

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS**

**CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA E MOLECULAR DO AGENTE  
CAUSAL DO MOSAICO EM *Senna rizzinii***

**TACIANA MIRANDA ALVES**

VITÓRIA DA CONQUISTA  
BAHIA - BRASIL  
JANEIRO - 2018

**TACIANA MIRANDA ALVES**

**CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA E MOLECULAR DO AGENTE  
CAUSAL DO MOSAICO EM *Senna rizzinii***

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, para a obtenção do título de Mestre.

**Orientador: Prof. D. Sc. Quelmo Silva de Novaes (UESB)**

VITÓRIA DA CONQUISTA  
BAHIA - BRASIL  
JANEIRO - 2018

**TACIANA MIRANDA ALVES**

**CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA E MOLECULAR DO AGENTE  
CAUSAL DO MOSAICO EM *Senna rizzinii***

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 26 de janeiro de 2018.

Comissão Examinadora:

---

Prof. Quelmo Silva de Novaes (D.Sc., Agronomia (Fitopatologia)) – UESB Orientador

---

Prof<sup>a</sup>. Gisele Brito Rodrigues (D. Sc., Ciências Agrárias) - IFBaiano

---

Prof. Paulo André Trazzi (D. Sc., Silvicultura) - IFNMG

À minha mãe, Iêda Miranda Bahia, pelo amor incondicional, dedicação, apoio em todas as minhas decisões, durante toda a minha vida.

Ao meu pai, Adson Alves Moreira, pelo apoio e suporte em todos os meus anos de estudo.

Ao meu Marido, Lucas Moreno Sousa Nolasco, pelo amor, carinho, apoio e por acreditar mais em mim do que eu mesma.

Ao meu irmão, David Miranda Alves, pelo amor e companheirismo.

*Dedico.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a DEUS acima de tudo e por todo o propósito que me concedeu durante a minha vida.

À minha família (mãe, pai, irmão e marido), pelo companheirismo, amor, dedicação e apoio durante todos esses anos.

Ao meu orientador, Quelmo Silva de Novaes, pela excelente orientação, paciência, dedicação e pelos ensinamentos durante todo esse tempo.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, pelo apoio para a realização deste trabalho.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Fitopatologia, por toda a ajuda na realização e condução do meu experimento.

Aos colegas e amigos do Mestrado, pelos bons momentos de estudo, descontração e amizade, em especial, a Juscelina Arcanjo dos Santos e Nayane Amaral Santos.

À minha amiga Tanyra Damasceno, pela parceria e amizade.

A Fabrícia, pela paciência, dedicação e suporte durante o tempo que passei na Pós.

Agradeço pelas dificuldades, situações boas e ruins que enfrentei durante todo esse tempo, pois tudo serviu de aprendizado e levarei por toda a minha vida.

## RESUMO

ALVES, Taciana Miranda, M.Sc., Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, janeiro de 2018. **Caracterização biológica e molecular do agente causal do mosaico em *Senna rizzinii***. Orientador: Quelmo Siva de Novaes.

A *Senna rizzinii* é uma planta arbustiva, de flores amarelas, encontrada em ambientes mais frios da caatinga. Plantas dessa espécie, apresentando pouco desenvolvimento e mosaico severo nas folhas, foram observadas na região de Vitória da Conquista, BA, o que indicou uma possível ocorrência de um agente patogênico associado às plantas afetadas. Diante disso, objetivou-se com este trabalho identificar o agente causal do mosaico em *Senna rizzinii* e realizar a sua caracterização biológica. O experimento foi realizado em casa de vegetação, na área experimental da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, no Campus de Vitória da Conquista, região sudoeste do estado. Sementes de *Senna rizzinii* foram coletadas e plantadas em vasos em condições de casa de vegetação, para as posteriores avaliações. Foram realizadas inoculações mecânicas em plantas de *S. rizzinii* e possíveis hospedeiros alternativos, bem como tentativas de transmissão por enxertia, por afídeos e por sementes. Folhas sintomáticas foram coletadas e homogeneizadas para a formação de um extrato, para a purificação de partículas virais, as quais foram analisadas com o auxílio de microscopia eletrônica. A transmissão mecânica foi efetiva para *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Gomphrena globosa* e *Senna occidentalis*; não houve transmissão, dessa forma, para plantas da mesma espécie. A doença foi transmitida por enxertia para plantas de *S. rizzinii*, no entanto não foi verificada a transmissão por sementes e por afídeos. Partículas flexuosas foram observadas em microscopia eletrônica. Utilizando-se oligonucleótidos universais para allexivirus, foi possível obter um fragmento amplificado de, aproximadamente, 230 bp. A sequência de nucleotídeos do amplicon indicou 71% de identidade com a espécie *Vanilla latent virus*, pertencente ao gênero *Allexivirus*. O mosaico em plantas de *S. rizzinii* é causado por um vírus, possivelmente pertencente ao gênero *Allexivirus*.

**Palavras-chave:** Agente patogênico; inoculações mecânicas; hospedeiros alternativos; *Allexivirus*

## ABSTRACT

ALVES, Taciana Miranda, M.Sc., Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, January, 2018. **Biological and molecular characterization of the causal agente of the mosaic in *Senna rizzinii***. Adviser: Quelmo Siva de Novaes.

*Senna rizzinii* is a shrub of yellow flowers, found in cooler environments of the Caatinga. Plants of this species were observed in the region of Vitória da Conquista - BA, with low development and severe mosaic in the leaves, what indicates a possible occurrence of a pathogen associated to the affected plants. In view of this, the aim of this work was to identify the causal agent of the mosaic in *Senna rizzinii* and to perform the biological characterization of this mosaic. The experiment was carried out in a greenhouse, in the experimental area of the Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, in the Campus of Vitória da Conquista, south-west region of the state. Seeds of *Senna rizzinii* were collected and planted in pots in greenhouse conditions, for further evaluation. Mechanical inoculations were performed on plants of *S. rizzinii* and possible alternative hosts, as well as attempts to transmission by grafting, by aphids and seeds. Leaves were symptomatic collected and homogenized to form an extract for purifying viral particles, which were analyzed with the aid of electron microscopy. The mechanical transmission was effective for *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Gomphrena globosa* and *Senna occidentalis*, but there was not transmission in this way to plants of the same species. The disease was transmitted by grafting to *S. rizzinii* plants, but not by seeds or by used aphids. Flexuous particles were observed in electron microscopy. Using universal oligonucleotides for allexivirus, it was possible to obtain an amplified fragment of approximately 230 bp. The nucleotide sequence of the amplicon indicated 71% identity with the species *Vanilla latent virus*, belonging to the genus *Allexivirus*. The mosaic in *S. rizzinii* plants is caused by a virus, possibly belonging to the genus allexivirus.

**Keywords:** Pathogen; mechanical inoculations; alternative hosts; *Allexivirus*

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Flores e Folha da espécie *Senna rizzinii*.....14
- Figura 2** – Lesões locais necróticas em *Senna occidentalis* (A) e *Gomphrena globosa* (B), após a inoculação mecânica com extrato de *Senna rizzinii* com sintoma de mosaico..... 16
- Figura 3** – Lesões locais cloróticas em *Chenopodium amaranticolor* (A) e *Chenopodium quinoa* (B) após a inoculação mecânica com extrato de *Senna rizzinii* com sintomas de mosaico..... 16
- Figura 4** – Micrografia eletrônica do purificado do vírus causador do mosaico de folhas de *Senna rizzinii*..... 19
- Figura 5** – Sintoma de lesão local em *Chenopodium amaranticolor*. (A), *Gomphrena globosa* (B) e *Senna occidentalis* (C) após inoculação mecânica com o purificado do vírus causador do mosaico em *S. rizzinii* ..... 20
- Figura 6** – Sintoma de mosaico sistêmico em folhas de *Senna occidentalis* (A), após inoculação mecânica com o purificado do vírus causador do mosaico em *S. rizzinii* e lesão local necrótica em folha de *Gomphrena globosa* (B), inoculada com macerado de folha de *S. occidentalis* com mosaico ..... 21
- Figura 7** – Gel de agarose a 1% com reações de RT-PCR para allexivirus utilizando oligonucleotídeos universais. (M) Marcador 1 Kb Plus DNA ladder; (1 e 2) Controle negativo; (3) Amostra purificada de *Senna rhizini*.....22

