



PIBIC/CNPq/UFPG-2010

ESTUDO DA OCORRÊNCIA E GRAU DE INCIDÊNCIA DE VIROSES NO FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata*) L. Walp. NA REGIÃO DE POMBAL – PB.

Aurivan Soares de Freitas¹, Rayssa Nágilla², Márcia Aparecida Cezar^{3*}, Márcia Michelle de Queiróz Ambrósio⁴, José Albérico de Araújo Lima⁵.

RESUMO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) é uma importante cultura utilizada por pequenos agricultores da região Nordeste. Durante o cultivo, a ocorrência de doenças ocasionadas por vírus constitui um fator limitante da produção do feijão-caupi. Destaca-se, dentre as doenças causadas por vírus, o mosaico severo, causado pelo *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV), *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) e o *Cucumber mosaic virus* (CMV). Um levantamento da ocorrência de viroses em campos de produção de feijão-caupi nos municípios de Bom Sucesso, Paulista e Pombal, no estado da Paraíba, foi realizado durante os meses de agosto a dezembro de 2009 e fevereiro a maio de 2010. As ocorrências do CPSMV e CABMV foram observadas nos três municípios estudados em diferentes épocas, em infecções simples e mistas. Amostras de folhas com sintomas de mosaico dourado negativas no teste sorológico foram testadas por PCR e a presença de *Begomovirus* foi confirmada. O CMV não foi detectado em nenhuma das regiões analisadas.

Palavras-chave: *Potyvirus*; *Comovirus*; *Cucumovirus*; *Begomovirus*; detecção sorológica e biológica.

SURVEY OF OCCURRENCE AND DEGREE OF INCIDENCE OF VIRUSES IN COWPEA (*Vigna unguiculata*) L. Walp. IN THE POMBAL – PB

ABSTRACT

The cowpea (*Vigna unguiculata*) is an important crop used by small farmers in the Northeast of Brazil. During cultivation, the occurrence of diseases caused by viruses is one factor limiting the cowpea production. It stands out among the diseases caused by viruses, severe mosaic, caused by *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV), *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) and *Cucumber mosaic virus* (CMV). A survey of viruses in production fields of cowpea in Bom Sucesso, Paulista and Pombal, in Paraíba State, was conducted during the months august to december of 2009 and february to may of 2010. The occurrences of CPSMV and CABMV were observed in three cities studied at different times in single and mixed infections. Samples of leaves with golden mosaic symptoms negative serologic test were tested by PCR and the presence of *Begomovirus* was confirmed. CMV was not detected in any of the regions studied.

Keywords: *Potyvirus*, *Comovirus*; *Cucumovirus*; *Begomovirus*; biological and serological detection

¹ Aluno do Curso de Agronomia, Unidade Acadêmica de Ciências Agrárias, UFPG, Pombal, PB, E-mail: aurivan.soares@hotmail.com

² Aluna do Ensino Médio Escola Estadual Arruda Câmara, Pombal, PB

³ Engenheira Agrônoma, Professora Doutora, Unidade Acadêmica de Ciências Agrárias, UFPG, Pombal, PB, E-mail: macezar@ccta.ufcg.edu.br; *Autora para correspondências.

⁴ Engenheira Agrônoma, Professora. Doutora, Departamento de Ciências Vegetais, UFRSA, Mossoró, RN, E-mail: mmqambrosio@hotmail.com

⁵ Engenheiro Agrônomo, Professor. Doutor, Departamento de Fitotecnia, UFC, Fortaleza, CE, E-mail: albersio@ufc.br

INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), também conhecido como feijão-macáçar, feijão-de-corda, representa uma importante cultura em diversas regiões tropicais e subtropicais em que é cultivado e consumido (FREIRE FILHO et al., 2005). Considerado em vários estados da região Nordeste do país, a principal cultura de subsistência, sendo, também, cultivado em alguns estados das regiões Centro-Oeste, Norte e Sul.

Dados disponíveis na FAO (2009) sobre a produção mundial de feijão-caupi, no ano de 2007, indicam que a cultura atingiu 3,6 milhões de toneladas em 12,5 milhões de hectares, destacando-se entre os maiores produtores a Nigéria, o Niger e o Brasil.

De acordo com Silva (2009), a produtividade média do feijão-caupi, no Brasil, é baixa (366 kg ha⁻¹), em função do baixo nível tecnológico empregado no cultivo. No estado da Paraíba, o feijão-caupi é cultivado em quase todas as microrregiões, numa área de 186.151 hectares, com a produção de 62.018 toneladas ano⁻¹ e rendimento médio 382 kg ha⁻¹, ocupando o quarto lugar em área plantada no Nordeste (IBGE, 2005).

De acordo com Santos et al., (2009) na região do Cariri do Brejo Paraibano, as variedades de feijão-caupi mais cultivadas são Sempre Verde, Canapu, Rabo de Peba, Galanjão resultantes de seleções praticadas pelos agricultores, o que favorece para a redução da produtividade na região.

Outros fatores que afetam a produtividade do feijão-caupi, é a incidência de doenças infecciosas como as doenças de origem fúngica, bacteriana e viral. De acordo com Lima et al., (2005b) as doenças ocasionadas por vírus, são responsáveis pelos principais prejuízos.

De acordo Hampton et al., (1997) existem pelo menos 20 espécies de vírus no mundo que podem infectar o feijão-caupi e, entre os principais que infectam essa cultura no Brasil, destaca-se o *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV), pertencente ao gênero *Comovirus*; *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV), pertencente ao gênero *Potyvirus*, *Cucumber mosaic virus* (CMV), pertencente ao gênero *Cucumovirus* e *Cowpea golden mosaic virus* (CGMV) pertencente ao gênero *Begomovirus* (LIMA et al., 2005a; PIO-RIBEIRO et al., 2005).

A doença causada pelo CPSMV é o mosaico-severo, que vem sendo observado em todas as regiões do território nacional onde o caupi é cultivado (LIMA et al., 2005b). Essa virose é conhecida por mosaico-severo, em razão da severidade de sintomas evidenciados nas plantas infectadas, considerada uma das principais doenças do feijão-caupi, sendo relatada em praticamente todos os Estados produtores do Norte e Nordeste do Brasil. O CPSMV apresenta uma larga variabilidade biológica (LIMA et al., 1998; LIMA et al., 2005b), é de fácil transmissão mecânica e na natureza, é transmitido de forma semi-persistente por várias espécies de coleópteros da família Chrysomelidae, destacando-se *Cerotoma arcuata* como mais importante inseto transmissor do CPSMV no Brasil (PIO-RIBEIRO et al., 2005).

