e feijão-de-corda, é uma leguminosa rica em proteínas, vitaminas e minerais, representando assim uma importante fonte nutricional, constituindo uma das principais culturas para a alimentação humana (CARDOSO; RIBEIRO, 2006). Nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, desempenha importância fundamental no contexto socioeconômico das famílias de baixa renda, com produtividade de 524 e 432 kg.ha<sup>-1</sup>, respectivamente (IBGE, 2009).

Nas últimas décadas, a cultura do feijão-caupi tem apresentado melhorias técnicas e econômicas dos sistemas de produção que, juntamente com outros fatores, vêm contribuindo para o aumento progressivo da participação de empresários de médio e grande porte na sua produção e comercialização (FREIRE FILHO *et al.*, 2005). Estes fatos têm gerado uma demanda por cultivares com características que atendam às necessidades dos sistemas de produção tecnificados, dentre elas o potencial de rendimento, resistência a pragas e doenças e a qualidade do grão (BEZERRA *et al.*, 2008). O manejo adequado da cultura é essencial no estabelecimento do equilíbrio entre os fatores de produção, possibilitando a obtenção de uma ótima produtividade de grãos. O porte, a arquitetura e o sistema de produção são fatores que influenciam na determinação do arranjo de plantas mais adequado para que os fatores ambientais sejam eficientemente aproveitados e o potencial produtivo da cultivar seja maximizado (BEZERRA, 2005; BEZERRA *et al.*, 2008; MATOSO *et al.*, 2013).

A maior expressão do potencial produtivo das cultivares é resultado da combinação de um conjunto de fatores, destacando-se, dentre eles, a população de plantas (BEZERRA, 2005; BEZERRA *et al.*, 2009). O adensamento populacional está correlacionado ao tamanho da área

foliar, interceptação da radiação solar, eficiência de seu uso, que afeta diretamente as características morfofisiológicas e a produtividade de grãos (OROKA; OMOREGIE, 2007).

De acordo com Tourino *et al.* (2002), a manipulação da densidade de plantas e espaçamento entre linhas têm por finalidade o estabelecimento de uma área mais produtiva, pois as plantas distribuídas uniformemente tendem a aproveitar com mais eficiência a luz, água e nutrientes disponíveis no ambiente.

Na região do Nordeste brasileiro, normalmente, a precipitação pluvial é bastante irregular, ocasionando o fenômeno conhecido por “veranico” que, ocorrendo no período crítico da cultura, compromete a produção de alimentos, em virtude, principalmente, da utilização inadequada de espaçamento entre fileiras e número de plantas por área. (CARDOSO; RIBEIRO, 2001; HALL, 2003; TÁVORA *et al.*, 2001). Diante do exposto, o trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de espaçamentos de plantio e o número de plantas por área sobre a produtividade de grãos do feijão-caupi.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram realizados nas Estações Experimentais do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), nos municípios de Ibimirim-PE (Sertão do Moxotó) e em Goiana-PE (Mata Norte), em dois anos agrícolas, avaliando-se o espaçamento para o plantio de feijão-caupi, bem como o manejo populacional

Em Ibimirim, os ensaios foram instalados com irrigação, em um Neossolo Flúvico Eutrófico (JACOMINE *et al.*, 1973), cujo clima está dividido em três tipos (BSwh', BSw'h' e BSs'h'), com até oito meses secos e precipitação variando de 350 mm a 600 mm anuais. Em Goiana, sob regime de sequeiro, o solo se caracteriza como Espodossolo Ferrihumilúvico (JACOMINE *et al.*, 1973), de clima As' e Ams', com até quatro meses secos e precipitação em torno de 1800 mm

Foram utilizadas as cultivares de feijão-caupi de porte semiereto BRS Tumucumaque

em dois espaçamentos entre fileiras, 50 e 60 cm, e quatro espaçamentos entre covas (25, 30, 40 e 50 cm), e a cultivar Miranda IPA 207, de porte semiprostrado, com espaçamento de 80 cm entre fileiras e 20, 30, 40, 50 e 60 cm entre covas. Os experimentos receberam adubação química (40, 60, 30), de acordo com a análise de solo, em fundação, efetuando-se o controle de pragas quando necessário. Os tratos culturais foram conduzidos manualmente. A correspondência entre espaçamento e população de plantas por hectare encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1. Espaçamentos empregados e população de plantas por hectare para cultivares BRS Tumucumaque (espaçamento entre fileiras de 50 e 60 cm) e Miranda IPA 207 (espaçamento entre fileiras de 80 cm), de porte semiereto e semiprostrado, respectivamente

| Espaçamento (cm) |             | População (plantas/ha) |
|------------------|-------------|------------------------|
| Entre Fileiras   | Entre Covas |                        |
| 50               | 25          | 240,000                |
| 50               | 30          | 195,000                |
| 50               | 40          | 150,000                |
| 50               | 50          | 120,000                |
| 60               | 25          | 200,000                |
| 60               | 30          | 162,500                |
| 60               | 40          | 125,000                |
| 60               | 50          | 100,000                |
| 80               | 25          | 150,000                |
| 80               | 30          | 121,875                |
| 80               | 40          | 93,750                 |
| 80               | 50          | 75,000                 |
| 80               | 60          | 56,250                 |

Utilizou-se o delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro repetições, e parcela constituída de quatro fileiras de quatro metros de comprimento, sendo as duas centrais constituindo a área útil, com o número de covas variando de acordo com os tratamentos. Utilizaram-se três sementes por cova, sem efetuar desbaste. A área total da parcela foi de 8,0 m<sup>2</sup>, 9,6 m<sup>2</sup> e 12,8 m<sup>2</sup> respectivamente para os espaçamentos de 50 cm, 60 cm e 80 cm.

Avaliou-se a produtividade de grãos nos experimentos de espaçamento para ambas as cultivares.

Após escolhido(s) o(s) melhor(es) espaçamento(s) (entre fileiras e covas), foram realizados novos experimentos direcionados a número de plantas por área de plantio para as

cultivares de tipo semiereto (BRS Tumucumaque) e semiprostrado (Miranda IPA 207) (Tabela 2). As variáveis analisadas no experimento de manejo populacional foram comprimento médio de vagens (CMV) - utilizando-se trena, com valores expressos em centímetros (cm); peso de 10 vagens (P10V) - pela pesagem de 10 vagens colhidas ao acaso, com valores expressos em gramas (g); número de sementes de 10 vagens (NS10V) – pela contagem do número de sementes de 10 vagens colhidas ao acaso; peso de sementes de 10 vagens (PS10V) - pela pesagem das sementes de 10 vagens colhidas ao acaso (expressos em g); peso de 100 sementes (P100S) - pela pesagem de três lotes de 100 sementes (expressos em g); produtividade, determinada após a colheita manual da área útil (de cada tratamento), sendo os valores expressos em quilograma/hectare.

Tabela 2. Manejo populacional de feijão-caupi, tipo semiereto e semiprostrado, BRS Tumucumaque e Miranda IPA 207, respectivamente

| Tratamentos | Número de plantas/m | Número de plantas/ha x 1000 |
|-------------|---------------------|-----------------------------|
| 1           | 5                   | 100                         |
| 2           | 6                   | 120                         |
| 3           | 7                   | 140                         |
| 4           | 8                   | 160                         |
| 5           | 9                   | 180                         |
| 6           | 10                  | 200                         |
| 7           | 10                  | 200                         |
| 8           | 12                  | 240                         |
| 9           | 14                  | 280                         |
| 10          | 16                  | 320                         |
| 11          | 18                  | 360                         |
| 12          | 20                  | 400                         |

Nos experimentos de manejo populacional, utilizou-se delineamento de blocos ao acaso, com três repetições, e parcela constituída de quatro fileiras de quatro metros de comprimento, sendo as duas centrais constituindo a área útil. O espaçamento entre fileiras foi de 50 cm para a cultivar de porte semiereto (BRS Tumucumaque) e de 80 cm para a cultivar de porte semiprostrado (Miranda IPA 207). O semeio foi realizado em sulcos, com o dobro de sementes necessárias para se garantir o número de plantas desejado por tratamento, quando da

realização do desbaste, conduzido aos 20 dias após o plantio. A área total das parcelas foi de 8 m<sup>2</sup> e 12,8 m<sup>2</sup> para as variedades de porte semiereto e semiprostrado, respectivamente.

Para avaliação dos dados dos ensaios de espaçamento foi realizada análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, considerando-se a análise conjunta dos dados. Os dados de manejo populacional foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Utilizou-se o programa estatístico Sasmagri (CANTERI *et al.*, 2001).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise conjunta dos espaçamentos utilizados na avaliação da produtividade (kg/ha) da cultivar IPA 207 (Tabela 3), observa-se que não houve interação entre os fatores analisados. Desta forma os mesmos tiveram efeitos isolados, com exceção do fator covas (espaçamentos de: 25; 30; 40; 50 e 60 cm), na variável estudada.

Tabela 3. Resumo da análise de variância para produtividade da cultivar Miranda IPA 207, em dois anos agrícolas (2009 e 2010), e em duas regiões (Ibimirim e Goiana – PE), utilizando diferentes espaçamentos

| F.V. <sup>1</sup>     | G.L.   | Q.M.       | F                   |
|-----------------------|--------|------------|---------------------|
| Locais (A)            | 1      | 2532945,46 | 39,95 <sup>**</sup> |
| Anos (B)              | 1      | 3290686,70 | 51,90 <sup>**</sup> |
| Entre Covas (C)       | 4      | 126881,71  | 2,00 <sup>ns</sup>  |
| Interação (A x B)     | 1      | 14970,75   | 0,24 <sup>ns</sup>  |
| Interação (A x C)     | 4      | 65518,11   | 1,03 <sup>ns</sup>  |
| Interação (B x C)     | 4      | 9276,84    | 0,15 <sup>ns</sup>  |
| Interação (A x B x C) | 4      | 19716,70   | 0,31 <sup>ns</sup>  |
| Tratamentos           | 19     | 353904,02  | 5,58 <sup>**</sup>  |
| Blocos / Anos         | 16     | 180410,80  | 2,85 <sup>**</sup>  |
| Resíduo Combinado     | 64     | 63401,62   |                     |
| Total                 | 99     |            |                     |
| Média Geral           | 873,35 |            |                     |
| CV (%)                | 28,83  |            |                     |

<sup>1</sup>F.V.: fontes de variação; G.L.: graus de liberdade; Q.M.: quadrado médio; C.V.: coeficiente de variação,

\*significativo a 5% de probabilidade, \*\*significativo a 1% de probabilidade, <sup>ns</sup>não significativo pelo teste F

Independentemente da região onde houve a produção do feijão-caupi, verificou-se que

não há diferença estatística entre os espaçamentos empregados (Tabela 4), todavia, ao se analisar cada região, isoladamente, observou-se uma maior produtividade, 1032,5 kg/ha, na região de Ibimirim (Sertão do Moxotó), comparativamente à de Goiana (Mata Norte). Estes dados podem ser explicados pelas características intrínsecas do genótipo, bem como a interação do mesmo com as condições edafoclimáticas das regiões. El Naim *et al.* (2010) corroboram com esta informação, enfatizando que as diferenças nos atributos de crescimento observados entre cultivares pode ocorrer devido ao potencial genético de cada genótipo.

Assim como no presente estudo, outros autores (FREIRE FILHO *et al.*, 2005; ROCHA *et al.*, 2007) também observaram que a variação ocasionada em diferentes ambientes se deve, provavelmente, à forte interação entre anos e locais, principalmente pela ocorrência de estresses abióticos, com predominância de irregularidades pluviométricas, comuns na Região Nordeste.

Tabela 4. Produtividade de grãos (kg/ha) de feijão-caupi cultivar Miranda IPA 207, cultivados em dois anos agrícolas (2009 e 2010) e em dois municípios de Pernambuco (Ibimirim e Goiana)

| Espaçamentos | LOCAIS   |         | Média <sup>1</sup> |
|--------------|----------|---------|--------------------|
|              | Ibimirim | Goiana  |                    |
| 80cm x 25cm  | 1128,1   | 708,1   | 918,1 a            |
| 80cm x 30cm  | 1142,7   | 836,7   | 989,7 a            |
| 80cm x 40cm  | 1061,5   | 621,8   | 841,6 a            |
| 80cm x 50cm  | 875,0    | 711,8   | 793,4 a            |
| 80cm x 60cm  | 955,2    | 692,7   | 823,9 a            |
|              | 1032,5 A | 714,2 B |                    |

<sup>1</sup>Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

O feijão-caupi possui ampla plasticidade fenotípica fato este que favorece a capacidade do indivíduo de sobreviver e reproduzir sob diferentes condições (BOSCHILIA; THOMAZ; PIANA, 2006).

Esses dados oferecem uma visão mais completa e complexa do desenvolvimento e

revela que as populações podem apresentar diferentes padrões individuais e variada capacidade de respostas adaptativas ambientais como alongamento de hastes, suprimida ramificação e reprodução antecipada, produção e qualidade de sementes (CHAVAN; PUJARI; LOKESHA, 2005; CORRÊA; TÁVORA; PITOMBEIRA, 2006; SULTAN, 2003).

Similarmente, foi observado na Tabela 5 que os espaçamentos entre covas não alteraram a produtividade da cultivar Miranda IPA 207 entre os dois anos agrícolas avaliados; só existem diferenças de maior ou menor incremento na produtividade em cada ano (2009 e 2010), 1054,8 kg/ha e 691,9 kg/ha, respectivamente.

A maior produtividade no ano 2009 pode ser justificada pela qualidade fisiológica superior das sementes utilizadas no plantio deste ano em relação ao ano posterior, ao fato das condições climáticas desse período, bem como a interação do ambiente com a cultivar, principalmente, pelo fato do feijão-caupi possuir alta plasticidade fenotípica (BOSCHILIA; THOMAZ; PIANA, 2006).

Tabela 5. Produtividade de grãos (kg/ha) de feijão-caupi cultivar Miranda IPA 207, cultivados em dois anos agrícolas (2009 e 2010) e em dois municípios de Pernambuco (Ibimirim e Goiana)

| Espaçamentos | <del>Anos</del> |         | Média <sup>1</sup> |
|--------------|-----------------|---------|--------------------|
|              | 2009            | 2010    |                    |
| 80cm x 25cm  | 1099,4          | 736,8   | 918,1 a            |
| 80cm x 30cm  | 1197,3          | 782,1   | 989,7 a            |
| 80cm x 40cm  | 1038,5          | 644,7   | 841,6 a            |
| 80cm x 50cm  | 959,6           | 627,2   | 793,4 a            |
| 80cm x 60cm  | 979,0           | 668,9   | 823,9 a            |
| Média (Anos) | 1054,8 A        | 691,9 B |                    |

<sup>1</sup>Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Vale ressaltar que espaçamento entre fileiras de 80 cm é o recomendado para cultivares de porte semiprostrado. Verifica-se nas Tabelas 4 e 5 que mesmo utilizando diferentes espaçamentos entre covas, as médias de cada espaçamento empregado não diferiram

estatisticamente, dentro das diferentes regiões e anos. Este fato torna-se de suma importância, principalmente, quando se está analisando uma cultivar de porte semiprostrado, já que demonstra a adaptação morfofisiológica da cultivar de feijão-caupi Miranda IPA 207, principalmente no tocante ao aumento da área foliar, promovendo uma grande superfície de interceptação e absorção de luz, bem como o aumento da taxa fotossintética. A estrutura do dossel de plantas de feijão-caupi pode ser modificada em função de sua grande plasticidade morfofisiológica, bem como em resposta às mudanças nos níveis de luz.

Segundo Bianchi, Fleck e Dillenburg (2006), quando as plantas crescem em populações, são morfológica e funcionalmente diferentes de plantas que crescem isoladas. A plasticidade é em parte promovida por mecanismos que utilizam informações da luminosidade do dossel, traduzida por fotorreceptores específicos, que estimulam estas modificações em adaptação a densidades populacionais.

Para os experimentos de espaçamento para cultivar BRS Tumucumaque, os resultados da análise conjunta da variância apresentados na (Tabela 6) mostraram interação significativa entre dois fatores analisados. Assim, realizou-se a decomposição dos efeitos das interações dos fatores por meio da análise de regressão, sendo verificado o efeito da produtividade dentro de cada espaçamento (fator entre covas).

Tabela 6. Resumo das análises de variância para produtividade da cultivar BRS Tumucumaque, em dois anos agrícolas (2009 e 2010), e em duas regiões (Ibimirim e Goiana-PE), utilizando diferentes espaçamentos

| Tratamentos          | G.L. | Quadrado Médio | F                  |
|----------------------|------|----------------|--------------------|
| Locais (A)           | 1    | 10681238       | 204,12**           |
| Anos (B)             | 1    | 10835,45       | 0,21 <sup>ns</sup> |
| Entre Filas          | 1    | 2288701,48     | 43,74**            |
| Entre Covas (D)      | 3    | 587836,8       | 11,23**            |
| Regressão Linear     | 1    | 1447069,24     | 27,65**            |
| Regressão Quadrática | 1    | 79106,73       | 1,51 <sup>ns</sup> |
| Regressão Cúbica     | 1    | 237334,43      | 4,54*              |
| Interação (A x C)    | 1    | 2520188,09     | 48,16**            |
| Interação (B x C)    | 1    | 623819,31      | 11,92**            |
| Tratamentos          | 15   | 1290945,03     | 24,67              |

|                   |         |           |      |
|-------------------|---------|-----------|------|
| Blocos / Anos     | 16      | 122866,27 | 2,35 |
| Resíduo Combinado | 112     | 52328,72  |      |
| Total             | 159     |           |      |
| Média Geral       | 994,021 |           |      |
| CV (%)            | 23,01   |           |      |

<sup>1</sup>F.V.: fontes de variação; G.L.: graus de liberdade; Q.M.: quadrado médio; C.V.: coeficiente de variação, \*significativo a 5% de probabilidade, \*\*significativo a 1% de probabilidade, <sup>ns</sup>não significativo pelo teste F

Para as cultivares de porte semiereto, como a cultivar BRS Tumucumaque, o espaçamento entre fileiras mais indicado, segundo (NEVES *et al.*, 2011) é de 50 a 60 cm, o qual proporciona um melhor aproveitamento da energia solar interceptada pelas plantas, principalmente nas regiões que apresentam elevada intensidade luminosa, como a região Nordeste.

Analisando-se a produtividade das sementes da cultivar BRS Tumucumaque nas diferentes regiões, observa-se na (Tabela 7) que o espaçamento, de 50 cm entre fileiras proporciona produtividade superior na região de Ibimirim. Adicionalmente, na região de Goiana, os espaçamentos empregados não diferiram estatisticamente para os valores da produtividade, sendo estes, vale destacar, inferiores aos obtidos em Ibimirim.

Tabela 7. Produtividade (kg/ha) de grãos de feijão-caupi cultivar BRS Tumucumaque em função do desdobramento da interação do espaçamento entre fileiras e locais

| Filas \ Locais |           | Ibimirim  | Goiana   |
|----------------|-----------|-----------|----------|
| Locais         | Repetição |           |          |
| 50 cm          | 40        | 1497,5 aA | 729,7 aB |
| 60 cm          | 40        | 1007,3 bA | 741,5 aB |

<sup>1</sup>Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Na Tabela 8, novamente, verifica-se que o espaçamento de 50 cm proporcionou maiores incrementos na produtividade da cultivar analisada no ano agrícola de 2009. Este dado permite inferir que o menor espaçamento, 50 cm, foi o mais eficaz na obtenção de maiores valores de produtividade para a cultivar BRS Tumucumaque.

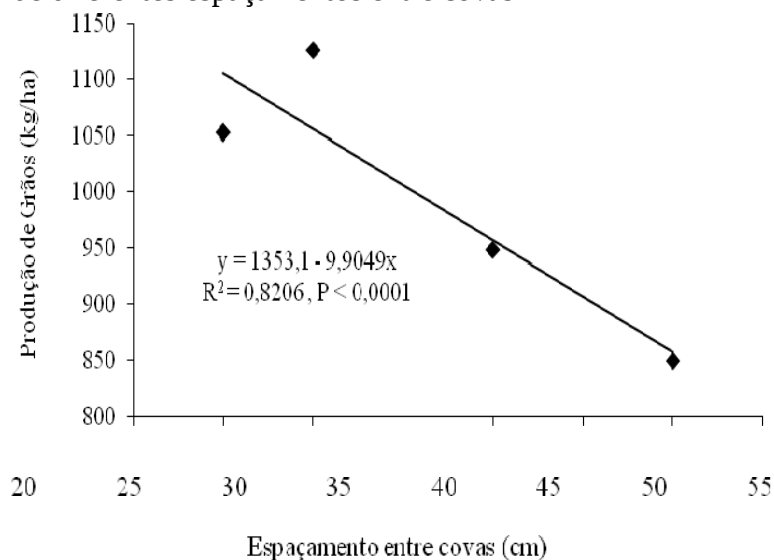
Tabela 8. Produtividade (kg/ha) de grãos de feijão-caupi cultivar BRS Tumucumaque em função do desdobramento da interação do espaçamento entre fileiras e anos

| Filas \ Anos |  | Anos |           |
|--------------|--|------|-----------|
| Repetição    |  | 2009 |           |
|              |  | 2010 |           |
| 50 cm        |  | 40   | 1167,8 aA |
|              |  |      | 1059,4 aB |
| 60 cm        |  | 40   | 803,7 bB  |
|              |  |      | 945,1 bA  |

<sup>1</sup>Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

O modelo linear foi o que se ajustou melhor aos dados para a análise da produtividade da cultivar BRS Tumucumaque em função dos diferentes espaçamentos entre covas (Figura1). Analisando a Figura 1 observou-se um decréscimo linear na produtividade das sementes da cultivar BRS Tumucumaque, à medida que houve aumento no espaçamento entre as covas, permitindo destacar o espaçamento de 25 cm, entre covas como o mais indicado para a cultivar analisada. Segundo Henderson *et al.* (2000) e Soratto *et al.* (2011), para qualquer cultura, o conhecimento da combinação ótima do espaçamento entre fileiras e do espaçamento entre covas é essencial para a maximização econômica da produção.

Figura 1. Produtividade de grãos de feijão-caupi cultivar BRS Tumucumaque em função de diferentes espaçamentos entre covas



Com relação aos dados de manejo populacional, observou-se que para a cultivar Miranda IPA 207, em Ibimirim, não houve diferença estatística para as variáveis analisadas (Tabela 9). Entretanto existe uma tendência de incremento na produtividade em função do aumento do adensamento populacional, como por exemplo no Tratamento 12 (400 mil plantas/ha). Observou-se que o Tratamento 1 (100 mil plantas/ha) apresentou menor produtividade, confirmando a tendência mencionada. A mesma cultivar, quando analisada no município de Goiana, também não apresentou diferenças estatísticas para as variáveis estudadas.

Para a cultivar BRS Tumucumaque, observou-se que não houve diferença estatística para as variáveis produtividade e peso de 100 sementes (Tabela 10). Entretanto, para Goiana – PE, repete-se a tendência dos maiores adensamentos populacionais refletirem uma maior produtividade. Para peso de 100 sementes da cultivar BRS Tumucumaque não houve diferença significativa entre os tratamentos em ambos os ambientes avaliados. Para as demais variáveis analisadas no experimento de manejo populacional (CMV;P10V; NS10V; PS10V) não foram observadas diferenças estatísticas significativas. Geralmente, com o adensamento populacional aumenta-se a competição das plantas por nutrientes do solo, luz solar e por dióxido de carbono. El Naim e Jaberlaldar (2010), corroboram que existe uma correlação inversamente proporcional, afirmando que quando se aumenta a densidade populacional de plantas, diminui o número de vagem/planta.

Brito *et al.* (2013) analisaram as variáveis grãos por vagem (NGV), massa de 1000 grãos (MMG), número de vagens por planta (NVP), vagens por hectare (NVH) e produtividade (P) e observaram que não diferiram significativamente em relação à densidade e o espaçamento entre plantas, diferenciando apenas a variável grãos por vagem (NGV) no espaçamento de 60 cm, sendo este superior aos demais espaçamentos.

Távora *et al.* (2000) enfatizaram que o aumento na densidade de plantas reduz

significativamente o NVP, sendo este fator, conforme Brathwaite (1982), o componente de produção mais afetado pelo aumento na densidade de plantas. Por outro lado, alguns autores relatam que quando há diminuição do espaçamento entre plantas o número de vagem decresce, porém, aumenta o rendimento por unidade de área (El Naim *et al.*, 2010).

Tratamentos

Média de Produtividade (kg/ha)

(2011 e 2012)

Média Peso de 100 Sementes (g)

(2011 e 2012)

Tabela 9. Produtividade de grãos (kg/ha) e peso de 100 sementes (g) em função do manejo populacional da cultivar Miranda IPA 207 nos anos agrícolas 2011 e 2012

|    | Miranda IPA 207 |          | Miranda IPA 207 |          |
|----|-----------------|----------|-----------------|----------|
|    | Ibimirim        | Goiana   | Ibimirim        | Goiana   |
| 1  | 733,3 c         | 1280,5 a | 21,67 a         | 17,04 b  |
| 2  | 862,6 ab        | 1075,3 a | 20,56 a         | 19,04 ab |
| 3  | 866,5 ab        | 1249,8 a | 20,78 a         | 18,09 ab |
| 4  | 783,1 bc        | 1229,0 a | 20,64 a         | 18,81 ab |
| 5  | 1047,3 ab       | 1198,3 a | 21,26 a         | 18,32 ab |
| 6  | 899,8 ab        | 1328,2 a | 21,11 a         | 17,93 ab |
| 7  | 1155,0 ab       | 1299,8 a | 20,85 a         | 19,00 ab |
| 8  | 1146,3 ab       | 1355,7 a | 20,74 a         | 18,18 ab |
| 9  | 1009,1 ab       | 1304,9 a | 21,25 a         | 17,14 b  |
| 10 | 1154,3 ab       | 1345,2 a | 20,96 a         | 19,50 a  |
| 11 | 878,8 ab        | 1236,7 a | 20,94 a         | 17,99 ab |
| 12 | 1209,6 a        | 1268,0 a | 21,15 a         | 18,84 ab |

<sup>1</sup>Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade

Tratamentos

Média de Produtividade (kg/ha)

(2011 e 2012)

Média Peso de 100 Sementes (g)

(2011 e 2012)

BRS Tumucumaque

## BRS Tumucumaque

Tabela 10. Produtividade de grãos (kg/ha) e peso de 100 sementes (g) em função do manejo populacional da cultivar BRS Tumucumaque nos anos agrícolas 2011 e 2012

|    | Ibimirim | Goiana    | Ibimirim | Goiana  |
|----|----------|-----------|----------|---------|
| 1  | 533,57 a | 1258,9 b  | 24,59 a  | 21,28 a |
| 2  | 635,67 a | 1293,8 ab | 23,93 a  | 22,11 a |
| 3  | 634,70 a | 1224,0 b  | 25,22 a  | 21,50 a |
| 4  | 568,13 a | 1410,9 ab | 24,77 a  | 23,14 a |
| 5  | 675,85 a | 1331,3 ab | 25,04 a  | 22,86 a |
| 6  | 649,20 a | 1303,3 ab | 24,22 a  | 22,72 a |
| 7  | 694,62 a | 1266,0 ab | 24,81 a  | 22,47 a |
| 8  | 690,63 a | 1400,8 ab | 25,87 a  | 22,00 a |
| 9  | 530,45 a | 1449,8 ab | 23,07 a  | 21,24 a |
| 10 | 737,18 a | 1496,4 ab | 26,22 a  | 22,02 a |
| 11 | 778,62 a | 1569,1 a  | 24,34 a  | 22,73 a |
| 12 | 344,73 a | 1441,3 ab | 23,52 a  | 22,60 a |

<sup>1</sup>Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade

## CONCLUSÕES

1. Os menores espaçamentos entre covas proporcionaram maiores incrementos na produtividade;
2. Em geral, populações de até 400.000 plantas por hectare proporcionaram incrementos superiores às populações menores, a exemplo de 100.000 plantas por hectare;
3. O aumento da densidade populacional não alterou o comprimento de vargem, número de sementes por vargem e peso de 100 sementes;
4. Indica-se os espaçamentos de 80 cm x 25 cm para cultivares de porte semiprostrado e 50cm x 25cm para cultivares de porte semiereto.

## REFERÊNCIAS

BEZERRA, A. A. de C. **Efeitos de arranjos populacionais na morfologia produtividade de feijão-caupi de crescimento determinado e porte ereto**. 2005. 123 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

BEZERRA, A. A. de C. *et al.* Morfologia e produção de grãos em linhagens modernas de feijão-caupi submetidas a diferentes densidades populacionais. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, p. 85-93, 2008.

BEZERRA, A. A. de C. *et al.* Características de dossel e de rendimento em feijão-caupi ereto em diferentes densidades populacionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 1239-361 1245, 2009.

BIANCHI, M. A.; FLECK, N. G.; DILLENBURG, L. R. Partição da competição por recursos do solo e radiação solar entre cultivares de soja e genótipos concorrentes. **Planta Daninha**, v. 24, n. 4, p. 629-639, 2006.

BOSCHILIA, S. M.; THOMAZ, S. M.; PIANA, P. A. Plasticidade morfológica de *Salvinia herzogii* (de La Sota) em resposta à densidade populacional. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 28, n. 1, p. 35-39, 2006.

BRATHWAITE, R. A. I. Bodie bean responses to changes in plant density. **Agronomy Journal**, v. 74, p. 593-596, 1982.

BRITO, L. L. M. *et al.* Desenvolvimento e produtividade de feijão caupi em grãos secos em função do espaçamento entre fileiras e da população inicial. In: III CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI, 3., 2013, Recife. **Anais eletrônicos [...]** Recife: IPA, 2013. Disponível em: <http://www.conac2012.org/resumos/pdf/369a.pdf>. Acesso em: 22 jul.2016.

CARDOSO, M. J; RIBEIRO, V. Q. Produtividade de grãos de feijão-caupi relacionada à densidade de plantas e à associação com milho em solo de tabuleiro costeiro. *In: REUNIÃO NACIONAL DE CAUPI*, 5., 2002, Teresina. **Anais [...]** Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2001. p. 76-79.

CARDOSO, M. J; RIBEIRO, V. Q. Desempenho agrônômico do feijão-caupi, cv. Rouxinol, em função de espaçamentos entre linhas e densidades de plantas sob regime de sequeiro. **Ciência Agrônômica**, v. 37, p. 102-105, 2006.

CANTERI, M. G. *et al.* SASM-Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v. 1, n. 2, p. 18-24, 2001.

CHAVAN, M.; PUJARI, B. T.; LOKESHA, R. Morphological indices and yield of castor as influenced by organic and inorganic sources of nitrogen. Karnataka. **Journal of Agricultural Sciences**, v. 18, n. 4, p. 1075-1077, 2005.