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Reação de diferentes espécies inoculadas mecanicamente com extratos de folhas de <i>Senna rizzinii</i> com sintomas de mosaico.....	15
---	----

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1 Características do gênero <i>Senna</i> .....	3
2.2 <i>Senna rizzinii</i> .....	4
2.3 Doenças em espécies do gênero <i>Senna</i> .....	5
2.4 Viroses em espécies Florestais e do gênero <i>Senna</i> .....	5
2.5 Transmissão de vírus de plantas .....	6
2.6 Gênero <i>Allexivirus</i> .....	7
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	9
3.1 Plantas-teste .....	9
3.2 Fonte de inóculo .....	9
3.3 Inoculação mecânica .....	10
3.4 Transmissão por enxertia .....	10
3.5 Transmissão por afídeos .....	10
3.6 Transmissão por sementes .....	11
3.7 Purificação do vírus .....	11
3.8 Teste de recuperação .....	12
3.9 Análise molecular.....	12
3.9.1 Extração de ácido nucléico.....	12
3.9.2 Reação de RT-PCR .....	12
3.9.3 Purificação do produto de PCR e sequenciamento.....	13
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	14
4.1 Identificação da espécie .....	14
4.2 Inoculação mecânica .....	15

4.3 Transmissão por enxertia .....	17
4.4 Transmissão por afídeos .....	17
4.5 Transmissão por sementes .....	18
4.6 Purificação e recuperação do vírus .....	18
4.7 Análise molecular.....	21
5. CONCLUSÕES .....	23
REFERÊNCIAS.....	24

## 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Senna* possui uma grande diversidade no continente americano (CARVALHO e OLIVEIRA, 2003). Pouco se sabe sobre as características desse gênero, mas algumas de suas espécies são julgadas primariamente como sendo plantas daninhas, contudo existem substâncias presentes nessas plantas que as fazem úteis medicinalmente para seres humanos (MORRIS, 2009).

A *Senna rizzinii* possui flores amarelas e chamativas e, por ter um porte reduzido, é recomendada para o uso no paisagismo (MOREIRA e BRAGANÇA, 2011). É um arbusto de frequência na Caatinga, especialmente na Bahia; espécie bastante atraente por sua importância ornamental para a arborização de praças, ruas e avenidas devido à cor amarela de suas flores.

Não existem registros de doenças dessa espécie, mas, no seu gênero, há relatos de alguns problemas fitossanitários. Dentre esses registros, destaca-se a ocorrência de doenças causadas por vírus.

Meissner Filho (2004) relata que a maioria das viroses é transmitida por insetos, mas também há outras formas de transmissão conhecidas; dentre elas, tem-se a transmissão por sementes, enxertias e o uso de ferramentas contaminadas. Além disso, não é dada a importância devida às viroses, pelo fato de que elas, na maioria das vezes, não matam as plantas, e estas continuam a produzir. Com isso, há poucos relatos de viroses relacionadas a plantas nativas de mata de cipó e com espécies florestais no Brasil.

A relação hospedeiro-vetor-vírus permite que muitas espécies nativas transformem-se em depósitos naturais, o que faz com que os vírus sobrevivam e se disseminem em áreas onde há a presença de agricultura. Essas interações, no entanto, precisam ser averiguadas para que se possam formar as relações epidemiológicas entre os vírus, seus vetores e as culturas de importância econômica e estabelecer práticas de manejo, sabendo que não há controle com eficácia para vírus.

Plantas de *Senna rizzinii*, presentes na região sudoeste da Bahia, vêm apresentando sintomas de mosaico e um baixo desenvolvimento. A presença de plantas sintomáticas e assintomáticas indica a possível ocorrência de algum agente patogênico associado às plantas afetadas. Os sintomas observados são

semelhantes aos causados por vírus em algumas leguminosas. Na literatura, não foi encontrado nenhum relato de vírus afetando essa espécie de *Senna*. Diante da possibilidade desse agente causal ser um organismo que pode atingir culturas de importância econômica e da preocupação com o possível aumento do número de plantas do gênero *Senna* com sintomas de mosaico, fez-se necessária a investigação sobre a causa da doença e uma possível associação viral a esta.

Dessa maneira, objetivou-se com este trabalho identificar o agente causal do mosaico em *Senna rizzinii* e realizar a caracterização biológica deste.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Características do gênero *Senna*

Segundo Santos (2013), o gênero *Senna* tem como destaque a sua diversidade morfológica, o que torna difícil delimitar seus táxons. Esse varia desde ervas, arbustos até árvores altas e cipós e está presente em diversos climas e altitudes (MARAZZI et al., 2006). Algumas espécies do gênero *Senna* são usadas com a função medicinal, nos tratamentos para problemas estomacais e respiratórios, como vermífugo, infecções, dentre outras enfermidades (CARNEIRO, 2009; OGUNJOBI e ABIALA, 2013; AKINYEMI e AYODELE, 2015). Lombardo et al. (2009) afirmou que a *Senna Occidentalis*, mais conhecida como “fedegoso”, também é muito utilizada para o tratamento de várias doenças, usando-se suas folhas, sementes e raízes, apesar de ser considerada também como espontânea nas pastagens.

Monkheang et al. (2011) relata que o gênero *Senna* é composto, aproximadamente, por 260 espécies, já Macedo et al., (2016) indicam que esse número pode estar em torno de 330. Os frutos são alongados, cilíndricos ou achatados. Essas plantas também vêm desempenhando uma importante função medicinal, como laxativos e purgantes, bem como são usadas na composição de alguns medicamentos.

As espécies do gênero *Cassia*, juntamente àquelas também chamadas de *Senna* e, inclusive, as modificadas do gênero *Cassia* para *Senna* após a transformação taxonômica que foi adotada, compõem na família Fabaceae um de seus maiores gêneros (VIEGAS JUNIOR et al., 2006).

Esse gênero pode ser caracterizado também pelas suas flores amarelas (SOLADOYE et al., 2010), que permanecem florescendo por diversos meses no ano, sendo usado com êxito no paisagismo. Pelas características e porte, são amplamente utilizadas na arborização urbana, essencialmente em ruas mais estreitas. Possuem rápido crescimento e também estão presentes na recuperação de áreas degradadas; podem ainda ser utilizadas para caixotaria leve e carvão (LORENZI, 1992).

## 2.2 *Senna rizzinii*

A *Senna rizzinii* é uma espécie que está presente desde o sul do Ceará e da Paraíba até a parte central da Bahia a leste da região do rio São Francisco, sendo considerada essencialmente da caatinga. É conhecida como São-jão, Sajoeiro, Cipó-de-besouro e Pau-de-besouro-de-rama. Em um trabalho realizado por Ferraz et al. (1998), a *Senna rizzinii*, sendo espécie da caatinga, foi encontrada em regiões com vegetação de brejo de altitude, registradas em 1100 e 900 m. Essa espécie é comumente confundida com outras do mesmo gênero, como a *Senna macranthera*; é possível que estejam identificadas erroneamente em alguns herbários (QUEIROZ, 2009), ambas possuem dois pares de folíolos. A *Senna rizzinii* também é habitualmente confundida com a *Senna spectabilis* (COSTA et al., 2002). O solo onde constantemente é encontrada é degradado de textura arenosa, e essas espécies apresentam-se em altitudes por volta de 600-700m (CORREIA e CONCEIÇÃO, 2017).

Rodal et al. (1999) fizeram um levantamento da flora de uma área centrada no município de Ibimirim, PE, onde a *Senna rizzinii* estava entre as populações mais abundantes dentre as arbustivas, sendo mais comuns em áreas sedimentares. Em outro estudo, Melo e Rodal (2003), em um levantamento florístico em um trecho do Planalto de Garanhuns, PE, apontaram que a família *fabaceae* foi representada por um número expressivo de indivíduos, inclusive a *Senna rizzinii*. Esta espécie também foi apontada por Maia et al. (2004) como uma planta espontânea resistente a déficit hídrico, com índice zero de mortalidade no estudo realizado, quando exposta a estresse hídrico.