Além do mosaico severo, outra doença que ocorre nesta cultura é o mosaico ocasionado pelas espécies virais CABMV e o *Bean common mosaic virus* (BCMV) ambas pertencentes ao gênero *Potyvirus*, Família *Potyviridae*. Plantas de feijão-caupi infectadas por Potyvirus apresentam sintomas de mosaico foliar intenso, formado pela alternância de coloração verde na área do limbo foliar, com áreas cloróticas. As espécies de vírus pertencentes ao gênero *Potyvirus* que infectam o feijão-caupi podem ser experimentalmente transmitidas por inoculação mecânica, e em condições de campo, a transmissão ocorre por meio de sementes contaminadas e por afídeos de maneira não-persistente, sendo estes, os principais vetores na natureza (LIMA et al., 2005b).

Outro vírus capaz de infectar naturalmente o feijão-caupi é o CMV, pertencente à família *Bromoviridae* e gênero *Cucumovirus* que ocasiona sintomas de mosaico leve e manchas anelares sistêmicas em algumas cultivares suscetíveis. A transmissão do CMV pode ser mecânica por meio da inoculação de extrato vegetal de plantas infectadas em plantas sadias e por afídeos de maneira não-persistente, os quais se destacam as espécies *Aphis gossypii* e *Myzus persicae* (PIO-RIBEIRO et al., 2005). A disseminação por sementes pode ocorrer em algumas espécies de hospedeiros, com taxa de transmissibilidade entre 4 e 18% (LIMA, et al., 2005b).

O CGMV é o vírus causador do mosaico dourado do caupi. As plantas infectadas apresentam mosaico amarelo-brilhante e a redução na produção pode atingir até 75%. O CGMV é membro do gênero *Begomovirus*, família *Geminiviridae*. De acordo com Lima et al., 2005b o CGMV que ocorre no Nordeste não é transmitido mecanicamente, mas naturalmente transmitido de maneira semi-persistente pela mosca-branca *Bemisia tabaci* e artificialmente pela enxertia. No entanto, recentemente tem-se constatado um aumento da incidência das viroses ocasionadas por *Begomovirus*. Estudos têm relacionado esse aumento ao surgimento e à disseminação de um novo biótipo da mosca-branca. O biótipo B transmite os vírus mais eficientemente e apresenta uma gama de hospedeiros mais ampla que o biótipo A. Além disso, populações do biótipo B resistentes a inseticidas são mais rapidamente selecionadas que no biótipo A (ASSUNÇÃO et al., 2006).

Além dos vírus anteriormente citados ocorrerem isoladamente na cultura do feijão-caupi, pode ser encontrado também infecções mistas, ou seja, mais de uma espécie viral, levando a alterações nos sintomas da doença. Tais infecções mistas podem ter um efeito antagônico ou sinérgico. Os efeitos de infecções simples e mistas por CABMV, *Cowpea mottle virus* (CMeV) e *Southern bean mosaic virus* (SBMV)

foram avaliados por Kareem e Taiwo (2007) em três cultivares comerciais na Nigéria. Os efeitos de infecções mistas nas cultivares de feijão-caupi foram a redução significativa no crescimento e desenvolvimento, resultando em um ataque severo da infecção do vírus no campo.

Além de plantas cultivadas, muitas espécies de plantas invasoras são consideradas hospedeiras alternativas de *Begomovirus* em vários países, inclusive no Brasil e, supostamente, constituem fonte potencial de vírus no campo. As espécies relatadas geralmente pertencem às famílias botânicas Malvaceae, Euphorbiaceae e Fabaceae (MORALES e ANDERSON, 2001).

As plantas silvestres podem desempenhar importante papel na sobrevivência e na epidemiologia dos vírus que infectam o feijão-caupi, atuando como reservatórios naturais e alternativos, durante os períodos de entressafra. Muitos vírus possuem plantas silvestres como hospedeiras alternativas, que funcionam como fonte inicial de inóculo, a partir das quais os vetores naturais levam vírus para plantas de feijão-caupi (LIMA et al., 2005b).

Lima e Nelson (1977) enfatizaram a importância de *Macroptilium lathyroides* na sobrevivência do CPSMV e Lima e Gonçalves (1988) identificaram a planta manjerioba (*Senna alata*) com potencial reservatório dos *Potyvirus* que infectam o feijão-caupi no nordeste brasileiro.

Como pode-se observar, as doenças causadas por vírus são amplamente disseminadas no caupi, e como essa cultura é de importância para a região do semiárido, é de suma importância a realização de estudos sobre esse tema.

Assim, estudos acerca dos vírus que infectam o feijão-caupi são de grande importância para que se possa determinar a sua ocorrência e posteriormente buscar medidas para minimizar as perdas causadas pelas doenças de origem viral. Diante da inexistência de informações a respeito da ocorrência de viroses no feijão-caupi no semiárido paraibano o objetivo deste trabalho foi a realização do levantamento da ocorrência de possíveis viroses na cultura do feijão-caupi em três municípios produtores localizados no Semiárido paraibano e a identificação, entre as épocas (secas e/ou chuvosas), que apresenta maior incidência de viroses na cultura do feijão-caupi.

MATERIAL E MÉTODOS

Época das coletas de amostras

Baseado nos potenciais produtivos da cultura do feijão-caupi observados nos municípios de Bom Sucesso, Paulista e Pombal, estes foram selecionados para o levantamento da ocorrência de viroses.

Foram realizadas coletas de amostras foliares de plantas de feijão-caupi exibindo diferentes sintomas de mosaico e deformação foliar em cultivo irrigado (época seca) e em cultivo de sequeiro (época chuvosa), sendo a época, a região de origem e o sistema de cultivo descritos na Tabela 1. Além de amostras de feijão-caupi, no município de Pombal em cultivo de sequeiro foram coletadas plantas silvestres, situadas nas proximidades e dentro de plantio de feijão-caupi, com sintomas de mosaico dourado.