CORRÊA, M. L. P.; TÁVORA, F. J. A. F.; PITOMBEIRA, J. B. Comportamento de cultivares de mamona em sistemas de cultivo isolados e consorciados com caupi e sorgo granífero. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 37, n. 2, p. 200-207, 2006.

EL NAIM, A. M. *et al.* Effect of intra-row spacing on growth and yield of three cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) varieties under raifed. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, v. 6, n. 5, p. 623-629, 2010.

EL NAIM, A. M.; JABERRELDAR, A. A. Effect of plant density and cultivar on growth and yield of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**. v. 4, n. 8, p. 3148-3153, 2010.

FREIRE FILHO, F. R. *et al.* BRS Marataoã: nova cultivar de feijão-caupi com grão tipo sempre-verde. **Revista Ceres**, v. 52, p. 771-777, 2005.

HALL, A. E. Future directions of bean/cowpea collaborative research support program. **Field Crops Research**, v. 82, p. 233-240, 2003.

HENDERSON, T. L.; JOHNSON, B. L.; SCHNEITER, A. A. Row spacing, plant population, and cultivar effects on grain amaranth in the northern Great Plains. **Agronomy Journal**, v.92, p. 329-336, 2000.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Censo agropecuário 2006**. Rio de Janeiro: IBGE, 2009. 777 p.

JACOMINE, P. K. T. *et al.* **Levantamento exploratório-reconhecimento de solos do estado de Pernambuco**. Recife, Ministério da Agricultura/Sudene, 1973. 359 p. v. 1. (Boletim Técnico, 26; Série Pedologia, 14).

MATOSO, A. de O. *et al.* Produtividade de grãos de feijão-caupi sob diferentes densidades de plantas. In: III CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI. **Resumos [...]** Recife: IPA, 2013. 5 p. Disponível em: <http://www.conac2012.org/resumos/pdf/047b.pdf>. Acesso em: 22

jul. 2016.

NEVES, A. C. *et al.* **Cultivo do feijão-caupi em sistema agrícola familiar**. Teresina: Embrapa, 2011 (CIRCULAR TÉCNICA).

OROKA, F. O.; OMEREGIE, A. U. Competition in a rice - cowpea intercrop as affected by nitrogen fertilizer and plant population. **Scientia Agricola**, v. 64, n. 6, p. 621-629, 2007.

ROCHA, M. de M. *et al.* Adaptabilidade e estabilidade produtiva de genótipos de feijão-caupi de porte semiereto na região Nordeste do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p. 1283-1289, 2007.

SULTAN, S. E. Phenotypic plasticity in plants: a case study in ecological development. **Evolution & Development**, v. 5, n. 1, p. 25-33, 2003.

SORATTO, R. S. *et al.* Espaçamento e população de plantas de mamoneira de porte baixo para colheita mecanizada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 245-253, 2011.

TÁVORA, F. J. A. F. *et al.* Densidade de plantio na cultura do feijão-de-corda irrigada. II. Componentes de produção e rendimento de grãos. **Ciência Agronômica**, v. 31, p. 20-26, 2000.

TÁVORA, F. J. A. F.; NOGUEIRA, S. L.; PINHO, J. L. N. de. Arranjo e população de plantas em cultivares de feijão-de-corda com diferentes características de copa. **Revista Ciência Agronômica**, v. 32, p. 69-77, 2001.

TOURINO, M. C. C. *et al.* Espaçamento, densidade e uniformidade de semeadura na produtividade e características agronômicas da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 8, p. 1071-1077, 2002.

#### 4 REAÇÃO DE CULTIVARES DE FEIJÃO-CAUPI (*VIGNA UNGUICULATA* (L.) WALP) AO VÍRUS DO MOSAICO

Submetido a Revista Pesquisa Agropecuária Pernambucana – PAP



**Reação de cultivares de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) ao vírus do mosaico do caupi transmitido por afídeos (CABMV)**

**Reaction of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) cultivars to aphid-transmitted cowpea mosaic virus (CABMV)**

Cláudia Juliana Tabosa Lopes de Crasto (claudiacrasto@gmail.com)<sup>1\*</sup>, Amanda Cupertino de Queiroz Brito<sup>2</sup>, Márcia Vanusa da Silva<sup>3</sup>, Antonio Félix da Costa<sup>4</sup> e Maria Tereza dos Santos Correia<sup>5</sup>.

<sup>1\*</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Bolsista FACEPE, Universidade Federal de Pernambuco, Avenida Professor Moraes Rêgo, 1371, Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife, Pernambuco, Brasil;

<sup>2</sup>Mestranda do Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco, Avenida Professor Moraes Rêgo, 1371, Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife, Pernambuco, Brasil;

<sup>3,5</sup>Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil;

<sup>4</sup>Programa de Melhoramento de Feijão, Instituto Agronômico de Pernambuco, Av. General San Martin, nº 1371, Bongi, CEP: 50761-000, Recife, Pernambuco, Brasil.

#### RESUMO

Diante da importância da cultura do feijão-caupi para o Brasil e da expansão de seu cultivo, torna-se cada vez mais importante buscar alternativas de melhoria ao seu sistema de produção, como a utilização de cultivares adequadas, visando ao aumento da

produtividade que é de grande interesse para o setor agrícola nacional. O estudo proteômico de espécies vegetais tem diversas finalidades, podendo auxiliar, por exemplo, em programas de melhoramento vegetal, ou, ainda, entender como as proteínas estão envolvidas na proteção e resposta de plantas submetidas a estresses bióticos e abióticos. Dentre os problemas fitossanitários na cultura do caupi, os associados a vírus se destacam, ocasionando grandes perdas agrícolas. É visível a gravidade dos problemas em relação ao estresse causado pelo vírus do mosaico transmitido por afídeos. O presente trabalho objetivou selecionar cultivares de feijão-caupi diante do vírus do mosaico do feijão-caupi transmitido por afídeos (CABMV), buscando identificar cultivares com diferentes graus de reação ao vírus para embasar o estudo da proteômica. Foram utilizados 48 genótipos sendo analisada a sua reação ao CABMV por meio de sintomas e recuperação do vírus a partir de plantas sem sintomas evidentes. Verificou-se que algumas cultivares apresentaram-se susceptíveis, destacando-se Cavaleiro 8, Cabeçudo, Paulistinha, BRS Tumucumaque e Sempre Verde Luiz Eduardo Magalhães, e resistência TVU 966, Costela de Vaca e Epace 10. Foi possível observar que algumas cultivares apresentam-se moderadamente resistentes Tucuri 1, Manteiga, Coruja.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Vigna unguiculata*, vírus, susceptibilidade e tolerância.

### **ABSTRACT**

In view of the importance of cowpea culture in Brazil and the expansion of its cultivation, it is increasingly important to seek alternatives for improvement in its production system, such as the use of suitable cultivars, aiming to increase productivity. Of great interest to the national agricultural sector. The proteomic study of plant species has several purposes, and may help, for example, in plant breeding programs, or to understand how proteins are involved in the protection and response of plants subjected to biotic and abiotic stresses. Among the

phytosanitary problems in the cowpea crop, those associated with the virus stand out, causing great agricultural losses. The severity of the problems in relation to the stress caused by aphid-transmitted mosaic viruses is apparent. The present work aimed to select cultivars of cowpea in the presence of the aphid - transmitted cowpea mosaic virus (CABMV), in order to identify cultivars with different degrees of virus reaction to support the proteomics study. We used 48 genotypes and their reaction to CABMV was analyzed by means of symptoms and recovery of the virus from plants without obvious symptoms. It was verified that some cultivars were susceptible, standing out Cavaleiro 8, Cabeçudo, Paulistinha, Tumucumaque and Semper Luiz Eduardo Magalhães Green, and resistance TVU 966, Cow's Rib and Epace 10. It was possible to observe that some cultivars are presented Moderately resistant Tucuri 1, Butter, Owl.

**KEYWORDS:** *Vigna unguiculata*, virus, sensibility and tolerance.

## INTRODUÇÃO

O estudo proteômico de espécies vegetais tem diversas finalidades, podendo auxiliar na área da saúde humana por meio da identificação de proteínas que ocasionam alergias ao homem (SCHENK et al., 2011), como também na área agrônômica em programas de melhoramento genético vegetal, ajudando na compreensão de como as proteínas estão envolvidas na proteção e resposta de plantas submetidas a estresses bióticos e abióticos (KOSOVÁ et al., 2011).

A análise proteômica em plantas foi iniciada com as espécies *Zea mays* (milho) (TOUZET et al., 1996) e *Arabidopsis thaliana* (SAHNOUN et al., 2000), porém a primeira revisão com foco nesta temática foi publicada apenas em 1999 (THIELLEMENT et al., 1999). A maioria destes estudos estava baseada na comparação dos níveis de expressão, sem a

atual identificação das proteínas, e objetivava a identificação de marcadores para diferentes situações. Outras espécies vegetais têm sido estudadas, dentre estas, plantas dicotiledôneas tais como: feijão, uva, linho, ervilha, papoula, batata, tabaco, tomate e espinafre. Estes estudos têm proporcionado um grande número de aplicação de novas tecnologias para a preparação da amostra e proteomas de materiais vegetais de diferentes estágios do desenvolvimento, passando por estresses ambientais e interações planta-microrganismo (AGRAWAL et al., 2005).

Diante da importância da cultura do feijão-caupi para o Nordeste e da expansão de seu cultivo, torna-se cada vez mais importante buscar alternativas de melhoria no sistema produtivo, como o uso de cultivares adequadas, buscando-se aumento na produtividade que é de grande interesse para o setor agrícola nacional. O estresse biótico constitui uma das principais causas na redução da produtividade dos plantios de diferentes espécies agrícolas. Em muitos casos pode ocorrer redução de até 100% no rendimento (FRITSCHÉ-NETO; BORÉM, 2012).

O feijão-caupi pode ser afetado por diversos vírus, que incluem o vírus do mosaico severo do caupi (CPSMV) (gênero *Comovirus*, família *Secoviridae*); vírus do mosaico do feijão-caupi transmitido por afídeos (CABMV) (gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae*); vírus do mosaico do pepino (CMV) (gênero *Cucumovirus*, família *Bromoviridae*) e vírus do mosaico dourado (BGMV) (gênero *Begomovirus*, família *Geminiviridae*) (BESERRA JUNIOR et al., 2011).

A família *Potyviridae* constitui a maior e economicamente a mais importante família de vírus de plantas, com ampla gama de hospedeiros que englobam dicotiledôneas e monocotiledôneas (HULL, 2002; KING et al., 2012). Taiwo e Akinjogunla (2006) relatam que quanto mais jovem for a planta infectada e quanto maior o número de espécies de vírus

que a infectam simultaneamente, mais devastador poderá ser o efeito desses vírus no desenvolvimento da planta, na produção e na qualidade nutricional do grão, em decorrência do efeito sinérgico.

Na cultura do feijão-caupi as perdas ocasionadas pelo CABMV variam de 13 a 87%, dependendo da suscetibilidade da cultivar, da idade da planta no momento da infecção, da estirpe do vírus e das condições ambientais (BASHIR et al., 2002).

A melhor alternativa para o controle do CABMV é o uso de variedades resistentes, sendo que outras medidas podem ser adotadas, como o uso de sementes sadias e eliminação de plantas infectadas.

As respostas de defesa vegetal contra vírus apresentam algumas peculiaridades ao se comparar a outros patógenos. Segundo Hull (2009), existem diversos tipos de relação planta-vírus: imune (não hospedeira) – Os vírus não se replicam em protoplastos ou em células de plantas sadias; infectada (hospedeira) – Os vírus podem infectar e replicar nos protoplastos; resistente (hipersensitiva extrema) – a multiplicação viral é limitada às células inicialmente infectadas, por conta da produção de proteínas de movimento não funcionais, caracterizando uma infecção subliminal; resistente (hipersensitiva) – a infecção é limitada a uma zona de células em volta das células inicialmente infectadas, em decorrência da resposta do hospedeiro, havendo formação de lesões necróticas locais; sensível – a planta reage mais ou menos severamente à doença; susceptível - resulta em movimento sistêmico e replicação viral; tolerante - existe pouco ou nenhum efeito aparente na planta, caracterizando uma infecção latente. Diante do exposto, é visível a gravidade dos problemas em relação ao estresse em plantas de feijão-caupi ocasionado por vírus. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo selecionar cultivares de feijão-caupi ao vírus do mosaico do feijão-caupi transmitido por afídeos, buscando identificar cultivares com diferentes graus de reação para facilitar estudos posteriores frente ao estudo da proteômica (CABMV).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram utilizadas sementes de 48 genótipos de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] oriundas do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA), em Recife -PE. Os genótipos usados foram: Portalegre 2, Cavaleiro 8, Tucuruí 1, Juazeiro 7, Encruzilhada 1, Macaíbo, Manteiguinha Santarém, Vitória 2, BRS Cauamé, Pingo de Ouro 2, Sempre Verde, Rasga Letra, Cabeçudo, Pitiúba, Manteiga, Coruja Canapu PE, Paulistinha, Epace 10, Maravilha, BRS Xiquexique, BRS Tumucumaque, BRS Guariba, Sempre Verde Verdadeiro, Bastião, Sempre Verde Salgueiro, Bastiãozinho, Bajão, Patativa, Bico de Ouro Chico Modesto 2, BRS Novaera, Rouxinol, Esperança, Portalegre RN 1, Canapuzinho, Safrinha 1, Costela de Vaca, Pele de Moça, CNC 0434, BR 10 Piauí, Miranda IPA 207, BR 14 Mulato, Pujante, Pingo de Ouro, IT 85F 2687, Santo Inácio, Sempre Verde Luiz Eduardo Magalhães e TVu 966.

### **Condução dos experimentos**

O experimento foi realizado em casa de vegetação, localizada na sede do IPA, sob temperatura média de 30 °C. Semearam-se cinco sementes por vaso, sendo o substrato irrigado diariamente com água corrente

### **Obtenção e manutenção dos isolados virais em plantas indicadoras de feijão-caupi**

O isolado viral do CABMV, purificado biologicamente, foi mantido em casa de vegetação por meio de inoculação mecânica nas cultivares Pele de Moça e Miranda IPA 207. Este isolado se constituiu no inóculo original a partir do qual foram inoculadas as plantas das demais cultivares. O vírus foi mantido *in vivo* e reinoculado periodicamente em plântulas das cultivares mencionadas.

### **Microorganismo Fitopatogênico**

Para a indução do estresse biótico foi utilizado um isolado do vírus do mosaico do feijão-caupi transmitido por afídeos (CABMV), caracterizado e mantido pela Embrapa Meio Norte (Teresina – PI).

### **Indução ao vírus**

O inóculo foi preparado a partir de extrato foliar de plantas de feijão-caupi previamente infectadas, quando as folhas foram maceradas em tampão fosfato 0,02 M, pH 7,2, mais sulfito de sódio 0,1% como antioxidante, usando-se o carborundum (400 mesh) como abrasivo.

### **Observação dos sintomas virais**

As plantas foram avaliadas a partir do oitavo dia da inoculação por meio da expressão ou não dos sintomas de mosaico, fazendo-se a recuperação do vírus daquelas plantas assintomáticas para plantas suscetíveis. A avaliação final foi realizada aos trintas dias da inoculação, classificando-se as plantas como suscetíveis, moderadamente resistentes e resistentes, de acordo com a intensidade dos sintomas (VALE; LIMA, 1994; ROCHA et al., 2003).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

De acordo com os resultados observados verificou-se que 27 cultivares apresentaram-se como suscetíveis: Cavaleiro 8, Juazeiro 7, Encruzilhada 1, Vitória 2, Pingo de Ouro 2,

Cabeçudo, Manteiga, Coruja, Canapu PE, Paulistinha, Epace 10, Miranda IPA 207, BRS Tumucumaque, BRS Guariba, Bico de Ouro, Chico Modesto 2, BRS Novaera, Rouxinol, Esperança, Canapuzinho, Costela de Vaca, BR 10 Piauí, BR 14 Mulato, Pujante, Pingo de Ouro, IT 85F 2687, Santo Inácio e Sempre Verde Luiz Eduardo Magalhaes; e três cultivares apresentaram maior resistência: TVu 966, Costela de vaca e Epace 10. O efeito da infecção com CABMV foi de susceptibilidade para a maioria dos genótipos (Tabela 1). Na cultivar CNC-0434 ocorreu suscetibilidade ao isolado de CMV corroborando com os resultados obtidos por Vale e Lima (1994).

Também foi possível observar 21 cultivares resistentes ao CABMV: Portalegre 2, Tucuruí 1, Macaíbo, Manteiguinha Santarém, BSF 1, BRS Cauamé, Sempre Verde, Rasga Letra, Pitiúba, Maravilha, BRS Xiquexique, Sempre Verde Verdadeiro, Bastião, Sempre Verde Salgueiro, Bastiãozinho, Bajão, Patativa, Portalegre RN 1, Safrinha 1, CNC 0434 e TVu 966. Muitas linhagens de feijão-caupi resistentes ao CABMV já foram identificadas (BARRETO; SANTOS, 1999; ROCHA et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2012; BARROS et al., 2013). Segundo Leão (2014) as inoculações mistas envolvendo o CMV+CABMV permitiram identificar seis genótipos resistentes: Patativa, TE97-309G-22, TE97-309G-9, TVu 382, Tvu 966 e IT85F-2687. Na linhagem TVu 382, referida na literatura como imune ao CABMV (LIMA et al., 1986), ocorreu o mesmo comportamento quando submetidas à inoculação com a combinação CMV+CABMV. Rocha et al. (2003) constataram que a linhagem IT85F-2687 foi imune aos dois vírus isoladamente, entretanto, quando submetida à inoculação com a combinação dos dois isolados, foi suscetível, indicando que houve sinergismo entre os vírus. Os sintomas constatados na cultivar CNC- 0434 foram semelhantes aos verificados por Vale e Lima (1994). Segundo Leão (2014) genótipos avaliados com a presença do CABMV associado ao

CMV e também ao CMV+CPSMV-I, o efeito foi antagônico em relação aos outros

vírus; em decorrência desse fato, não houve sintomas quando infectados com as citadas combinações virais. Porém, avaliando-se o comportamento de dezoito genótipos diante das inoculações com os diferentes grupos de isolados virais, constatou-se coerência de comportamento, principalmente nas inoculações mistas, ocorrendo sintomas leves nos mais resistentes, e nos mais suscetíveis, um agravamento dos sintomas das infecções.

### CONCLUSÕES

A infecção viral pelo CABMV causa estresse às plantas de feijão-caupi, comprometendo seu crescimento e desenvolvimento. Foi possível selecionar cultivares resistentes e suscetíveis ao CABMV dentre aqueles selecionados. Os genótipos selecionados por demonstrar maior ou menor sensibilidade ao estresse biótico causado pelo CABMV foram a base para os estudos de proteômica.

### AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), pela concessão de bolsas e pelo apoio financeiro.

### REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, G. K.; YONEKURA, M.; IWAHASHI, Y.; IWAHASHI, H.; RAKWAL, R. System, trends and perspectives of proteomics in dicot plants. Part I. Technologies in proteome establishment. **Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, Amsterdam, v. 815, p. 109–123, 2005.
- BARRETO, P. D.; SANTOS, A. A. **Avaliação de Genótipos de Feijão-de-Corda sob infecção simultânea por “*Cowpea aphid-borne mosaic virus*” e “*Cucumber mosaic virus*”**. Fortaleza. Embrapa-CNPAT, 1999. Embrapa - CNPAT (Boletim de Pesquisa).
- BARROS, G.B.; NOGUEIRA, M. S. R.; OLIVEIRA, C. R. R.; FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; VEIGA, C. F. M.; BRIOSO, P. S. T.; EIRAS, M. Obtenção de plantas de feijão-caupi resistentes ao *Cowpea severe mosaic virus* e ao *Cowpea aphid-borne mosaic virus*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 39, n. 2, p.130- 136, 2013.

BASHIR, M.; AHMAD, Z.; GHAFUOH, A. Cowpea aphid-borne potyvirus: a review. **International Journal of Pest Management**, London, v. 48, p. 155-168, 2002.

BESERRA JUNIOR, J. E. A.; ANDRADE, E. C.; CAMARÇO, R. F. R. A.; NASCIMENTO, A. K. Q.; LIMA, J. A. A. Sequence variability in the coat protein gene of Cowpea severe mosaic vírus isolates from north eastern Brazil. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 36, p.

FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. **Melhoramento de plantas para condições de estresse abióticos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011. 248p.

HULL, R. **Matthews Plant Virology**. 4. ed. San Diego: Academic Press, 2002. 1001p.

HULL, R. **Comparative Plant Virology**. Elsevier, ICTV. 2. ed., 2009. 400 p.

KOSOVÁ, K.; VÍTÁMVAS, P.; PRÁŠIL, I. T.; RENAUT, J. Plant proteome changes under abiotic stress – Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. **Review Journal of Proteomics**, v. 74, p. 1301-1322, 2011.

KING, A. M. Q.; LEFKOWITZ, E.; ADAMS, J. M.; CARSTENS, E. B. **Virus Taxonomy**, Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, 2012. 1327 p.

LEÃO, U. S. Seleção para caracteres do grão e resistência a vírus em feijão-caupi de **tegumento branco rugoso**. 2014. 78 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2014.

OLIVEIRA, C. R. R.; FREIRE FILHO, F. R.; NOGUEIRA, M. S. R.; BARROS, G. B.; EIRAS, M.; RIBEIRO, V. Q.; LOPES, A. C. de A. Obtenção de plantas de feijão-caupi resistentes ao *Cowpea severe mosaic virus* e ao *Cowpea aphid-borne mosaic virus*. **Bragantia**, v. 71, p.59-66, 2012.

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

SAHNOUN, I.; DEHAIS, P.; VAN MONTAGU, M.; ROSSIGNOL, M.; ROUZE, P.; PPMdb: a plant plasma membrane database, **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 78, p. 235–246, 2000.

SCHENK, M. F.; CORDEWENER, J. H. G.; AMERICA, A. H. P.; PETERS, J.; SMULDERS, M. J. M.; GILISSEN, L. J. W. J. Proteomic analysis of the major birch allergen Bet v I predicts allergenicity for 15 birch species. **Journal of Proteomics**, v. 74, p. 1290-1300, 2011.

TAIWO, M. A.; AKINJOGUNLA, J. Cowpea viruses: Quantitative and qualitative effects of single and mixed viral infections. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, p. 1749-1756, 2006.

THIELLEMENT, H.; BAHRMAN, N.; DAMERVAL, C.; PLOMION, C.; ROSSIGNOL, M.; SANTONI, V.; DE VIENNE, D.; ZIVY, M. Proteomics for genetic and physiological studies

in plants. **Electrophoresis**, Weinheim, v. 20, p. 2013–2026, 1999.

TOUZET, P.; DE VIENNE, D.; HUET, J. C.; OUALI, C.; BOUET, F.; ZIVY, M. Amino acid analysis of proteins separated by two proteins: an updated protocol and implications for a dimensional electrophoresis in maize: isoform detection and functional analysis of the genome. *Electrophoresis* 16, function identification. **Electrophoresis**, Weinheim, v. 17, p. 1393–1401, 1996.

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

### TABELA

**Tabela 1.** Cultivares de feijão-caupi selecionadas quanto à susceptibilidade e tolerância ao vírus domosaico do caupi transmitido por afídeos (CABMV).

| Cultivares            | Inoculadas | Resistentes | Sintomas (CABMV)          |              |
|-----------------------|------------|-------------|---------------------------|--------------|
|                       |            |             | Moderadamente resistentes | Susceptíveis |
| Portalegre 2          | 20         | 16          | 3                         | 1            |
| Cavaleiro 8           | 20         | 2           | 0                         | 18           |
| Tucuruí 1             | 20         | 14          | 5                         | 1            |
| Juazeiro 7            | 20         | 5           | 1                         | 14           |
| Encruzilhada 1        | 20         | 8           | 1                         | 11           |
| Macaíbo               | 12         | 9           | 2                         | 1            |
| Manteiguinha Santarém | 10         | 8           | 0                         | 2            |
| Vitória 2             | 20         | 9           | 1                         | 10           |
| BSF1                  | 20         | 20          | 0                         | 0            |
| BRS Cauamé            | 3          | 3           | 0                         | 0            |
| Pingo de Ouro 2       | 21         | 13          | 1                         | 7            |
| Sempre Verde          | 20         | 20          | 0                         | 0            |
| Rasga Letra           | 19         | 14          | 2                         | 3            |
| Cabeçudo              | 18         | 1           | 1                         | 16           |
| Pitiúba               | 21         | 20          | 1                         | 0            |

**Continuação Tabela 1.**

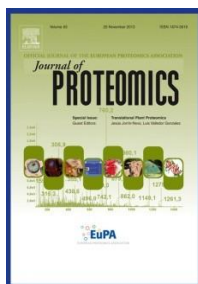
|                         |    |    |   |    |
|-------------------------|----|----|---|----|
| Manteiga                | 14 | 3  | 4 | 7  |
| Coruja                  | 15 | 4  | 4 | 7  |
| Canapu PE               | 18 | 6  | 1 | 11 |
| Paulistinha             | 19 | 1  | 2 | 16 |
| Epace 10                | 19 | 6  | 4 | 9  |
| Maravilha               | 20 | 18 | 1 | 1  |
| Miranda IPA 207         | 20 | 5  | 4 | 13 |
| BRS Xiquexique          | 17 | 16 | 1 | 0  |
| BRS Tumucumaque         | 21 | 1  | 1 | 19 |
| BRS Guariba             | 17 | 3  | 0 | 14 |
| Sempre Verde Verdadeiro | 22 | 18 | 3 | 1  |
| Bastião                 | 20 | 17 | 1 | 2  |
| Sempre Verde Salgueiro  | 18 | 17 | 1 | 0  |
| Bastãozinho             | 20 | 19 | 1 | 0  |
| Bajão                   | 12 | 11 | 1 | 0  |
| Patativa                | 21 | 9  | 8 | 4  |
| Bico de Ouro            | 19 | 4  | 1 | 14 |
| Chico Modesto 2         | 19 | 4  | 1 |    |
| BRS Novaera             | 11 | 0  | 1 | 10 |
| Rouxinol                | 10 | 10 | 0 | 0  |

**Continuação Tabela 1.**

|                                     |    |    |   |    |
|-------------------------------------|----|----|---|----|
| Esperança                           | 20 | 16 | 3 | 1  |
| Portalegre RN 1                     | 19 | 13 | 2 | 4  |
| Canapuzinho                         | 17 | 2  | 4 | 11 |
| Safrinha 1                          | 11 | 10 | 1 | 0  |
| Costela de Vaca                     | 17 | 5  | 3 | 9  |
| BR 10 Piauí                         | 18 | 5  | 3 | 10 |
| BR 14 Mulato                        | 20 | 3  | 1 | 16 |
| Pujante                             | 20 | 4  | 3 | 13 |
| Pingo de Ouro                       | 18 | 3  | 3 | 12 |
| IT 85F 2687                         | 18 | 2  | 3 | 13 |
| Santo Inácio                        | 18 | 3  | 5 | 10 |
| Sempre Verde Luiz Eduardo Magalhães | 20 | 2  | 1 | 17 |
| TVu 966                             | 20 | 15 | 5 | 3  |

## 5 IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS ENVOLVIDAS NA INTERAÇÃO *Vigna unguiculata*. *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV) – por ESI LC-MS/MS

A ser submetido a Revista Journal of Proteomics



### IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS ENVOLVIDAS NA INTERAÇÃO *Vigna unguiculata* .-

*Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV) – por ESI LC-MS/MS

<sup>1</sup>Claudia Juliana Tabosa Lopes de Crasto;<sup>2</sup>Daiane Gonzaga Ribeiro;<sup>3</sup>Antonio Felix da Costa;<sup>4</sup>Marcia Vanusa da Silva;<sup>5</sup>Wagner Fontes;<sup>6</sup>Mariana de Souza Castro;<sup>7</sup>Carlos André Ornelas Ricart;<sup>8</sup>Marcelo Valle de Sousa;<sup>9</sup>Angela Mehta;<sup>10</sup>Maria Tereza dos Santos Correia

<sup>1, 4, 10</sup>Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil

<sup>3</sup> Instituto Agrônômico de Pernambuco, Recife, PE, Brasil

<sup>2, 5, 6, 7, 8</sup> Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil

<sup>9</sup> Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, Brasil

### Resumo

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma leguminosa originária do continente africano com ampla distribuição em regiões tropicais e subtropicais, constituindo um dos principais componentes da dieta alimentar, especialmente na zona rural das regiões Nordeste e Norte do Brasil. Essa cultura tem sido constantemente atacada por vírus, causando grandes perdas na produção. Diante do exposto, o presente trabalho objetivou identificar proteínas diferencialmente abundantes durante a interação *Vigna unguiculata* - *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV). Foram utilizadas neste estudo as variedades Sempre Verde Luís Eduardo Magalhães – suscetível, e TVu 966 – resistente ao vírus CABMV. As plantas foram

borrifadas com carborundo e inoculadas com água (controle) e com CABMV e, posteriormente, coletadas em triplicatas biológicas, 72 horas após a inoculação. Proteínas totais foram extraídas com fenol, precipitadas com acetato de amônio em metanol e, em seguida, digeridas com tripsina. As proteínas digeridas foram injetadas no equipamento ESI- LC-MS/MS (*Thermo Scientific*). A análise de dados foi realizada por meio do software *Progenesis® QI for proteomics (Non linear Dynamics)* e a identificação das proteínas por meio do software *Peaks® (Bioinformatics Solutions)*. Este estudo revelou um total de 250 proteínas diferencialmente abundantes. Com a análise dos resultados foi possível observar diversas proteínas relacionadas com o metabolismo, fotossíntese, homeostase, tradução, entre outras. Foram encontradas proteínas envolvidas na resposta a defesa tais como: PREDICTED: metacaspase-5-like; PREDICTED: MLP-like protein 43; PREDICTED: endoplasmic homolog; PREDICTED: heat shock protein 90-5, chloroplastic isoform X1 entre outras. A obtenção dos dados vai auxiliar os programas de melhoramento genético de feijão-caupi para aumento da produtividade da presente cultura.

**Palavras- chave:** Proteômica; feijão-caupi e resistência a vírus.

#### **Abstract**

The cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) is a legume originating in the African continent with a wide distribution in tropical and subtropical regions, constituting one of the main components of the diet, especially in the rural zone of the Northeast and North regions of Brazil. This culture has been constantly attacked by viruses, causing great losses in production. The present work aimed to identify differentially abundant proteins during the interaction *Vigna unguiculata* (L.) Walp.- Cowpea aphid borne mosaic virus (CABMV). In this study the varieties Sempre Verde Luís Eduardo Magalhães - susceptible, and TVu 966 - resistant to the CABMV virus were used. The plants were sprinkled with carborundum and inoculated with water (control) and with CABMV and later collected in biological triplicates at 72 hours after inoculation. Total proteins were extracted with phenol, precipitated with ammonium acetate in methanol and then digested with trypsin. The digested proteins were injected into the ESI-LC-MS / MS (*Thermo Scientific*) equipment. Data analysis was performed using *Progenesis® QI for proteomics software (Non linear Dynamics)* and identification of proteins using *Peaks® software (Bioinformatics Solutions)*. This study revealed a total of 250 differentially abundant proteins. With the analysis of the results it was possible to observe several proteins related to metabolism, photosynthesis, homeostasis, translation among others. Proteins involved in the defense response were found such as: PREDICTED: metacaspase- 5-like; PREDICTED: MLP-like protein 43; PREDICTED: endoplasmic homolog; PREDICTED: heat shock protein 90-5,

chloroplastic isoform X1 among others. The data collection will help the genetic improvement programs of cowpea to increase the productivity of the present crop.