De acordo com o Missouri Botanical Garden (2016), a *Senna rizzinii* (Irwin & Barn) tem como sinonímia botânica a *Cassia granulata Rizzini* e está presente na Caatinga. Seu porte é arbustivo, com cerca de 1,5m de altura. Seu uso é recomendado para o paisagismo em função das suas características favoráveis, quais sejam porte apropriado, flores bem atrativas, textura e singularidade das folhas. Ela é constante em áreas onde ocorre a fruticultura (MOREIRA E BRAGANÇA, 2011).

### **2.3 Doenças em espécies do gênero *Senna***

Em um estudo realizado por Freire e Braun (2009), onde se objetivou apontar espécies de hifomicetos no estado do Ceará, foram encontrados *Pseudocercospora nigricans*, *Pseudocercospora simulata* e *Cercospora apii* na *Senna alata*, *Cercospora apii* na *Senna occidentalis* e *Pseudocercospora cassiae-fistulae* na *Senna rizzinii*, geralmente associados a manchas foliares. Rodríguez et al. (2012) relataram que, no México, plantas de *Senna occidentalis* e *Senna septemtrionali* vêm sendo atacadas por oídios.

No Submédio São Francisco, em Petrolina e Juazeiro, foram observados sintomas semelhantes aos causados por cancro bacteriano em plantas consideradas invasoras, dentre elas, a *Senna obtusifolia*, e foi detectada a infecção por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, que é a causa do cancro bacteriano na videira e traz, por isso, diversos prejuízos econômicos. As plantas invasoras infectadas são também consideradas como importante fonte de inóculo, já que estão nas proximidades dos plantios de videiras (PEIXOTO et al., 2007).

### **2.4 Viroses em espécies florestais e do gênero *Senna***

De acordo com Colariccio (2005), as viroses podem ser identificadas, sobretudo, por sintomas que causam nas folhas, sendo o mais comum o mosaico. Essas podem ser transmitidas das mais diversas formas, por insetos, ácaros, nematoides, mecanicamente, dentre outras, lembrando que, para que os vírus consigam entrar nas células, já que não conseguem de forma ativa, é preciso que sejam inseridos com eficiência, e as formas citadas fazem efetivamente esse trabalho.

Em relação a vírus em espécies florestais no Brasil, foi descrita em um trabalho de Gama et al. (1983) a ocorrência de mosaico, clorose e deformação de limbos de folhas de seringueira, e o agente causal foi identificado como um possível Carlavirus.

De acordo com Beserra Junior et al. (2011), no Brasil, foram encontrados três vírus causadores de sintomas em espécies de *Senna*. Na cidade de Londrina, foram

encontradas plantas de *Senna occidentalis* com sintomas de mosaico e formação de bolhas no limbo foliar, próximas a cultivos de soja (*Glycine max*). Estudos adicionais, como sorologia, indicaram que o vírus presente na *Senna* era similar ao vírus que ataca a soja, que causa o mosaico comum, provocado pelo *Soybean mosaic virus*, SMV, relatado por Almeida et al. (2002). Foi sugerida em um trabalho realizado por Seabra et al. (2001) a presença de um Carlavirus associado a plantas de *Senna macranthera* da arborização das ruas de São Paulo. Esse possível patógeno estava associado a sintomas de mosaico e manchas necróticas nas folhas, além de vagens com necrose. Esse apresentava características de um Carlavirus, mas não foi confirmado.

Outro estudo realizado por Beserra Junior et al. (2011) indicou a presença de um Potyvirus em árvores da espécie *Senna macranthera* na cidade de Viçosa. Os sintomas que elas apresentavam eram machas cloróticas em folhas jovens e mosaico em folhas mais velhas. Um estudo realizado no Yemem e na Etiópia por Walkey et al. (1994) mostrou também a presença de um Potyvirus atacando espécies de *Senna occidentalis*, causando sintomas de mosaico. Esse vírus foi transmitido mecanicamente e pelo pulgão *Myzus persicae* para uma pequena quantidade de hospedeiras, limitadas apenas às leguminosas.

Recentemente, Rezende et al. (2017) identificaram uma nova espécie de Potexvirus causando mosaico e redução da área foliar de *Senna occidentalis*, no estado de São Paulo. A sequência completa do genoma foi realizada, e a espécie, tentativamente nomeada de Senna mosaic virus (SenMV).

## **2.5 Transmissão de vírus de plantas**

Freire e Mosca (2009) relatam que o controle de viroses é mais complexo, pelo fato de ter associado à transmissão, na maioria das vezes, um inseto, dificultando assim o controle da disseminação. Jeger et al. (2011) reafirmam a importância de se compreender a transmissão de vírus por vetores em plantas, pois esse é um elemento chave. Como exemplo, têm-se os insetos alados com sugadores bucais, como os afídeos, cigarrinhas e moscas brancas, responsáveis

pela transmissão da maioria dos vírus de plantas e por transportá-los de forma eficiente e a longas distâncias.

Dentre os insetos pragas que comumente atacam diversas culturas, têm-se os pulgões, que, além de causarem danos pela sucção da seiva nas plantas, ainda podem transmitir vírus e causar, assim, mais agravos (LARA et al., 2004; WHITFIELD et al., 2014). Esses insetos são muito pequenos, apresentam diversas cores e têm como característica o corpo mole. Têm preferências pelas folhas novas e brotações das plantas e costumam viver em colônias (IMENES e IDE, 2002).

Os aleirodídeos ou moscas brancas, como são mais conhecidos, são insetos também muito pequenos, que vivem em colônias na parte interna das folhas, sugando a seiva e causando diversos prejuízos; também transmitem viroses e favorecem o aparecimento da fumagina nas folhas (IMENES e IDE, 2002), ou seja, um efeito indireto de sua alimentação pode causar a transmissão de vírus, muitas vezes, de importância econômica, e provocar diversos prejuízos (JONES, 2003). Para Teixeira e Franco (2007), alguns crisomelídeos atuam na desfolha de leguminosas comestíveis, como feijão, soja, reduzindo assim a capacidade fotossintética dessas plantas. Esses adultos, conhecidos como “Vaquinhas”, também podem transmitir organismos fitopatogênicos, como algumas viroses (SALAS et al., 1999).

Embora os vírus infectem as plantas sistematicamente, a transmissão desses da planta infectada para as sementes e o fato de estas gerarem plantas novas também com a infecção, é menos comum do que parece. Somente cerca de 20% das fitoviroses podem ser transmitidas via sementes, sendo considerada mais uma exceção do que uma regra. Autores sugerem que, durante a maturação, essas sementes vão diminuindo o acúmulo de partículas virais, podendo estas também ser inativadas (ALMEIDA, 2013).

## **2.6 Gênero *Allexivirus***

O gênero *Allexivirus* pertence à família *Alphaflexiviridae* e tem como característica distinta a sua transmissão, que é por ácaro. Suas partículas virais são filamentosas altamente flexíveis e medem em torno de 800nm de comprimento e

12nm de diâmetro. São semelhantes aos potyvírus em comprimento e com os closterovírus em sua flexibilidade e subestrutura de bandas cruzadas. A gama de plantas hospedeiras é bem restrita a alguns isolados de alho-poró, chalota, cebola e alho, transmitidos experimentalmente para *Chenopodium murale* com manifestação de lesões locais (ADAMS et al., 2012). Pouco se sabe sobre a distribuição dos membros desse gênero, apenas observou-se que o genoma dos *Allexivirus* é semelhante ao dos Carlavirus (CHEN et al, 2004). Pouco se sabe sobre a distribuição dos membros desse gênero, e estudos relacionados à diversidade molecular e distribuição regional podem ser úteis na prevenção da infecção viral (KOO et al, 2002).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na área experimental da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, no Campus de Vitória da Conquista, região sudoeste do estado.

Para a identificação da espécie, foram coletadas folhas, flores e frutos, elaboradas exsiccatas para posterior identificação no laboratório de botânica da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Sementes de *Senna rizzinii* também foram coletadas e plantadas em vasos em condições de casa de vegetação, onde foi realizada a caracterização biológica do agente causal do mosaico.

#### 3.1 Plantas-teste

Para a realização dos testes de inoculação e transmissão, foram utilizadas plantas de *Adenantha pavonina*, *Canavalia ensiformis*, *Chenopodium quinoa*, *Chenopodium amaranticolor*, *Cucurbita pepo*, *Datura stramonium*, *Glycine max*, *Gomphrena globosa*, *Lycopersicon esculentum*, *Nicotiana benthamiana*, *Nicotiana clevelandii*, *Nicotiana glutinosa*, *Nicotiana tabacum* cvs. Turkish, *Phaseolus vulgaris*, *Senna occidentalis*, *Senna rizzinii*, *Sida* sp. e *Vigna unguiculata*. Estas plantas foram obtidas por meio de semeadura em vasos, com substratos devidamente adubados, e mantidas sob condições de casa de vegetação na UESB.