Tabela 1. Meses de coleta de amostras, localidade das regiões produtoras e número de amostras de feijão-caupi coletadas com sintomas de viroses.

Meses de Coleta	Localidade	Número de amostras coletadas
Época da seca		
	Cultivo irrigado	
Agosto	Bom Sucesso	51
Outubro	Paulista	50
Dezembro	Pombal	33
	Sub Total	134
Época das chuvas		
	Cultivo de Sequeiro	
Março	Bom Sucesso	20
Abril	Paulista	28
Maio	Pombal	35
	Sub Total	83
	Total	217

Coleta de amostras foliares com sintomas de viroses provenientes de municípios produtores de feijão-caupi

As amostras foliares coletadas foram acondicionadas em sacos plásticos, sendo transferidas para o interior de caixas de isopor e mantidas refrigeradas até o momento do envio para o laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campus de Pombal – PB.

Identificação sorológica

As amostras foram testadas por “enzyme linked immunosorbent assay” Elisa (indireto) (ALMEIDA e LIMA, 2001) contra anti-soros específicos para CPSMV, CABMV, CMV e *Potyvirus* provenientes da soroteca do Laboratório de Virologia Vegetal/UFC.

Extratos de plantas reconhecidamente infectadas pelo CPSMV, CABMV e CMV e extratos de folhas sadias, usadas como testemunhas positivas e negativas respectivamente, foram preparados em tampão de carbonato (pH 9,6, 0,015 M de Na_2CO_3 , 0,035 M de NaHCO_3 e 0,007 M de dietilcarbamato) na proporção de 1:10 (p/v). Poços de placas de ELISA foram cobertos com 100 μl dos extratos e, em seguida, as placas foram recobertas com papel alumínio e incubadas em geladeira (4 °C) por um período entre 12 e 18 horas (over night). Após o período de incubação as placas foram submetidas a uma lavagem rápida seguida de três lavagens consecutivas com intervalos de três minutos com PBS-Tween 20 (0,8% de NaCl, 0,02% de KH_2PO_4 , 0,11% de Na_2HPO_4 , 0,02% de KCl e 0,05% de Tween-20), e mais uma lavagem rápida com água destilada. Aos poços foram adicionados individualmente 100 μl de anti-soro específico para CABMV e CMV na diluição de 1:1.000, em tampão de anti-soro (0,5 M de polivinil pirrolidona, 2% de ovalbumina, 0,003 M de azida de sódio, 0,17% de dietilditiocarbamato) previamente absorvido com extrato de folhas de caupi sadio, visando remover possíveis anticorpos reativos com proteínas de plantas (ALMEIDA e LIMA, 2001). As placas foram novamente recobertas com papel alumínio e incubadas a 37 °C por uma hora. Após o período de incubação as placas foram submetidas a mais três lavagens com PBS-Tween e água destilada e preenchidos com 100 μl de imunoglobulina (IgG) de cabra, Anti-IgG de coelho, conjugada à fosfatase alcalina, diluída na proporção de 1:2.000, em tampão contendo 0,5 M de polivinil pirrolidona, 2% de ovalbumina e 0,003 M de azida de sódio. As placas foram incubadas novamente em estufa a 37 °C durante uma hora e, após três lavagens com PBS-Tween e uma com água destilada, foram adicionados, em todos os poços usados, 100 μl do substrato p-nitrofenil fosfato de sódio na concentração 0,5 mg/ml dissolvido em tampão contendo 12% dietanolamina e 0,25% de azida de sódio, pH 9,8. As reações foram observadas aos 30 e 60 minutos na leitora de ELISA Labsystems Multiskam MS, utilizando-se o comprimento de onda de 405 nm. De acordo com o critério adotado no Laboratório de Virologia Vegetal da UFC, baseado em recomendações de Almeida e Lima (2001), foram consideradas positivas as reações que correspondem ao dobro dos valores médios das absorbâncias registradas para os extratos de plantas sadias, usadas como testemunhas.

Análise molecular

Sabe-se que a análise sorológica permite a identificação de vírus dos gêneros *Potyvirus*, *Comovirus* e *Cucumovirus* em feijão-caupi. Entretanto a detecção de *Begomovirus* somente pode ser realizada por meio da análise molecular, para isso parte das amostras negativas na análise sorológica foram submetidas à análise molecular.

Extração de DNA

A extração de DNA foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Dellaporta et al., (1983). Folhas com sintomas de infecção pelo CGMV e folhas sadias de *Macroptilium lathyroides*, foram usadas como testemunhas positivas e negativas respectivamente. O procedimento foi realizado da seguinte maneira: pequenos fragmentos de tecidos foliares de amostras de feijão-caupi e plantas silvestres com sintomas de mosaico dourado foram coletados e colocados individualmente em tubos de microcentrífuga de 1.5 ml. Foram adicionados 500 μl de tampão de extração, onde procedeu-se a trituração do material vegetal com o auxílio de pistilo plástico. Para promover o rompimento celular e liberação do ácido nucléico foram acrescentados 33 μl de SDS 20%, onde procedeu-se a agitação por dois minutos e incubação por dez minutos a 65 °C. Após a incubação, foram adicionados 160 μl de acetato de potássio 5 M, onde procedeu-se a agitação por dois minutos e posterior centrifugação por dez minutos a 14000 rpm. Os sobrenadantes foram coletados e transferidos para um novo tubo onde foi adicionado um volume de Isopropanol, agitando-se em vortex. Posteriormente foi realizada a centrifugação por dez minutos a 14000 rpm. Os sobrenadantes foram cuidadosamente removidos e descartados. Ao pellet foram adicionados 500 μl de etanol 70% e em seguida foi centrifugado por cinco minutos, sendo removido o sobrenadante. O pellet foi seco a temperatura ambiente por 20 minutos e ressuscitado com 150 μl de água ultrapura.