**Keywords:** Proteomics; Cowpea and virus resistance.

## 1. Introdução

O Brasil destaca-se como um dos maiores produtores mundiais de feijão [13]. O cultivo dessa leguminosa encontra-se distribuído em praticamente todo o território nacional, sendo os gêneros *Phaseolus* e *Vigna* os mais cultivados [34]. O feijão-de-corda ou feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é considerado a principal fonte de proteína vegetal para a população rural da região Nordeste do Brasil. As pragas estão entre os fatores bióticos que mais limitam o rendimento agrônomo da cultura.

O vírus do mosaico do caupi transmitido por afídeos (*Cowpea aphid-borne mosaic virus*- CABMV) é um potyvirus transmitido por diversas espécies de afídeos de maneira não persistente, além de ser transmitido mecanicamente de plantas infectadas para sadias pelo processo de transmissão experimental em casa de vegetação. O cultivo extensivo dessa cultura faz com que as doenças virais sejam cada vez mais importantes, não apenas pelos danos diretos ocasionados nas plantas hospedeiras mas também pela predisposição a invasores secundários [1].

As estratégias básicas de controle das fitoviroses baseiam-se nas seguintes medidas: a obtenção e utilização de material propagativo livre de vírus; eliminação de fontes de vírus; atuação contra vetores; alteração do período e local do plantio; intervenção no ciclo de infecção; proteção cruzada; cultura de meristemas e uso de material resistente, obtido por melhoramento genético e, ou por indução de resistência [2; 8].

Várias são as técnicas para a identificação dessas viroses, entre elas destacam-se os testes biológicos, baseados nas propriedades biológicas dos vírus, sorológicos (detecção de proteínas) e moleculares (detecção do ácido nucléico viral) [33, 8].

Para se compreender melhor a função de todos os genes de um organismo, o estudo sistemático em larga escala das proteínas (proteoma) de um determinado tecido ou organismo, temo objetivo de fornecer informações detalhadas sobre a estrutura e a função dessas proteínas nos diferentes sistemas biológicos, permitindo ainda verificar se existe correlação entre o nível de expressão dos mRNAs e das proteínas, a ocorrência de isoformas gênicas e modificações pós- traducionais [24].

A proteômica *shotgun* é uma abordagem que envolve a digestão de proteínas em

misturas complexas, seguida de análise espectrométrica de massa dos peptídeos para identificação de proteínas [67]. Esta abordagem apresenta maior rendimento em relação às outras tecnologias proteômicas baseadas em MS, como, por exemplo, o sequenciamento de proteínas intactas [68] e análise de proteínas baseadas em gel.

O alto rendimento desta abordagem se dá por alguns fatores, como a digestão proteolítica de proteínas em peptídeos, permitindo um melhor sequenciamento, pois os peptídeos são mais fáceis de serem fragmentados do que as proteínas intactas; e também a realização da análise sem a utilização de gel que, em nível proteico, simplifica o manuseio da amostra. Por outro lado, a análise e interpretação dos dados são mais difíceis, pois é necessário o processamento de grandes volumes de dados MS/MS [69;70].

Este trabalho objetivou identificar proteínas diferencialmente abundantes durante a interação entre o CABMV e o feijão-caupi.

## **2. Material e métodos**

### **2.1. Material vegetal, inoculação do patógeno, indução do estresse e coleta das folhas**

Foram utilizadas sementes de feijão-caupi das variedades Sempre Verde Luiz Eduardo Magalhães e TVu 966, susceptível e resistente a CABMV, respectivamente, as quais foram fornecidas pelo Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA). O experimento foi composto de dois grupos de plantas: o grupo controle e o grupo infectado com CABMV.

Para o grupo infectado com vírus, utilizou-se o vírus do mosaico do feijão-caupi transmitido por afídeos fornecido pela Embrapa Meio Norte (Teresina – PI). O inóculo foi preparado a partir de extrato foliar de plantas de feijão-caupi previamente infectadas, cujas folhas foram maceradas em tampão fosfato 0,01 M, pH 7,0, (contendo sulfito de sódio 0,1%). Posteriormente, carborundum(400 mesh) foi pulverizado nas folhas como abrasivo. O grupo controle foi inoculado usando o mesmo tampão fosfato, contendo sulfito de sódio mais carborundum, sem a presença do vírus.

As folhas primárias das plantas dos dois grupos foram, então, coletadas 72 horas após a inoculação e, em seguida, armazenadas em freezer a -80 °C para posterior extração de proteínas totais e análise do proteoma.

### **2.2. Extração de proteínas totais**

Proteínas totais foram extraídas de aproximadamente 2 mg de tecido vegetal macerado em nitrogênio líquido. Três experimentos biológicos foram realizados. Proteínas foram

extraídas de acordo com Mot & Vanderleyden (1989) [23] pela adição de 750 µL de tampão de extração (0,7 M sacarose, 0,5 M Tris-HCl, 30 mM HCl, 50 mM EDTA, 0,1 M KCl, e 40 mM DTT) ao material vegetal macerado e o mesmo volume de fenol. As amostras foram agitadas por 15 min. e centrifugadas por 3 min a 12 000 rpm. A fase superior foi transferida para um novo tubo e duas novas extrações foram feitas com o tampão de extração. As proteínas foram precipitadas em 0,1 M de acetato de amônio (em metanol), lavadas com acetona 80%. O pellet foi seco a 37 °C por 5-10 min e as proteínas foram suspendidas em 50 mM de bicarbonato de amônio. Proteínas insolúveis foram descartadas. Proteínas totais solúveis das variedades Sempre Verde Luiz Eduardo Magalhães e TVu 966 infectadas com o vírus e seus respectivos controles negativos foram quantificadas utilizando Qubit® Fluorometer (Invitrogen).

### **2.3. Preparo das amostras para análise LC-MS/MS**

As proteínas extraídas foram solubilizadas com 60 µL de bicarbonato de amônio a 50 mM ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  pH 8,5), e posteriormente foram acrescentados 25 µ L de Rapigest (0,2% v/v). As amostras foram aquecidas a 80°C por 15 minutos sob agitação, em seguida foram acrescentados 2,5 µ L de DTT 100 mM e as amostras foram novamente aquecidas a 60°C por 30 min. Após esse período, as amostras permaneceram á temperatura ambiente até esfriar. Foram adicionados 2,5 µL de iodoacetamida 300 mM, e armazenadas à temperatura ambiente por 30 min sob abrigo da luz. Para a digestão das proteínas, foram acrescentados 40 µL de solução contendo 200 ng de tripsina (20 µg solubilizada em 400 µ L de bicarbonato de amônio 50 mM) em cada amostra, as quais foram homogeneizadas e incubadas na estufa a 37°C por 19 horas. Após esse período foram adicionados 10 µL de ácido trifluoroacético 5% (TFA), seguida de incubação a 37°C por 90 minutos. Em seguida, as amostras foram centrifugadas e o sobrenadante transferido para novo tubo para concentração em uma centrífuga a vácuo por um período de 1 hora e 30 minutos. O precipitado foi solubilizado em 50 µL de água mili-Q, quantificado no Qiubit e concentrado novamente por mais 40 minutos. Posteriormente as amostras foram solubilizadas com ácido fórmico a 0,1% e injetadas no equipamento.

### **2.4. Espectrometria de Massa LC-MS/MS**

As amostras foram aplicadas no cromatógrafo líquido Dionex para nanocromatografia sob pressão constante de 250 bars. Depois do carregamento e da lavagem, alíquotas de 3 µg de misturas de peptídeos foram injetadas em uma coluna de aprisionamento (*trap-column*) com 2cm x 100µm, contendo partículas de C18 5µm para concentração. As amostras foram eluídas dessa coluna para uma coluna analítica (32 cm x 75 µm, C18 5 µm) e desta para a fonte de

ionização do espectrômetro. O gradiente de eluição foi composto por ácido fórmico 0.1% em água (solvente A) e ácido fórmico 0.1% em acetonitrila (solvente B), em um gradiente de 2 a 35% de solvente B durante 180 minutos. As frações eluídas diretamente na fonte de ionização do espectrômetro de massa do tipo Orbitrap Elite foram analisadas em modo DDA (aquisição dependente de dados), gerando espectros MS1 no analisador Orbitrap (com resolução de 120.000 FWHM a 400m/z) entre as massas 350-1650 m/z e exclusão dinâmica de 10ppm. Para cada espectro MS1, foram escolhidos automaticamente os 20 íons mais intensos com cargas acima de 2 e direcionados à fragmentação por CID (*collision induced dissociation*) com o ganho automático controle (AGC) de  $1 \times 10^6$  e tempo de preenchimento máximo (maximum TI) de 120 ms. A configuração para CID foi: janela de isolamento de 2.0 m/z em 20s, com AGC de  $5 \times 10^4$ , máximo TI de 100 ms, com energia de colisão normalizada em 35% e limiar para a seleção de 3000.

## 2.5. Análise dos dados

Para análise dos dados foi utilizado o software *Progenesis® QI for proteomics (Non linear Dynamics)*. Os espectros MS/MS contidos nos arquivos foram confrontados com os respectivos bancos de dados do software *Peaks®* (Bioinformatics Solutions). Todos os bancos de dados serão obtidos do UniprotKB/Swiss-Prot e UniprotKB/TrEMBL (<http://www.uniprot.org>). Os parâmetros de busca para o programa PEAKS7 foram tolerâncias de massa do precursor e de massa do fragmento iguais a 10 ppm e 0,8 Da, respectivamente, até duas clivagens perdidas. Os filtros utilizados para a busca foram 3: FDR (PSM)=1%;  $-10\text{lgP (peptídeo)} \geq 23,2$ ;  $10\text{lgP (proteína)} \geq 20$ ; *de novo* TLC  $\geq 3$ ; *de novo* ALC  $\geq 50\%$ , apenas peptídeos *rank* 1.

Cada proteína identificada foi categorizada de acordo com o processo biológico com o qual está envolvida usando dados do UniProt (<http://www.ebi.uniprot.org>). Quando as informações não estavam disponíveis, as proteínas foram classificadas com base em pesquisas bibliográficas.

## 3. Resultados

Plantas da variedade TVu 966 inoculadas com CABMV mostraram sintomas leves do mosaico, enquanto que plantas da variedade Sempre Verde Luiz Eduardo Magalhães (LEM) apresentaram clorose, faixa verde de nervura, bolhosidade e encrespamento (Figura 1).

**Figura 1:** Plantas da variedade LEM com clorose, um dos sintomas do CABMV



### **3.1. Identificação e classificação biológica de proteínas diferencialmente abundantes de plantas de feijão-caupi desafiadas pelo CABMV**

O entendimento das mudanças na expressão de proteínas durante a infecção viral fornece importantes informações sobre os processos envolvidos nessa interação. Assim, foram analisados os perfis proteicos do feijão-caupi nas variedades Sempre Verde Luiz Eduardo Magalhães (LEM) e TVu 966, durante a interação compatível com CABMV.

No estudo, as alterações nos perfis proteicos das folhas das variedades de feijão-caupi LEM e TVu 966, submetidas à inoculação com CABMV, foram investigados nos tempos controle e após 72 horas de inoculação. Após análise por LC-ESI-MS / MS, utilizando o software *Peaks*® (Bioinformatics Solutions) para identificação dos peptídeos de ambas as variedades, foram identificadas 125 proteínas totais diferencialmente abundantes em ambas as variedades (dados não mostrados).

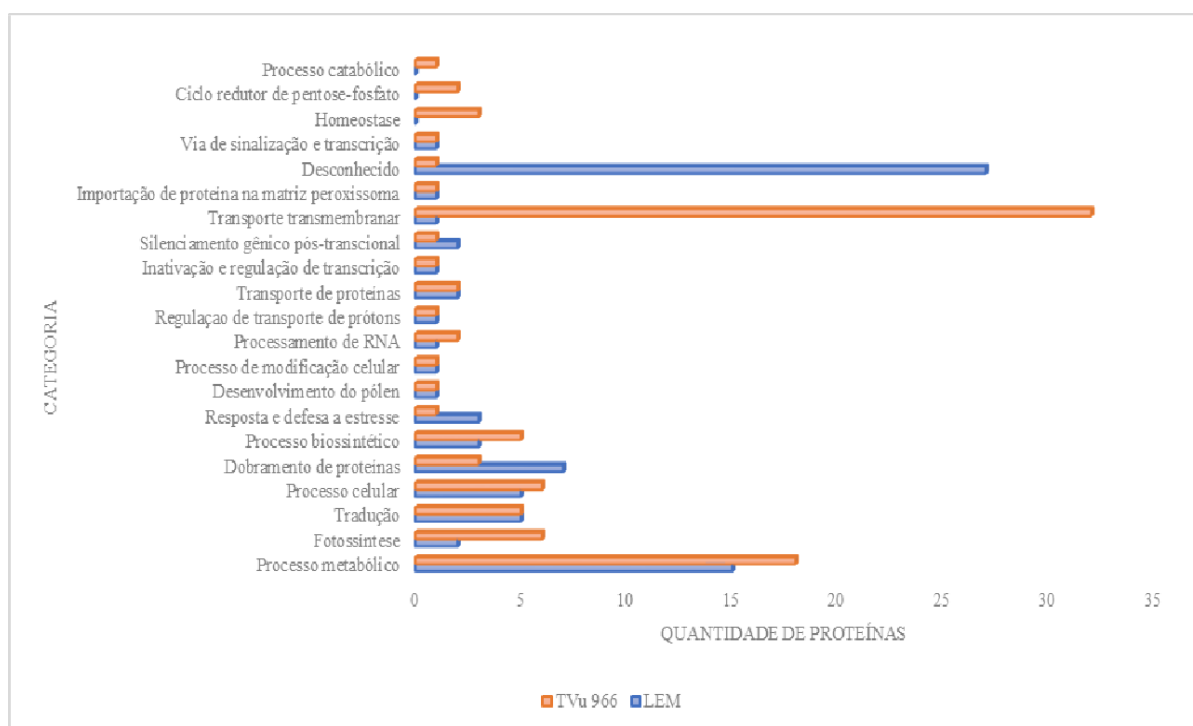
Foram identificadas um total de 250 proteínas diferencialmente abundantes nas variedades susceptível e resistente, onde 125 proteínas totais diferencialmente abundantes na variedade susceptível, enquanto 46 estavam aumentadas e 79 estavam diminuídas às 72 horas. Entretanto também foram identificadas 125 proteínas totais diferencialmente abundantes na variedade TVu 966, enquanto 31 estavam aumentadas e 94 diminuídas às 72 horas.

Além da análise quantitativa, uma análise qualitativa também foi realizada e as proteínas foram classificadas de acordo com o processo metabólico que desempenham no organismo vegetal.

Baseado na anotação do Gene Ontology (GO) as funções biológicas de ambas as variedades estudadas foram classificadas em 21 categorias: processo metabólico, fotossíntese,

tradução, processo celular, processo catabólico, dobramento de proteínas, processo biossintético, resposta e defesa a estresse, homeostase, desenvolvimento de pólen, processo de modificação celular, processamento de RNA, regulação de transporte de prótons, transporte de proteínas, inativação e regulação de transcrição, importação de proteína na matriz peroxissoma, silenciamento gênico pós-transcricional, transporte transmembrana, importação de proteína na matriz peroxissomal, ciclo redutor de pentose-fosfato, desconhecido (Figura 2).

**Figura 2.** Classificação funcional das proteínas diferencialmente abundantes em folhas de feijão-caupi nas variedades LEM e TVu 966 no tempo de 72 horas.



#### 4. Discussão

##### 4.1. Identificação e classificação biológica de proteínas diferencialmente abundantes de plantas de feijão-caupi desafiadas pelo CABMV

A análise proteômica comparativa de plantas das variedades LEM e TVu 966 nos tempos controle e 72 horas após a inoculação com CABMV mostrou 125 proteínas diferencialmente abundantes (Tabela 1 e 2).

A maioria das proteínas identificadas em LEM e / ou TVu 966 correspondem a *Vigna unguiculata*. No entanto, todas as proteínas diferencialmente abundantes nas variedades LEM e TVu 966 estão envolvidas em vários processos bioquímicos e/ou fisiológicos, que denotam a complexidade da reprogramação genética que feijão-caupi suscetíveis e resistentes homólogos podem ativar/reprimir quando desafiado pelo CABMV.

## **4.2. Classificação biológica das proteínas de feijão-caupi diferencialmente abundantes**

### **4.2.1. Proteínas envolvidas no metabolismo**

Em plantas, as infecções patogênicas causam alterações comuns e as perturbações metabólicas são muito importantes. A defesa vegetal contra patógenos também envolve síntese de compostos e uso de grande quantidade de energia, de forma que reações catabólicas e/ou anabólicas são comumente utilizadas para produzir mais energia para essas reações bioquímicas [60]. A diminuição da síntese de proteínas envolvidas na geração de energia em *V. unguiculata*, como consequência da infecção com CABMV, pode ser vantajosa para o vírus, pois enfraquece o metabolismo do hospedeiro, de forma que este pode investir menos em compostos de defesa para bloquear a ação do patógeno.

As proteínas de metabolismo relacionado ao processo glicolítico predominaram na variedade LEM em relação à TVu 966 (Tabela 3), sugerindo a importância da energia (ATP e NADPH) para desencadear respostas de defesa contra a infecção ao vírus. Em plantas, a ativação de respostas de defesa tem um alto custo na mobilização de mudanças metabólicas para superar ou suprimir o ataque do patógeno [9]. Neste trabalho, as mudanças na modulação de proteínas relacionadas à glicólise e às vias metabólicas da gliconeogênese foram observadas. Ambas são caminhos do metabolismo de carboidratos que ocorrem sob regulação coordenada fina. Interessante, as proteínas fosfoglicerato quinase e frutose bifosfato aldolase, que estão envolvidas na glicólise e Gluconeogênese, estavam representadas em ambas as variedades (tabela 3).

A variedade LEM mostrou maior abundância da proteína serina hidroximetiltransferases (Tabela 1), em comparação com a variedade TVu 966, sendo esta uma enzima que catalisa a conversão de glicina em serina na fotorrespiração [36]. Recentemente, um grupo de pesquisadores mostrou aumento do nível de serina hidroximetiltransferase em uma interação incompatível entre uma planta de caju resistente (clone BR 226) e o fungo *Lasiodiplodia theobromae*, sugerindo um papel desta proteína na defesa da planta [37].

Além das proteínas envolvidas com a síntese proteica, merecem destaque, também, as proteínas envolvidas na sua degradação. Sistemas de ubiquitina-proteassoma (UPS) têm emergido como uma eficiente maquinaria de defesa contra vírus invasores [41;42]. O proteassoma 26S, que compõe o UPS, está engajado na defesa contra vírus em quase todas as etapas do mecanismo de defesa [41;42]. Em plantas de tomate suscetíveis, por exemplo, a superexpressão do gene que codifica a subunidade 26S levou tanto à indução da PCD como à ativação de PR-proteínas e à alteração na atividade de enzimas antioxidantes [45].

A repressão de proteínas relacionadas com a ubiquitinação e com subunidades do proteossoma também favorece o estabelecimento da doença em feijão-caupi. É relatado na literatura que os vírus podem influenciar na perda de proteínas do hospedeiro, na intenção de reduzir sua defesa, reduzir a morte celular e, assim, promover a replicação viral [41;40].

Especialmente no estudo das interações entre vírus e plantas, a categoria de proteínas envolvidas no metabolismo de RNA do hospedeiro merece especial atenção, pois podem acionar mecanismo específico de defesa contra os vírus.

Esse mecanismo é o princípio da técnica do RNA de interferência, que, atualmente, tem sido intensamente utilizada para promover proteção de diversas plantas contra diversos patógenos, principalmente vírus [54; 55]. Dessa forma, esses resultados indicam que a diminuição da síntese de proteínas, que deve auxiliar a planta na defesa contra o vírus e inibir o mecanismo de silenciamento gênico, pode ser um dos principais fatores para a forte susceptibilidade da variedade Sempre Verde Luiz Eduardo Magalhães (LEM).

Foi encontrada a methyltransferase, uma proteína de metabolismo de lipídeos que possui um papel fundamental como reserva energética em reações catabólicas e na estabilização da membrana plasmática em reações anabólicas. Existem evidências de que os vírus não só exploram a sinalização lipídica e induzem modificações nas membranas para beneficiar a própria movimentação entre as células, como, também, reprogramam a síntese, degradação e compartimentalização durante a replicação e outros eventos importantes do ciclo de vida viral [48].

Por fim, proteínas relacionadas com o metabolismo de carboidratos foram aumentadas na variedade TVu 966 em comparação com LEM. Infecções virais comumente afetam a assimilação de carbono e o metabolismo de carboidratos em seus hospedeiros [53; 54; 55; 49]. Foi mostrado que o acúmulo de açúcares solúveis em plantas infectadas com TMV e PLRV (vírus do enrolamento foliar da batata), ou em plantas transgênicas que expressam proteínas virais, ocorreu como efeito indireto das proteínas MP do vírus [50; 56; 61]. O acúmulo de açúcares também pode estar envolvido na regulação gênica, levando à repressão de genes envolvidos na fotossíntese, como foi observado em tabaco infectado com o PLRV [51].

#### **4.2.2. Proteínas envolvidas na resposta de defesa a estresse**

Dentre as proteínas diferencialmente acumuladas relacionadas ao estresse biótico, diversas proteínas de defesa aumentaram em abundância na variedade LEM em comparação com TVu 966, a exemplo das chaperonas (Tabela 1).

O aumento da síntese de diversas chaperonas é induzido durante a infecção viral, porque

facilita a patogênese ou porque participa dos mecanismos de resposta intracelular causados pela infecção [30, 22]. Os vírus necessitam de chaperonas para auxiliar no correto enovelamento de suas próprias proteínas, tendo em vista que muitas delas podem ser mal formadas e gerar agregados, como consequência de diversas mutações produzidas durante a replicação [16].

As proteínas de choque térmico são uma das principais classes de moléculas chaperonas e possuem muitos papéis nas células eucarióticas, em resposta a estresses abióticos e também em resposta ao ataque de patógenos. A HSP70 e as HSP90 são componentes essenciais do mecanismo de defesa da resposta hipersensitiva [18] e as HSP70 são induzidas em infecções virais, tanto em plantas como em animais [6, 35]. Diversas plantas hospedeiras, como ervilha (*Pisum sativum*), *N. benthamiana*, abóbora (*Cucurbita pepo*), tabaco (*Nicotiana tabacum*) e *Arabidopsis* induziram a síntese de HSP70, após infecção viral [5, 11, 15, 16, 35, 4].

Embora o papel exato das HSP70 na resposta aos vírus não seja bem definido, ainda, é especulado que essas proteínas sejam requeridas durante a rápida maturação de proteínas virais e durante o *turnover* no curto ciclo de replicação. Além disso, existem evidências de que elas podem ter, também, papel no movimento célula-a-célula dos vírus. Prokhnevsky et al. [40] mostraram que essas proteínas auxiliam no movimento de vírus membros da família *Closteroviridae* através dos plasmodesmos e Aoki et al. [3] também mostraram que essas proteínas estão relacionadas com o tráfico intercelular, sendo requeridas por outros vírus.

Dentro do grupo das proteínas envolvidas com a defesa, importantes proteínas diretamente relacionadas com resposta ativa a patógenos foram encontradas: proteína de choque térmico 90-5; endoplasmina homóloga, proteína tipo MLP 43, metacaspase, proteína associada a membrana de 30 KDa, dentre outras.

Outra proteína encontrada foi a metacaspase que teve sua abundância reduzida em ambas as variedades, o que, obviamente, confere vantagem à sobrevivência do vírus, tendo em vista que assim se evita a ativação da morte celular programada. Durante as repostas de defesa das plantas, a ativação da PCD e a indução da HR restringe a propagação do patógeno e ativa proteínas de defesa [42; 57].

#### **4.2.3. Proteínas envolvidas na homeostase redox celular**

Dentro do grupo das proteínas envolvidas com a homeostase redox, a comparação de dados de plantas infectadas com o CABMV com plantas controles, a variedade TVu 966 mostrou aproximadamente cinco proteínas diferencialmente abundantes aumentadas. As proteínas são as seguintes: Transketolase; Fructose-bisphosphate aldolase; ATP synthase

subunit beta; Ferredoxin- thioredoxin reductase; Phosphoglycerate kinase, enquanto a variedade LEM: Serine hydroxymethyltransferase, entre outras.

A inibição das proteínas antioxidantes não é tão positiva para o vírus, tendo em vista que elas são responsáveis por remover as ROS que, por sua vez, podem desencadear a resposta hipersensitiva e morte celular programada, restringindo a propagação do vírus.

Mesmo com a inibição no acúmulo de proteínas induzidas pelo CABMV, foi possível observar acúmulo de várias proteínas importantes para a defesa vegetal. Muitas vezes, um organismo é considerado suscetível não porque não consiga responder ativamente a um estresse, mas sim porque não responde no tempo adequado.

Existem muitos exemplos de organismos suscetíveis a diversas doenças que chegam a responder ao estresse com uma maior intensidade do que organismos resistentes, entretanto em um tempo tardio, de forma que não conseguem evitar o estabelecimento da doença.

Algumas proteínas que tiveram redução na síntese por indução do CABMV também estão diretamente relacionadas com uma estratégia positiva para a defesa do hospedeiro, prejudicando o vírus. Como não se sabe, exatamente, como a indução dessa inibição ocorre, pode ser que a síntese dessas proteínas seja reduzida inicialmente porque a regulação da repressão de seus genes correspondentes não seja tão específica, de forma que pode haver alteração na abundância de diversas classes de proteínas, mesmo daquelas que possam prejudicar o desenvolvimento dos vírus, ou simplesmente tenham sua síntese diminuída como estratégia vegetal para defesa.

Todos esses resultados discutidos mostram a complexidade da interação compatível vírus- hospedeiro. Às vezes, a interpretação desses sistemas de defesa se torna muito difícil pois, como discutido também por [14], é tentador visualizar as mudanças identificadas no hospedeiro como eventos bioquímicos direcionados que garantem vantagens aos vírus ou aos hospedeiros. Entretanto, na realidade, o que acontece é um balanço mútuo entre a ativação das respostas de defesa do hospedeiro e a pressão seletiva do vírus para explorar o hospedeiro.

#### **4.2.4. Proteínas envolvidas na fotossíntese e fotorrespiração**

Muitos estudos têm revelado que as plantas infectadas com vírus são, geralmente, caracterizadas pela diminuição na taxa fotossintética, sugerindo que a fotossíntese seja uma das atividades mais reprimidas durante a resposta de defesa do hospedeiro [26, 28, 24].

Não é inesperado que a infecção viral induza mudanças na fotossíntese, pois os sintomas comumente descritos desencadeados pelos vírus estão diretamente relacionados com

aberrações nos cloroplastos, como presença de “mosaicos”, “ilhas verdes”, “folhas amareladas” ou clorose [58]. Existem evidências de que alguns vírus podem interagir diretamente com os cloroplastos e até mesmo entrar nessas organelas [43;59]. Essas observações sugerem associação próxima entre alguns vírus e os cloroplastos, entretanto, pouco se sabe sobre a significância biológica dessa associação. Uma hipótese é que alguns RNAs virais podem ser sintetizados dentro dessas organelas, usando a maquinaria ribossomal dos cloroplastos, causando dramáticos efeitos na síntese de proteínas normais nessas unidades [52].

Neste trabalho, as proteínas identificadas relacionadas à fotossíntese foram relacionadas com o aumento na abundância no tempo controle em relação ao tempo de 72 horas após a inoculação em plantas das variedades LEM e TVu 966 (Tabela 3).

Reações fotossintéticas no fotossistema II geram espécies reativas de oxigênio (ROS) em cloroplastos. Estudos proteômicos mostraram que as proteínas relacionadas à fotossíntese diminuem em abundância em plantas infectadas por vírus [10, 19]. Por isso, é consistente que patógenos biotróficos, como vírus, que exigem células hospedeiras para estar vivo, tentem diminuir a fotossíntese e o processo relacionado [9, 19] para evitar PCD. Tem sido relatado que vírus podem reduzir a capacidade fotossintética durante uma interação compatível, causando acumulação de CP no interior dos cloroplastos, o que afeta o complexo central PSII, inibindo sua função ou interferindo no metabolismo da clorofila [27, 20].

Tem sido aceito que o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e espécies reativas ao oxigênio (ROS) agem como moléculas sinalizadoras importantes na resposta ao estresse biótico e abiótico, pois servem como mensageiros para a ativação de genes de defesa [61].

Foi encontrada uma proteína exclusiva PREDICTED: protein curvature thylakoid 1B, chloroplast exclusiva no tempo controle da variedade Sempre Verde Luiz Eduardo Magalhães (LEM). Segundo Heinz et al [62] a fotossíntese ocorre em tilacoides, um sistema de membrana altamente especializado, estando dispostos paralelamente à membrana plasmática e ocasionalmente convergem para formar centros de biogênese, a deficiência de curvature thylakoid 1 (CurT) aumenta a sensibilidade ao estresse osmótico, adicionando um nível de para a função CurT. Esses autores propuseram que CurT é crucial para a diferenciação, incluindo a formação de centros de biogênese relacionados ao PSII, em *Synechocystis* 6803.

Duas das proteínas que interagem com CURT1A (RTNLB4 e RTNLB8) pertencem a um grupo de proteínas (reticulons) principalmente em mamíferos e leveduras, onde estão implicados num número de processos, incluindo a transporte. Reticulons em plantas (RTNLBs) são menos conhecidos, mas *Arabidopsis* tem 21 genes AtRTNLB identificados e a homologia

das proteínas infere em papéis semelhantes em plantas e em animais [63;64]. AtRTNLB4 tem sido encontrada no retículo endoplasmático (ER), adjacente aos cloroplastos onde ER formou uma rede como estrutura em torno do cloroplasto, e os resultados sugerem que estejam envolvidos no tráfico de ER- cloroplasto [63;64].

Recentemente foi relatado que proteínas potencializadoras de oxigênio podem ter ação direta contra vírus por inibição da replicação viral. Por exemplo, Balasubramaniam et al [7] mostraram que proteínas estimuladoras de oxigênio FSII interagem com a proteína de revestimento (CP) de AMV (*Vírus do Mosaico da Alfafa*), inibindo a replicação, o que denota um papel direto na defesa antiviral.