#### 3.2 Fonte de inóculo

Plantas de *Senna rizzinii*, com a presença de sintomas de mosaico coletadas em campo na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, foram transplantadas para vaso, em casa de vegetação, e mantidas como fonte de inóculo.

### **3.3 Inoculação mecânica**

Os inóculos para a transmissão mecânica foram preparados por meio da maceração com o auxílio de um almofariz, de fragmentos de folhas sintomáticas de *Senna*, em solução de 1:20, em tampão de fosfato potássio 0,02 M, pH 7,0. As plantas sadias foram previamente polvilhadas com carborundum, e o inóculo foi aplicado por atrito das folhas com o indicador umedecido com o extrato vegetal obtido. Depois da inoculação, as folhas foram lavadas para que o excesso de inóculo e de abrasivo fosse retirado. As plantas foram mantidas em casa de vegetação para observação dos sintomas.

### **3.4 Transmissão por enxertia**

Plantas sadias de *Senna rizzinii* foram obtidas a partir da sementeira em vasos plásticos, que continham uma mistura de terra e matéria orgânica. As plantas foram mantidas em condições de casa de vegetação. Quando atingiram uma altura de aproximadamente 30cm, foram podadas na sua extremidade, e, na região central da haste, foi aberta uma fenda longitudinal de aproximadamente 2cm de comprimento, com o auxílio de um canivete. Na fenda dessa planta considerada o porta-enxerto, foi inserido um pedaço de haste obtido de planta de *Senna rizzinii* com sintomas de mosaico. Para isso, na base dessa haste, foram feitos dois cortes em bisel, formando uma cunha, de aproximadamente 1,5cm. As partes foram mantidas juntas por meio de fitilho apropriado para essa prática. Após o pegamento do enxerto, o fitilho foi retirado, e as plantas foram avaliadas por um período de 90 dias, para se verificar a possível manifestação de sintomas nos porta-enxertos.

### **3.5 Transmissão por afídeos**

O afídeo vetor utilizado na inoculação foi retirado de plantas de *Senna rizzinii*, onde estavam colonizados. Na fase de inoculação, os afídeos foram extraídos das

folhas com um pincel fino e macio, passando-o levemente sobre eles. Estes, após coletados, foram mantidos em jejum num recipiente por um período de, no mínimo, 30 minutos. Em seguida, foram colocados sobre plantas de *Senna rizzinii* sintomáticas. O período de aquisição durante o qual os afídeos permaneceram sobre a planta infectada foi de 30 a 60 minutos. Posteriormente, eles foram transferidos para as plantas sadias, utilizando-se 10 afídeos por planta. Os afídeos foram retirados das plantas, aproximadamente, 1 hora após a inoculação, e essas foram mantidas em condições de casa de vegetação.

### **3.6 Transmissão por sementes**

Os testes foram realizados com sementes coletadas de plantas de *Senna rizzinii* sintomáticas, localizadas na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB. As sementes foram semeadas em vasos que continham substrato e, após a germinação, foram avaliadas por um período de 100 dias quanto ao aparecimento de sintomas.

### **3.7 Purificação do vírus**

A purificação do vírus foi feita com base no protocolo descrito por Duffus et al (1986), com algumas modificações, estabelecido para purificar vírus do gênero *Closterovirus*. Folhas sintomáticas foram coletadas e homogeneizadas em liquidificador com o tampão Tris-HCL 0,1 M, adicionado de EDTA 5 Mm, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20 Mm e DIECA 10 Mm, pH 7,6. O extrato foi coado em gaze para eliminar as impurezas e acrescido de Triton X-100 na concentração de 4% e, logo em seguida, foi mantido em câmara fria a 4°C, onde ficou sendo agitado durante a noite. Seguindo o procedimento, foi levado à centrifugação por 3 minutos a 3000rpm e, depois, por 10 minutos a 8000rpm no rotor Sorval GSA. O sobrenadante foi coletado e centrifugado por 4 horas a 29500rpm (110.000g) em um rotor Beckman, sobre 5mL de sacarose a 30% diluída em tampão de extração gelado com 4% de Triton X-100. O sobrenadante foi descartado, e o precipitado foi lavado delicadamente com água destilada; em seguida, foi dissolvido em 0,5mL de tampão fosfato 0,1M (Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), com EDTA 5 Mm, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20 Mm e DIECA 10 Mm, pH 7,0, e centrifugado por 10 minutos a 8000rpm em rotor Sorval SS-34. O sobrenadante foi coletado e acondicionado em microtubos, os quais foram armazenados à – 20°C.

### **3.8 Teste de recuperação**

Quando se fez necessário, foram feitos teste de recuperação do possível vírus para plantas de *Senna rizzinii* sadias e/ou para *Gomphrena globosa*, as quais reagem com sintomas de lesão local, quando inoculadas com extrato de folhas de *S. rizzinii* sintomáticas. A inoculação foi feita mecanicamente, e a avaliação visual, com base nos sintomas.

### **3.9 Análise molecular**

#### **3.9.1 Extração de ácido nucléico**

A extração do RNA foi realizada a partir do vírus purificado, utilizando-se o kit Pure Link® Viral RNA/DNA (Invitrogen), seguindo protocolo conforme recomendações do fabricante. A qualidade do RNA extraído foi checada utilizando-se espectrofotômetro NanoDrop (Thermo Scientific).

#### **3.9.2 Reação de RT-PCR**

Para amplificação do fragmento, foi realizada RT-PCR, em uma só etapa, utilizando-se oligonucleotídeos universais para o gênero *Allexivirus*, Cpallexi-senso2 (5' CTACCACAAYGGNTCVTC 3') e Cpallexi-anti1 (5' CACNGCGTTRAAGAARTC 3') (Oliveira, 2013), que amplificam um fragmento de 237bp da proteína capsidial. A amplificação foi realizada utilizando-se o Kit PCR Master Mix (Promega). Para um volume de 25µl, adicionaram-se 12,5µL de PCR Master Mix 2X, 1 pmol/µL de cada oligonucleotídeo, 1 unidade da transcriptase reversa AMV (*Avian myeloblastosis virus*, Promega a 15 U/µL), 2,5 µL de RNA e água livre de RNAses para completar o volume de 25 µL.

O ciclo utilizado consistiu em 30 minutos a 42°C (transcrição reversa), seguido de 40 segundos a 94°C, 40 ciclos de 94°C/40 segundos (desnaturação), 50°C/50 segundos (anelamento) e 72°C/40 segundos (extensão), e finalizando com 72°C por 10 minutos para extensão final.

O produto da PCR foi analisado em gel de agarose a 1% corado com SYBR® Safe DNA Gel Stain (Invitrogen) e visualizado em transluminador UV. O tamanho do amplicon foi determinado utilizando-se o marcador de peso molecular 1 Kb plus DNA Ladder (Invitrogen).

### **3.9.3 Purificação do produto de PCR e sequenciamento**

O amplicon obtido foi purificado utilizando-se o kit Wizard® SV Gel andPCR Clean-up System (Promega) e enviado para sequenciamento à Empresa Macrogen (Seoul, Korea). As sequências obtidas foram analisadas utilizando-se o programa BLASTn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) e CLUSTAL Interative W (Thompson *et al.*, 1994).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Identificação da espécie

As coletas de folhas, flores e frutos permitiram que a espécie em estudo fosse identificada. Como pode ser observado na Figura 1, a planta em questão possui dois pares de folíolos oblongos, assimétricos e coriáceos, e o pecíolo é localizado entre o primeiro par. Sua inflorescência axilar é do tipo cacho, com poucas flores. As Flores são grandes e vistosas, pedunculadas, com cálice de cinco sépalas oblongas, côncavas e de coloração verde amarelada. Corola dispõe de cinco pétalas amarelas, livres e desiguais, o androceu tem estames de filetes curtos, anteras longas e porcidas, estriadas de vermelho, e o gineceu é unicarpelar com ovário longo. O fruto dessa planta é do tipo legume pequeno e encurvado (MOREIRA e BRAGANÇA, 2011). A espécie foi identificada de acordo com as chaves de identificação de Queiroz (2009).