Amplificação por Reação de Polimerização em Cadeia (PCR)

Na reação de polimerização em cadeia (PCR) foram utilizados 2 µL de DNA total extraído; 5 µL de tampão Gotaq Flexi (5x) Promega; 2,5 µL de MgCl₂ (25mM); 0,5 µL de cada um dos oligonucleotídeos específicos para o componente B de *Begomovirus* descritos por Rojas et al., 1993, 0,2 µL da enzima Gotaq Flexi polimerase, 0,25 µL de mistura de desoxinucleotídeo trifosfatado dGTP, dATP, dCTP, dTTP e água Mili Q tratada com DEPC completando o volume de 25 µL. A reação foi efetuada em um termociclador 'Eppendorf Mastercycler Gradient'.

As condições da reação para os oligonucleotídeos PBLv 2040 e PCR C1 foram as seguintes: 94 °C por três minutos, 29 ciclos de amplificação a 94 °C por um minuto, 53 °C por um minuto e 72 °C por dois minutos, proporcionando, respectivamente, desnaturação, anelamento dos oligonucleotídeos e a extensão, seguida da extensão final a 72 °C por sete minutos.

Os produtos da PCR, juntamente com o marcador molecular de um kb Ladder foram visualizados em gel de agarose 1%, em tampão TBE (0,1 M Tris HCl; 0,1M de ácido bórico e 0,02 mM de EDTA pH 8,3) e corado com 0,1 µl/ml de brometo de etídeo. O gel foi observado em aparelho transiluminador sob luz ultravioleta, e foto documentado, para análise.

Teste de gama de hospedeiros

O teste de gama de hospedeiros foi realizado em casa de vegetação localizada no Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG.

Amostras foliares coletadas, analisadas e positivas em sorologia para os vírus testados foram selecionados e submetidas a estudos de gama de hospedeiros que foram realizados através de inoculações mecânicas em plantas indicadoras. Foram utilizadas diversas espécies vegetais dentre as famílias botânicas Chenopodiaceae, Fabaceae e Solanaceae.

As espécies vegetais utilizadas na gama de hospedeiros foram semeadas individualmente em vasos contendo solo esterilizado, mantendo-se quatro plantas por vaso. As inoculações foram realizadas logo após o aparecimento do primeiro par de folhas verdadeiras, usando-se como inóculo extrato vegetal obtido das amostras foliares de plantas de feijão-caupi apresentando sintomas de mosaico, deformação foliar e bolhosidade e que apresentaram resultados positivos em sorologia, preparado em solução tampão 0,05 M de fosfato de potássio pH 7,5. A sintomatologia foi observada por um período de 30 dias após a inoculação.

O estudo envolveu as seguintes espécies de plantas indicadoras: *Chenopodium amaranticolor*, *C. murale*, *C. quinoa*, *Nicotiana benthamiana* L., *N. tabacum*, e as cultivares de feijão-caupi "Macaibo" e Nova Era.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ocorrência de viroses nos municípios produtores de feijão-caupi em cultivo irrigado (época das secas).

No decorrer das coletas realizadas em diferentes municípios produtores de feijão-caupi situadas no semiárido paraibano, no período das secas (agosto a dezembro de 2009) foram analisadas 134 amostras por meio de testes sorológicos de Elisa indireto. O levantamento da ocorrência de viroses no feijão-caupi irrigado revelou a presença dos vírus CPSMV e CABMV em 105 amostras em infecções simples e mistas (Tabela 2).

No mês de agosto na região de Bom Sucesso – PB, foram coletadas e analisadas 51 amostras, sendo a presença do CPSMV e CABMV detectada em infecções simples e mistas em 35 amostras. O CABMV foi detectado em 12 das 51 amostras analisadas, e a presença do CPSMV foi constatada em nove amostras, enquanto infecções mistas entre estes vírus foram constatadas em 14 das 51 amostras. O CMV não foi detectado em nenhuma das amostras analisadas (Tabela 2).

A segunda região analisada foi a de Paulista – PB no mês de outubro onde observou-se um aumento significativo no número de plantas com infecção mista em relação aos resultados obtidos da coleta realizada na região de Bom Sucesso. Após a análise sorológica de 50 amostras de feijão-caupi coletadas nesta região, reações contra anti-soros específicos para tais vírus em infecções simples foram observadas, sendo a presença do CABMV detectada em dez das 50 amostras analisadas, enquanto o CPSMV foi observado em cinco amostras. Infecções mistas foram observadas em 29 amostras. Similarmente aos resultados obtidos na região de Bom Sucesso, não foi detectada na análise sorológica a presença do CMV em nenhuma das amostras coletadas em Paulista – PB (Tabela 2 e Figura 1).

No mês de dezembro, 33 amostras foram coletadas e analisadas na região de Pombal – PB onde reações positivas para CPSMV e CABMV foram observadas em 26 amostras em infecções simples e mistas. Nesta região, o CABMV foi encontrado em 20 amostras, enquanto o CPSMV foi detectado em cinco das 33 amostras analisadas, e em apenas uma amostra foi detectada infecção mista entre estes vírus,

novamente o CMV não foi detectado (Tabela 2 e Figura 1). Predominância de plantas de feijão-caupi com sintoma de mosaico dourado foram observadas no campo.

Tabela 2. Levantamento da ocorrência de viroses em três municípios produtores de feijão-caupi no semiárido paraibano em cultivo irrigado no período de agosto a dezembro de 2009.

Local	Número e Porcentagem de Amostras				Número de Amostras com vírus e Porcentagem de Incidência		
	Avaliadas	Infectadas	Sem Infecção	Infecção Mista	CMV	CPSMV	CABMV
Bom Sucesso	51	35 (68,62)	16 (31,37)	14 (27,45)	-	9 (17,64)	12 (23,52)
Paulista	50	44 (88,00)	6 (12,00)	29 (58,00)	-	5 (10,00)	10 (20,00)
Pombal	33	26 (78,78)	7 (21,21)	1 (3,03)	-	5 (15,15)	20 (60,60)
Total	134	105 (78,36)	29 (21,64)	44 (32,84)	-	19 (14,17)	42 (31,33)

Incidência de viroses nos municípios produtores de feijão-caupi em cultivo irrigado (época das secas).

A incidência de viroses foi observado nos três municípios produtores de feijão-caupi analisadas.. Apesar das 134 amostras coletadas estarem sintomáticas, em 29 amostras (21,64%) não foi constatado as presenças de nenhum dos vírus analisados (Tabela 2 e Figura 2). Fernandes et al., (1993) observaram a incidência de viroses em feijão-caupi na avaliação comportamental e adaptabilidade de cultivares e linhagens no Rio Grande do Norte.