Além disso, na variedade TVu 966 foram observadas as proteínas Photosystem I P700 chlorophyll a apoprotein A2 e Photosystem II CP43 reaction center protein que estão relacionadas com a integridade de cloroplastos e FSII.

Quatro proteínas relacionadas com o ciclo de Calvin-Benson foram aumentadas na variedade LEM: Ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase; Ribulose-phosphate 3-epimerase; Ribulose biphosphate carboxylase small chain; Rubisco large subunit-binding protein subunit beta (Tabela 1).

## 5. Conclusão

As análises comparativas possibilitaram um maior entendimento sobre possíveis mecanismos envolvidos na defesa/resistência e suscetibilidade a esse potyvirus (CABMV).

A obtenção dos dados mostrou pela primeira vez os perfis protéicos susceptível (LEM) e resistente (TVu 966) infectados com o CABMV, o que representa o caráter inédito do presente trabalho auxiliando dentro dos programas de melhoramento genético de feijão-caupi e que vem a contribuir cada vez mais para o aumento da produtividade da presente cultura.

Algumas proteínas são importantes pois estão envolvidas na resistência tais como: PREDICTED: 20 kDa chaperonin, chloroplastic-like; PREDICTED: chaperone protein ClpC, chloroplastic-like; PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase; PREDICTED: 60S ribosomal protein L36-3-like entre outras.

Esse trabalho mostrou que a complexidade das respostas que ocorrem na interação compatível entre feijão-caupi com o vírus CABMV enfatiza o balanço que ocorre entre a tentativa de defesa do hospedeiro e a tentativa de invasão e propagação do patógeno. O feijão-caupi foi capaz de responder ativamente ao vírus, por meio do acúmulo de diversas proteínas envolvidas na defesa, mas, ainda assim, insuficiente para evitar o estabelecimento da doença viral, em decorrência do patógeno conseguir se sobrepor à defesa da planta.

## 6. Agradecimentos

Ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), pela concessão de bolsas e pelo apoio financeiro.

## 7. Referências Bibliográficas

- [1] Akinjogunla OJ, Taiwo MA, Kareem KT. Immunological and molecular diagnostic methods for detection of viruses infecting cowpea (*Vigna unguiculata*). African Journal of Biotechnology 2008;7:2099-2103.
- [2] Andrade GP, Pio-Ribeiro G. Estratégias e métodos aplicados ao controle de fitovírus. In: Michereff, S. J.; Barros, R. Proteção de plantas na agricultura sustentável Recife-PE: UFRPE, Imprensa Universitária. 171-181. 2001.
- [3] Aoki K, Kragler F, Xoconostle-Cázares B, Lucas WJ. A subclass of plant heat shock cognate 70 chaperones carries a motif that facilitates trafficking through plasmodesmata. Proc Natl Acad Sci USA 2002;9:16342-16347.
- [4] Aparicio F, Thomas CL, Lederer C, Niu Y, Wang D, Maule AJ. Virus Induction of Heat Shock Protein 70 Reflects a General Response to Protein Accumulation in the Plant Cytosol. Plant Physiology 2005;138:529–536.
- [5] Aranda MA, Escaler M, Wang D, Maule AJ. Induction of HSP70 and polyubiquitin expression associated with plant virus replication. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1996;93:15289-15293.
- [6] Aranda M, Maule A. Virus-Induced Host Gene Shutoff in Animals and Plants. Virology 1998;243:261-267.
- [7] Balasubramaniam M, Kim BS, Hutchens-Williams HM, Loesch-Fries LS. The photosystem II oxygen-evolving complex protein PsbP interacts with the coat protein of Alfalfa mosaic virus and inhibits virus replication. Mol Plant Microbe Interact 2014;27:1107-1118.

- [8] Blum LEB, Cares JE, Uesugi CH. Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas. Brasília 2000;265p.
- [9] Bolton MD. Primary Metabolism and Plant Defense—Fuel for the Fire. *Mol Plant Mic Inter* 2009;22:487-497.
- [10] Di Carli M, Villani ME, Bianco L, Lombardi R, Perrotta G, Benvenuto E, Donini MJ. Proteomic analysis of the plant-virus interaction in Cucumber Mosaic Virus (CMV) resistant transgenic tomato. *J Proteome Res* 2010;9:5684-5697.
- [11] Escaler M, Aranda MA, Thomas CL, Maule AJ. Pea embryonic tissues show common responses to the replication of a wide range of viruses. *Virology* 2000;267:318-325.
- [13] Food And Agriculture Organization Of The United Nations (FAOSTAT). Production: Beans 2012. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QC/E>. Acesso em: 27 mar. 2014.
- [14] Harries PA, Park JW, Sasaki N, Ballard KD, Maule JA, Nelson RS. Differing requirements for actin and myosin by plant viruses for sustained intercellular movement. *Pro Aca Nat Sci* 2009;106: 17594-17599.
- [15] Havelda Z, Maule AJ. Complex Spatial Responses to Cucumber Mosaic Virus Infection in Susceptible *Cucurbita pepo* Cotyledons. *The Plant Cell* 2000;12:1975-1985.
- [16] Henty-Ridilla JL, Shimono M, Li J, Chang JH, Day B, Staiger CJ. The Plant Actin Cytoskeleton Responds to Signals from Microbe-Associated Molecular Patterns. *PLoS Pathog*: 2013;9:1-13.
- [17] Jockusch H, Wiegand C, Mersch B, Rajes D. Mutants of tobacco mosaic virus with temperature-sensitive coat proteins induce heat shock response in tobacco leaves. *Mol Plant–Microb Interact* 2001;14:914-917.
- [18] Kangasjärvi S, Neukermans J, Li S, Aro EM, Noctor G. Photosynthesis,

photorespiration, and light signalling in defence responses. *J Exp Bot* 2012;63:1619-1636.

- [19] Kanzaki H, Saitoh H, Ito A, Fujisawa S, Kamoun S, Katou S, Yoshioka H, Terauchi R. Cytosolic HSP90 and HSP70 are essential components of INF1-mediated hypersensitive response and non-host resistance to *Pseudomonas cichorii* in *Nicotiana benthamiana*. *Mol Plant Pathol* 2003;4:383-391.
- [20] Kundu S, Chakraborty D, Pal A. Proteomic analysis of salicylic acid induced resistance to Mungbean Yellow Mosaic India Virus in *Vigna mungo*. *J Prot.* 2011;74:337-349.
- [21] Liu J, Yang J, Bi H, Zhang, P. Why mosaic? Gene expression profiling of African Cassava Mosaic virus-infected cassava reveals the effect of chlorophyll degradation on symptom development. *J Integr Plant Biol.* 2014;56:122-132.
- [22] Mot RD, Vanderleyden J. Application of two-dimensional protein analysis for strain fingerprinting and mutant analysis of *Azospirillum* species. *Canadian Journal of Microbiology* 1989;35:960-967.
- [23] Neckers L, Tatu U. Molecular chaperones in pathogen virulence: emerging new targets for therapy. *Cell Host Microbe.* 2008;4:519-527.
- [24] Patterson SD, Aebersold RH. Proteomics: the first decade and beyond. *Nature genetics.* New York. 2003;33:311-323.
- [25] Pineda M, Sajnani C, Barón M. Changes induced by the Pepper mild mottle tobamovirus on the chloroplast proteome of *Nicotiana benthamiana*. *Photosynth. Res.* 2010;103:31-45.
- [26] Prokhnevsky AI, Peremyslov VV, Napuli AJ, Dolja VV. Interaction between long-distance transport factor and Hsp70-related movement protein of Beet yellows virus. *J Virol* 2002;76:11003-11011.

- [27] Rahoutei J, García-Lu Ue I, Bar NM. Inhibition of photosynthesis by viral infection: Effect on PSII structure and function. *Physiologia Plantarum* 2000;110:286-292.
- [28] Reinero A, Beachy RN. Reduced photosystem II activity and accumulation of viral coat protein in chloroplasts of leaves infected with Tobacco mosaic virus. *Plant Physiol* 1989;89:111-116.
- [29] Scharte J, Schoen H, Weis E. Photosynthesis and carbohydrate metabolism in tobacco leaves during an incompatible interaction with *Phytophthora nicotianae*. *Plant Cell Environ.* 2005;28:1421-1435.
- [30] Shimura H, Pantaleo V, Ishihara T, Myojo N, Inaba J, Sueda K, Burguán J, Masuta C. A Viral Satellite RNA Induces Yellow Symptoms on Tobacco by Targeting a Gene Involved in Chlorophyll Biosynthesis using the RNA Silencing Machinery. *PLoS Pathog* 2011;7:1-12.
- [31] Sullivan CS, Pipas JM. The virus-chaperone connection. *Virology* 2001;287:1-8.
- [32] Thomas C, Tholl S, Moes D, Dieterle M, Papuga J, Moreau F, Steinmetz A. Actin Bundling in Plants. *Cell Mot Cyt.* 2009;66:940-957.
- [33] Zerbini FM, Maciel-Zambolim E. A família Potyviridae- Parte II. Revisão Anual de Patologia de Plantas (RAPP) 2000;8:225-265.
- [34] Wander AE. Introdução e importância econômica. In: COBUCCI, T.; BIAVA, M. (Ed.). Cultivo do feijão irrigado na Região Noroeste de Minas Gerais. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão; Campinas: Embrapa Informática Agropecuária, 2005. (Embrapa Arroz e Feijão. Sistemas de produção, 5).
- [35] Whitham S, Quan S, Chang HS, Cooper B, Estes B, Zhu T, Wang X, Hou YM. Diverse RNA viruses elicit the expression of common sets of genes in susceptible *Arabidopsis thaliana* plants. *Plant J.* 2003;33:271-283.
- [36] Bauwe H, Kolukisaoglu U. Genetic manipulation of glycine decarboxylation. *J.Exp. Bot.* 2003;54:1523-1535.

- [37] Cipriano AKAL, Gondim DMF, Vasconcelos IM, Martins JAM, Moura AA, Moreno FB, Monteiro-Moreira ACO, Melo JGM, Cardoso JE, Paiva ALS, Oliveira JTA. Proteomic analysis of responsive stem proteins of resistant and susceptible cashew plants after *Lasiodiplodia theobromae* infection. *J. Proteom.* 2015;113:90-109.
- [38] Schreiber U, Bilger W, Neubauer C. Chlorophyll fluorescence as a nonintrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. *Ecophys. Photo.* 1994. in: E. D. Schulze, M.M.Caldwell, editors. Berlin: Springer 1994:49-70.
- [39] Islam S, Carmen RC, Garner-Jr JO. Screening for tolerance of stress temperature during germination of twenty-five cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) cultivars. *J. Food Agric. Env.* 2006;4:191-195.
- [40] Collazo C, Ramos PL, Chacon O, Borroto CJ, Lopez Y, Pujol M, Thomma BPHJ, Hein I, Borrás-Hidalgo O. Phenotypical and molecular characterization of the Tomato mottle Taino virus *Nicotiana megalosiphon* interaction. *Physiol Mol Plant Pathol.* 2006;67:231-236.
- [41] Citovsky V, Zaltsman A, Kozlovsky SV, Gafni Y, Krichevsky A. Proteasomal degradation in plant-pathogen interactions. *Semin Cell Dev Biol.* 2009;20:1048-1054.
- [42] Collinge DB, Slusarenko AJ. Plant gene expression in response to pathogens. *Plant Molec. Biol.* 1987;9:389-410.
- [43] Dielen AS, Badaoui S, Candresse T, German-Retana S. The ubiquitin/26S proteasome system in plant-pathogen interactions: a never-ending hide-and-seek game. *Mol Plant Pathol.* 2010;11:293- 308.
- [44] Dietzgen RG, Zaitiin M. Tobacco mosaic virus coat protein and the large subunit of the host protein ribulose- I, 5-bisphosphate carboxylase share a common antigenic determinant. *Virology.* 1986;155:262-266.
- [45] Adi M, Jens P, Brotman Y, Mikhail K, Iris S, Henryk C, Rena G. Stress Responses to Tomato Yellow Leaf Curl Virus(TYLCV) Infection of Resistant and Susceptible Tomato

Plants are Different. *Metabolomics* 2012;1-13.

[46] Galvez LC, Banerjee J, Pinar H, Mitra A. Engineered Plant virus resistance. *Plant Science*. 2014;228:11-25.

[47] Ramegowda V, Mysore KS, Kumar MS. Virus-induced gene silencing is a versatile tool for unraveling the functional relevance of multiple abiotic-stress-responsive genes in crop plants. *Frontiers in Plant Science*. 2014;5:1-12.

[48] Mazzon M, Mercer J. Lipid interactions during virus entry and infection. *Cellular Microbiology*. 2014;16:1493-1502.

[49] Moghaddam MRB, Ende WVD. Sugars and plant innate immunity. *Journal of Experimental Botany* 2012;63:3989-3989.

[50] Lucas WF, Balachandran S, Park J, Wolf S. Plasmodesmal companion cell-mesophyll communication in the control over carbon metabolism and phloem transport: insights gained from viral movement proteins. *Journal of Experimental Botany* 1996;47:1119-1128.

[51] Herbers K, Tacke E, Hazirezaei M, Krause KP, Melzer M, Rohde W, Sonnewald U. Expression of a luteoviral movement protein in transgenic plants leads to carbohydrate accumulation and reduced photosynthetic capacity in source leaves. *Plant Journal* 1997; 12:1045- 1056.

[52] Hirai A, Wildman SG. Effect of TMV multiplication on RNA and protein synthesis in tobacco chloroplasts. *Virology*. 1969;38:73-82.

[53] Tecsli LI, Maule AJ, Smith AM, Leegood RC. Complex, localized changes in CO<sub>2</sub> assimilation and starch content associated with the susceptible interaction between cucumber mosaic virus and a cucurbit host. *Plant J*. 1994;5:837-847.

[54] Tecsli LI, Maule AJ, Smith AM, Leegood RC. A spatial analysis of physiological changes associated with infection of cotyledons of marrow plants with cucumber mosaic virus. *Plant Physiol*. 1996;111:975-985.

- [55] Shalitin D, Wolf S. Cucumber Mosaic Virus Infection Affects Sugar Transport in Melon Plants. *Plant Physiology* 2000;123:597-604.
- [56] Olesinski AA, Almon E, Navot N, Perl A, Galun E, Lucas WJ, Wolf S. Tissue specific expression of the tobacco mosaic virus movement protein in transgenic potato plants alters plasmodesmal function and carbohydrate partitioning. *Plant Physiology*. 1996;111:541-550.
- [57] Scheler C, Durner J, Astier J. Nitric oxide and reactive oxygen species in plant biotic interactions. *Current Opinion in Plant Biology* 2014;16:534-539.
- [58] Martelli GP, Russo M. Virushost relationships: Symptomatological and ultrastructural aspects. *See Ref.* 1985;64:163-205.
- [59] Rahoutei J, García-Lu UeI, Bar N M. Inhibition of photosynthesis by viral infection: Effect on PSII structure and function. *Physiologia Plantarum* 2000;110:286-292.
- [60] Yang H, Huang Y, Zhi H, Yu D. Proteomics-based analysis of novel genes involved in response toward soybean mosaic virus infection. *Mol Biol Rep* 2011;38:511-521.
- [61] Foyer CH, Noctor G. Managing the cellular redox hub in photosynthetic organisms. *Plant, Cell and Environment* 2012;35:199-201.
- [62] Heinz S, Rast A, Shao L, Gutu A, Gügel IL, Heyno E, Labs M, Rengstl B, Viola S, Nowaczyk MM, Leister D, Nickelsen J. Thylakoid Membrane Architecture in *Synechocystis* Depends on CurT, a Homolog of the Granal CURVATURE THYLAKOID1 Proteins. *Plant Cell Advance Publication* 2016:1-58.
- [63] Nziengui H, Bouhidel K, Pillon D, Der C, Marty F, Schoefs B. Reticulon-like proteins in *Arabidopsis thaliana*: Structural organization and ER localization. *FEBS Letts* 2007;581:3356-62.
- [64] Nziengui H, Schoefs B. Functions of reticulons in plants: what we can learn from animals and yeasts. *Cell Mol Life Sci* 2009;66:584-95.

- [65] Old WM, Meyer-Arendt K, Aveline-Wolf L, Pierce KG, Mendoza A, Sevinsky JR, Ahn NG. Comparison of label-free methods for quantifying human proteins by shotgun proteomics. *Molecular & cellular proteomic* 2005;4:1487-1502.
- [66] Reid GE, MCLuckey SA. 'Top down'protein characterization via tandem mass spectrometry. *Journal of mass spectrometry* 2002;37:663-675.
- [67] Yao X, Freas A, Ramirez J, Demirev PA, Fenselau C. Proteolytic <sup>18</sup>O labeling for comparativeproteomics: model studies with two serotypes of adenovirus. *Analytical chemistry* 2001;73:2836- 2842.
- [68] Zhou H, Ranish JA, Watts JD, Aebersold R. Quantitative proteome analysis by solid-phase isotope tagging and mass spectrometry. *Nature biotechnology* 2002;20:512-515.

**Tabela 1.** Proteínas diferencialmente abundantes identificadas por ESI LC – MS/MS na variedade LEM.

| Acesso                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Proteína identificada (Organismo)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| gi 190437328 gb FG833806.1 FG833806                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | <b>Fotossíntese e fotorrespiração</b><br>PREDICTED: ribulose-phosphate 3-epimerase, chloroplastic [Vigna radiata var. radiata] PREDICTED: photosynthetic NDH subunit of subcomplex B 2, chloroplastic [Vigna radiata var.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| gi 190442938 gb FG839527.1 FG839527                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| gi 182662174 gb FF556519.1 FF556519<br>radiata]<br>PREDICTED: ruBisCO large subunit-binding protein subunit beta, chloroplastic [Vigna radiata var. radiata]<br>gi 190422407 gb FG818489.1 FG818489<br>gi 190442533 gb FG841306.1 FG841306<br>angularis]<br>gi 190467813 gb FG865787.1 FG865787                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Ribulose biphosphate carboxylase large chain [Glycine soja]<br>PREDICTED: ribulose biphosphate carboxylase small chain 1, chloroplastic [Vigna<br><br>PREDICTED: oxygen-evolving enhancer protein 1, chloroplastic [Vigna angularis]<br>PREDICTED: ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase, chloroplastic-like [Vigna<br>angularis]<br>Ribulose 1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (chloroplast) [Vigna                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| gi 190447688 gb FG840593.1 FG840593<br>gi 190556564 gb FG935771.1 FG935771<br>unguiculata]<br>gi 190418564 gb FG813249.1 FG813249                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Photosystem II CP43 chlorophyll apoprotein (chloroplast) [Phaseolus vulgaris]<br>PREDICTED: ruBisCO large subunit-binding protein subunit beta, chloroplastic [Vigna radiata var.<br>radiata]<br>Photosystem I P700 apoprotein A2 (chloroplast) [Vigna unguiculata]                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| gi 190460307 gb FG858351.1 FG858351<br>gi 190458082 gb FG855425.1 FG855425                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| gi 190555357 gb FG940244.1 FG940244<br>gi 190527957 gb FG920307.1 FG920307<br>gi 190476957 gb FG868541.1 FG868541<br>gi 190455702 gb FG853895.1 FG853895; gi 221050576 gb GH621481.1 GH621481<br>gi 182661275 gb FF556677.1 FF556677; gi 190465737 gb FG856671.1 FG856671<br>var. radiata] gi 190426285 gb FG822950.1 FG822950<br>gi 182658412 gb FF554878.1 FF554878<br>gi 190548788 gb FG930548.1 FG930548<br>gi 190485266 gb FG874861.1 FG874861<br>angularis] gi 190420723 gb FG816813.1 FG816813; gi 190471994 gb FG867509.1 FG867509<br>var. radiata] gi 190442647 gb FG842395.1 FG842395 | <b>Estresse e resposta a defesa</b><br>PREDICTED: heat shock 70 kDa protein, mitochondrial-like [Glycine max]<br>Heat shock cognate 70 kDa protein 2-like [Vigna radiata]<br><br>PREDICTED: 33 kDa ribonucleoprotein, chloroplastic [Vigna radiata var. radiata]<br>PREDICTED: metacaspase-5-like [Vigna radiata var. radiata]<br>PREDICTED: 20 kDa chaperonin, chloroplastic-like [Vigna radiata<br>PREDICTED: heat shock cognate protein 80-like [Vigna angularis]<br>PREDICTED: heat shock protein 90-6, mitochondrial [Vigna angularis]<br>Heat shock cognate 70 kDa protein [Glycine soja]<br>PREDICTED: heat shock protein 90-5, chloroplastic isoform X1 [Vigna<br>PREDICTED: 29 kDa ribonucleoprotein A, chloroplastic-like [Vigna radiata<br>PREDICTED: chaperone protein ClpC, chloroplastic-like [Glycine max] |

gi|190425659|gb|FG819503.1|FG819503  
radiata]  
gi|190541012|gb|FG922897.1|FG922897  
gi|190426998|gb|FG822254.1|FG822254  
radiata]  
gi|190439101|gb|FG834028.1|FG834028  
radiata]  
gi|190432634|gb|FG830967.1|FG830967  
gi|190494787|gb|FG880811.1|FG880811  
gi|190429555|gb|FG825083.1|FG825083  
gi|190433792|gb|FG827576.1|FG827576

gi|190454086|gb|FG849874.1|FG849874  
radiata]  
gi|190464733|gb|FG860893.1|FG860893  
gi|190472254|gb|FG872020.1|FG872020  
var. radiata]gi|190524825|gb|FG913942.1|FG913942;gi|190541632|gb|FG923885.1|FG923885  
gi|190454890|gb|FG852823.1|FG852823  
gi|190466335|gb|FG866844.1|FG866844  
gi|190498074|gb|FG888816.1|FG888816

gi|190446318|gb|FG839808.1|FG839808  
gi|190468035|gb|FG863799.1|FG863799

gi|190545792|gb|FG934390.1|FG934390  
gi|190432258|gb|FG829369.1|FG829369  
radiata]  
gi|190432336|gb|FG829408.1|FG829408  
gi|190509086|gb|FG897329.1|FG897329  
gi|190414651|gb|FG812182.1|FG812182  
gi|190497332|gb|FG886709.1|FG886709  
gi|190459743|gb|FG860152.1|FG860152  
gi|190444457|gb|FG839248.1|FG839248  
gi|190487674|gb|FG880149.1|FG880149  
radiata]  
gi|190413191|gb|FG808311.1|FG808311  
angularis]  
gi|190467552|gb|FG864408.1|FG864408

## Energia e metabolismo

PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var.

PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var.

PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var.

PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: probable ATP synthase 24 kDa subunit, mitochondrial [Vigna angularis]

PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var.

PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata

PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: V-type proton ATPase subunit H [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme 1 [Vigna angularis]

PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: alpha-1,4 glucan phosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic-like  
isoform X2

[Vigna angularis]

PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: alpha-1,4 glucan phosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic-like  
isoform X1

[Vigna angularis]

PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var.

PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: homoserine kinase-like [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: V-type proton ATPase subunit B 1 [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: serine hydroxymethyl transferase, mitochondrial [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: phosphoenolpyruvate carboxylase 4-like [Vigna radiata var. radiata]

ATP synthase beta subunit, partial (chloroplast) [Vigna vexillata]

PREDICTED: ferredoxin-dependent glutamate synthase, chloroplastic [Vigna radiata var.

PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: ubiquitin-activating enzyme E1 1-like [Vigna

PREDICTED: delta(24)-sterol reductase [Vigna angularis]

## Homeostase Redox

gi|190488890|gb|FG879845.1|FG879845  
gi|182662098|gb|FF556219.1|FF556219  
gi|190469210|gb|FG861943.1|FG861943

gi|190501611|gb|FG890585.1|FG890585;gi|190417314|gb|FG816054.1|FG816054  
[Vigna angularis]gi|190509563|gb|FG896223.1|FG896223  
angularis]

gi|190433809|gb|FG828308.1|FG828308  
gi|190550383|gb|FG935002.1|FG935002  
gi|221051395|gb|GH622021.1|GH622021  
gi|190481477|gb|FG876167.1|FG876167  
angularis]gi|190501611|gb|FG890585.1|FG890585;gi|190417314|gb|FG816054.1|FG816054  
angularis]gi|190509563|gb|FG896223.1|FG896223  
angularis]  
gi|190433809|gb|FG828308.1|FG828308

gi|190419016|gb|FG816613.1|FG816613  
var. radiata]gi|182660646|gb|FF555516.1|FF555516;gi|190449261|gb|FG844001.1|FG844001  
var. radiata]gi|182659644|gb|FF555326.1|FF555326  
gi|190443050|gb|FG840276.1|FG840276

gi|190453897|gb|FG849533.1|FG849533

gi|190416402|gb|FG808460.1|FG808460  
gi|190525877|gb|FG912784.1|FG912784  
gi|190459824|gb|FG860208.1|FG860208  
gi|182658227|gb|FF552369.1|FF552369  
gi|190421627|gb|FG820720.1|FG820720

PREDICTED: transketolase, chloroplastic [Vigna angularis]  
PREDICTED: dihydrolipoyl dehydrogenase 2, chloroplastic-like [Glycine max]  
PREDICTED: ferritin-3, chloroplastic [Vigna angularis]

### Processo celular

14-3-3-like protein  
14-3-3-like protein [Vigna

14-3-3-like protein [Vigna angularis]  
14-3-3-like protein [Vigna angularis]  
14-3-3-like protein [Vigna angularis]  
14-3-3-like protein [Vigna  
14-3-3-like protein [Vigna  
14-3-3-like protein [Vigna

14-3-3-like protein [Vigna angularis]

### RNA Fator and RNA Processing

PREDICTED: H/ACA ribonucleoprotein complex subunit 4-like [Vigna radiata  
PREDICTED: eukaryotic translation initiation factor 3 subunit F [Vigna radiata  
PREDICTED: eukaryotic translation initiation factor [Vigna angularis]  
PREDICTED: eukaryotic initiation factor 4A-2-like [Vigna angularis]

PREDICTED: trigger factor-like protein TIG, Chloroplastic [Vigna angularis]

### Tradução

PREDICTED: 60S ribosomal protein L32-1 [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L36-3-like [Glycine max]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L10a [Glycine max]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L4 [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L13-1 [Vigna angularis]

**Tabela 2.** Proteínas diferencialmente abundantes identificadas por ESI LC – MS/MS na variedade TVu 966.

| Acesso                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Proteína identificada (Organismo)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>gi 190447688 gb FG840593.1 FG840593<br/>var. radiata]</p> <p>gi 190459743 gb FG860152.1 FG860152</p> <p>gi 190442938 gb FG839527.1 FG839527;gi 190488788 gb FG879795.1 FG879795<br/>angularis]gi 190467813 gb FG865787.1 FG865787<br/>radiata]</p> <p>gi 182658412 gb FF554878.1 FF554878</p> <p>gi 190556564 gb FG935771.1 FG935771</p> <p>gi 190437328 gb FG833806.1 FG833806</p> <p>gi 182658227 gb FF552369.1 FF552369<br/>angularis] gi 190469716 gb FG864633.1 FG864633;gi 190467992 gb FG862222.1 FG862222<br/>[Vigna radiata var. radiata]gi 190458082 gb FG855425.1 FG855425<br/>gi 190418564 gb FG813249.1 FG813249</p>                                               | <p><b>Fotossíntese e Fotorrespiração</b></p> <p>PREDICTED: ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase, chloroplastic-like [Vigna radiata</p> <p>PREDICTED: phosphoenolpyruvate carboxylase 4-like [Vigna angularis]</p> <p>PREDICTED: photosynthetic NDH subunit of subcomplex B 2, chloroplastic [Vigna</p> <p>PREDICTED: oxygen-evolving enhancer protein 1, chloroplastic [Vigna radiata var.</p> <p>Ribulose biphosphate carboxylase large chain [Glycine soja]</p> <p>ribulose 1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (chloroplast) [Vigna unguiculata]</p> <p>PREDICTED: ribulose-phosphate 3-epimerase, chloroplastic [Vigna radiata var. radiata]</p> <p>PREDICTED: ribulose biphosphate carboxylase small chain 1, chloroplastic [Vigna</p> <p>PREDICTED: photosystem I reaction center subunit psaK, chloroplastic</p> <p>photosystem I P700 apoprotein A2 (chloroplast) [Vigna unguiculata]</p> <p>photosystem II CP43 chlorophyll apoprotein [Phaseolus vulgaris]</p> |
| <p>gi 190555357 gb FG940244.1 FG940244</p> <p>gi 190527957 gb FG920307.1 FG920307</p> <p>gi 190476957 gb FG868541.1 FG868541</p> <p>var. radiata]gi 190455702 gb FG853895.1 FG853895;gi 221050576 gb GH621481.1 GH621481<br/>radiata] gi 182661275 gb FF556677.1 FF556677;gi 190465737 gb FG856671.1 FG856671<br/>[Vigna radiata var. radiata] gi 190426285 gb FG822950.1 FG822950</p> <p>gi 182658412 gb FF554878.1 FF554878</p> <p>gi 190548788 gb FG930548.1 FG930548</p> <p>gi 190485266 gb FG874861.1 FG874861<br/>angularis] gi 190420723 gb FG816813.1 FG816813;gi 190471994 gb FG867509.1 FG867509<br/>[Vigna radiata var. radiata]gi 190442647 gb FG842395.1 FG842395</p> | <p><b>Estresse resposta a defesa</b></p> <p>PREDICTED: heat shock 70 kDa protein, mitochondrial-like [Glycine max]</p> <p>heat shock cognate 70 kDa protein 2-like [Vigna radiata]</p> <p>PREDICTED: 33 kDa ribonucleoprotein, chloroplastic [Vigna radiata</p> <p>PREDICTED: metacaspase-5-like [Vigna radiata var.</p> <p>PREDICTED: 20 kDa chaperonin, chloroplastic-like</p> <p>PREDICTED: heat shock cognate protein 80-like [Vigna angularis]</p> <p>PREDICTED: heat shock protein 90-6, mitochondrial [Vigna angularis]</p> <p>Heat shock cognate 70 kDa protein [Glycine soja]</p> <p>PREDICTED: heat shock protein 90-5, chloroplastic isoform X1 [Vigna</p> <p>PREDICTED: 29 kDa ribonucleoprotein A, chloroplastic-like</p> <p>PREDICTED: chaperone protein ClpC, chloroplastic-like [Glycine max]</p>                                                                                                                                                                                       |
| <p>gi 190446854 gb FG840942.1 FG840942</p> <p>gi 190453891 gb FG849527.1 FG849527</p> <p>gi 190469210 gb FG861943.1 FG861943</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | <p><b>Homeostase redox</b></p> <p>PREDICTED: dihydrolipoyl dehydrogenase 2, chloroplastic-like [Glycine max]</p> <p>PREDICTED: transketolase, chloroplastic [Vigna angularis]</p> <p>PREDICTED: ferritin-3, chloroplastic [Vigna angularis]</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <p>gi 190443050 gb FG840276.1 FG840276</p> <p>gi 182659644 gb FF555326.1 FF555326</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | <p><b>RNA Fator and RNA Processing</b></p> <p>PREDICTED: eukaryotic initiation factor 4A-2-like [Vigna angularis]</p> <p>PREDICTED: eukaryotic translation initiation factor 3 subunit E [Vigna radiata</p> <p>var. radiata] PREDICTED: eukaryotic translation initiation factor isoform 4G-1</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

|                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| gi 221050532 gb GH620671.1 GH620671;gi 190539912 gb FG923747.1 FG923747<br>gi 190419016 gb FG816613.1 FG816613<br>gi 182660646 gb FF555516.1 FF555516;gi 190449261 gb FG844001.1 FG844001<br>var. radiata gi 190453897 gb FG849533.1 FG849533 | [Vigna radiata var. radiata]<br><br>PREDICTED: H/ACA ribonucleoprotein complex subunit 4 [Vigna angularis]<br>PREDICTED: eukaryotic translation initiation factor 3 subunit F [Vigna radiata]<br>PREDICTED: trigger factor-like protein TIG, Chloroplastic [Vigna angularis] |
| gi 190453897 gb FG849533.1 FG849533                                                                                                                                                                                                           | PREDICTED: trigger factor-like protein TIG, Chloroplastic [Vigna angularis]                                                                                                                                                                                                  |