Figura 1– Flores e Folha da espécie *Senna rizzinii*.

## 4.2 Inoculação mecânica

Das espécies plantadas e inoculadas mecanicamente com o macerado da *Senna rizzinii* infectada, apenas quatro apresentaram sintomas, os quais são basicamente lesão local e um único caso de infecção sistêmica, como mostram a Tabela 1 e as Figuras 1 e 2.

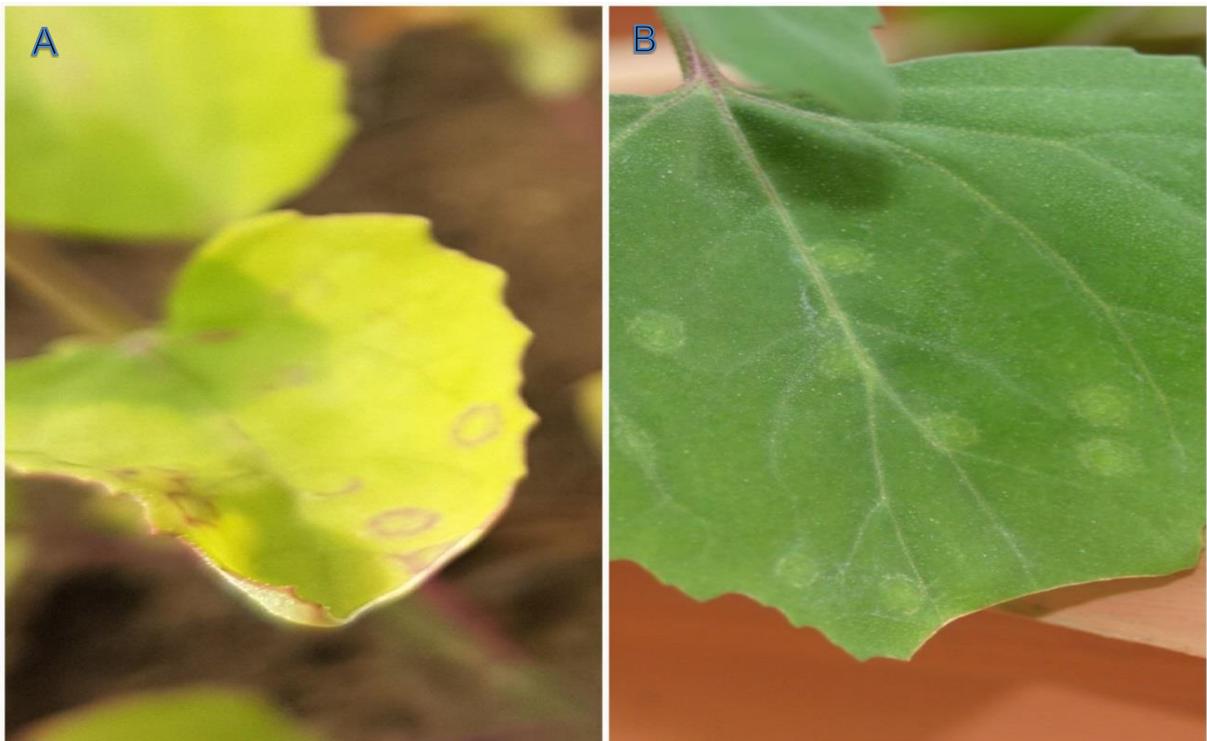
**Tabela 1** - Reação de diferentes espécies inoculadas mecanicamente com extratos de folhas de *Senna rizzinii* com sintomas de mosaico

Espécies	Sintoma	Plantas inoculadas/ Plantas infectadas
<i>Adenanthera pavonina</i>	-	3/0
<i>Canavalia ensiformis</i>	-	4/0
<i>Chenopodium quinoa</i>	Lesão local	1/1
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	Lesão local	5/3
<i>Cucurbita pepo</i>	-	4/0
<i>Datura stramonium</i>	-	3/0
<i>Glycine max</i>	-	3/0
<i>Gomphrena globosa</i>	Lesão local	8/7
<i>Lycopersicon esculentum</i>	-	4/0
<i>Nicotiana benthamiana</i>	-	4/0
<i>Nicotiana clevelandii</i>	-	3/0
<i>Nicotiana glutinosa</i>	-	4/0
<i>Nicotiana tabacum</i> cvs Turkish	-	4/0
<i>Phaseolus vulgaris</i>	-	4/0
<i>Senna occidentalis</i>	Lesão local e Mosaico	6/3
<i>Senna rizzinii</i>	-	8/0
<i>Sida</i> sp.	-	4/0
<i>Vigna unguiculata</i>	-	4/0

A *Senna occidentalis* e *Gomphrena globosa* apresentaram lesão local necrótica (Figura 1), e o *Chenopodium amaranticolor* e *Chenopodium quinoa* manifestaram-se com lesão local clorótica (Figura 2). Enquanto a *Senna rizzinii*, ao ser inoculada com extratos de folhas de sua própria espécie infectada, não apresentou sintomas.



**Figura 2** – Lesões locais necróticas em *Senna occidentalis* (A) e *Gomphrena globosa* (B), após a inoculação mecânica com extrato de *Senna rizzinii* com sintoma de mosaico.



**Figura 3** – Lesões locais cloróticas em *Chenopodium amaranticolor* (A) e *Chenopodium quinoa* (B) após a inoculação mecânica com extrato de *Senna rizzinii* com sintomas de mosaico.

Seabra et al. (2001) encontraram um círculo de hospedeiros bastante restrito também quando fez inoculação mecânica de um possível Carlavirus que estava afetando *Senna macranthera*. Dentre as espécies inoculadas, a *Gomphrena globosa* apresentou lesão local necrótica, e *Chenopodium amaranticolor* exibiu lesão local clorótica. Beserra Junior et al. (2011), ao inocularem um Potyvirus presente na *Senna macranthera* em 26 hospedeiras, obtiveram o mesmo resultado. Diante dos resultados semelhantes aos encontrados na literatura, acreditava-se que o vírus presente em plantas de *Senna rizzinii* poderia tratar-se de um carlavírus ou potyvírus. No entanto, exames de partículas do vírus em microscopia eletrônica mostraram ser um vírus diferente.

Todas as espécies da família *Alphaflexiviridae* são transmitidas mecanicamente e, muitas vezes, de forma rápida (ADAMS et al., 2012), o que contradiz o resultado obtido, já que pode ser observado na tabela 1 que, quando o extrato de folhas de *Senna rizzinii* sintomáticas é inoculado em plantas da mesma espécie, essas não apresentam sintomas.

#### **4.3 Transmissão por enxertia**

Das enxertias realizadas, dez apresentaram brotação do enxerto. O vírus foi transmitido de forma efetiva para todas elas, apresentando o mosaico foliar, fato que comprova a presença do vírus. A propagação vegetativa é o principal mecanismo de perpetuação e disseminação de vírus para outras regiões, como os do gênero *Allexivirus* em espécies de alho (OLIVEIRA et al., 2014). Desse modo, a longas distâncias, o principal meio de transmissão é por material de propagação infectado (KING et al., 2012).