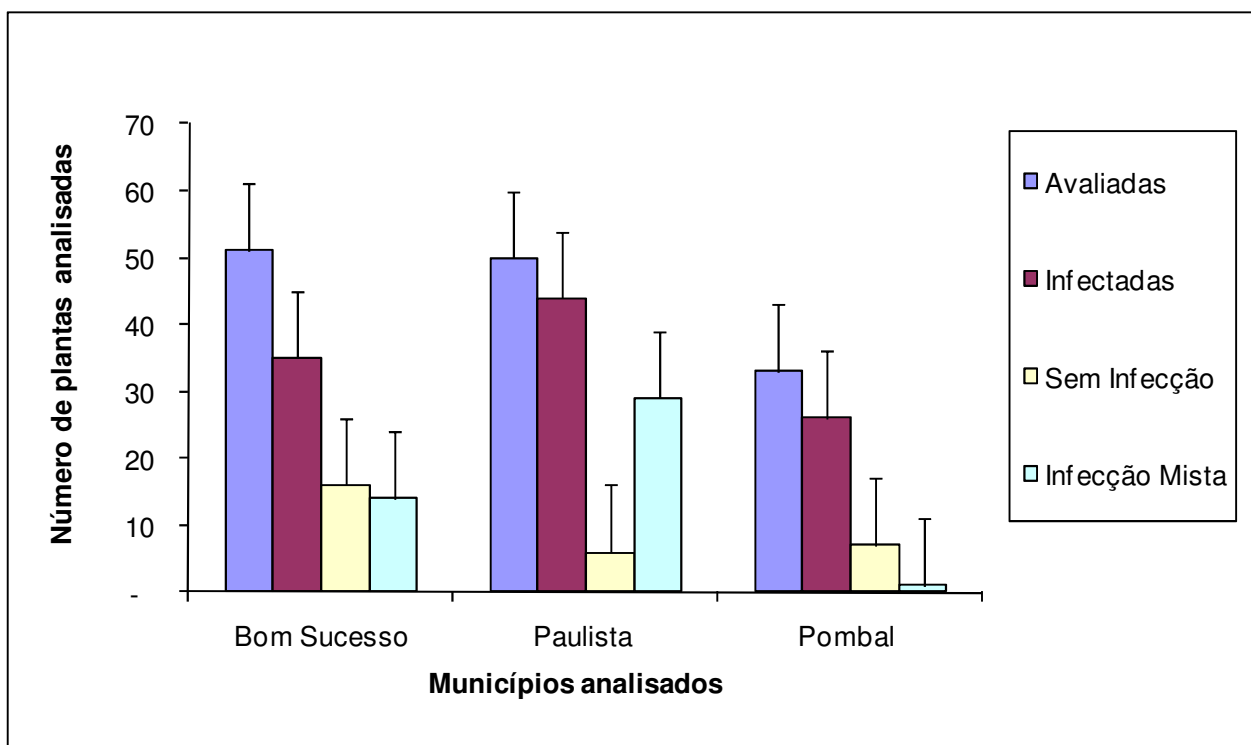


Figura 1. Ocorrência de viroses no feijão-caupi em cultivo irrigado no período de agosto a dezembro de 2009

Os resultados das análises sorológicas das amostras coletadas, provenientes de diferentes municípios, em sistema de cultivo irrigado, indicaram que a incidência do CABMV predominou nas avaliações realizadas nas três regiões produtoras analisadas, sendo o mês de dezembro o de maior incidência na região de Pombal, com 60,60% de incidência (Tabela 2 e Figura 2). Esta incidência no campo se deve a alta população de afídeos comumente encontrados neste período do ano, uma vez que o CABMV é transmitido de maneira não-persistente, sendo estes os principais vetores na natureza. Podendo ser citadas as

espécies de pulgões *Aphis craccivora*, *A. fabae*, *A. gossypii*, *Myzus euphorbiae*, *M. persicae*, entre outras (PIO-RIBEIRO et al., 2005).

Embora em menores percentuais, a incidência do CPSMV foi verificada em 19 (14,17%) amostras das 134 analisadas, sendo este vírus encontrado durante todo o período das secas, com incidência de 17,64% no mês de agosto em Bom Sucesso. Infecções mistas foram verificadas em 44 amostras (32,84%) (Tabela 3). Enquanto o CMV não foi constatado em nenhuma das amostras (Tabela 2 e Figura 2).

A não ocorrência do CMV nos campos avaliados pode ser explicada pela inibição ou interferência na sua transmissão pela presença de outros vírus. A interferência dos potyvírus PRSV-W e ZYMV na transmissão do CMV por *A. gossypii* e *M. persicae* para abobrinha de moita (*Cucurbita pepo* L.) foi verificada por PINTO (2003) que sugeriu que a interferência pode ser a causa da baixa incidência do CMV nas amostragens realizadas, uma vez que o PRSV-W e/ou o ZYMV estiveram presentes em todas as avaliações.