## Tradução

gi|190416402|gb|FG808460.1|FG808460  
gi|190421627|gb|FG820720.1|FG820720  
gi|190459824|gb|FG860208.1|FG860208  
gi|182658227|gb|FF552369.1|FF552369  
gi|190421627|gb|FG820720.1|FG820720  
gi|190525877|gb|FG912784.1|FG912784

PREDICTED: 60S ribosomal protein L32-1 [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L13-1 [Vigna angularis]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L10a [Glycine max]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L4 [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L13-1 [Vigna angularis]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L36-3-like [Glycine max]

## Processo celular

gi|190550383|gb|FG935002.1|FG935002  
gi|221051395|gb|GH622021.1|GH622021  
gi|190433809|gb|FG828308.1|FG828308  
gi|190509563|gb|FG896223.1|FG896223  
angularis|gi|190501611|gb|FG890585.1|FG890585;gi|190417314|gb|FG816054.1|FG816054  
[Vigna angularis] gi|190426285|gb|FG822950.1|FG822950  
angularis]

14-3-3-like protein [Vigna angularis]  
14-3-3-like protein [Vigna angularis]  
14-3-3-like protein [Vigna angularis]  
14-3-3-like protein [Vigna  
14-3-3-like protein  
14-3-3-like protein [Vigna

## Processo metabólico

gi|190425659|gb|FG819503.1|FG819503  
gi|190541012|gb|FG922897.1|FG922897  
gi|190426998|gb|FG822254.1|FG822254  
gi|190439101|gb|FG834028.1|FG834028  
gi|190432634|gb|FG830967.1|FG830967  
gi|190494787|gb|FG880811.1|FG880811  
gi|190429555|gb|FG825083.1|FG825083  
gi|190444457|gb|FG839248.1|FG839248  
gi|190467721|gb|FG864928.1|FG864928  
gi|190433792|gb|FG827576.1|FG827576  
gi|190454086|gb|FG849874.1|FG849874  
gi|190464733|gb|FG860893.1|FG860893  
gi|190472254|gb|FG872020.1|FG872020  
var. radiata|gi|190524825|gb|FG913942.1|FG913942;gi|190541632|gb|FG923885.1|FG923885  
var. radiata] gi|190454890|gb|FG852823.1|FG852823  
gi|190466335|gb|FG866844.1|FG866844

PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]  
ATP synthase beta subunit, partial (chloroplast) [Vigna vexillata]  
PREDICTED: glucose--fructose oxidoreductase isoform X3 [Vigna angularis]  
PREDICTED: probable ATP synthase 24 kDa subunit, mitochondrial [Vigna angularis]  
PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata  
var. radiata] PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata  
PREDICTED: V-type proton ATPase subunit H [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme 1 [Vigna angularis]

|                                     |                                                                                                                   |
|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| gi 190498074 gb FG888816.1 FG888816 | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                                   |
| gi 190446318 gb FG839808.1 FG839808 | PREDICTED: alpha-1,4 glucan phosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic-like isoform X2 [Vigna angularis] |
| gi 190468035 gb FG863799.1 FG863799 | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                                   |
| gi 190545792 gb FG934390.1 FG934390 | PREDICTED: alpha-1,4 glucan phosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic-like isoform X1 [Vigna angularis] |
| gi 190432258 gb FG829369.1 FG829369 | PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]                       |
| gi 190432336 gb FG829408.1 FG829408 | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                                   |
| gi 190509086 gb FG897329.1 FG897329 | PREDICTED: homoserine kinase-like [Vigna radiata var. radiata]                                                    |
| gi 190414651 gb FG812182.1 FG812182 | PREDICTED: V-type proton ATPase subunit B 1 [Vigna radiata var. radiata]                                          |
| gi 190497332 gb FG886709.1 FG886709 | PREDICTED: serine hydroxymethyl transferase, mitochondrial [Vigna radiata var. radiata]                           |
| gi 190487674 gb FG880149.1 FG880149 | PREDICTED: ferredoxin-dependent glutamate synthase, chloroplastic [Vigna radiata var. radiata]                    |
| gi 190413191 gb FG808311.1 FG808311 | PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: ubiquitin-activating enzyme E1 1-like [Vigna angularis]                           |
| gi 190440814 gb FG838234.1 FG838234 | PREDICTED: ATP synthase gamma chain, chloroplastic [Vigna angularis]                                              |
| gi 190467552 gb FG864408.1 FG864408 | PREDICTED: delta(24)-sterol reductase [Vigna radiata var. radiata]                                                |

**Tabela 3.** Proteínas diferencialmente abundantes identificadas por ESI LC – MS/MS na variedade LEM e TVu 966.

| Acesso                                                                             | Nome                                                                                                 |
|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Fotossíntese e Fotorrespiração</b>                                              |                                                                                                      |
| gi 190437328 gb FG833806.1 FG833806                                                | PREDICTED: ribulose-phosphate 3-epimerase, chloroplastic [Vigna radiata var. radiata]                |
| gi 190442938 gb FG839527.1 FG839527                                                | PREDICTED: photosynthetic NDH subunit of subcomplex B 2, chloroplastic [Vigna radiata var. radiata]  |
| gi 182662174 gb FF556519.1 FF556519<br>radiata]                                    | PREDICTED: ruBisCO large subunit-binding protein subunit beta, chloroplastic [Vigna radiata var.     |
| gi 190422407 gb FG818489.1 FG818489                                                | Ribulose biphosphate carboxylase large chain [Glycine soja]                                          |
| gi 190442533 gb FG841306.1 FG841306                                                | PREDICTED: ribulose biphosphate carboxylase small chain 1, chloroplastic [Vigna angularis]           |
| gi 190467813 gb FG865787.1 FG865787                                                | PREDICTED: oxygen-evolving enhancer protein 1, chloroplastic [Vigna angularis]                       |
| gi 190447688 gb FG840593.1 FG840593                                                | PREDICTED: ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase, chloroplastic-like [Vigna angularis] |
| gi 190556564 gb FG935771.1 FG935771                                                | Ribulose 1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (chloroplast) [Vigna unguiculata]       |
| gi 190418564 gb FG813249.1 FG813249                                                | Photosystem II CP43 chlorophyll apoprotein (chloroplast) [Phaseolus vulgaris]                        |
| gi 190460307 gb FG858351.1 FG858351<br>radiata]                                    | PREDICTED: ruBisCO large subunit-binding protein subunit beta, chloroplastic [Vigna radiata var.     |
| gi 190458082 gb FG855425.1 FG855425                                                | Photosystem I P700 apoprotein A2 (chloroplast) [Vigna unguiculata]                                   |
| gi 190437328 gb FG833806.1 FG833806                                                | PREDICTED: ribulose-phosphate 3-epimerase, chloroplastic [Vigna radiata var. radiata]                |
| gi 190442938 gb FG839527.1 FG839527                                                | PREDICTED: photosynthetic NDH subunit of subcomplex B 2, chloroplastic [Vigna radiata var. radiata]  |
| gi 182662174 gb FF556519.1 FF556519<br>radiata]                                    | PREDICTED: ruBisCO large subunit-binding protein subunit beta, chloroplastic [Vigna radiata var.     |
| gi 190422407 gb FG818489.1 FG818489                                                | Ribulose biphosphate carboxylase large chain [Glycine soja]                                          |
| gi 190442533 gb FG841306.1 FG841306                                                | PREDICTED: ribulose biphosphate carboxylase small chain 1, chloroplastic [Vigna angularis]           |
| gi 190467813 gb FG865787.1 FG865787                                                | PREDICTED: oxygen-evolving enhancer protein 1, chloroplastic [Vigna angularis]                       |
| gi 190447688 gb FG840593.1 FG840593                                                | PREDICTED: ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase, chloroplastic-like [Vigna angularis] |
| gi 190447688 gb FG840593.1 FG840593<br>var. radiata]                               | PREDICTED: ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase, chloroplastic-like [Vigna radiata    |
| gi 190459743 gb FG860152.1 FG860152                                                | PREDICTED: phosphoenolpyruvate carboxylase 4-like [Vigna angularis]                                  |
| gi 190442938 gb FG839527.1 FG839527;gi 190488788 gb FG879795.1 FG879795            | PREDICTED: photosynthetic NDH subunit of subcomplex B 2, chloroplastic [Vigna                        |
| angularis]gi 190467813 gb FG865787.1 FG865787<br>radiata]                          | PREDICTED: oxygen-evolving enhancer protein 1, chloroplastic [Vigna radiata var.                     |
| gi 182658412 gb FF554878.1 FF554878                                                | Ribulose biphosphate carboxylase large chain [Glycine soja]                                          |
| gi 190556564 gb FG935771.1 FG935771                                                | ribulose 1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (chloroplast) [Vigna unguiculata]       |
| gi 190437328 gb FG833806.1 FG833806                                                | PREDICTED: ribulose-phosphate 3-epimerase, chloroplastic [Vigna radiata var. radiata]                |
| gi 182658227 gb FF552369.1 FF552369                                                | PREDICTED: ribulose biphosphate carboxylase small chain 1, chloroplastic [Vigna                      |
| angularis] gi 190469716 gb FG864633.1 FG864633;gi 190467992 gb FG862222.1 FG862222 | PREDICTED: photosystem I reaction center subunit psaK, chloroplastic                                 |
| [Vigna radiata var. radiata]gi 190458082 gb FG855425.1 FG855425                    | photosystem I P700 apoprotein A2 (chloroplast) [Vigna unguiculata]                                   |
| gi 190418564 gb FG813249.1 FG813249                                                | photosystem II CP43 chlorophyll apoprotein [Phaseolus vulgaris]                                      |
| gi 190447688 gb FG840593.1 FG840593<br>var. radiata]                               | PREDICTED: ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase, chloroplastic-like [Vigna radiata    |
| gi 190459743 gb FG860152.1 FG860152                                                | PREDICTED: phosphoenolpyruvate carboxylase 4-like [Vigna angularis]                                  |
| gi 190442938 gb FG839527.1 FG839527;gi 190488788 gb FG879795.1 FG879795            | PREDICTED: photosynthetic NDH subunit of subcomplex B 2, chloroplastic [Vigna                        |

angularis|gi|190467813|gb|FG865787.1|FG865787  
radiata]  
gi|182658412|gb|FF554878.1|FF554878

PREDICTED: oxygen-evolving enhancer protein 1, chloroplastic [Vigna radiata var.

Ribulose biphosphate carboxylase large chain [Glycine soja]

### Estresse resposta a defesa

gi|190555357|gb|FG940244.1|FG940244  
gi|190527957|gb|FG920307.1|FG920307  
gi|190476957|gb|FG868541.1|FG868541

PREDICTED: heat shock 70 kDa protein, mitochondrial-like [Glycine max]

heat shock cognate 70 kDa protein 2-like [Vigna radiata]

PREDICTED: 33 kDa ribonucleoprotein, chloroplastic [Vigna radiata var. radiata]

gi|190455702|gb|FG853895.1|FG853895;gi|221050576|gb|GH621481.1|GH621481  
gi|182661275|gb|FF556677.1|FF556677;gi|190465737|gb|FG856671.1|FG856671  
var. radiata|gi|190426285|gb|FG822950.1|FG822950  
gi|182658412|gb|FF554878.1|FF554878  
gi|190548788|gb|FG930548.1|FG930548  
gi|190485266|gb|FG874861.1|FG874861  
angularis] gi|190420723|gb|FG816813.1|FG816813;gi|190471994|gb|FG867509.1|FG867509  
[Vigna radiata var. radiata|gi|190442647|gb|FG842395.1|FG842395  
gi|190555357|gb|FG940244.1|FG940244  
gi|190527957|gb|FG920307.1|FG920307  
gi|190476957|gb|FG868541.1|FG868541  
var. radiata|gi|190455702|gb|FG853895.1|FG853895;gi|221050576|gb|GH621481.1|GH621481  
radiata] gi|182661275|gb|FF556677.1|FF556677;gi|190465737|gb|FG856671.1|FG856671  
[Vigna radiata var. radiata] gi|190426285|gb|FG822950.1|FG822950  
gi|182658412|gb|FF554878.1|FF554878  
gi|190555357|gb|FG940244.1|FG940244  
gi|190527957|gb|FG920307.1|FG920307  
gi|190476957|gb|FG868541.1|FG868541  
var. radiata|gi|190455702|gb|FG853895.1|FG853895;gi|221050576|gb|GH621481.1|GH621481  
radiata] gi|182661275|gb|FF556677.1|FF556677;gi|190465737|gb|FG856671.1|FG856671  
[Vigna radiata var. radiata] gi|190426285|gb|FG822950.1|FG822950  
gi|182658412|gb|FF554878.1|FF554878  
gi|190548788|gb|FG930548.1|FG930548  
gi|190485266|gb|FG874861.1|FG874861  
angularis] gi|190420723|gb|FG816813.1|FG816813;gi|190471994|gb|FG867509.1|FG867509  
[Vigna radiata var. radiata|gi|190442647|gb|FG842395.1|FG842395  
gi|190555357|gb|FG940244.1|FG940244  
gi|190527957|gb|FG920307.1|FG920307  
gi|190476957|gb|FG868541.1|FG868541  
var. radiata|gi|190455702|gb|FG853895.1|FG853895;gi|221050576|gb|GH621481.1|GH621481  
radiata] gi|182661275|gb|FF556677.1|FF556677;gi|190465737|gb|FG856671.1|FG856671  
[Vigna radiata var. radiata] gi|190426285|gb|FG822950.1|FG822950  
gi|182658412|gb|FF554878.1|FF554878  
gi|190548788|gb|FG930548.1|FG930548

PREDICTED: metacaspase-5-like [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: 20 kDa chaperonin, chloroplastic-like [Vigna radiata

PREDICTED: heat shock cognate protein 80-like [Vigna angularis]

PREDICTED: heat shock protein 90-6, mitochondrial [Vigna angularis]

Heat shock cognate 70 kDa protein [Glycine soja]

PREDICTED: heat shock protein 90-5, chloroplastic isoform X1 [Vigna

PREDICTED: 29 kDa ribonucleoprotein A, chloroplastic-like

PREDICTED: chaperone protein ClpC, chloroplastic-like [Glycine max]

PREDICTED: heat shock 70 kDa protein, mitochondrial-like [Glycine max]

heat shock cognate 70 kDa protein 2-like [Vigna radiata]

PREDICTED: 33 kDa ribonucleoprotein, chloroplastic [Vigna radiata

PREDICTED: metacaspase-5-like [Vigna radiata var.

PREDICTED: 20 kDa chaperonin, chloroplastic-like

PREDICTED: heat shock cognate protein 80-like [Vigna angularis]

PREDICTED: heat shock protein 90-6, mitochondrial [Vigna angularis]

PREDICTED: heat shock 70 kDa protein, mitochondrial-like [Glycine max]

heat shock cognate 70 kDa protein 2-like [Vigna radiata]

PREDICTED: 33 kDa ribonucleoprotein, chloroplastic [Vigna radiata

PREDICTED: metacaspase-5-like [Vigna radiata var.

PREDICTED: 20 kDa chaperonin, chloroplastic-like

PREDICTED: heat shock cognate protein 80-like [Vigna angularis]

PREDICTED: heat shock protein 90-6, mitochondrial [Vigna angularis]

Heat shock cognate 70 kDa protein [Glycine soja]

PREDICTED: heat shock protein 90-5, chloroplastic isoform X1 [Vigna

PREDICTED: 29 kDa ribonucleoprotein A, chloroplastic-like

PREDICTED: chaperone protein ClpC, chloroplastic-like [Glycine max]

PREDICTED: heat shock 70 kDa protein, mitochondrial-like [Glycine max]

heat shock cognate 70 kDa protein 2-like [Vigna radiata]

PREDICTED: 33 kDa ribonucleoprotein, chloroplastic [Vigna radiata

PREDICTED: metacaspase-5-like [Vigna radiata var.

PREDICTED: 20 kDa chaperonin, chloroplastic-like

PREDICTED: heat shock cognate protein 80-like [Vigna angularis]

PREDICTED: heat shock protein 90-6, mitochondrial [Vigna angularis]

Heat shock cognate 70 kDa protein [Glycine soja]

### Homeostase redox

gi|190467552|gb|FG864408.1|FG864408  
gi|190488890|gb|FG879845.1|FG879845  
gi|182662098|gb|FF556219.1|FF556219  
gi|190469210|gb|FG861943.1|FG861943  
gi|190446854|gb|FG840942.1|FG840942  
gi|190467552|gb|FG864408.1|FG864408  
gi|190453891|gb|FG849527.1|FG849527  
gi|190469210|gb|FG861943.1|FG861943

PREDICTED: delta(24)-sterol reductase [Vigna angularis]  
PREDICTED: transketolase, chloroplastic [Vigna angularis]  
PREDICTED: dihydrolipoyl dehydrogenase 2, chloroplastic-like [Glycine max]  
PREDICTED: ferritin-3, chloroplastic [Vigna angularis]  
PREDICTED: dihydrolipoyl dehydrogenase 2, chloroplastic-like [Glycine max]  
PREDICTED: delta(24)-sterol reductase [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: transketolase, chloroplastic [Vigna angularis]  
PREDICTED: ferritin-3, chloroplastic [Vigna angularis]

### RNA Fator and RNA Processing

gi|190419016|gb|FG816613.1|FG816613  
var. radiata|gi|182660646|gb|FF555516.1|FF555516;gi|190449261|gb|FG844001.1|FG844001  
radiata var. radiata|gi|182659644|gb|FF555326.1|FF555326  
gi|190443050|gb|FG840276.1|FG840276  
gi|190453897|gb|FG849533.1|FG849533  
gi|190419016|gb|FG816613.1|FG816613  
gi|190443050|gb|FG840276.1|FG840276  
gi|182659644|gb|FF555326.1|FF555326  
  
gi|221050532|gb|GH620671.1|GH620671;gi|190539912|gb|FG923747.1|FG923747  
gi|190419016|gb|FG816613.1|FG816613  
gi|182660646|gb|FF555516.1|FF555516;gi|190449261|gb|FG844001.1|FG844001  
var. radiata|gi|190453897|gb|FG849533.1|FG849533  
gi|190453897|gb|FG849533.1|FG849533  
gi|190443050|gb|FG840276.1|FG840276

PREDICTED: H/ACA ribonucleoprotein complex subunit 4-like [Vigna radiata  
PREDICTED: eukaryotic translation initiation factor 3 subunit F [Vigna  
PREDICTED: eukaryotic translation initiation factor [Vigna angularis]  
PREDICTED: eukaryotic initiation factor 4A-2-like [Vigna angularis]  
PREDICTED: trigger factor-like protein TIG, Chloroplastic [Vigna angularis]  
PREDICTED: H/ACA ribonucleoprotein complex subunit 4-like [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: eukaryotic initiation factor 4A-2-like [Vigna angularis]  
PREDICTED: eukaryotic translation initiation factor 3 subunit E [Vigna radiata  
var. radiata] PREDICTED: eukaryotic translation initiation factor isoform 4G-1  
[Vigna radiata var. radiata]  
  
PREDICTED: H/ACA ribonucleoprotein complex subunit 4 [Vigna angularis]  
PREDICTED: eukaryotic translation initiation factor 3 subunit F [Vigna radiata  
PREDICTED: trigger factor-like protein TIG, Chloroplastic [Vigna angularis]  
PREDICTED: trigger factor-like protein TIG, Chloroplastic [Vigna angularis]  
PREDICTED: eukaryotic initiation factor 4A-2-like [Vigna angularis]

### Tradução

gi|190416402|gb|FG808460.1|FG808460  
gi|190525877|gb|FG912784.1|FG912784  
gi|190459824|gb|FG860208.1|FG860208  
gi|182658227|gb|FF552369.1|FF552369  
gi|190421627|gb|FG820720.1|FG820720  
gi|190416402|gb|FG808460.1|FG808460  
gi|190421627|gb|FG820720.1|FG820720  
gi|190459824|gb|FG860208.1|FG860208  
gi|182658227|gb|FF552369.1|FF552369  
gi|190421627|gb|FG820720.1|FG820720  
gi|190525877|gb|FG912784.1|FG912784

PREDICTED: 60S ribosomal protein L32-1 [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L36-3-like [Glycine max]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L10a [Glycine max]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L4 [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L13-1 [Vigna angularis]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L32-1 [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L13-1 [Vigna angularis]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L10a [Glycine max]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L4 [Vigna radiata var. radiata]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L13-1 [Vigna angularis]  
PREDICTED: 60S ribosomal protein L36-3-like [Glycine max]

## Processo celular

|                                                                                                                                                          |                                                          |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| gi 190501611 gb FG890585.1 FG890585;gi 190417314 gb FG816054.1 FG816054<br>angularis]gi 190509563 gb FG896223.1 FG896223<br>angularis]                   | 14-3-3-like protein [Vigna<br>14-3-3-like protein [Vigna |
| gi 190433809 gb FG828308.1 FG828308                                                                                                                      | 14-3-3-like protein [Vigna angularis]                    |
| gi 190550383 gb FG935002.1 FG935002                                                                                                                      | 14-3-3-like protein [Vigna angularis]                    |
| gi 221051395 gb GH622021.1 GH622021                                                                                                                      | 14-3-3-like protein [Vigna angularis]                    |
| gi 190481477 gb FG876167.1 FG876167                                                                                                                      | 14-3-3-like protein [Vigna                               |
| angularis]gi 190501611 gb FG890585.1 FG890585;gi 190417314 gb FG816054.1 FG816054<br>[Vigna angularis] gi 190509563 gb FG896223.1 FG896223<br>angularis] | 14-3-3-like protein<br>14-3-3-like protein [Vigna        |
| gi 190433809 gb FG828308.1 FG828308                                                                                                                      | 14-3-3-like protein [Vigna angularis]                    |
| gi 190550383 gb FG935002.1 FG935002                                                                                                                      | 14-3-3-like protein [Vigna angularis]                    |
| gi 221051395 gb GH622021.1 GH622021                                                                                                                      | 14-3-3-like protein [Vigna angularis]                    |
| gi 190433809 gb FG828308.1 FG828308                                                                                                                      | 14-3-3-like protein [Vigna angularis]                    |
| gi 190509563 gb FG896223.1 FG896223                                                                                                                      | 14-3-3-like protein [Vigna                               |
| angularis]gi 190501611 gb FG890585.1 FG890585;gi 190417314 gb FG816054.1 FG816054<br>[Vigna angularis] gi 190426285 gb FG822950.1 FG822950<br>angularis] | 14-3-3-like protein<br>14-3-3-like protein [Vigna        |

## Processo metabólico

|                                                                                      |                                                                                                 |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| gi 190425659 gb FG819503.1 FG819503                                                  | PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]     |
| gi 190541012 gb FG922897.1 FG922897                                                  | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                 |
| gi 190426998 gb FG822254.1 FG822254                                                  | PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]     |
| gi 190439101 gb FG834028.1 FG834028                                                  | PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]     |
| gi 190432634 gb FG830967.1 FG830967                                                  | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                 |
| gi 190494787 gb FG880811.1 FG880811                                                  | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                 |
| gi 190429555 gb FG825083.1 FG825083                                                  | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                 |
| gi 190433792 gb FG827576.1 FG827576                                                  | PREDICTED: probable ATP synthase 24 kDa subunit, mitochondrial [Vigna angularis]                |
| gi 190454086 gb FG849874.1 FG849874                                                  | PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]     |
| gi 190464733 gb FG860893.1 FG860893                                                  | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                 |
| gi 190472254 gb FG872020.1 FG872020                                                  | PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata                   |
| var. radiata]gi 190524825 gb FG913942.1 FG913942;gi 190541632 gb FG923885.1 FG923885 | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata                               |
| var. radiata] gi 190454890 gb FG852823.1 FG852823                                    | PREDICTED: V-type proton ATPase subunit H [Vigna radiata var. radiata]                          |
| gi 190466335 gb FG866844.1 FG866844                                                  | PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme 1 [Vigna angularis]              |
| gi 190498074 gb FG888816.1 FG888816                                                  | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                 |
|                                                                                      | PREDICTED: alpha-1,4 glucan phosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic-like isoform X2 |
| gi 190446318 gb FG839808.1 FG839808                                                  | [Vigna                                                                                          |
| gi 190468035 gb FG863799.1 FG863799                                                  | angularis]<br>PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]   |

|                                                                                        |                                                                                                                   |
|----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| gi 190545792 gb FG934390.1 FG934390                                                    | PREDICTED: alpha-1,4 glucan phosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic-like isoform X1 [Vigna angularis] |
| gi 190432258 gb FG829369.1 FG829369                                                    | PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]                       |
| gi 190432336 gb FG829408.1 FG829408                                                    | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                                   |
| gi 190509086 gb FG897329.1 FG897329                                                    | PREDICTED: homoserine kinase-like [Vigna radiata var. radiata]                                                    |
| gi 190414651 gb FG812182.1 FG812182                                                    | PREDICTED: V-type proton ATPase subunit B 1 [Vigna radiata var. radiata]                                          |
| gi 190497332 gb FG886709.1 FG886709                                                    | PREDICTED: serine hydroxymethyl transferase, mitochondrial [Vigna radiata var. radiata]                           |
| gi 190459743 gb FG860152.1 FG860152                                                    | PREDICTED: phosphoenolpyruvate carboxylase 4-like [Vigna radiata var. radiata]                                    |
| gi 190444457 gb FG839248.1 FG839248                                                    | ATP synthase beta subunit, partial (chloroplast) [Vigna vexillata]                                                |
| gi 190487674 gb FG880149.1 FG880149                                                    | PREDICTED: ferredoxin-dependent glutamate synthase, chloroplastic [Vigna radiata var. radiata]                    |
| gi 190413191 gb FG808311.1 FG808311                                                    | PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: ubiquitin-activating enzyme E1 1-like [Vigna angularis]                           |
| gi 190425659 gb FG819503.1 FG819503                                                    | PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]                       |
| gi 190541012 gb FG922897.1 FG922897                                                    | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                                   |
| gi 190426998 gb FG822254.1 FG822254                                                    | PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]                       |
| gi 190439101 gb FG834028.1 FG834028                                                    | PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]                       |
| gi 190432634 gb FG830967.1 FG830967                                                    | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                                   |
| gi 190494787 gb FG880811.1 FG880811                                                    | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                                   |
| gi 190429555 gb FG825083.1 FG825083                                                    | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                                   |
| gi 190433792 gb FG827576.1 FG827576                                                    | PREDICTED: probable ATP synthase 24 kDa subunit, mitochondrial [Vigna angularis]                                  |
| gi 190454086 gb FG849874.1 FG849874                                                    | PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]                       |
| gi 190425659 gb FG819503.1 FG819503                                                    | PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]                       |
| gi 190541012 gb FG922897.1 FG922897                                                    | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                                   |
| gi 190426998 gb FG822254.1 FG822254                                                    | PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]                       |
| gi 190439101 gb FG834028.1 FG834028                                                    | PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]                       |
| gi 190432634 gb FG830967.1 FG830967                                                    | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                                   |
| gi 190494787 gb FG880811.1 FG880811                                                    | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                                   |
| gi 190429555 gb FG825083.1 FG825083                                                    | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                                   |
| gi 190444457 gb FG839248.1 FG839248                                                    | ATP synthase beta subunit, partial (chloroplast) [Vigna vexillata]                                                |
| gi 190467721 gb FG864928.1 FG864928                                                    | PREDICTED: glucose--fructose oxidoreductase isoform X3 [Vigna angularis]                                          |
| gi 190433792 gb FG827576.1 FG827576                                                    | PREDICTED: probable ATP synthase 24 kDa subunit, mitochondrial [Vigna angularis]                                  |
| gi 190454086 gb FG849874.1 FG849874                                                    | PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]                       |
| gi 190464733 gb FG860893.1 FG860893                                                    | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                                   |
| gi 190472254 gb FG872020.1 FG872020                                                    | PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]                       |
| var. radiata] gi 190524825 gb FG913942.1 FG913942; gi 190541632 gb FG923885.1 FG923885 | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                                   |
| var. radiata] gi 190454890 gb FG852823.1 FG852823                                      | PREDICTED: V-type proton ATPase subunit H [Vigna radiata var. radiata]                                            |
| gi 190466335 gb FG866844.1 FG866844                                                    | PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme 1 [Vigna angularis]                                |
| gi 190498074 gb FG888816.1 FG888816                                                    | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                                   |
| gi 190446318 gb FG839808.1 FG839808                                                    | PREDICTED: alpha-1,4 glucan phosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic-like isoform X2 [Vigna angularis] |
| gi 190468035 gb FG863799.1 FG863799                                                    | PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]                                   |
|                                                                                        | PREDICTED: alpha-1,4 glucan phosphorylase L isozyme, chloroplastic/amyloplastic-like isoform X1                   |

gi|190545792|gb|FG934390.1|FG934390  
gi|190432258|gb|FG829369.1|FG829369  
gi|190432336|gb|FG829408.1|FG829408  
gi|190509086|gb|FG897329.1|FG897329  
gi|190414651|gb|FG812182.1|FG812182  
gi|190497332|gb|FG886709.1|FG886709  
gi|190487674|gb|FG880149.1|FG880149  
gi|190413191|gb|FG808311.1|FG808311  
gi|190440814|gb|FG838234.1|FG838234  
gi|190425659|gb|FG819503.1|FG819503  
gi|190541012|gb|FG922897.1|FG922897  
gi|190426998|gb|FG822254.1|FG822254  
gi|190439101|gb|FG834028.1|FG834028  
gi|190432634|gb|FG830967.1|FG830967  
gi|190494787|gb|FG880811.1|FG880811  
gi|190429555|gb|FG825083.1|FG825083

[Vigna  
angularis]

PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: homoserine kinase-like [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: V-type proton ATPase subunit B 1 [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: serine hydroxymethyl transferase, mitochondrial [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: ferredoxin-dependent glutamate synthase, chloroplastic [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: ubiquitin-activating enzyme E1 1-like [Vigna angularis]

PREDICTED: ATP synthase gamma chain, chloroplastic [Vigna angularis]

PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]

PREDICTED: phosphoglycerate kinase, cytosolic-like [Vigna radiata var. radiata]

## CONCLUSÕES

Esse trabalho mostrou que a complexidade das respostas que ocorrem na interação compatível entre feijão-caupi com o vírus CABMV enfatiza o balanço que ocorre entre a tentativa de defesa do hospedeiro e a tentativa de invasão e propagação do patógeno. O feijão-caupi foi capaz de responder ativamente ao vírus, por meio do acúmulo de diversas proteínas envolvidas na defesa, mas, ainda assim insuficiente para evitar o estabelecimento da doença viral, em decorrência do patógeno conseguir se sobrepor à defesa da planta.