#### **4.4 Transmissão por afídeos**

No teste de transmissão por afídeos, não foi possível transmitir o mosaico para plantas sadias de *Senna rizzinii*. As plantas foram avaliadas por 60 dias. Em uma tentativa de recuperação do vírus, extrato de folhas de *Senna rizzinii* inoculadas com os afídeos foi inoculado mecanicamente em *Gomphrena globosa*, as quais

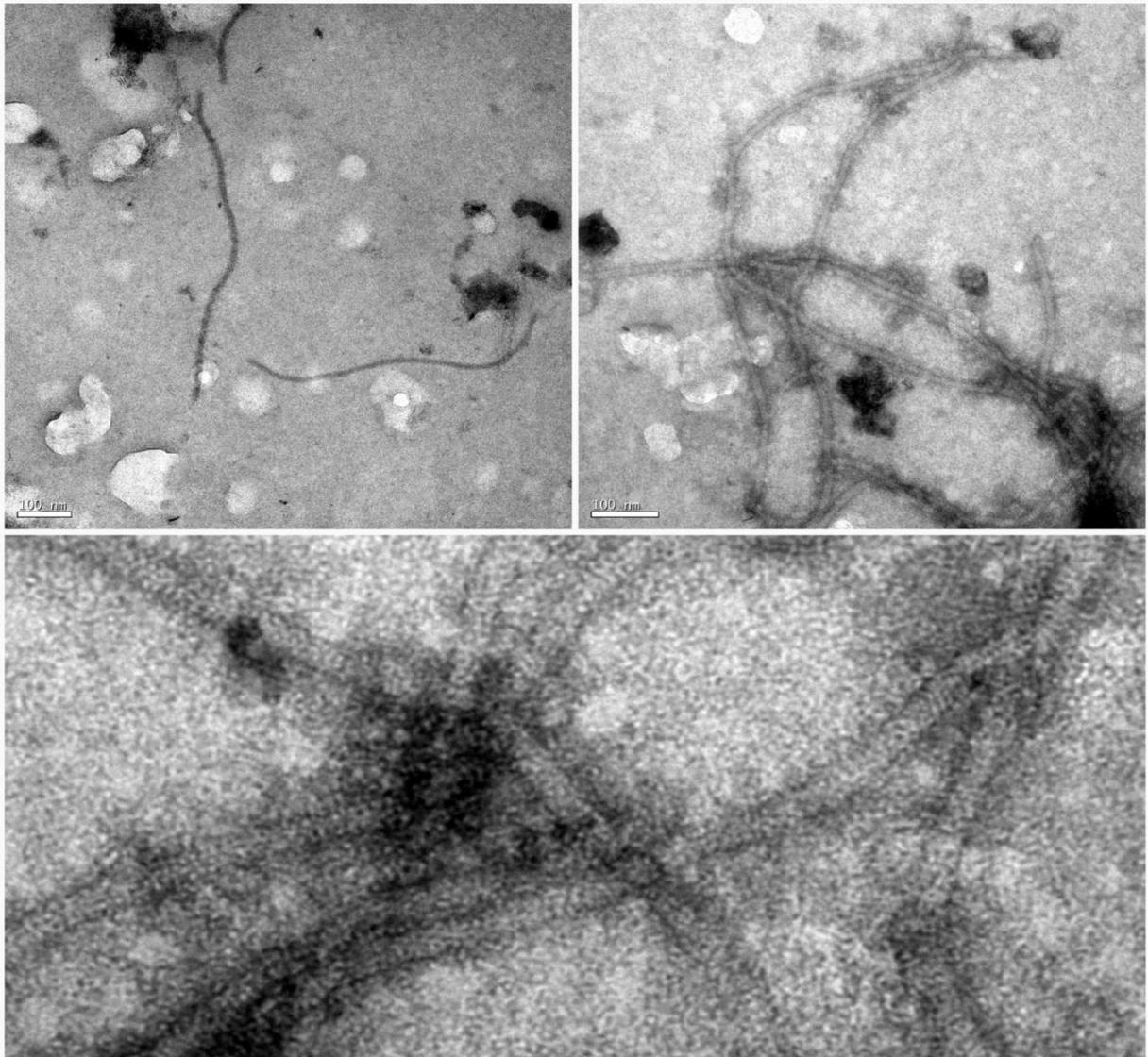
também não manifestaram qualquer sintoma de vírus. Esse resultado indica, a princípio, que as colônias de pulgões que estão presentes nas plantas encontradas em campo não são os vetores do vírus. Esse tipo de transmissão não foi eficiente devido ao fato de que os membros do gênero *Allexivirus* são transmitidos por ácaros e não por pulgões, de acordo com Adams et al. (2012).

#### **4.5 Transmissão por sementes**

Das sementes de *Senna rizzinii* plantadas, foram obtidas 938 plantas, as quais não apresentaram nenhum sintoma visual de mosaico, indicação de que, possivelmente, esse vírus não é transmitido dessa forma. A transmissão de vírus por sementes é considerada muito baixa, apenas em torno de 1/5 das espécies de vírus de plantas são transmitidas dessa forma (ALMEIDA, 2013). Lima Neto (2011) realizou esse teste para verificar a transmissão do Vírus do Mosaico da *Cassia* em *Senna macranthera* com 2.232 plantas, e nenhuma apresentou sintoma. Rezende et al. (2017), ao tentarem transmissão de um Potexvirus em *Senna Occidentalis*, avaliaram 150 plantas originadas de sementes de árvores infectadas, e nenhuma apresentou sintomas; o teste foi confirmado por PTA-ELISA. Contudo, apesar de não haver sintomas visíveis, não se descarta uma infecção latente, já que, nos testes de recuperação, a espécie em questão também não apresentou sintomas.

#### **4.6 Purificado e recuperação do vírus**

Com a obtenção do purificado, com auxílio da microscopia eletrônica, foi possível observar as partículas virais alongadas e flexuosas, em boa concentração, como pode ser visto na Figura 3. Essas partículas assemelham-se às do gênero *Allexivirus*. No entanto, a caracterização molecular será fundamental na confirmação da etiologia da doença.

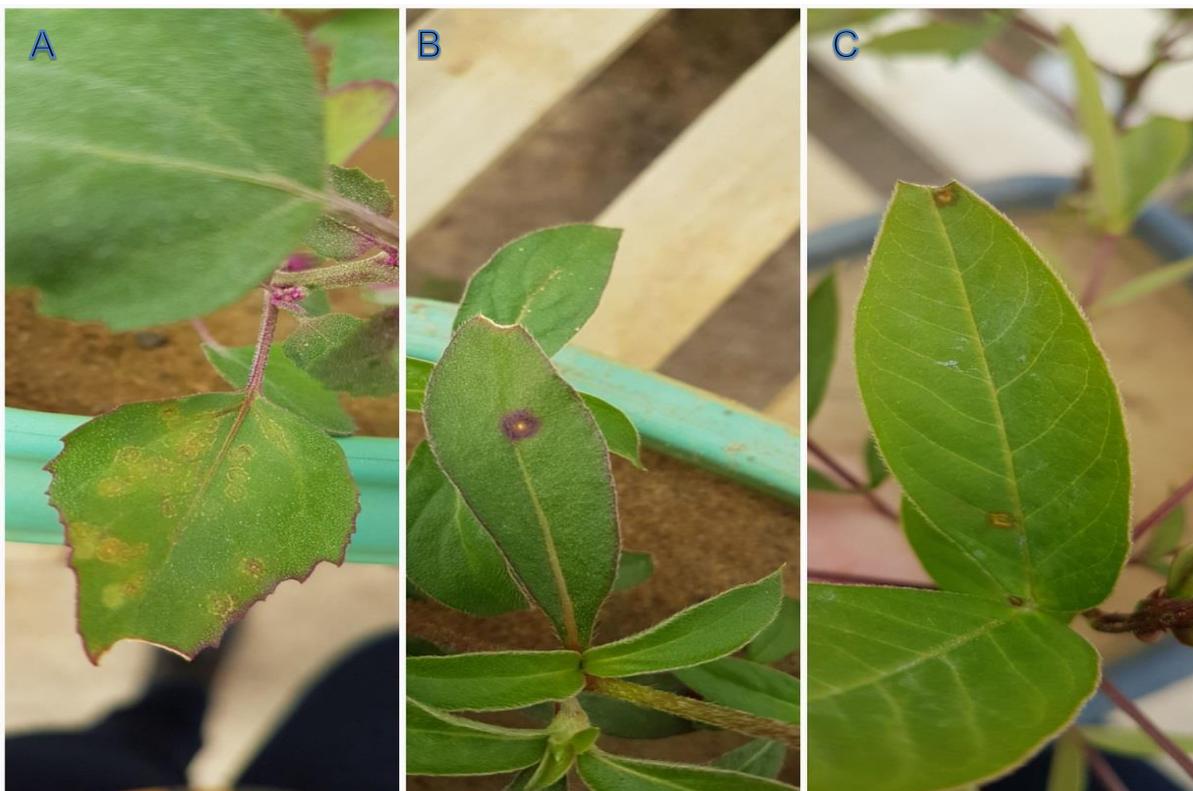


**Figura 4** – Micrografia eletrônica do purificado do vírus causador do mosaico de folhas de *Senna rizzinii*.

Com o purificado obtido, foram realizadas inoculações mecânicas em *Senna occidentalis*, *Gomphrena globosa*, *Chenopodium amaranticolor* e *Senna rizzinii*, as quais reagiram com lesão local necrótica (*Senna occidentalis* e *Gomphrena globosa*) e lesão local clorótica (*Chenopodium amaranticolor*) (Figura 4), confirmando a infectividade do purificado. A *Senna rizzinii* não apresentou sintomas, como esperado.