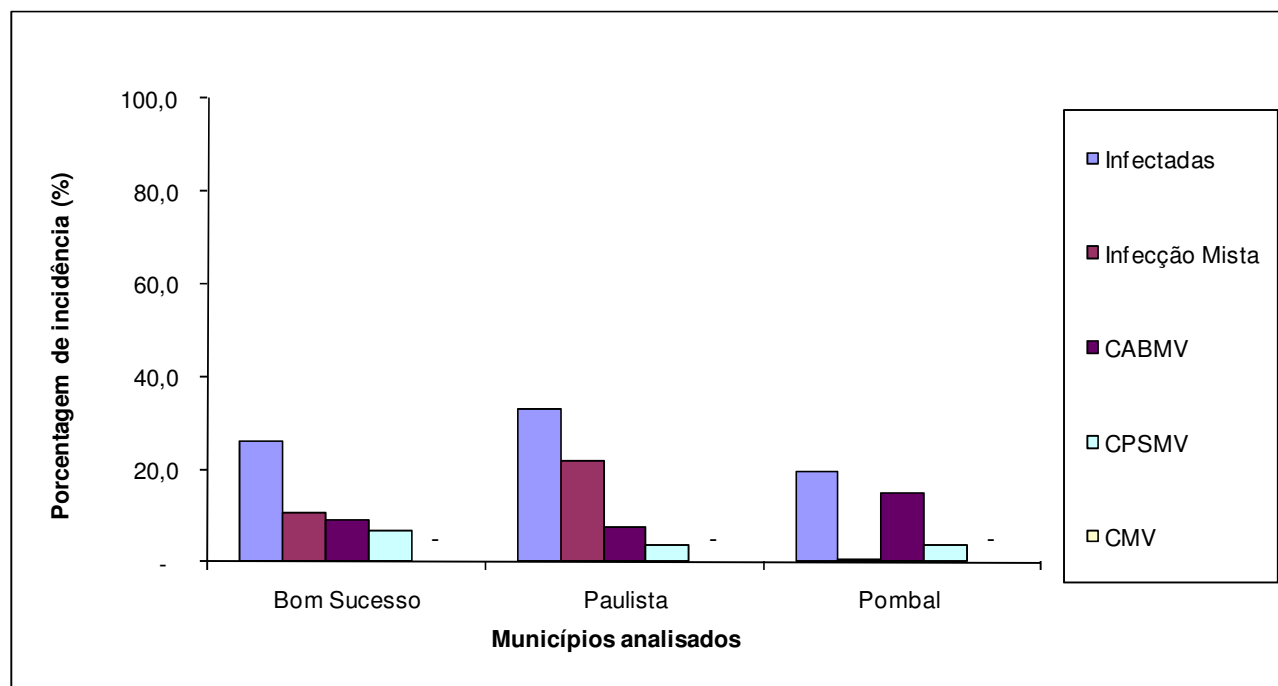


Figura 2. Porcentagem de incidência de viroses no feijão-caupi em cultivo irrigado no período de agosto a dezembro de 2009.

Ocorrência de viroses nos municípios produtores de feijão-caupi em cultivo de sequeiro (época das chuvas).

Visando verificar a ocorrência e incidência de viroses no feijão-caupi, em cultivo de sequeiro (período das chuvas) compreendido entre os meses de março a maio de 2010, foram coletadas e analisadas 83 amostras provenientes das três localidades produtoras de feijão-caupi citadas na Tabela 1.

De acordo com os resultados obtidos na análise sorológica, o CPSMV e o CABMV foram detectados em 54 amostras em infecções simples e mistas. Na região de Bom Sucesso, foram coletadas e analisadas por Elisa indireto 20 amostras, sendo a presença do CPSMV e CABMV detectada em infecções mistas em 18 amostras. Infecção simples do CPSMV foi observada em nove amostras das 20 amostras analisadas, enquanto que o CABMV foi verificado em apenas uma amostra proveniente desta região. Resultados negativos foram observados em duas amostras, mesmo estas estando sintomáticas no campo (Tabela 3 e Figura 3).

Tabela 3. Levantamento da ocorrência de viroses em três municípios produtores de feijão-caupi no semiárido paraibano em cultivo de sequeiro no período de março a maio de 2010

Local/Mês	Número e Porcentagem de Amostras		Número de Plantas Infectadas por Vírus				
			Sem Infecção	Infecção			
	Avaliadas	Infectadas	Infecção	Mista	CMV	CPSMV	CABMV
Bom Sucesso	20	18 (90,00)	2 (10,00)	8 (40,00)	-	9 (45,00)	1 (5,00)
Paulista	28	24 (85,71)	4 (14,28)	15 (53,57)	-	2 (7,14)	7 (25,00)
Pombal	35	12 (34,28)	23 (65,71)	0 (0,0)	-	6 (17,14)	6 (17,14)
Total	83	54 (65,06)	29 (34,93)	23 (27,71)	-	17 (20,48)	14 (16,86)

No mês de abril, na região de Paulista – PB foram coletadas um total de 28 amostras com sintomas típicos de infecção por vírus, sendo que após a análise sorológica, 24 delas amostras apresentaram reação para o CPSMV e CABMV em infecções simples e mistas. Sendo o CPSMV constatado em apenas duas amostras, enquanto o CABMV foi detectado em sete amostras das 28 analisadas. Foram verificadas infecções mistas em 15 amostras. Resultados negativos no teste sorológico foram observados em quatro amostras analisadas nesta região (Tabela 3 e Figura 3).

Em 35 amostras coletadas e analisadas no mês de maio na região de Pombal – PB, foram observadas reações positivas em seis delas para o CPSMV e seis positivas para o CABMV. Igualmente ao período das secas, o CMV novamente não foi constatado no período das chuvas (Tabela 3).