A infecção viral pelo CABMV causa estresse às plantas de feijão-caupi, comprometendo seu crescimento e desenvolvimento. Alguns genótipos selecionados por demonstrar maior ou menor sensibilidade ao estresse biótico causado pelo CABMV foram a base para os estudos de proteômica.

São indicados os menores espaçamentos entre covas pois proporcionam maiores incrementos na produtividade; em geral, populações de até 400.000 plantas por hectare proporcionaram incrementos superiores às populações menores, a exemplo de 100.000 plantas por hectare; o aumento da densidade populacional não alterou o comprimento de vargem, número de sementes por vargem e peso de 100 sementes e indica-se os espaçamentos de 80 cm x 25 cm para cultivares de porte semiprostrado e 50cm x 25cm para cultivares de porte semiereto.

## REFERÊNCIAS

- AEBERSOLD, R.; MANN, M. Mass spectrometry-based proteomics. **Nature**, v. 422, p. 198–20, 2003.
- ADI M, JENS P, BROTMAN Y, MIKHAIL K, IRIS S, HENRYK C, RENA G. Stress Responses to Tomato Yellow Leaf Curl Virus(TYLCV) Infection of Resistant and Susceptible Tomato Plants are Different. **Metabolomics** 2012:1-13.
- AGRAWAL, G. K.; YONEKURA, M.; IWAHASHI, Y.; IWAHASHI, H.; RAKWAL, R. System, trends and perspectives of proteomics in dicot plants. Part I. Technologies in proteome establishment. **Journal of Chromatograph B Analyt Technol Biomedical Life Sciences**, v. 815: p. 109–123, 2005.
- AGRIOS, G. N. Plant Pathology. **Academic Press**, San Diego, 635 p, 1997.
- AKINJOGUNLA, O. J.; TAIWO, M. A.; KAREEM, K. T. Immunological and molecular diagnostic methods for detection of viruses infecting cowpea (*Vigna unguiculata*). **African Journal of Biotechnology**, v. 7, p. 2099-2103, 2008.
- AKINJOGUNLA OJ, TAIWO MA, KAREEM KT. Immunological and molecular diagnostic methods for detection of viruses infecting cowpea (*Vigna unguiculata*). **African Journal of Biotechnology** 2008;7:2099-2103.
- ALTELAAR, A. F.; MUNOZ, J.; HECK, A. J. Next-generation proteomics: towards an integrative view of proteome dynamics. **Nature Reviews Genetics**, v. 14, n. 1, p. 35-48, 2013.
- ANDRADE, G. P.; PIO-RIBEIRO, G. Estratégias e métodos aplicados ao controle de fitoviroses. In: MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife-PE:UFRPE, Imprensa Universitária, p. 171-181, 2001.
- ANDRADE JÚNIOR, A. S. et al. Cultivo de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). Teresina: Embrapa-Meio Norte, 2003. 110 p. (Embrapa Meio-Norte. Sistema de Produção, 2).
- ANDRADE GP, PIO-RIBEIRO G. Estratégias e métodos aplicados ao controle de fitoviroses. In: Michereff, S. J.; Barros, R. **Proteção de plantas na agricultura sustentável** Recife-PE: UFRPE, **Imprensa Universitária**. 171-181. 2001.
- AOKI K, KRAGLER F, Xoconostle-Cázares B, Lucas WJ. A subclass of plant heat shock cognate 70 chaperones carries a motif that facilitates trafficking through plasmodesmata. **Proc Natl Acad Sci USA** 2002;9:16342-16347.
- APARICIO F, THOMAS CL, LEDERER C, NIU Y, WANG D, MAULE AJ. Virus Induction of Heat Shock Protein 70 Reflects a General Response to Protein Accumulation in the Plant Cytosol. **Plant Physiology** 2005;138:529–536.

ARANDA MA, Escaler M, Wang D, Maule AJ. Induction of HSP70 and polyubiquitin expression associated with plant virus replication. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 1996;93:15289-15293.

ARANDA M, Maule A. Virus-Induced Host Gene Shutoff in Animals and Plants. **Virology** 1998;243:261-267.

ARAÚJO, J. P. P. et al. **Cultura do Caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp: descrição e recomendações técnicas de cultivo**. EMBRAPA, Circular Técnica. 82 p. 1984.

BALASUBRAMANIAM M, KIM BS, HUTCHENS-WILLIAMS HM, LOESCH-FRIES LS. The photosystem II oxygen-evolving complex protein PsbP interacts with the coat protein of Alfalfa mosaic virus and inhibits virus replication. **Mol Plant Microbe Interact** 2014;27:1107-1118.

BARRETO, P. D.; SANTOS, A. A. **Avaliação de Genótipos de Feijão-de-Corda sob infecção simultânea por “*Cowpea aphid-borne mosaic virus*” e “*Cucumber mosaic virus*”**. Fortaleza. Embrapa-CNPAT, 1999. Embrapa - CNPAT (Boletim de Pesquisa).

BARROS, G.B.; NOGUEIRA, M. S. R.; OLIVEIRA, C. R. R.; FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; VEIGA, C. F. M.; BRIOSO, P. S. T.; EIRAS, M. Obtenção de plantas de feijão-caupi resistentes ao *Cowpea severe mosaic virus* e ao *Cowpea aphid-borne mosaic virus*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 39, n. 2, p.130- 136, 2013.

BASHIR, M.; AHMAD, Z.; GHAFIOOH, A. Cowpea aphid-borne potyvirus: a review. **International Journal of Pest Management**, London, v. 48, p. 155-168, 2002.

BAUWE H, KOLUKISA OGLU U. Genetic manipulation of glycine decarboxylation. **J.Exp. Bot.** 2003;54:1523-1535.

BERGER, P. H.; ADAMS, M. J.; BARNETT, O. W.; BRUNT, A. A.; HAMMOND, J.; HILL, J.H.; JORDAN, R. L.; KASHIWAZAKI, S.; RYBICKI, E.; SPENCE, N.; STENGER, D. C.; OHKI, S. T.; UYEDA, I.; VAN ZAAYEN, A. VALKONEN, A.; VETTEN, H. J. Potyviridae. In: Fauquet, C. M.; MAYO, M. A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L. A. **Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**, p. 819-841, 2005.

BESERRA JUNIOR, J. E. A.; ANDRADE, E. C.; CAMARÇO, R. F. R. A.; NASCIMENTO, A. K. Q.; LIMA, J. A. A. Sequence variability in the coat protein gene of Cowpea severe mosaic virus isolates from north eastern Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, p. 121-124, 2011.

BEZERRA, A. A. de C. **Efeitos de arranjos populacionais na morfologia produtividade de feijão-caupi de crescimento determinado e porte ereto**. 2005. 123 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

BEZERRA, A. A. de C. *et al.* Morfologia e produção de grãos em linhagens modernas de feijão-caupi submetidas a diferentes densidades populacionais. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, p. 85- 93, 2008.

BEZERRA, A. A. de C. *et al.* Características de dossel e de rendimento em feijão-caupi ereto em diferentes densidades populacionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 1239-

361 1245, 2009.

BIANCHI, M. A.; FLECK, N. G.; DILLENBURG, L. R. Partição da competição por recursos do solo e radiação solar entre cultivares de soja e genótipos concorrentes. **Planta Daninha**, v. 24, n. 4, p. 629-639, 2006

BLUM, L. E. B.; CARES, J. E.; UESUGI, C. H. **Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas**. Brasília, 265 p. 2006.

BOCK, K. R.; CONTI, M. **Cowpea aphid-borne mosaic virus**. CMI/AAB Description of Plant Viruses N°. 134, 1974.

BOSCHILIA, S. M.; THOMAZ, S. M.; PIANA, P. A. Plasticidade morfológica de *Salvinia herzogii* (de La Sota) em resposta à densidade populacional. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 28, n. 1, p. 35-39, 2006  
BRESSANI, R. Grain quality of common beans. **Food Reviews International**, v. 9, n. 2, p. 237-297, 1993.

BRATHWAITE, R. A. I. Bodie bean responses to changes in plant density. **Agronomy Journal**, v. 74, p. 593-596, 1982.

BRITO, L. L. M. *et al.* Desenvolvimento e produtividade de feijão caupi em grãos secos em função do espaçamento entre fileiras e da população inicial. In: III CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI, 3., 2013, Recife. **Anais eletrônicos [...]** Recife: IPA, 2013. Disponível em: <http://www.conac2012.org/resumos/pdf/369a.pdf>. Acesso em: 22 jul.2016.

BRIOSO, P. S. T. Técnicas moleculares na identificação de vírus em Feijão-caupi. In: VI REUNIÃO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI e I CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE CAUPI. 57., 2006, Teresina. **Anais [...]** Teresina, Tecnologia para o agronegócio. Embrapa. 2006.

BLUM LEB, CARES JE, UESUGI CH. **Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas**. Brasília 2000;265p.

BOLTON MD. Primary Metabolism and Plant Defense—Fuel for the Fire. **Mol Plant Mic Inter** 2009;22:487-497.

BRUNT, A.; CRABTREE, K.; GIBBS, A. **Viruses of tropical plants: descriptions and list from VIDE database**. Wallingford: ACIAR, 1990. 707 p.

BUTS, K.; MICHIELSENS, S.; HERTOOG, M. L. A. T. M.; HAYAKAWA, E.; CORDEWENER, J.; AMERICA, A. H. P.; NICOLA, B. M.; CARPENTIE, S. C. Improving the identification rate of data independent label-free quantitative proteomics experiments on non-model crops: A case study on apple fruit. **Journal Proteomics**, v. 105, p. 31-45, 2014.

CAMARÇO, R. F. E. A. *et al.* Biological, serological and molecular comparison between isolates of Cowpea severe mosaic virus. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 4, p. 239-244, 2009.

CANTERI, M. G. *et al.* SASM-Agri: Sistema para análise e separação de médias em

experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v. 1, n. 2, p. 18-24, 2001.

CARDOSO, M. J; RIBEIRO, V. Q. Produtividade de grãos de feijão-caupi relacionada à densidade de plantas e à associação com milho em solo de tabuleiro costeiro. In: REUNIÃO NACIONAL DE CAUPI, 5., 2002, Teresina. **Anais [...]** Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2001. p. 76-79.

CARDOSO, M. J; RIBEIRO, V. Q. Desempenho agrônômico do feijão-caupi, cv. Rouxinol, em função de espaçamentos entre linhas e densidades de plantas sob regime de sequeiro. **Ciência Agrônômica**, v. 37, p. 102- 105, 2006.

CARMO, L. S. T.; RESENDE, R. O.; SILVA, L. P.; RIBEIRO, S. G.; MEHTA, A. Identification of host proteins modulated by the virulence factor AC2 of Tomato chlorotic mottle virus in *Nicotianabenthamiana*. **Proteomics**, v. 13, n. 12-13, p. 1947-1960, 2013.

CARRINGTON, J. C.; FREED, D. D.; OH, C. S. Expression of potyviral polyproteins in transgenicplants reveals three proteolytic activities required for complete processing. **EMBO Journal**, v. 9, p.1347–1353, 1990.

CHAVAN, M.; PUJARI, B. T.; LOKESHA, R. Morphological indices and yield of castor as influenced by organic and inorganic sources of nitrogen. Karnataka. **Journal of Agricultural Sciences**, v. 18, n. 4, p. 1075-1077, 2005

CHUNG, B. Y. W.; MILLER, A. W.; ATKINS, J. F.; FIRTH, A. E. An overlapping essential genein the Potyviridae. **PNAS**, v. 105, n. 15, p. 5897–5902, 2008.

CIPRIANO AKAL, GONDIM DMF, VASCONCELOS IM, MARTINS JAM, MOURA AA, MORENO FB, MONTEIRO-MOREIRA ACO, MELO JGM, CARDOSO JE, PAIVA ALS, OLIVEIRA JTA. Proteomic analysis of responsive stem proteins of resistant and susceptible cashew plants after *Lasioidiplodia theobromae* infection. **J. Proteom.** 2015;113:90-109.

COLLAZO C, RAMOS PL, CHACON O, BORROTO CJ, LOPEZ Y, PUJOL M, THOMMA BPHJ, HEIN I, BORRAS-HIDALGO O. Phenotypical and molecular characterization of the Tomato mottle Taino virus *Nicotiana megalosiphon* interaction. **Physiol Mol Plant Pathol.** 2006;67:231-236.

CITOVSKY V, ZALTSMAN A, KOZLOVSKY SV, GAFNI Y, KRICHEVSKY A. Proteasomal degradation in plant-pathogen interactions. **Semin Cell Dev Biol.** 2009;20:1048-1054.

COLLINGE DB, SLUSARENKO AJ. Planta gene expression in response to pathogens. **Plant Molec. Biol.** 1987;9:389-410.

CONAB (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO). Disponível em: <http://www.conab.gov.br/>. Acesso em: 10 ago. 2016.

CORRÊA, M. L. P.; TÁVORA, F. J. A. F.; PITOMBEIRA, J. B. Comportamento de cultivares de mamona em sistemas de cultivo isolados e consorciados com caupi e sorgo

granífero. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 2, p. 200-207, 2006.

DAMASCENO-SILVA, K. J. **Estatística da produção de feijão-caupi**. Grupo cultivar, 2009. Disponível em: <http://www.grupocultivar.com.br/arquivos/estatistica.pdf>. Acesso em: 14 jun. 2018.

DAVIS, D. W. et al. **Cowpea**. University of Wisconsin-Madison, 1991.

DEL PINO, V. M. H.; LAJOLO, M. F. Efecto inhibitorio de los taninos del frijol carioca (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre la digestibilidad de la faseolina por dos sistemas multi enzimáticos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 49-53, 2003.

DI CARLI M, VILLANI ME, BIANCO L, LOMBARDI R, PERROTTA G, BENVENUTO E, DONINI MJ. Proteomic analysis of the plant-virus interaction in Cucumber Mosaic Virus (CMV) resistant transgenic tomato. **J Proteome Res** 2010;9:5684-5697

DIAS, G. B.; RANGEL, T. B. A. Indução de resistência em plantas: o papel do óxido nítrico. **Revista Capixaba de Ciencia e Tecnologia**, v. 3, p. 1-8, 2007.

DIELEN AS, BADAOU S, CANDRESSE T, GERMAN-RETANA S. The ubiquitin/26S proteasome system in plant-pathogen interactions: a never-ending hide-and-seek game. **Mol Plant Pathol**. 2010;11:293- 308.

DIETZGEN RG, ZAITIIN M. Tobacco mosaic virus coat protein and the large subunit of the host protein ribulose- I, 5-bisphosphate carboxylase share a common antigenic determinant. **Virology**. 1986;155:262-266.

EBERLIN, M. A proteômica e os novos paradigmas. **Jornal da Unicamp**, Campinas - SP, p. 3, 14a 27 de novembro de 2005.

ECKEY-KALTENBACK, H. et al. Differential transcript induction of parsley pathogenesis related proteins and of small heat shock protein by ozone and heat stress. **Plant Molecular Biology**, v. 33, p. 343-350, 1997.

ENG, J. K.; MCCORMACK, A. L.; YATES, J. R. An approach to correlate tandem mass spectral data of peptides with amino acid sequences in a protein database. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 5, n. 11, p. 976-989, 1994.

EL NAIM, A. M. et al. Effect of intra-row spacing on growth and yield of three cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) varieties under raised. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, v. 6, n. 5, p. 623-629, 2010.

EL NAIM, A. M.; JABERRELDAR, A. A. Effect of plant density and cultivar on growth and yield of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**. v. 4, n. 8, p. 3148-3153, 2010.

ESCALER M, ARANDA MA, THOMAS CL, MAULE AJ. Pea embryonic tissues show common responses to the replication of a wide range of viruses. **Virology** 2000;267:318-325.

FARIA, J. L. et al. Situação atual das geminiviroses no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25, n. 2, p. 125-137, 2000.

FIELD, H. I.; FENYO, D.; BEAVIS, R. C. RADARS, a bioinformatics solution that automates proteome mass spectral analysis, optimises protein identification, and archives data in a relational database. **Proteomics**, v. 2, n. 1, p. 36, 2002.

FISHER, M. L.; KYLE, M. M. Inheritance of resistance to potyviruses in *Phaseolus vulgaris* L. IV. Inheritance, linkage relations, and environmental effects on systemic resistance to four potyviruses. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 92, p. 204-212, 1996.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAOSTAT). **Production: Beans 2012**. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QC/E>. Acesso em: 27 mar. 2014.

FOURNIER, M. L.; GILMORE, J. M.; MARTIN-BROWN, S. A.; WASHBURN, M. P. Multidimensional separations-based shotgun proteomics. **Chemical Reviews**, v. 107, n. 8, p. 3654- 3686, 2007.

FOYER CH, NOCTOR G. Managing the cellular redox hub in photosynthetic organisms. **Plant, Cell and Environment** 2012;35:199-201.

FRASER, R. S. S. The genetics of resistance of plant viruses. **Annual Review Phytopathology**, v. 28, p. 197-200, 1990.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D.; SANTOS, C. A. F. Melhoramento genético de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) na região do Nordeste. In: QUEIROZ, M. A. de; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. (ed.). Recursos genéticos e melhoramento de plantas no Nordeste brasileiro. (on-line). Versão 1.0. Petrolina: Embrapa Semi-Árido; Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, nov. 1999. Disponível em: <http://www.cpatas.embrapa.br/catalogo/livrorg/caupinordeste.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2016.

FREIRE FILHO, F. R. et al. Melhoramento genético. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. deA.; RIBEIRO, V. Q. (Ed.). Feijão-caupi: avanços tecnológicos. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2005a. p. 29-92.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; ALCÂNTARA, J. P.; BELARMINO FILHO, J.; ROCHA, M. M. BRS Marataoã: novo cultivar de feijão-caupi com grão tipo sempre-verde. **Revista Ceres**, v.52, n. 303, p. 771-777, 2005b.

FREIRE FILHO, F. R. et al. BRS Milênio e BRS Urubuquara: cultivares de feijão-caupi para a região Bragantina do Pará. **Revista Ceres**, v. 56, n. 6, p. 749-752, 2009.

FREIRE FILHO, F. R. et al. **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2011. 84 p.

FREIRE FILHO, F. R. et al. BRS Marataoã: nova cultivar de feijão-caupi com grão tipo sempre-verde. **Revista Ceres**, v. 52, p. 771- 777, 2005.

FRITSCH-NETO, R.; BORÉM, A. **Melhoramento de plantas para condições de estresse abióticos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012. 248p.

FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. **Melhoramento de plantas para condições de estresse abióticos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011. 248p.

GALVEZ LC, BANERJEE J, PINAR H, MITRA A. Engineered Plant vírus resistance. **Plant Science**. 2014; 228:11-25.

GHORBANI, S. G. M.; SHAHRAEIN, N.; ELAGINIA, S. A. Serodiagnosis of cowpea (*Vigna unguiculata*) viruses in Guilan province, Iran. **Iranian Journal of Virology**, v. 1, p. 28-31, 2008.

GRANIER, F. Extraction of plant proteins for two-dimensional electrophoresis. **Electrophoresis**, v.9, p. 712–718, 1988.

HALL, A. E.; CISSE, N.; THIAW, S.; ELAWAD, H. O. A.; EHLERS, J. D. Development of cowpea cultivars and germplasm by the Bean/Cowpea CRSP. **Field Crops Research**, v. 82, p. 103-134, 2003.

HALL, A. E. Future directions of bean/cowpea collaborative research support program. **Field Crops Research**, v. 82, p. 233-240, 2003.

HARRIES PA, PARK JW, SASAKI N, BALLARD KD, MAULE JA, NELSON RS. DIFFERING requirements for actin and myosin by plant viruses for sustained intercellular movement. **Pro Aca Nat Sci** 2009;106: 17594-17599.

HAVELDA Z, MAULE AJ. Complex Spatial Responses to Cucumber Mosaic Virus Infection in Susceptible *Cucurbita pepo* Cotyledons. **The Plant Cell** 2000;12:1975-1985.

HEINZ S, RAST A, SHAO L, GUTU A, GÜGEL IL, HEYNO E, LABS M, RENGSTL B, VIOLA S, NOWACZYK MM, LEISTER D, NICKELSEN J. Thylakoid Membrane Architecture in *Synechocystis* Depends on CurT, a Homolog of the Granal CURVATURE THYLAKOID1 Proteins. **Plant Cell Advance Publication** 2016:1-58.

HENTY-RIDILLA JL, SHIMONO M, LI J, CHANG JH, DAY B, STAIGER CJ. The Plant Actin Cytoskeleton Responds to Signals from Microbe-Associated Molecular Patterns. **PLoS Pathog**: 2013;9:1-13.

HENDERSON, T. L.; JOHNSON, B. L.; SCHNEITER, A. A. Row spacing, plant population, and cultivar effects on grain amaranth in the northern Great Plains. **Agronomy Journal**, v.92, p. 329-336, 2000.

HERBERS K, TACKE E, HAZIREZAEI M, KRAUSE KP, MELZER M, ROHDE W, SONNEWALD U. Expression of a luteoviral movement protein in transgenic plants leads to carbohydrate accumulation and reduced photosynthetic capacity in source leaves. **Plant Journal** 1997; 12:1045- 1056.

HIRAI A, WILDMAN SG. Effect of TMV multiplication on RNA and protein synthesis in tobacco chloroplasts. **Virology**. 1969;38:73-82.

HULL, R. **Matthews Plant Virology**. 4. ed. San Diego: Academic Press, 2002. 1001p.

HULL, R. **Comparative Plant Virology**. Elsevier, ICTV. 2. ed., 2009. 400 p.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). Disponível em: [ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Agricola/Levantamento\\_Sistematico\\_da\\_Producao\\_Agricola\\_mensal/Comentarios/lspa\\_201606comentarios.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_mensal/Comentarios/lspa_201606comentarios.pdf). Acesso em: 10 ago.2016.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Censo agropecuário 2006**. Rio de Janeiro: IBGE, 2009. 777 p.

ISLAM S, CARMEN RC, GARNER-JR JO. Screening for tolerance of stress temperature during germination of twenty-five cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) cultivars. **J. Food Agric. Env.** 2006;4:191-195.

IWASAKI, M.; MIWA, S.; IKEGAMI, T.; TOMITA, M.; TANAKA, N.; ISHIHAMA, Y. One dimensional capillary liquid chromatographic separation coupled with tandem mass spectrometry unveils the *Escherichia coli* proteome on a microarrayscale. **Analytical Chemistry**, v. 82, p. 2616– 2620, 2010.

JACOMINE, P. K. T. *et al.* **Levantamento exploratório-reconhecimento de solos do estado de Pernambuco**. Recife, Ministério da Agricultura/Sudene, 1973. 359 p. v. 1. (Boletim Técnico, 26; Série Pedologia, 14).

JIANG, M.; ZHANG, J. Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 379, p. 2401-2410, 2002.

JOCKUSCH H, WIEGAND C, MERSCH B, RAJES D. Mutants of tobacco mosaic virus with temperature-sensitive coat proteins induce heat shock response in tobacco leaves. **Mol Plant-Microb Interact** 2001;14:914-917

KANGASJÄRVI S, NEUKERMANS J, LI S, ARO EM, NOCTOR G. Photosynthesis, photorespiration, and light signalling in defence responses. **J Exp Bot** 2012;63:1619-1636.

KANZAKI H, SAITOH H, ITO A, FUJISAWA S, KAMOUN S, KATOU S, YOSHIOKA H, TERAUCHI R. Cytosolic HSP90 and HSP70 are essential components of INF1-mediated hypersensitive response and non-host resistance to *Pseudomonas cichorii* in *Nicotiana benthamiana*. **Mol Plant Pathol** 2003;4:383-391.

KANNAIYAN, J.; HACIWA, H. C. Diseases of food legume crops for the scope of their management in Zambia. **FAO Plant Protection Bulletin**, v. 41, p. 73-90, 1993.

KARAS, M.; HILLENKAMP, F. Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. **Analytical chemistry**, v. 60, n. 20, p. 2299-2301, 1988.

KOSOVÁ, K.; VÍTÁMVAS, P.; PRÁŠIL, I. T.; RENAUT, J. Plant proteome changes under abiotic stress – Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. **Review Journal of Proteomics**, v. 74, p. 1301-1322, 2011.

KING, A. M. Q.; LEFKOWITZ, E.; ADAMS, J. M.; CARSTENS, E. B. **Virus Taxonomy**, Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, 2012. 1327 p.

KING, A. M. Q.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B.; LEFKOWITZ, E. J. **Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. London: Elsevier/Academic Press, 2012. 1327p.

KIGEL, J.; ROSENTAL, L.; FAIT, A. Seed physiology and germination of grain legumes. In: THARANATHAN, R. N.; MAHADEVAMMA, S. **Grain legumes**. New York: Springer New York, 2015.

KORTH, K. L. Profiling the response of plants to herbivorous insects. **Genome Biology**, v. 4, n. 7, p. 221, 2003.

KOSOVÁ, K.; VÍTÁMVAS, P.; PRÁŠIL, I. T.; RENAUT, J. Plant proteome changes under abiotic stress – Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. **Review Journal of Proteomics**, v. 74, p. 1301-1322, 2011.

KUNDU S, CHAKRABORTY D, PAL A. Proteomic analysis of salicylic acid induced resistance to Mungbean Yellow Mosaic India Virus in *Vigna mungo*. **J Prot.** 2011;74:337-349.

KRUPA, V. S. Joint Effects of Elevated Levels of Ultraviolet-B Radiation, Carbon Dioxide and Ozone on Plants. **American Society for Photobiology**, p. 535-542, 2003.

LEITE, M. L.; RODRIGUES, J. D.; VIRGENS FILHO, J. S. Avaliação de cultivares de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) quanto à produtividade e componentes de produtividade, sob condições de estufa plástica. **Revista de Agricultura**, v. 72, n. 3, p. 375-385, 1997.

LEÃO, U. S. Seleção para caracteres do grão e resistência a vírus em feijão-caupi de **tegumento branco rugoso**. 2014. 78 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2014.

LIMA, J. A. A.; SITTOLIN, I. M.; LIMA, R. C. A. Diagnoses e Estratégias de Controle de Doenças Ocasionadas por Vírus. Melhoramento Genético. **Feijão-caupi: Avanços Tecnológicos**. In: FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; LIMA, J. A. A.; SILVA, P. H. S. p. 405- 459, 2005.

LIU J, YANG J, BI H, ZHANG, P. Why mosaic? Gene expression profiling of African Cassava Mosaic virus-infected cassava reveals the effect of chlorophyll degradation on symptom development. **J Integr Plant Biol.** 2014;56:122-132.

LUCAS WF, BALACHANDRAN S, PARK J, WOLF S. Plasmodesmal companion cell-mesophyll communication in the control over carbon metabolism and phloem transport: insights gained from viral movement proteins. **Journal of Experimental Botany** 1996;47:1119-1128.

MACHADO, C. F.; FREIRE-FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; COSTA, D. S. S.; AMORIM, A. F. Herança da inflorescência composta da cultivar de feijão-caupi cacheado. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 5, p. 1347-1350, 2007.

MANN, M.; WILM, M. Error-tolerant identification of peptides in sequence databases by peptide sequence tags. **Analytical chemistry**, v. 66, n. 24, p. 4390-4399, 1994.

MARTELLI GP, RUSSO M. Virus-host relationships: Symptomatology and ultrastructural aspects. **See Ref.** 1985; 64: 163-205.

MATTHEWS, R.E.F. **Plant Virology**. 3. ed., San Diego: Academic Press, 1991. 835 p. 1991.

MATOSO, A. de O. *et al.* Produtividade de grãos de feijão-caupi sob diferentes densidades de plantas. In: III CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI. **Resumos [...]** Recife: IPA, 2013. 5 p. Disponível em: <http://www.conac2012.org/resumos/pdf/047b.pdf>. Acesso em: 22 jul. 2016.

MAZZON M, MERCER J. Lipid interactions during virus entry and infection. **Cellular Microbiology**. 2014;16:1493-1502.

MEENA, H. K.; KRISHNA, K. R.; SINGH, B. Genetic variability, heritability and genetic advance in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. **The Journal of Plant Science Research**, v. 31, n. 1, p. 13, 2015.

MEIRELES, K. G. X. **Aplicações de proteômica na pesquisa vegetal**. Embrapa. Documentos 165. Setembro, 2007.

MICHALSKI, A.; DAMOC, E.; HAUSCHILD, J. P.; LANGE, O.; WIEGHAUS, A.; MAKAROV, A.; HORNING, S. Mass Spectrometry-based Proteomics Using Q Exactive, a High-performance Bench top Quadrupole Orbitrap Mass Spectrometer. **Molecular & Cellular Proteomics**: MCP, p. 10, 2011.

MOGHADDAM MRB, ENDE WVD. Sugars and plant innate immunity. **Journal of Experimental Botany** 2012;63:3989-3989.

MORAES, M. G. Mecanismos de resistência adquirida em plantas. **Revisão anual de Patologia Vegetal**, v. 6, p. 261-284, 1998.

MOT RD, VANDERLEYDEN J. Application of two-dimensional protein analysis for strain fingerprinting and mutant analysis of *Azospirillum* species. **Canadian Journal of Microbiology** 1989;35:960-967.

NECKERS L, TATU U. Molecular chaperones in pathogen virulence: emerging new targets for therapy. **Cell Host Microbe**. 2008;4:519-527.

NESATY, V. J.; SUTER, M. J. F. Analysis of environmental stress response on the proteome level. **Mass spectrometry reviews**, v. 27, n. 6, p. 556-574, 2008.

NEVES, A. C. *et al.* **Cultivo do feijão-caupi em sistema agrícola familiar**. Teresina: Embrapa, 2011 (CIRCULAR TÉCNICA). NOGUEIRA, F. C. S.; GONÇALVES, E. F.; JEREISSATI, E. S.; SANTOS, M.; COSTA, J. H.; OLIVEIRA-NETO, O. B.; SOARES, A. A.; DOMONT, G. B.; CAMPOS, F. A. P. Proteome analysis of embryogenic cell suspensions of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Plant Cell Reports**, v.26, p. 1333-1343, 2007. NZIENGUI H, BOUHIDEL K, PILLON D, DER C, MARTY F, SCHOEFS B. Reticulon-like

proteins in *Arabidopsis thaliana*: Structural organization and ER localization. **FEBS Letts** 2007;581:3356-62.