As plantas de *Senna occidentalis*, que manifestaram sintomas de lesão local, inicialmente, apresentaram um mosaico sistêmico posteriormente (Figura 6A). Para confirmação de que a infecção sistêmica tratava-se do mesmo vírus, extrato das folhas do ponteiro dessas plantas, que não foram inoculadas e que apresentavam

mosaico, foi inoculado em *G. globosa*; esta e a *Senna occidentalis* apresentaram lesões locais necróticas (Figura 6B).



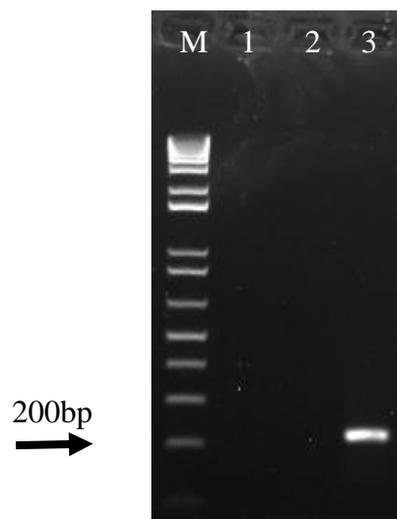
**Figura 5** – Sintoma de lesão local em *Chenopodium amaranticolor*. (A), *Gomphrena globosa* (B) e *Senna occidentalis* (C) após inoculação mecânica com o purificado do vírus causador do mosaico em *S. rizzinii*.



**Figura 6** – Sintoma de mosaico sistêmico em folhas de *Senna occidentalis* (A), após inoculação mecânica com o purificado do vírus causador do mosaico em *S. rizzinii* e lesão local necrótica em folha de *Gomphrena globosa* (B), inoculada com macerado de folha de *S. occidentalis* com mosaico.

#### 4.6 Análise molecular

Utilizando-se os oligonucleótidos universais para allexivirus, foi possível obter um fragmento amplificado de aproximadamente 230bp (Figura 7). A sequência de nucleotídeo do amplicon indicou 71% de identidade com a espécie *Vanilla latent virus*, pertencente ao gênero *Allexivirus*. De acordo com os critérios para demarcação de espécies de allexivirus proposto pelo ICTV, essas devem apresentar identidade de nucleotídeos abaixo de 72%. Os resultados preliminares obtidos nesse estudo indicam que o vírus que infecta plantas de *Senna rizzinii* pertence ao gênero *Allexivirus*. Estudos complementares devem ser realizados para identificação da espécie.



**Figura 7** – Gel de agarose a 1% com reações de RT-PCR para allexivirus utilizando-se oligonucleotídeos universais. (M) Marcador 1 Kb Plus DNA ladder; (1 e 2) Controle negativo; (3) Amostra purificada de *Senna rhizini*.

## 5. CONCLUSÕES

O mosaico apresentado em plantas de *Senna rizzini* é provocado por um vírus.

O vírus causador do mosaico em plantas de *Senna rizzinii* é transmitido mecanicamente para *Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium quinoa*, *Gomphrena globosa* e *Senna occidentalis*, mas não é transmitido dessa forma para plantas da mesma espécie.

O vírus causador do mosaico em plantas de *Senna rizzinii* não é transmitido por sementes e pode ser transmitido por enxertia entre plantas da mesma espécie.

Possivelmente, o vírus causador do mosaico em plantas de *Senna rizzinii* trata-se de uma espécie do gênero *Allexivirus*.

## REFERÊNCIAS

ADAMS, M. J.; CANDRESSE, T.; HAMMOND, J.; KREUZE, J. F.; MARTELLI, G. P.; NAMBA, S.; PEARSON, M. N.; RYU, K. H. & VAIRA, A. M. (2012). Family Alphaflexiviridae. In **Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses International Union of Microbiological Societies**. Virology Division. Academic Press: London. 1327pp

AKINYEMI, O. F.; M. S. AYODELE. "Pod/seed attributes and their role in taxonomic delimitation on some species of Senna (Caesalpinaceae). **Feddes Repertorium**, n. 126. 3-4, p. 77-82, 2015.

ALMEIDA, A. M. R.; SAKAI, J.; SOUTO, E. R.; KITAJIMA, E. W.; FUKUJI, T.; HANADA, K. Mosaic in Senna occidentalis in southern Brazil induced by a new strain of Soybean mosaic virus. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 151-156, 2002.

ALMEIDA, J. E. M. D. **Detecção e transmissibilidade de vírus em sementes de abóbora, pimentão e tomate**. Lavras-MG: UFLA, 2013, 102 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras.

BESERRA JÚNIOR, J. E. A.; CARVALHO, M. G. DE; BARGUIL, B. M.; ZERBINI, F. M. Partial genome sequence of a Potyvirus and of a virus in the order *Tymovirales* found in *Senna macranthera* in Brazil. **Journal Tropical Plant Pathology**, vol. 36, n. 2, p. 116-120, 2011.

CARNEIRO, M. R. B. **A flora medicinal no Centro-Oeste do Brasil: um estudo de caso com abordagem etnobotânica em campo limpo de Goiás**. Anápolis, GO: UNIEvangélica, 2009, 102p. Dissertação de Mestrado - Centro Universitário de Anápolis.

CARVALHO, D. A.; OLIVEIRA, P. E. Biologia reprodutiva e polinização de Senna sylvestris (Vell.) Irwin & Barneby. (Leguminosae, Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, p. 319-328, 2003.

CHEN, J.; ZHENG, H. Y.; ANTONIW, J. F.; ADAMS, M. J.; CHEN, J. P.; LIN, L. Detection and classification of allexiviruses from garlic in China. **Archives of Virology** 149: 435–445, 2004.

COLARICCIO, A. O impacto das viroses na cultura do tomateiro, 2005. Disponível em <[www.agr.unicamp.br/tomates/pdfs/impacviros.pdf](http://www.agr.unicamp.br/tomates/pdfs/impacviros.pdf)> Acesso em 05 de jun de 2016.

CORREIA, C. L. S. B.; CONCEIÇÃO, A. S. The genus Senna Mill. (Leguminosae: Caesalpinioideae) in a fragment of the Ecological Station Raso da Catarina, Bahia, Brazil. **Acta Scientiarum**. Biological Sciences. Maringá, v. 39, n. 3, p. 357-372, July-Sept., 2017.

COSTA, J. A. S.; NUNES, T. S.; FERREIRA, A. P. L.; STRADMANN, M. T. S.; QUEIROZ, L. P. DE. **Leguminosas forrageiras da caatinga: espécies**

**importantes para as comunidades rurais do sertão da Bahia.** Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana, SASOP, 2002. p. 112.: il. ISBN 1. Leguminosas – Caatinga – Bahia.

DUFFUS J. E.; LARSEN, R. C. LIU H.-Y. Lettuce infectious yellows virus – a new type of whitefly-transmitted virus. *Phytopathology Saint Luis*. v. 76, p. 97–100, Jan 1986

FERRAZ, E. M. N.; RODAL, M. J. N.; SAMPAIO, E. V. S. B. & PEREIRA, R. C. A. Composição florística em trechos de vegetação de caatinga e brejo de altitude na região do Vale do Pajeú, Pernambuco. **Revista brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 21 n. 1, 1998.

FREIRE, F. C. O.; BRAUN, U. Hifomicetos Cercosporoides Associados a Plantas do Estado do Ceará. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 40, n. 1, p. 150-156, 2009.

FREIRE, F. C. O.; MOSCA, J. L. Patógenos associados a doenças de plantas ornamentais no Estado do Ceará. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental** v. 15, p. 83–89, 2009.

GAMA, M. I. C.; KITAJIMA, E. W.; ÁVILA, A. C.; LIN, M. T. Um carlavírus em seringueira (*Hevea brasiliensis*). **Fitopatologia Brasileira**, v. 3, p. 621, 1983.