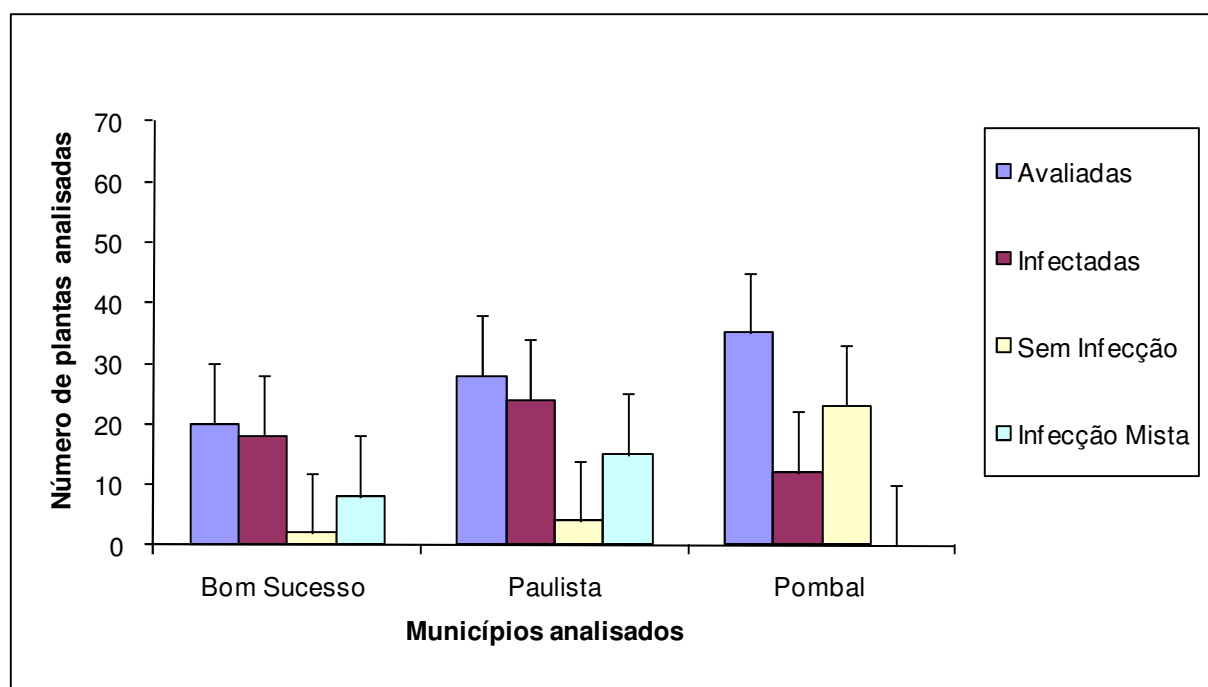


Figura 3. Ocorrência de viroses no feijão-caupi em cultivo de sequeiro no período de março a maio de 2010.

Incidência de viroses nas regiões produtoras de feijão-caupi em cultivo de sequeiro

Assim como no sistema de cultivo irrigado, no cultivo de sequeiro (época das chuvas) foram observados a ocorrência e o grau de incidência das viroses no feijão-caupi nas três regiões produtoras analisadas. A presença do CMV não foi constatada em nenhuma das amostras analisadas, entretanto Lima et al., (2005b) relataram no Brasil, a infecção simultânea de CABMV e CMV, reduzindo significativamente a produção de grãos sendo constatado em vários estados de Ceará, principalmente nas áreas produtoras do município de Brejo Santo, onde experimentos de campos com dez cultivares resistentes apresentaram

infecção dupla causada por CABMV e CMV, manifestando sintomas de mosaico, nanismo, necrose foliar e baixa produção de grãos.

O levantamento realizado na época das chuvas revelou a maior predominância do CPSMV, que foi detectado em 17 (20,48%) das 83 amostras analisadas (Tabela 3 e Figura 4). Isto provavelmente é devido à maior concentração de coleópteros nesta época do ano, uma vez que o CPSMV é transmitido naturalmente de forma semi-persistente por várias espécies de coleópteros da família Chrysomelidae, destacando-se *Cerotma arcuata* como a mais importante no Brasil (PIO-RIBEIRO et al., 2005). Segundo Costa e Batista (1979), o CPSMV pode ser transmitido por dez espécies de coleópteros do gênero *Cerotoma* e de acordo com Freitas et al., 2002, os picos populacionais de espécies de coleópteros são registrados em épocas mais úmidas do ano.

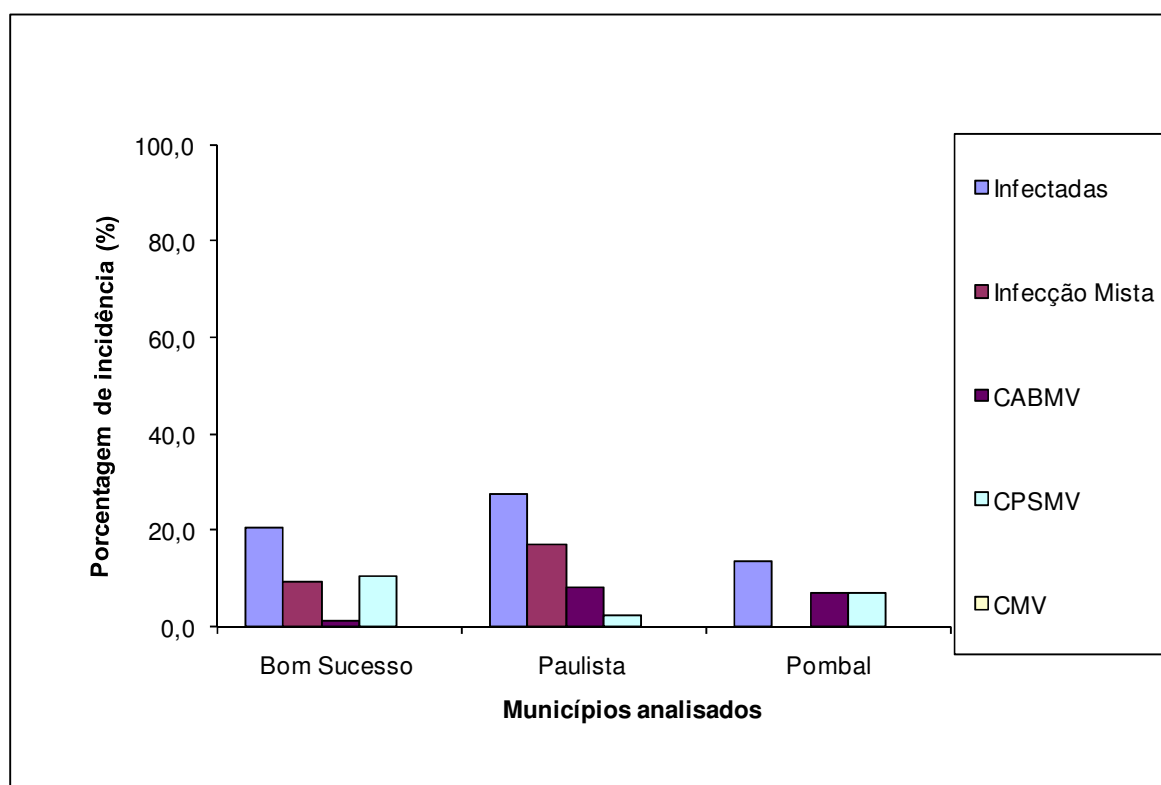


Figura 4. Porcentagem de incidência de viroses no feijão-caupi em cultivo de sequeiro no período de março a maio de 2010

Menor incidência do CABMV foi observada no cultivo de sequeiro sendo detectado em 14 (16,86%) amostras entre as 83 analisadas (Tabela 3). Isto se deve, provavelmente, à baixa população do inseto vetor no campo, que possivelmente, não atingindo um alto nível de populacional, pelo fato de ocorrer nessa época do ano precipitações pluviais, o que exerceu um papel regulador sobre as populações dos afídeos, afetando principalmente sua movimentação. Segundo Trumble (1982) e Lourenço e Pinto (1988), a precipitação é um importante fator na redução populacional dos pulgões.