NZIENGUI H, SCHOEFS B. Functions of reticulons in plants: what we can learn from animals and yeasts. **Cell Mol Life Sci** 2009;66:584-95.

OLD, W. M.; MEYER-ARENDT, K.; AVELINE-WOLF, L.; PIERCE, K. G.; MENDOZA, A.; SEVINSKY, J. R.; AHN, N. G. Comparison of label-free methods for quantifying human proteins by shotgun proteomics. **Molecular & cellular proteomics**, v. 4, n. 10, p. 1487-1502, 2005.

OLESINSKI AA, ALMON E, NAVOT N, PERL A, GALUN E, LUCAS WJ, WOLF S. Tissue specific expression of the tobacco mosaic virus movement protein in transgenic potato plants alters plasmodesmal function and carbohydrate partitioning. **Plant Physiology**. 1996;111:541-550.

OLIVEIRA, C. R. R.; FREIRE FILHO, F. R.; NOGUEIRA, M. S. R.; BARROS, G. B.; EIRAS, M.; RIBEIRO, V. Q.; LOPES, A. C. de A. Obtenção de plantas de feijão-caupi resistentes ao *Cowpea severe mosaic virus* e ao *Cowpea aphid-borne mosaic virus*. **Bragantia**, v. 71, p.59-66, 2012.

ONOFRE, A. V. C. **Diversidade genética e avaliação de genótipos de feijão-caupi contrastantes para resistência aos estresses bióticos e abióticos com marcadores SSR, DAF e ISSR**. 79 p. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.

OROKA, F. O.; OMEREGIE, A. U. Competition in a rice - cowpea intercrop as affected by nitrogen fertilizer and plant population. **Scientia Agricola**, v. 64, n. 6, p. 621-629, 2007.

OZTURK, Z. N.; TALAME, V.; DEYHOLOS, M.; MICHALOWSKI, C. B.; GALBRAITH, D. W.; GOZUKIRMIZI, N.; TUBEROSA, R.; BOHNERT, H. J. Monitoring large-scale changes in transcript abundance in drought- and salt-stressed barley. **Plant Molecular Biology**, v. 48, n. 5-6, p.551-73, 2002.

PADULOSI, S.; NG, N. Q. Origin taxonomy, and morphology of *Vigna unguiculata* (L.) Walp.).In: SINGH, B .B. et al. (eds). **Advances in Cowpea Research**. Tsukuba; IITA JIRCAS, 1997. p. 1- 12.

PATTERSON SD, AEBERSOLD RH. Proteomics: the first decade and beyond. **Nature genetics**. New York. 2003;33:311-323.

PINEDA M, SAJNANI C, BARÓN M. Changes induced by the Pepper mild mottle tobamovirus on the chloroplast proteome of *Nicotiana benthamiana*. **Photosynth. Res.** 2010;103:31-45.

PARK, O. K. Proteomic studies in plants. **Journal Biochemistry & Molecular Biology**, v. 37, n. 1,p. 133–138, 2004.

PENNINGTON, S. R.; DUNN, M. J. **Proteomics: from protein sequence to function**.

Garland Science, 2001.

PROKHNEVSKY AI, PEREMYSLOV VV, NAPULI AJ, DOLJA VV. Interaction between long-distance transport factor and Hsp70-related movement protein of Beet yellows virus. **J Virol** 2002;76:11003-11011.

QIANG, L.; NANMING, Z.; YAMAGUCH-SINOZAKI, K.; SHINOZKI, K. Regulatory role of DREB transcription factors in plant drought, salt and cold tolerance. **Chinese Science Bulletin**, v. 45, n. 11, p. 970- 975, 2000.

QUINTELA, E. D.; et al. **Principais pragas do caupi no Brasil**. Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, 1991, 38 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 35).

RABILLOUD, T. Solubilization of proteins for electrophoretic analyses. **Electrophoresis**, v. 17, n. 5, p. 813-829, 1996.

RAHOUTEI J, GARCÍA-LU UE I, BAR NM. Inhibition of photosynthesis by viral infection: Effect on PSII structure and function. **Physiologia Plantarum** 2000;110:286-292.

RAMEGOWDA V, MYSORE KS, KUMAR MS. Virus-induced gene silencing is a versatile tool for unraveling the functional relevance of multiple abiotic-stress-responsive genes in crop plants. **Frontiers in Plant Science**. 2014; 5: 1-12.

REINERO A, BEACHY RN. Reduced photosystem II activity and accumulation of viral coat protein in chloroplasts of leaves infected with Tobacco mosaic virus. **Plant Physiol** 1989;89:111-116.

REID, G. E.; MCLUCKEY, S. A. ‘Top down’protein characterization via tandem mass spectrometry. **Journal of mass spectrometry**, v. 37, n. 7, p. 663-675, 2002.

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

ROCHA, M. de M. *et al.* Adaptabilidade e estabilidade produtiva de genótipos de feijão-caupi de porte semiereto na região Nordeste do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p. 1283-1289, 2007.

ROSE, J. K. C.; BASHIR, S.; GIOVANNONI, J. J.; JAHN, M. M.; SARAVANAN, R. S. Tackling the plant proteome: Practical approaches, hurdles and experimental tools. **Plant Journal**, v. 39, p. 715-733, 2004

RYBICHI, E. P.; PIETERSEN, G. Plant virus disease problems in the developing world. **Virus research**, v. 53, p. 127-175, 1999.

SAHNOUN, I.; DEHAIS, P.; VAN MONTAGU, M.; ROSSIGNOL, M.; ROUZE, P.; PPMdb: a plant plasma membrane database, **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 78, p. 235–246, 2000.

SAHNOUN, I.; DEHAIS, P.; VAN MONTAGU, M.; ROSSIGNOL, M.; ROUZE, P., PPMdb: a plant plasma membrane database, **Journal of Biotechnology**, v. 78, p. 235–246,

2000.

SALVATO, F.; CARVALHO, M. C. D. C. G. Methods and strategies in proteomics and their applications in plants. **Ciência Rural**, v. 40, n. 3, p. 727-734, 2010.

SANTOS, A. A. Transmissão de vírus através de sementes de Caupi (*Vigna unguiculata*) no Estado do Piauí. **Fitopatologia Brasileira**, v. 12, p. 90-91, 1987.

SANTOS, J. H. R.; QUINDERÉ, M. A. W. Distribuição, importância e manejo das pragas do caupi no Brasil. In: ARAÚJO, J. P. P.; WATT, E. E. (org.). **O Caupi no Brasil**. Brasília: EMBRAPA, 1988. p. 619 – 621.

SANTOS, F. M. L. et al. Infecções es simples e múltiplas de vírus em caupi no Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, p. 518-522, 1999.

SANZ, M. J.; SANCHEZ, G.; CALATAYUD, V.; GALLEGU, M. T.; CERVERO, J. L. A contaminación atmosférica de los bosques: Guía para la identificación de los daños visibles causados por ozono. **Ministerio Del Medio Ambiente**, Madrid, pp. 161. 2002.

SCHARTE J, SCHOEN H, WEIS E. Photosynthesis and carbohydrate metabolism in tobacco leaves during an incompatible interaction with *Phytophthora nicotianae*. **Plant Cell Environ.** 2005;28:1421-1435.

SCHELER C, DURNER J, ASTIER J. Nitric oxide and reactive oxygen species in plant biotic interactions. **Current Opinion in Plant Biology** 2014;16:534-539.

SCHREIBER U, BILGER W, NEUBAUER C. **Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis**. Ecophys. Photo. 1994. in: E. D. Schulze, M.M.Caldwell, editors. Berlin: Springer 1994:49-70.

SCHENK, M. F.; CORDEWENER, J. H. G.; AMERICA, A. H. P.; PETERS, J.; SMULDERS, M. J. M.; GILISSEN, L. J. W. J. Proteomic analysis of the major birch allergen Bet v I predicts allergenicity for 15 birch species. **Journal of Proteomics**, v. 74, p. 1290-1300, 2011.

SCHENK, M. F.; CORDEWENER, J. H. G.; AMERICA, A. H. P.; PETERS, J.; SMULDERS, M. J. M.; GILISSEN, L. J. W. J. Proteomic analysis of the major birch allergen Bet v I predicts allergenicity for 15 birch species. **Journal of Proteomics**, v. 74, p. 1290-1300, 2011.

SHIMURA H, PANTALEO V, ISHIHARA T, MYOJO N, INABA J, SUEDA K, BURGYÁN J, MASUTA C. A Viral Satellite RNA Induces Yellow Symptoms on Tobacco by Targeting a Gene Involved in Chlorophyll Biosynthesis using the RNA Silencing Machinery. **PLoS Pathog** 2011;7:1-12.

SULLIVAN CS, Pipas JM. The virus-chaperone connection. **Virology** 2001;287:1-8.

SILVA, P. H. S.; CARNEIRO, J. S. Pragas do feijão caupi e seu controle. In: CARDOSO, M. J. **A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: EMBRAPA MEIO-NORTE, 2000. 264p. (EMBRAPA MEIO-NORTE. Circular Técnica, 28).

SILVA, K. J. D. **Estatística da Produção de feijão caupi**. 2009. Disponível em: <http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?id=34241>. Acesso em: 16 jun. 2016.

SILVA, S. M. S., FREIRE FILHO, F. R. 1999. **Proteínas de feijão Caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] caracterização e aplicação nutricional**. Embrapa Documentos Número 44, Teresina, PI.

SHALITIN D, WOLF S. Cucumber Mosaic Virus Infection Affects Sugar Transport in Melon Plants. *Plant Physiology* 2000;123:597-604

SOARES, M. A. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Tropica - Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 1, p. 19, 2007.

STASKAWICZ, B.; AUSUBEL, F.; BAKER, B.; ELLIS, J.; JONES, J. Molecular genetics of plant disease resistance. **Science**, v. 268, p. 661-667, 1995.

SULTAN, S. E. Phenotypic plasticity in plants: a case study in ecological development. **Evolution & Development**, v. 5, n. 1, p. 25-33, 2003.

SORATTO, R. S. *et al.* Espaçamento e população de plantas de mamoneira de porte baixo para colheita mecanizada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 245-253, 2011.

STICHER, L.; MAUCH MANI, B.; METRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 35, p. 235-270, 1997.

TAO, D.; ZHANG, L.; SHAN, Y.; LIANG, Z.; ZHANG, Y. Recent advances in micro-scale and nano-scale high-performance liquid-phase chromatography for proteome research. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 399, n. 1, p. 229-241, 2011.

TAIWO, M. A.; AKINJOGUNLA, J. Cowpea viruses: Quantitative and qualitative effects of single and mixed viral infections. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, p. 1749-1756, 2006.

TÁVORA, F. J. A. F. *et al.* Densidade de plantio na cultura do feijão-de-corda irrigada. II. Componentes de produção e rendimento de grãos. **Ciência Agronômica**, v. 31, p. 20-26, 2000.

TÁVORA, F. J. A. F.; NOGUEIRA, S. L.; PINHO, J. L. N. de. Arranjo e população de plantas em cultivares de feijão-de-corda com diferentes características de copa. **Revista Ciência Agronômica**, v. 32, p. 69-77, 2001.

TECSI LI, MAULE AJ, SMITH AM, LEEGOOD RC. Complex, localized changes in CO<sub>2</sub> assimilation and starch content associated with the susceptible interaction between cucumber mosaic virus and a cucurbit host. **Plant J.** 1994;5:837-847.

TECSI LI, MAULE AJ, SMITH AM, LEEGOOD RC. A spatial analysis of physiological changes associated with infection of cotyledons of marrow plants with cucumber mosaic virus. **Plant Physiol.** 1996;111:975-985.

TEIXEIRA, N. J. P. et al. Produção, componentes de produção e suas inter-relações em genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) de porte ereto. **Revista Ceres**, v. 54, n. 314, p. 374- 382, 2007.

THAKUR, S. S.; GEIGER, T.; CHATTERJEE, B.; BANDILLA, P.; FROHLICH, F.; COX, J.; MANN, M. Deep and highly sensitive proteome coverage by LC- MS/MS without pre fractionation. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 10, 2011.

THIELLEMENT, H.; BAHRMAN, N.; DAMERVAL, C.; PLOMION, C.; ROSSIGNOL, M.; SANTONI, V.; DE VIENNE, D.; ZIVY, M. Proteomics for genetic and physiological studies in plants. **Electrophoresis**, v. 20, p. 2013–2026, 1999.

THIELLEMENT, H.; BAHRMAN, N.; DAMERVAL, C.; PLOMION, C.; ROSSIGNOL, M.; SANTONI, V.; DE VIENNE, D.; ZIVY, M. Proteomics for genetic and physiological studies in plants. **Electrophoresis**, Weinheim, v. 20, p. 2013–2026, 1999.

THOMAS C, THOLL S, MOES D, DIETERLE M, PAPUGA J, MOREAU F, STEINMETZ A. Actin Bundling in Plants. **Cell Mot Cyt**. 2009;66:940-957

TIMKO, M. P.; EHLERS, J. D.; ROBERTS, P. A. **Cowpea**. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2007. p. 49-67.

TOURINO, M. C. C. *et al.* Espaçamento, densidade e uniformidade de semeadura na produtividade e características agrônômicas da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 8, p. 1071-1077, 2002.

TOUZET, P.; DE VIENNE, D.; HUET, J. C.; OUALI, C.; BOUET, F.; ZIVY, M. Amino acid analysis of proteins separated by two proteins: an updated protocol and implications for a dimensional electrophoresis in maize: isoform detection and functional analysis of the genome. **Electrophoresis** 16, function identification. **Electrophoresis**, v. 17, p. 1393–1401, 1996a.

VALADARES, R. de N. et al. Adaptabilidade e estabilidade fenotípica em genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) de porte ereto/ semi-ereto nas mesorregiões leste e sul maranhense. **Agropecuária Científica no Semi-árido**, v. 6, p. 21-27, 2010.

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

VAN REGENMORTEL, M. H. V.; FAUQUET, C. M.; BISHOP, D. H. L.; CASTENS, E.; ESTES, M. K.; LEMON, S.; MANILOFF, J.; MAYO, J. A.; MCGEOCH, D. J.; PRINGLE, C. R.; WICKNER, R. (eds.) Virus Taxonomy. Seventh Report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses. **Academic Press: New York**, 2000. 1121p.

VAN WIJK, K. Challenges and prospects of plant proteomics. **Plant Physiology**, v. 126, p. 501- 508, 2001.

VICENTE, M.; DE FAZIO, G. Quimioterapia de fitoviroses. In: Primeira Conferência Internacional Sobre O impacto das doenças virais no desenvolvimento dos países Latino americanos e da região do Caribe. Rio de Janeiro, RJ. **Anais [...]** v. 1, p. 298-307, 1982.

VILARINHO, A. A. et al. **BRS Xiquexique: Cultivar de feijão-caupi rica em ferro e zinco para cultivo em Roraima.** 2008. Disponível em: [http://www.cpatu.embrapa.br/publicacoes\\_online](http://www.cpatu.embrapa.br/publicacoes_online). Acesso em: 19 jan. 2012.

VILLETH, G. R.; RES, F. B.; TONIETTO, A.; HUERGO, L.; De SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O.; MEHTA, A. Comparative proteome analysis of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in the interaction with the susceptible and the resistant cultivars of *Brassica oleracea*. **FEMS microbiology letters**, v. 298, n. 2, p. 260-266, 2009.

WANDER, A. E. Introdução e importância econômica. In: COBUCCI, T.; BIAVA, M. (Ed.). Cultivo do feijão irrigado na Região Noroeste de Minas Gerais. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão; Campinas: Embrapa Informática Agropecuária, 2005. (Embrapa Arroz e Feijão. Sistemas de produção, 5).

WILKINS, M. R.; PASQUALI, C.; APPEL, R. D.; OU, K.; GOLAZ, O.; SANCHEZ, J. C.; YAN, J. X.; GOOLEY, A. S.; HUGHES, G.; HUMPHERY-SMITH, I.; WILLIAMS, K. L.; HOCHSTRASSER, D. F. From proteins to proteomes: Large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. **Nature Biotechnology**, v. 14, 61-65, 1996.

WILMARTH, P. A.; RIVIERE, M. A.; DAVID, L. L. Techniques for accurate protein identification in shotgun proteomic studies of human, mouse, bovine, and chicken lenses. **Journal of Ocular Biology, Diseases, and Informatics**, v. 2, n. 4, p. 223-234, 2009.

XIONG, L.; SCHUMAKER, S. K.; ZHU, J. K. Cell Signaling during Cold, Drought, and Salt Stress. **The Plant Cell**, v. 14, p. 165-183, 2002.

YANG H, HUANG Y, ZHI H, YU D. Proteomics-based analysis of novel genes involved in response toward soybean mosaic virus infection. **Mol Biol Rep** 2011;38:511-521.

YAO, X.; FREAS, A.; RAMIREZ, J.; DEMIREV, P. A.; FENSELAU, C. Proteolytic 18O labeling for comparative proteomics: model studies with two serotypes of adenovirus. **Analytical chemistry**, v. 73, n. 13, p. 2836-2842, 2001.

YOKOYAMA, L. P. Cultivo do Feijoeiro comum: importância econômica. Disponível em: <http://sistemasdeproduca.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/importancia.html>. Acesso: 15 abril 2016.

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

ZETTLER, F. W.; EVANS, I. R. H. Lack of cowpea mosaic virus in Florida host range and incidence in certified cowpea seed. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 85, p. 99-101, 1972.

ZHOU, H.; RANISH, J. A.; WATTS, J. D.; AEBERSOLD, R. Quantitative proteome analysis by solid-phase isotope tagging and mass spectrometry. **Nature biotechnology**, v. 20, n. 5, p. 512-515, 2002.

WANDER AE. **Introdução e importância econômica.** In: COBUCCI, T.; BIAVA, M. (Ed.).

Cultivo do feijão irrigado na Região Noroeste de Minas Gerais. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão; Campinas: Embrapa Informática Agropecuária, 2005. (Embrapa Arroz e Feijão. Sistemas de produção, 5).

WHITHAM S, QUAN S, CHANG HS, COOPER B, ESTES B, ZHU T, WANG X, HOU YM. Diverse RNA viruses elicit the expression of common sets of genes in susceptible *Arabidopsis thaliana* plants. **Plant J.** 2003;33:271-283.

## ANEXO 1- REVISTA CIÊNCIA AGRONÔMICA

### INSTRUÇÕES AOS AUTORES

**ATENÇÃO:** As normas da **Revista Ciência Agronômica** podem sofrer alterações, portanto não deixe de consultá-las antes de fazer a submissão de um artigo. Elas são válidas para todos os trabalhos submetidos neste periódico. Um modelo de formatação do artigo pode ser visto em “MODELO ARTIGO” no endereço <http://www.ccarevista.ufc.br>.

**1. POLÍTICA EDITORIAL:** A Revista Ciência Agronômica destina-se à publicação de artigos científicos e artigos técnicos que sejam originais e que não foram publicados ou submetidos a outro periódico, inerentes às áreas de Ciências Agrárias e Recursos Naturais. Os artigos poderão ser submetidos nos idiomas português, inglês ou espanhol. Se aprovado o artigo deverá ser traduzido e publicado em inglês. A RCA exige que a tradução seja feita por alguma empresa especializada. A contratação da empresa e tradução para o inglês é custeada pelos autores e quando devolverem a versão traduzida na fase de edição devem encaminhar também uma declaração da empresa responsável pelo serviço realizado. Abaixo indicamos as empresas:

- Academic-Editing-Services.com (<http://www.academic-editing-services.com/>)
- American Journal Experts (<http://www.journalexperts.com/>)
- American Manuscript Editors (<http://americanmanuscripteditors.com/>)
- Bioedit Scientific Editing (<http://www.bioedit.co.uk/>)
- BioMed Proofreading (<http://www.biomedproofreading.com>)
- Edanz (<http://www.edanzediting.com>)- Editage (<http://www.editage.com.br/>)
- Elsevier (<http://webshop.elsevier.com/languageservices/>)
- Enago (<http://www.enago.com.br/forjournal/>)
- JournalPrep (<http://www.journalprep.com>)
- Proof-Reading-Service.com (<http://www.proof-reading-service.com/pt/>)
- Publicase (<http://www.publicase.com.br/formulario.asp>)
- Queen's English (<http://www.queensenglishediting.com/>)
- Stephen Hocker ([email@stephenhocke.com.br](mailto:email@stephenhocke.com.br))
- STTA - Serviços Técnicos de Tradução e Análises (<http://stta.com.br/servicos.php>)

Os trabalhos submetidos à RCA serão avaliados preliminarmente pelo Comitê Editorial e só então serão enviados para pelo menos dois (2) revisores da área e publicados, somente, se aprovados por eles e pelo Comitê Editorial. A publicação dos artigos serão baseadas na originalidade, qualidade e mérito científico, cabendo ao Comitê Editorial a decisão final do aceite. O sigilo de identidade dos autores e revisores será mantido durante todo o processo. A administração da revista tomará o cuidado para que os revisores de cada artigo sejam, obrigatoriamente, de instituições distintas daquela de origem dos autores. O artigo que apresentar mais de seis autores não terá a sua submissão aceita pela Revista Ciência Agronômica, salvo algumas condições especiais (ver Autores). Não serão permitidas mudanças nos nomes de autores a posteriori.

**2. CUSTO DE PUBLICAÇÃO:** O custo é de R\$ 60,00 (sessenta reais) por página editorada no formato final. No ato da submissão é requerido um depósito

de R\$ 100,00 (cem reais) não reembolsáveis. Se o trabalho for rejeitado na avaliação prévia do Comitê Editorial, a taxa paga não poderá ser reutilizada para outras submissões dos autores. O comprovante de depósito ou transferência deve ser enviado ao e-mail da RCA (ccarev@ufc.br). Os depósitos ou transferências deverão ser efetuados em nome de:

**CETREDE CIENCIA AGRONOMIC**

Banco do Brasil: Agência bancária: **1702-7** - Conta corrente:

**46.375-2**

**CNPJ:07.875.818/0001-05**

As opiniões emitidas nos trabalhos são de exclusiva responsabilidade de seus autores. A Revista Ciência Agronômica reserva-se o direito de adaptar os originais visando manter a uniformidade da publicação. A RCA não mais fornece separatas ou exemplares aos autores. Na submissão online é requerida: 1. A concordância com a declaração de responsabilidade de direitos autorais; 2. Que o autor que fizer a submissão do trabalho cadastre todos os autores no sistema; 3. Identificação do autor de correspondência com endereço completo.

### **3. FORMATAÇÃO DO ARTIGO**

\* **DIGITAÇÃO:** no máximo 30 páginas digitadas em espaço duplo (exceto Tabelas), fonte Times New Roman, normal, tamanho 12, recuo do parágrafo por 1 cm. Todas as margens deverão ter 2,5 cm. As linhas devem ser numeradas de forma contínua.

\* **ESTRUTURA:** o trabalho deverá obedecer à seguinte ordem: título, título em inglês, resumo, palavras-chave, abstract, key words, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos (opcional) e referências.

\* **TÍTULO:** deve ser escrito com apenas a inicial maiúscula, em negrito e centralizado na página com no máximo 15 palavras. Como chamada de rodapé numérica, extraída do título, devem constar informações sobre a natureza do trabalho (se extraído de tese/dissertação, se pesquisa financiada, somente quando aprovado para publicação) e referências às instituições colaboradoras. Os subtítulos: Introdução, Material e métodos, Resultados e discussão, Conclusões, Agradecimentos e Referências devem ser escritos em caixa alta, em negrito e centralizados.

\* **AUTORES:** na primeira versão do artigo submetido, os nomes dos autores e a nota de rodapé deverão ser omitidos. Somente na versão final do artigo deverá conter o nome de todos os autores com identificação em nota de rodapé. Os nomes completos (sem abreviaturas) deverão vir abaixo do título, somente com a primeira letra maiúscula, um após outro, separados por vírgula e centralizados na linha. Como nota de rodapé na primeira página, deve-se indicar, de cada autor, afiliação completa (departamento, centro, instituição, cidade, estado e país), endereço eletrônico e endereço completo do autor correspondente. O autor de correspondência deve ser identificado por um "\*". Só serão aceitos artigos com mais de oito autores, quando, comprovadamente, a pesquisa tenha sido desenvolvida em regiões distintas (diferentes).

\* **RESUMO e ABSTRACT:** devem começar com estas palavras, na margem esquerda, em caixa alta e em negrito, contendo no máximo 250 palavras.

\* **PALAVRAS-CHAVE e KEY WORDS:** devem conter entre três e cinco termos para indexação. Os termos usados não devem constar no título. Cada palavra-chave e key word deve iniciar com letra maiúscula e ser seguida de ponto.

\* **INTRODUÇÃO:** deve ser compacta e objetiva contendo citações atuais que apresentem relação com o assunto abordado na pesquisa. As citações presentes na introdução devem ser empregadas para fundamentar a discussão dos resultados, criando,

assim, uma contextualização entre o estudo da arte e a discussão dos resultados. Não deve conter mais de 550 palavras.

\* **CITAÇÃO DE AUTORES NO TEXTO:** a NBR 10520/2002 estabelece as condições exigidas para a apresentação de citações em documentos técnico-científicos e acadêmicos. Nas citações, quando o sobrenome do autor, a instituição responsável ou título estiver incluído na sentença, este se apresenta em letras maiúsculas/minúsculas, e quando estiver em entre parênteses, em letras maiúsculas. Ex: Santos (2002) ou (SANTOS, 2002); com dois autores ou três autores, usar Pereira e Freitas (2002) ou (PEREIRA; FREITAS, 2002) e Cruz, Perota e Mendes (2000) ou (CRUZ; PEROTA; MENDES, 2000); com mais de três autores, usar Xavier et al. (1997) ou (XAVIER et al., 1997).

\* **VÁRIOS AUTORES CITADOS SIMULTANEAMENTE:** havendo citações indiretas de diversos documentos de vários autores mencionados simultaneamente e que expressam a mesma idéia, separam-se os autores por ponto e vírgula, em ordem alfabética, independente do ano de publicação. Ex: (FONSECA, 2007; PAIVA, 2005; SILVA, 2006).

\* **SIGLAS:** quando aparecem pela primeira vez no texto, deve-se colocar o nome por extenso, seguido da sigla entre parênteses. Ex: De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) [...].

\* **TABELAS:** devem ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na parte superior. Não usar linhas verticais. As linhas horizontais devem ser usadas para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma no final da tabela. Cada dado deve ocupar uma célula distinta. Usar espaço simples. Não usar negrito ou letra maiúscula no cabeçalho.

\* **FIGURAS:** gráficos, fotografias ou desenhos levarão a denominação geral de Figura sucedida de numeração arábica crescente e legenda na parte superior. Para a preparação dos gráficos deve-se utilizar “softwares” compatíveis com “Microsoft Windows”. As figuras devem apresentar 8,2 cm de largura, não sendo superior a 17 cm. A fonte Times New Roman, corpo 10 e não usar negrito na identificação dos eixos. A Revista Ciência Agronômica reserva-se ao direito de não aceitar tabelas e/ou figuras com o papel na forma “paisagem” ou que apresentem mais de 17 cm de largura. Tabelas e Figuras devem ser inseridas logo após a sua primeira citação. Obs. :As figuras devem ser também enviadas em

arquivos separados e com RESOLUÇÃO de no mínimo 500 dpi através do campo “Transferir Documentos Suplementares”.

\* **EQUAÇÕES:** devem ser digitadas usando o editor de equações do Word, com a fonte Times New Roman. As equações devem receber uma numeração arábica crescente. O padrão de tamanho deverá ser: Inteiro = 12 pt Subscrito/sobrescrito = 8 pt Sub- subscrito/sobrescrito = 5 pt Símbolo = 18 pt Subsímbolo = 14 pt

\* **ESTATÍSTICA:** 1. Caso tenha realizado análise de variância, apresentar o "F" e a sua significância; 2. Dados quantitativos devem ser tratados pela técnica de análise de regressão; 3. Apresentar a significância dos parâmetros da equação de regressão; 4. Dependendo do estudo (ex: função de produção), analisar os sinais associados

5. É requerido, no mínimo, quatro pontos para se efetuar o ajuste das equações de regressão. 6. Os coeficientes do modelo de regressão devem apresentar o seguinte formato:  $y = a + bx + cx^2 + \dots$ ; 7. O Grau de Liberdade do resíduo deve ser superior a 12.

\* **CONCLUSÕES:** quando escritas em mais de um parágrafo devem ser numeradas. \* **AGRADECIMENTOS:** logo após as conclusões poderão vir os agradecimentos direcionados a pessoas ou instituições, em estilo sóbrio e claro, indicando as razões pelas quais os faz.

\* **REFERÊNCIAS:** são elaboradas conforme a ABNT NBR 6023/2002. Inicia-se com a palavra REFERÊNCIAS (escrita em caixa alta, em negrito e centralizada). Devem ser digitadas em fonte tamanho 12, espaço duplo e justificadas. UM PERCENTUAL DE 60% DO TOTAL DAS REFERÊNCIAS DEVERÁ SER ORIUNDO DE PERIÓDICOS CIENTÍFICOS INDEXADOS COM DATA DE PUBLICAÇÃO INFERIOR A 10 ANOS. Não são contabilizadas neste percentual de 60% referências de livros. Não serão aceitas nas referências citações de Resumos, Anais, Comunicados Técnicos, Monografias, Dissertações e Teses. Com relação aos periódicos, é dispensada a informação do local de publicação, porém os títulos não devem ser abreviados. Recomenda-se um total de 20 a 30 referências.

#### **Alguns exemplos:**

##### **- Livro**

NEWMANN, A. L.; SNAPP, R. R. **Beef cattle**. 7. ed. New York: John Wiley, 1977. 883 p.

##### **- Capítulo de livro**

MALAVOLTA, E.; DANTAS, J. P. Nutrição e adubação do milho. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. P. **Melhoramento e produção do milho**. 2. ed.

Campinas: Fundação Cargil, 1987. cap. 13, p. 539-593.

**- Artigo de revista**

XAVIER, D. F.; CARVALHO, M. M.; BOTREL, M. A. Resposta de *Cratylia argentea* à aplicação em um solo ácido. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, n. 1, p. 14-18, 1997.

ANDRADE, E. M. et al. Mapa de vulnerabilidade da bacia do Acaraú, Ceará, à qualidade das águas de irrigação, pelo emprego do GIS. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 3, p. 280-287, 2006.