IMENES, S. D. L.; IDE, S. Principias grupos de insetos pragas em plantas de interesse econômico. **O Biológico**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 235-238, 2002.

JEGER M. J.; VAN DEN BOSCH F.; MADDEN L. V. Modelling virus- and host-limitation in vectored plant disease epidemics. **Virus Research**, v. 159, p. 215–222, 2011.

JONES, D. R. Plant viruses transmitted by whiteflies. **European Journal Plant Pathology**, v. 109, p. 195–219, 2003.

KING, A. M. Q.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B. ; LEFKOWITZ, E. J. (Eds.). 2012. **Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. International Union of Microbiological Societies.** Virology Division. Academic Press: London. 1327pp.

KOO, B. J.; KANG, S. C.; CHANG, M. U. Survey of garlic virus disease and phylogenetic characterization of garlic viruses of genus *Allexivirus* isolated in Korea. **The Plant Pathology Journal**. 18, 237–243, 2002.

LARA, F. M. et al. Resistência de genótipos de batata ao pulgão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 4, p. 775-779, 2004.

LIMA NETO, V. C. **Triagem de germoplasma para localização de resistência ao vírus do mosaico da *Cassia* em plantas de *Senna macranthera* (collad.) Irwin & Barn.** Curitiba, 2011, 45p. Tese (pós-doutorado) Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal – Universidade Federal do Paraná.

LOMBARDO, M.; KIYOTA, S.; KANEKO, T. M.; Aspectos étnicos, biológicos e químicos de *Senna occidentalis* (Fabaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, p. 9-17, 2009.

LORENZI, H. **Arvores Brasileiras**: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Editora Plantarum, I, 1992, 352p.

MACEDO, E. M. S.; ALAN E SILVA, J. G.; SILVA, M. G. V. Quimiodiversidade e Propriedades Biofarmacológicas de Espécies de *Senna* Nativas do Nordeste do Brasil. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 169-195, 2016.

MAIA, S. M. F.; OLIVEIRA, T. S.; OLIVEIRA, F. N. S. Plantas espontâneas na cobertura do solo e acúmulo de nutrientes em áreas cultivadas com cajueiro. **Revista Ceres**, v. 51 (293), p. 83-97, 2004.

MARAZZI, B.; ENDRESS, P.; PAGANUCCI DE QUEIROZ, L.; CONTI, E. Phylogenetic relationships within *Senna* (Leguminosae, Cassiinae) based on three chloroplast DNA regions: patterns in the evolution of floral symmetry and extrafloral nectarines. **American Journal of Botany**, v. 93, p. 288–303, 2006.

MEISSNER FILHO, P. E. Indexação de Plantas Para Viroses. Agrosoft Brasil, 2004. Disponível em: <<http://www.agrosoft.org.br/br/indexacao-de-plantas-para-viroses/artigos>> Acesso em 13 de Junho de 2016.

MELO, J. I. M.; RODAL, M. J. N. Levantamento florístico de um trecho de floresta serrana no planalto de Garanhuns, Estado de Pernambuco. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, Maringá, v. 25, n. 1, p. 173-178, 2003.

MISSOURI BOTANICAL GARDEN. 2016. Tropicos.org. Disponível em: <<http://www.tropicos.org>> Acesso em 12 de Junho de 2016.

MONKHEANG, P.; SUDMOON, R.; TANEE, T.; NOIKOTR, K.; BLETTER, N.; CHAVEERACH, A. Species diversity, usages, molecular markers and barcode of medicinal *Senna* species (Fabaceae, Caesalpinioideae) in Thailand. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, pp. 6173–6181, 2011.

MOREIRA, H. J da C.; BRAGANÇA, H. B. N. **Manual de Identificação de Plantas Infestantes**. FMC Agricultural Products, São Paulo, 2011, 1017p.

MORRIS, J. B. Characterization of medicinal *Senna* genetic resources. **Plant Genetic Resources** Conservation Unit, USDA, ARS, 1109 Experiment Street, Griffin, GA 30223, USA. p. 257-259, 2009.

OGUNJOBI, A. A.; ABIALA, M. A. Antimicrobial activity of *Senna alata* and *Phyllanthus amarus*. **Global Journal of Pharmacology** v. 7, p. 198-202, 2013.

OLIVEIRA, M. L. **Caracterização de Alexivirus em alho nas regiões sul, sudeste e centro-oeste brasileiro e análise da sanidade vegetal do alho obtido por cultura de meristema e termoterapia na FCA/UNESP**. Botucatu-SP: UNESP,

2013, 59p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

OLIVEIRA, M. L.; NARDINI, J. P. C.; MARCHI, B. R.; MITUTI, T.; BAMPI, D.; PAVAN, M. A.; KRAUSE-SAKATE, R. Análise da presença de vírus em alho semente da segunda e quarta gerações, produzidos por termoterapia e cultura de tecido. **Summa phytopathol.** v. 40, n. 1 Botucatu Jan./Mar. 2014.

PEIXOTO, A. R.; MARIANO, R. L. R.; MOREIRA, J. O. T.; VIANA, I. O. Hospedeiros alternativos de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 161-164, 2007.

QUEIROZ, L. P. 2009. **Leguminosas da Caatinga**. Feira de Santana, Editora da Universidade Estadual de Feira de Santana.

REZENDE, J. A.; CAMELO-GARCÍA, V. M.; ANDRADE, S. C.; BURIOLLA, J. E.; KITAJIMA, E. W.; DUARTE, L. M. Biological and molecular characterization of a putative new potexvirus infecting *Senna occidentalis*. **Archives of Virology** 162(2):, p. 529–533, 2017.

RODAL, M. J. N.; NASCIMENTO, L. M. & MELO, A. L. Composição florística de um trecho de vegetação arbustiva caducifólia, no município de Ibimirim, Pernambuco, Brasil. **Acta Botanica Brasilica** v. 13(1), p. 14-29, 1999.

RODRÍGUEZ, A. G.; SOTO, P. A.; FERNÁNDEZ, P. S. P.; BETANCOURT, R. I.; BRAUN, U. Identity of powdery mildew on *Senna* in Mexico. **Plant Pathology & Quarantine**, v. 2, p. 37-42, 2012.

SALAS, F. J. S.; Barradas, M. M; PARRA, J. R. P. Tentativas de transmissão de um isolado do vírus do mosaico severo do caupi (CpSMV-SP) por artrópodos, em laboratório. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 2, p. 413-420, 1999.

SANTOS, J. P. **O gênero *senna* mill. (leguminosae, caesalpinioideae, cassieae) na região centro-oeste do brasil, com ênfase nas espécies ocorrentes no estado de Goiás**. Goiânia – GO: UFG, 2013, 148p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás.

SEABRA, P. V.; RIVAS, E. B.; DUARTE, L. M. L.; GALLETI, S. R.; ALEXANDRE, M. A. V. Detecção de carlavirus em *Senna macranthera*. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 7, n. 1, p. 67-71, 2001.

SOLADOYE, M. O.; ONAKOYA, M. A.; CHUKWUMA, E. C.; SONIBARE, M. A. Morphometric study of the genus *Senna* Mill. in SouthWestern Nigeria. **African Journal of Plant Science**, v. 4 (3), p. 44-52, 2010.

TEIXEIRA, M. L. F.; FRANCO, A. A. Susceptibilidade de larvas de *Cerotoma arcuata* Olivier (Coleoptera: Chrysomelidae) a *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Bacillus thuringiensis* Berliner. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 1, p. 19-25, 2007.

THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 22, p. 4673-4680, 1994.

VIEGAS JUNIOR, C.; REZENDE, A.; SILVA, D. H. S.; CASTRO-GAMBÔA, I.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J.; MIRANDA, A. L. P.; ALEXANDRE-MOREIRA, M. S. & YOUNG, M. C. M. Aspectos químicos, biológicos e etnofarmacológicos do gênero *Cassia*. **Química Nova**. v. 29 (6), p. 1-8, 2006.

WALKEY, D. G. A.; SPENCE, N. J.; CLAY, C. M.; MILLER, A. A potyvirus isolated from *Senna occidentalis*. **Plant Pathology**, v. 43, p. 767-773, 1994.

WHITFIELD, A. E.; ROTENBERG, D.; GERMAN, T. L. Plant pest destruction goes viral. **Nature Biotechnology**, v. 32, n. 1, p. 65-66, 2014.