**\* UNIDADES e SÍMBOLOS:** As unidades e símbolos do Sistema Internacional adotados pela Revista Ciência Agronômica.

| Grandezas básicas         | Unidades              | Símbolos                | Exemplos                                 |
|---------------------------|-----------------------|-------------------------|------------------------------------------|
| Comprimento               | metro                 | m                       |                                          |
| Massa                     | quilograma            | kg                      |                                          |
| Tempo                     | segundo               | s                       |                                          |
| Corrente elétrica         | amper                 | A                       |                                          |
| Temperatura termodinâmica | Kelvin                | K                       |                                          |
| Quantidade de substância  | mol                   | mol                     |                                          |
| Unidades derivadas        |                       |                         |                                          |
| Velocidade                | ---                   | m s <sup>-1</sup>       | 343 m s <sup>-1</sup>                    |
| Aceleração                | ---                   | m s <sup>-2</sup>       | 9,8 m s <sup>-2</sup>                    |
| Volume                    | metro cúbico, litro   | m <sup>3</sup> , L*     | 1 m <sup>3</sup> , 1 000 L*              |
| Frequência                | Hertz                 | Hz                      | 10 Hz                                    |
| Massa específica          | ---                   | kg m <sup>-3</sup>      | 1.000 kg m <sup>-3</sup>                 |
| Força                     | newton                | N                       | 15 N                                     |
| Pressão                   | pascal                | Pa                      | 1,013.10 <sup>5</sup> Pa                 |
| Energia                   | joule                 | J                       | 4 J                                      |
| Potência                  | watt                  | W                       | 500 W                                    |
| Calor específico          | ---                   | J (kg °C) <sup>-1</sup> | 4186 J (kg °C) <sup>-1</sup>             |
| Calor latente             | ---                   | J kg <sup>-1</sup>      | 2,26. 10 <sup>6</sup> J kg <sup>-1</sup> |
| Carga elétrica            | coulomb               | C                       | 1 C                                      |
| Potencial elétrico        | volt                  | V                       | 25 V                                     |
| Resistência elétrica      | ohm                   | Ω                       | 29 Ω                                     |
| Intensidade de energia    | Watts/metros quadrado | W m <sup>-2</sup>       | 1.372 W m <sup>-2</sup>                  |
| Concentração              | mol/metro cúbico      | mol m <sup>-3</sup>     | 500 mol m <sup>-3</sup>                  |
| Condutância elétrica      | siemens               | S                       | 300 S                                    |
| Condutividade elétrica    | desiemens/metro       | dS m <sup>-1</sup>      | 5 dS m <sup>-1</sup>                     |
| Temperatura               | grau Celsius          | °C                      | 25 °C                                    |
| Ângulo                    | grau                  | °                       | 30°                                      |
| Porcentagem               | ---                   | %                       | 45%                                      |

Números mencionados em sequência devem ser separados por ponto e vírgula (;). Ex: 2,5; 4,8; 25,3.

#### 4. LISTA DE VERIFICAÇÃO - REVISTA CIÊNCIA AGRONÔMICA

Visando a maior agilidade no processo de submissão de seu artigo, o Comitê Editorial da Revista Ciência Agronômica, elaborou uma lista de verificação para que o autor possa conferir toda a formatação do manuscrito de sua autoria, ANTES de submetê-lo para publicação. A lista foi elaborada de acordo com as normas da Revista Ciência Agronômica. Respostas NEGATIVAS significam que seu artigo ainda deve ser adaptado às normas da revista e a submissão de tais artigos implicará na sua devolução e retardo na tramitação. Respostas POSITIVAS significam que seu artigo está em concordância com as normas, implicando em maior rapidez na tramitação.

##### A. Referente ao trabalho

1. O trabalho é original?
2. O trabalho representa uma contribuição científica para a área de Ciências Agrárias?
3. O trabalho está sendo enviado com exclusividade para a Revista Ciência Agronômica?

##### B. Referente à formatação

4. O trabalho pronto para ser submetido online está omitindo os nomes dos autores na versão Word?
5. O trabalho contém no máximo 30 páginas, está no formato A4, digitado em espaço duplo, incluindo as referências; fonte Times New Roman tamanho 12, incluindo títulos e subtítulos?
6. As margens foram colocadas a 2,5 cm, a numeração de páginas foi colocada na margem superior, à direita e as linhas foram numeradas de forma contínua?
7. O recuo do parágrafo de 1 cm foi definido na formatação do parágrafo? Lembre-se que a revista não aceita recuo de parágrafo usando a tecla “TAB” ou a “barra de espaço”.
8. A estrutura do trabalho está de acordo com as normas, ou seja, segue a seguinte ordem: título, título em inglês, resumo, palavras-chave, abstract, key words, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos (opcional) e referências?
9. O título contém no máximo 15 palavras?
10. O resumo e o abstract apresentam no máximo 250 palavras?
11. As palavras-chave (key words) contém entre três e cinco termos, iniciam com letra maiúscula e são seguidas de ponto?
12. A introdução contém citações atuais que apresentam relação com o assunto abordado na pesquisa e apresenta no máximo 550 palavras?
13. As citações apresentadas na introdução foram empregadas para fundamentar a discussão dos resultados?
14. As citações estão de acordo com as normas da revista?
15. As tabelas e figuras estão formatadas de acordo com as normas da revista e estão inseridas logo em seguida à sua primeira citação? Lembre-se, não é permitido usar “enter” nas células que compõem a(s) tabela(s).
16. As tabelas estão no formato retrato?
17. As figuras apresentam boa qualidade visual?
18. As unidades e símbolos utilizados no seu trabalho se encontram dentro das normas do Sistema Internacional adotado pela Revista Ciência Agronômica?
19. Os números estão separados por ponto e vírgula? As unidades estão separadas do número por um espaço? Lembre-se, não existe espaço entre o

número e o símbolo de  
%.

20. O seu trabalho apresenta entre 20 e 30 referências sendo 60% destas publicadas com menos de 10 anos em periódicos indexados?
21. Todas as referências estão citadas ao longo do texto?
22. Todas as referências citadas ao longo do texto estão corretamente descritas, conforme as normas da revista, e aparecem listadas?

### **C. Observações:**

1. Lembre-se que SE as normas da revista não forem seguidas rigorosamente, seu trabalho não irá tramitar. Portanto, é melhor retardar o envio por mais alguns dias e conferir todas as normas. A consulta de um trabalho já publicado na sua área pode  
lhe ajudar a sanar algumas dúvidas e pode servir como um modelo (acesse aos periódicos no site <http://www.ccarevista.ufc.br/busca>).
  2. Caso suas respostas sejam todas AFIRMATIVAS seu trabalho será enviado com maior segurança. Caso tenha ainda respostas NEGATIVAS, seu trabalho irá retornar retardando o processo de tramitação
- Lembre-se: A partir da segunda devolução, por irregularidade normativa, principalmente em se tratando das referências, o mesmo terá a submissão cancelada e não haverá devolução da taxa de submissão. Portanto é muito importante que os autores verifiquem cuidadosamente as normas requeridas pela Revista Ciência Agronômica.
3. Procure SEMPRE acompanhar a situação de seu trabalho pela página da revista (<http://ccarevista.ufc.br>) no sistema online de gerenciamento de artigos.
  4. Esta lista de verificação não substitui a revisão técnica da revista, a qual todos os artigos enviados serão submetidos.

## ANEXO 2 - PESQUISA AGROPECUÁRIA PERNAMBUCANA



### INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Revista mais recente: 12 de dezembro de 2012

A revista *Pesquisa Agropecuária Pernambucana* - PAP é editada pelo Instituto Agronômico de Pernambuco - IPA nos formatos eletrônico e impresso e destina-se à divulgação de trabalhos técnico-científicos originais e inéditos, notas científicas e artigos de revisão (a convite), elaborados em português, inglês e espanhol, oriundos de pesquisas de interesse agropecuário e da extensão rural.

#### Política Editorial

Os trabalhos enviados à PAP não podem ser publicados ou submetidos à publicação em outra revista simultaneamente. O conteúdo dos artigos e os conceitos apresentados nesta revista são de exclusiva responsabilidade dos respectivos autores. A eventual citação de produtos e marcas comerciais não significa recomendação para utilização por parte da PAP ou do IPA.

Os trabalhos submetidos à publicação são avaliados inicialmente pelos editores que observam se os manuscritos se enquadram no escopo da revista e apresentam mérito para publicação. Trabalhos que não atendam às "Instruções aos Autores" serão devolvidos para nova submissão. Após esta fase inicial, o trabalho é encaminhado para no mínimo dois revisores especialistas.

O parecer final é encaminhado aos autores, com as indicações de correções e, sendo o caso, a necessidade de submissão de nova versão. Os autores devem apresentar juntamente com a nova versão do trabalho as justificativas, caso discordem das correções, e as respostas a possíveis indagações dos editores e revisores. Uma vez aceite, o trabalho é encaminhado para revisão gramatical e diagramação, o texto é submetido a correções finais pelos autores e pelo comitê editorial.

Os manuscritos estão sujeitos a alterações no texto e nas figuras para que sejam legíveis e claros e para que os documentos estejam em conformidade com o estilo da revista. Os autores recebem as provas dos artigos aceitos e serão bem-vindos a discutir as mudanças sugeridas. Entretanto a PAP se reserva o direito de tomar a decisão final sobre questões de estilo e de tamanho das figuras.

Por fim os editores se reservam o direito de rejeitar um artigo, mesmo depois de aceite, se ficar evidente que há problemas graves com o conteúdo científico ou com violação das políticas de publicação.

#### Ahead of Print

A revista PAP trabalha no sistema *Ahead of Print*, onde os artigos são publicados on-line antes da publicação impressa, beneficiando os autores com uma data de publicação anterior e permitindo aos nossos leitores o acesso a artigos aceitos antes da versão impressa. Os trabalhos publicados on-line são

definitivos e recebem o identificador de objetos digitais, DOI, que pode ser usado para referenciar o artigo antes da publicação do número completo.

#### Tipos de Contribuições

Os textos enviados para a PAP deverão apresentar características que permitam enquadrá-los em uma das seguintes seções:

- *Artigos Originais*: Trabalhos oriundos de pesquisas originais.
- *Artigos de Revisão*: análises críticas sobre temas atuais. Estes são publicados a convite do editor.
- *Notas Científicas*: breves comunicações, cuja publicação imediata é justificada, por se tratar de fato inédito e de importância, mas com volume insuficiente para constituir um artigo científico.

#### Preparo dos Originais

A submissão dos manuscritos será exclusivamente pelo portal da revista no endereço <http://www.ipa.br/pap>, sendo preenchido apenas pelo autor correspondente que se responsabilizará pelo artigo em nome dos demais autores.

Os artigos oriundos de pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.

O manuscrito deve ser apresentado em editor de texto compatível com o formato *Ace* (Word), em folha A4, margens de 2,5 cm, páginas e linhas numeradas, espaçamento duplo e fonte Times New Roman em tamanho 12. As principais divisões do texto [Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos (quando houver) e Referências] devem estar em maiúsculo e negrito. Notas científicas não apresentam as divisões mencionadas. Para artigos e revisões o tamanho máximo é de 20 páginas e para as notas científicas até 10 páginas, incluindo tabelas e figuras.

O artigo deve ser submetido ao editor pelo sistema online incluindo:

1. Folha de rosto em arquivo Word contendo:

- a. Título sintético e preciso, com até 15 palavras, refletindo o conteúdo do trabalho e não deve ter subtítulo, abreviações, fórmulas ou símbolos.

- b. Nome completo do autor e dos coautores separados por vírgula, e somente a primeira letra do nome e dos sobrenomes deve ser maiúscula. Estes devem estar na ordem em que aparecerão no trabalho final e contendo numeração única ao final do último sobrenome referenciando a filiação institucional de cada um dos autores.
  - c. A filiação institucional de cada autor deve estar numerada de acordo com o item anterior e deve conter o nome do laboratório ou do departamento, nome da instituição, cidade, estado e país.
  - d. Bolsistas de órgãos de fomento devem indicar o tipo de bolsa e a instituição como filiação.
  - e. Endereço completo do autor, incluindo endereço para correspondência, e-mail, telefone e fax.
2. Manuscrito em arquivo Word como especificado acima, contendo:
- a. Título igual ao apresentado na folha de rosto, e título em inglês com tradução fiel do título no idioma do artigo.
  - b. Resumo com no máximo 250 palavras para artigos e revistas e 150 palavras para notas científicas, resumo no idioma do artigo e *abstract* em inglês com tradução fiel do resumo.
  - c. Palavras-chave no idioma do artigo e *key words* em inglês, mínimo de 3 e máximo de 6 palavras chave, separadas por vírgula e não incluindo palavras do título.
  - d. As citações devem ser apresentadas conforme norma da ABNT usando o sistema autor-data. Quando houver mais de três autores, deve ser citado o primeiro seguido da expressão "et al.". Citações com menos de três linhas devem estar contidas entre aspas duplas, e citações com mais de três linhas devem ser destacadas com recuo no texto. Não são aceitas citações de dados não publicados, comunicação pessoal, resumo e publicações no prelo.
  - e. As referências bibliográficas devem seguir o padrão ABNT sem modificações, sendo apresentadas em ordem alfabética dos nomes dos autores. Quando houver mais de três autores, apresentar o primeiro nome, seguido da expressão "et al.". Exemplos ao final destas instruções.
  - f. Não deverá existir no texto palavras em negrito.
  - g. As grandezas devem ser expressas no Sistema Internacional (SI) e a terminologia científica deve seguir as convenções internacionais.
3. Tabelas e figuras:
- a. As figuras, na forma de gráficos, devem ser apresentadas em *Excel (.xls)* ou *Word (.doc)*.
  - b. As figuras, como fotografias, imagens, desenhos devem ser escaneadas com resolução de 300 dpi em formato *TIFF* e

enviadas separadamente pelo portal da revista indicando no nome do arquivo o sobrenome do autor e número da figura (ex: sobrenome\_figura1.tif).

- c. As figuras devem ser enviadas pelos autores nos tamanhos 9, 12 ou 18 cm de largura, não devendo apresentar bordas e as curvas dos gráficos com espessura de 0,5 pt.
- d. As tabelas devem ser apresentadas em Word, em páginas separadas, somente com linhas horizontais, seguindo o padrão de fonte e tamanho do texto.
- e. Tabelas e gráficos coloridos devem ser evitados, e considerados como último recurso pelos autores.

#### Exemplos de referências bibliográficas:

- **Livros**  
KONINKER, H. *Soil physics*. 2nd ed. New York: MacGraw Hill, 1969. 224 p.
- **Capítulos de Livros**  
WARWICK, D. R. N.; LEAL, E. C. Doenças do coqueiro. In: FERREIRA, J. M. S.; FONTES, H. R. (Eds.). *Produção integrada de coco: identificação de pragas, doenças e desordens nutricionais e fisiológicas*. Aracaju: Empresa Tabuleiros Costeiros, 2006. p. 71-80.
- **Artigos de periódicos**  
COSTA, A. F.; MIRANDA, P.; ARAÚJO, A. D. *Blaisevillea rhomboides* Cass., planta nativa hospedeira de *Bemisia tabaci*, na Agraria de Pernambuco, Brasil. *Pesquisa Agropecuária Pernambucana*, Recife, v. 3, n. 2, p. 209-213, 1979.
- **Teses e dissertações**  
BLANCO, R. F. *Tolerância de pepino enervado à salinidade em ambiente protegido e controle da salinização do solo*. 1999. 104 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.
- **Eventos**  
RIZZARDI, M. A. Conceituações e terminologias sobre rotação de culturas e adubação verde. In: REUNIÃO CENTRO-SUL DE ADUBAÇÃO VERDE E ROTAÇÃO DE CULTURAS, 4., 1993, Passo Fundo. *Anais... Passo Fundo: EMBRAPA-CNPQ*, 1994. p. 28-33.
- **Fontes eletrônicas**  
HOLMOREN, P. K.; HOLMGRE, N. H. *Index herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff*. Botanical Garden, 1998. Disponível em: <<http://www.sciweb.nybg.org/sciweb2/IndexHerbariorum.asp>>. Acesso em: 25 jul. 2011.



Instituto Agrobiológico de Pernambuco - IPA  
Av. Gen. San Martin, 1371 - Bonfá  
Recife, PE - Brasil, 50161-900  
Telefones: (81) 31 84-7355 / 31 84-7325  
Fax: (81) 31 84-7355  
E-mail: revista.pap@ipa.br  
Homepage: [www.ipa.br/pap](http://www.ipa.br/pap)

### ANEXO 3- NORMAS REVISTA JOURNAL OF PROTEOMICS

#### **Article Structure**

Original articles are usually divided into the sections Introduction, Materials and methods, Results, Discussion and Conclusions:

#### **Abstract**

The Abstract should describe in a single paragraph the findings of the study, and should be comprehensible to readers before they have read the paper. Non-standard abbreviations and reference citations should be avoided.

#### **Significance**

Starting January 2013, manuscripts submitted to Journal of Proteomics must include a paragraph entitled "Significance" detailing the biological relevance of the reported research or technological innovation. Authors shortly but realistically state how the paper impacts its field of research (please consult Calvete JJ (2012) **Updating JPROT's publication standards for large-scale proteomic studies: towards hypothesis-driven interpretation of predictive biological models.** J Proteomics 76, 1-2).

#### **Introduction**

This is a short section in which the authors should state the reasons for performing the work, with brief reference to relevant previous work.

#### **Material and methods**

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

#### **Results**

Results should be clear and concise.

#### **Discussions**

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

#### **Conclusions**

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

*Technical reports, News & Views, Letters to the Editor:* These types of papers are not divided into sections after the summary, except for the reference list. The first paragraph serves as an introduction; acknowledgments are added as a final paragraph before the reference list.

*Tutorials* are a combination of article and slides. Specific instructions are provided upon invitation. Authors are encouraged to submit *Author Vitae* at first submission. Please include in the manuscript a short (maximum 100 words) biography of each author, along with a passport-type photograph accompanying the other figures.

#### **Experimental design data analysis for 2-D PAGE and MS-based experiments:**

The experimental design must be provided and must include details of the number of biological and analytical replicates. Only one biological/analytical replicate will not be acceptable. In clinical studies, it is highly desirable that a power analysis predicting the appropriate sample size for subsequent statistical analysis of the data is carried out.

AUTHOR INFORMATION PACK 3 Feb 2017 [www.elsevier.com/locate/jprote](http://www.elsevier.com/locate/jprote) 10

For expression analysis studies, summary statistics (mean, standard deviation) must be provided and results of statistical analysis must be shown. Reporting fold differences alone is not acceptable. For comparative proteomics multivariate analysis of the variance should be used (Please consult: Valledor, L., Jorin, JV (2010). **Back to the basics: Maximizing the information obtained by quantitative two dimensional gel electrophoresis analyses by an appropriate experimental design and statistical analyses**. J. Proteomics 74, 1-18).

Proper terminology should be used. "Protein species" or "Gene product" are preferred terms when referring to "isoforms" and "allelic variants", respectively, (please consult Jungblut et al. The speciation of the proteome. Chemistry Central Journal 2008; 2: 16, and Schlüter et al. Finding one's way in proteomics: a protein species nomenclature. Chemistry Central Journal 2009; 3: 11). Terms, such as "differences in protein expression" and "induction/repression" should be avoided, since this terminology relates to gene regulation, and quantitative proteomics deals with the measure of differential abundances of spots (2DE) or peptide ions (LC-MS/MS).

Authors must report the following: methods of data normalization, transformation, missing value handling, the statistical tests used, the degrees of freedom and the statistical package or program used. Where biologically important differences in protein (gene) expression are reported, confirmatory data (e.g. from Western blot, RT-PCR analysis, etc.) are desirable. For biomarker discovery/validation studies, the sensitivity and specificity of the biomarker(s) should be provided wherever possible. It is desirable that receiver operator characteristic (ROC) curves and areas under the curves are given. The method(s) used to generate the mass spectrometry data must be described. The name and version of the program used for database searching, the values of critical search parameters (e.g. the mass over charge ( $m/z$ ) and the charge ( $z$ ) of the precursor ion, fragment mass tolerance, cleavage rules used, allowance for number of missed cleavages and modifications) and the name and version of the database(s) searched must be provided. For each protein identified, measures of certainty (e.g. p-values) must be provided. For MS/MS, the number of peptides used to identify a protein must be given as well as the sequence and charge state of each peptide. If new software or bioinformatic tool are employed or described, these should be made available (free or shareware) at least for reviewing purposes.

Identification of proteins based solely on mass fingerprinting will be considered only if the sequence of the genome of the organism under study is known. For peptide mass fingerprinting, the number of peptides that match the sequence, the number of unmatched peaks, and the total percent of sequence coverage must be stated.

Identification of proteins from organisms with unknown genome sequence will be accepted only if MS/MS- derived peptide sequence data have been used for database searching or BLAST analysis.

The score for the highest ranked hit to an homologous, orthologous, or paralogous protein should be indicated.

For experiments with large MS/MS data sets, estimates of the false positive rates are required (e.g. through searching randomized or reversed sequence databases). This information should be provided as supporting information. Where post-translational modifications are reported, the methods used to discover the modification must be described. The modification should be mapped to amino acid(s) by fragmentation analysis, but reported as ambiguous if mapping to a single amino acid is not possible. For isobaric modifications, evidence for assigning a specific modification must be provided and the spectra included as supporting information. Where protein sequence isoforms are reported, the peptide sequence that matches the unique amino acid sequence of a particular isoform must be provided. Fragmentation analysis of the appropriate peptides should be described.

#### *Graphical abstract*

A Graphical abstract is mandatory for this journal. It should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership online. Authors must provide images that clearly represent the work described in the article. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: please provide an image with a minimum of  $531 \times 1328$  pixels ( $h \times w$ ) or proportionally more. The image should

be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view Example Graphical Abstracts on our information site.

Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images also in accordance with all technical requirements: Illustration Service.

AUTHOR INFORMATION PACK 3 Feb 2017 [www.elsevier.com/locate/jprot](http://www.elsevier.com/locate/jprot) 11 *Highlights*  
Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view example Highlights on our information site.

#### *Formatting of funding sources*

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding. If no funding has been provided for the research, please include the following sentence: This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

#### *General*

##### *1 points*

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Save text in illustrations as "graphics" or enclose the font.
- Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times, Symbol.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Produce images near to the desired size of the printed version.
- Submit each figure as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

**You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.**

#### *Formats*

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please "save as" or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as "graphics".

TIFF: color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi. TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required. DOC, XLS or PPT: If your electronic artwork is created in any of these Microsoft Office applications please supply "as is".

#### **Please do not:**

- Supply embedded graphics in your wordprocessor (spreadsheet, presentation) document;
- Supply files that are optimised for screen use (like GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;

- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

#### *Figure captions*

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

AUTHOR INFORMATION PACK 3 Feb 2017 [www.elsevier.com/locate/jprot](http://www.elsevier.com/locate/jprot) 12

#### *Color artwork*

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF) or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) in addition to color reproduction in print. Further information on the preparation of electronic artwork.

#### **Tables**

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

The numerical system of references should be used. References in the text should be cited by numbers in square brackets in the order of their citation.

References are listed together in their order of appearance in a separate section at the end of the text under the heading References. All references should be numbered consecutively. References to journals should contain initials and names of all authors, article title, abbreviation of the name of the journal according to the List of Serial Title World Abbreviations (International Series Data System, 20, rue Bachaumont, 75002 Paris, France. ISBN 2-904938-02-8), year of publication, volume number, and page numbers. References to books should also include the title (of series and volumes), initials and names of the editor(s), the publisher and place of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

[1] Resing KA, Ahn NG. Proteomics strategies for protein identification. *FEBS Letters* 2005;579:885-9.

Reference to a book:

[2] Rehm H. *Protein Biochemistry and Proteomics*. San Diego: Academic Press/Elsevier Inc; 2006.

Reference to a chapter in an edited book or book series:

[3] Morgan JW, Hettick JM, Russell DH. Peptide sequencing by MALDI 193-nm photodissociation TOFMS. In: Burlingame AL, editor. *Methods in Enzymology*, vol 402: *Biological Mass Spectrometry*. San Diego: Academic Press/Elsevier Inc; 2005, p.186-209.

Reference to a paper as "in press" implies that it has been accepted for publication. Evidence (e.g., a photocopy of the note of acceptance from the journal concerned) should accompany the submitted typescript. Papers that are "in press" should be included as a number in the text. Other papers submitted before or simultaneously with the paper in question should be included as a number in the text and in the References section, stating the name of the journal. Copies of papers that are submitted elsewhere should be provided for inspection by the Editors. Omission of this information will delay publication and may lead to redating of a submitted manuscript. Papers presented at scientific meetings that are not available in published form should not be cited as references in the References section.

Unpublished results should not be listed in the References section. In the text they are mentioned as follows: "(Tervoort MV and Glimcher J, unpublished data)". When unpublished results are cited, the data should be provided for the Editors' information when essential for proper evaluation, or if requested.

A personal communication should be mentioned in the text as follows: "(Tervoort MV, personal

communication)". Authors should not make unauthorized use of personal communications. Personal communications are not to be included in the Reference section.

AUTHOR INFORMATION PACK 3 Feb 2017 [www.elsevier.com/locate/jprot](http://www.elsevier.com/locate/jprot) 13

#### *Data references*

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

#### *Reference management software*

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley and Zotero, as well as EndNote. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style.

If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/journal-of-proteomics>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plugins for Microsoft Word or LibreOffice.

#### *Reference style*

**Text:** Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

Example: '..... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result ....'

**List:** Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

#### *Examples:*

Reference to a journal publication:

[1] J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, The art of writing a scientific article, *J. Sci. Commun.* 163(2010) 51–59.

Reference to a book:

[2] W. Strunk Jr., E.B. White, *The Elements of Style*, fourth ed., Longman, New York, 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[3] G.R. Mettam, L.B. Adams, How to prepare an electronic version of your article, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*, E-Publishing Inc., New York, 2009, pp. 281–304.

Reference to a website:

[4] Cancer Research UK, Cancer statistics reports for the UK.

<http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>, 2003 (accessed 13.03.03).

Reference to a dataset:

[dataset] [5] M. Oguro, S. Imahiro, S. Saito, T. Nakashizuka, Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, *Mendeley Data*, v1, 2015.

<http://dx.doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

#### **Video**

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred

maximum size of 150 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content. AUTHOR INFORMATION PACK 3 Feb 2017 [www.elsevier.com/locate/jprot](http://www.elsevier.com/locate/jprot) 14

### **Supplementary material**

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

### **RESEARCH DATA**

#### **Data in Brief**

Authors have the option of converting any or all parts of their supplementary or additional raw data into one or multiple Data in Brief articles, a new kind of article that houses and describes their data.

Data in Brief articles ensure that your data, which is normally buried in supplementary material, is actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and publicly available to all upon publication. Authors are encouraged to submit their Data in Brief article as an additional item directly alongside the revised version of their manuscript. If your research article is accepted, your Data in Brief article will automatically be transferred over to *Data in Brief* where it will be editorially reviewed and published in the new, open access journal, *Data in Brief*. Please note an open access fee is payable for publication in *Data in Brief*. Full details can be found on the Data in Brief website. Please use this template to write your Data in Brief.

#### **MethodsX**

Authors have the option of converting methods-related supplementary material into one or multiple MethodsX articles, a new kind of article that describes the details of customized research methods. Many researchers spend a significant amount of time on developing methods to fit their specific needs or setting, but often without getting appropriate credit for this part of their work. MethodsX, which is an Open Access journal, now publishes this information in order to make it searchable, peer reviewed, citable and reproducible. Authors are encouraged to submit their MethodsX article as an additional item directly alongside the revised version of their manuscript. If your research article is accepted, your methods article will automatically be transferred over to MethodsX where it will be editorially reviewed. Please note an open access fee is payable for publication in MethodsX. Full details can be found on the MethodsX website. Please use this template to prepare your MethodsX article.

#### **Database linking**

Elsevier encourages authors to connect articles with external databases, giving readers access to relevant databases that help to build a better understanding of the described research. Please refer to relevant database identifiers using the following format in your article: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN). More information and a full list of supported databases.

### **ARTICLE ENRICHMENTS**

#### **AudioSlides**

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. More information and examples are available. Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

### **3D molecular models**

You can enrich your online articles by providing 3D molecular models (optional) in PDB, PSE or MOL/MOL2 format, which will be visualized using the interactive viewer embedded within the article.

Using the viewer, it will be possible to zoom into the model, rotate and pan the model, and change display settings. Submitted models will also be available for downloading from your online article on ScienceDirect. Each molecular model will have to be uploaded to the online submission system separately, via the '3D molecular models' submission category. More information.

### **3D models**

You can enrich your online articles by providing 3D models (optional) in PLY, OBJ or U3D format, which will be visualized using the interactive viewer next to the article. Each 3D model will have to be zipped and uploaded to the online submission system via the '3D models' submission category.

Please be advised that the recommended model size before zipping is maximum 150 MB. Multiple AUTHOR INFORMATION PACK 3 Feb 2017 [www.elsevier.com/locate/jprot](http://www.elsevier.com/locate/jprot) 15 models can be submitted. Please provide a short informative description for each model by filling in the 'Description' field when uploading a dataset. Note: all datasets will be available for download from the online article on ScienceDirect. If you have concerns about your data being downloadable, please provide a video instead. More information on OBJ and PLY models or U3D models.

### **Interactive plots**

This journal enables you to show an Interactive Plot with your article by simply submitting a data file. Full instructions.

### **Interactive Network Viewer**

This journal enables you to enrich your online article by including interactive network diagrams created with the latest version of Cytoscape. Each network should be exported from Cytoscape as a ZIP file containing a pair of network (.cyjs) and visual style (.json) files, which is most easily done using the green "SD" button. The recommended maximum file size of a dataset is 150 MB or less.

Once the article is accepted, your ZIP datasets will appear as supplementary material on ScienceDirect and will be visualized inside the Cytoscape application which is displayed alongside your article. Readers will

then be able to interactively explore your networks while reading the article. Please note that you must use the latest available version of Cytoscape. More information.

### **Submission checklist**

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

#### **Ensure that the following items are present:**

One author has been designated as the corresponding author with

contact details: E-mail address Full postal address Phone numbers

All necessary files have been uploaded, and contain:

Keywords Graphical Abstract Highlights bullets "Significance" paragraph after the

Abstract All figure captions All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations:

Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked' References are in the correct format for this journal All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web) For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

Line numbers have been added to your manuscript file Does the information on mass spectrometry data meet the Guidelines of the journal? (JPROT encourages authors to read the MIAPE-MS document available addressing [http://www.psdev.info/sites/default/files/MIAPE\\_MS\\_2.98.pdf](http://www.psdev.info/sites/default/files/MIAPE_MS_2.98.pdf)). Does your paper cite databank accession codes? (J. Proteomics encourages authors to adopt the linking scheme to link out from ScienceDirect to CRAN, the Comprehensive R Archive Network (<http://cran.r-project.org/>). More info about this kind of linking is available at

<http://www.elsevier.com/databaselinking>).

If you are submitting a revised version of a manuscript, and to facilitate peer-reviewing, changes introduced in the revised version of the manuscript should be highlighted.