Entretanto, considerando o nível epidemiológico, do CABMV, que estaria sendo perpetuado na região através das sementes produzidas pelos próprios produtores. Estas evidências demonstram a falta de conhecimento e informação por parte dos produtores locais que utilizam as sementes contaminadas de plantios sucessivos, prática que permite a disseminação e a perpetuação da doença no campo.

Alta incidência de infecções mistas entre o CABMV e CPSMV foram constatadas tanto no período da seca, quanto na época das chuvas nesta região. Do total de 83 amostras analisadas no sistema de cultivo de sequeiro, infecções mistas foram verificadas em 23 amostras (27,71%) (Tabela 4 e Figura 4), em relação ao cultivo irrigado onde foram verificadas 44 amostras (32,84%) (Tabela 3 e Figura 4).

As viroses vegetais causadas por infecção mista de dois ou mais vírus não relacionados são conhecidas desde a década de 20. Em infecções mistas entre dois ou mais vírus, frequentemente, ocorre o fenômeno de sinergismo, onde a severidade dos sintomas é maior do que a adição dos efeitos dos vírus isolados (COLARICCIO et al., 1991). Muitos casos de sinergismo envolvem espécies do gênero *Potyvirus*. Exemplos clássicos incluem a interação do *Potato virus X* (PVX) com vários potyvírus, incluindo *Potato virus Y* (PVY), *Tobacco vein mottling virus* (TVMV) e *Tobacco etch virus* (TEV), infectando espécies de *Nicotiana* e diversas outras solanáceas. Nesses casos, o aumento da severidade dos sintomas é relacionado com um

aumento do acúmulo do PVX, não havendo aumento ou decréscimo da concentração do potyvírus (VANCE, 1991).

Normalmente, plantas com infecção mista exibem sintomas mais severos do que aqueles observados em infecções isoladas (LIMA et al., 2005b). De acordo com Taiwo et al., (2007) infecção mista tem implicações biológicas, epidemiológicas e econômicas pois podem ocorrer relações sinérgicas ou antagônicas, levando a alterações nos sintomas da doença, alterações na movimentação sistêmica dos vírus e aumento ou diminuição da concentração dos vírus na planta. As consequências do sinergismo entre vírus, resultando em doença diferente, com sintomas mais severos, já foram relatadas por Calvert e Ghabrial (1983) e Poolpol e Inouye (1986) em outras culturas.

Ramos et al., (2003) verificaram o efeito da interação de infecções mistas em abobrinha 'Caserta' quando inoculada com ZYMV e WMV, exibiu sintomas mais severos que os exibidos pelos mesmos vírus inoculados separadamente.

Em estudos sobre a interação sinérgica entre PRSV e PLYV, constatou-se que plantas de mamoeiro infectadas somente com PRSV apresentam sintomas de mosaico com deformações foliares. Plantas inoculadas apenas com PLYV apresentam clorose sistêmica sem deformação foliar, enquanto que plantas inoculadas com os dois vírus exibem sintomas bastante severos, constituídos de clorose, amarelecimento, redução de crescimento, necrose sistêmica e morte de 50% das plantas, indicando assim, uma forte interação sinérgica, entre PRSV e PLYV (LIMA et al., 1993).

Na cultura do feijão-caupi as infecções múltiplas causadas por quatro a cinco viroses foram também observadas, mas aquelas infecções mistas causadas por duas viroses foram mais prevalentes (SHOYINKA et al., 1997) como foi observado no presente trabalho.

Em 29 amostras (34,93%) sintomáticas, coletadas no cultivo de sequeiro, não foram constatados vírus após as análises sorológicas (Tabela 3 e Figura 3). O mesmo foi verificado no cultivo irrigado (Tabela 2 e Figura 1). Essa grande quantidade de amostras analisadas e negativas nos testes sorológicos realizados nos períodos secos e chuvosos constitui um fato interessante na incidência de viroses, uma vez que as amostras analisadas quando no momento da coleta apresentavam sintomas típicos de mosaico e deformação foliar. Isto pode ser atribuído a ocorrência de outras viroses, para qual não haviam anti-soros disponíveis na análise sorológica, sendo que o feijão-caupi pode ser infectado por outros vírus além do CABMV, CPSMV e CMV (LIMA et al., 2005a; PIO-RIBEIRO et al., 2005).

Ocorrência de *Begomovirus* em feijão-caupi e em plantas silvestres

Devido ao grande número de amostras negativas para os vírus CPSMV, CABMV e CMV nos testes sorológicos durante os períodos secos e chuvosos, um total de dez amostras sendo feijão-caupi (cinco amostras) e plantas silvestres (cinco amostras) coletadas em maio na região de Pombal, foram submetidas à amplificação de DNA viral via PCR utilizando-se os oligonucleotídeos degenerados PCR c1 e PBL1 v 2040 para amplificação do segmento de DNA B de vírus do gênero *Begomovirus*.

Como pode ser observado na Figura 5, três das cinco amostras de feijão-caupi, juntamente com as amostras de plantas silvestres analisadas puderam ser amplificadas pelos oligonucleotídeos degenerados. O fragmento resultante da amplificação foi de aproximadamente 550 pb correspondente ao componente B para espécies do gênero *Begomovirus*. Esta informação está em concordância com Lima et al., (2005b) que analisando o DNA genômico do CGMV, isolado de feijão-caupi no Nordeste brasileiro, observaram a presença do fragmento de 0,5 kb na amplificação do DNA B e fragmento de 1,2 kb usando os oligonucleotídeos PAL1v1978 e PARc496 para o componente A.

A detecção de begomovírus foi verificada em plantas silvestres do gênero *Sida* spp., vulgarmente chamada de "relógio", as quais foram coletadas nas proximidades do feijão-caupi na região de Pombal. Além de plantas cultivadas, muitas espécies de plantas invasoras são consideradas hospedeiras alternativas de begomovírus em vários países, inclusive no Brasil e, supostamente, constituem a fonte potencial de vírus no campo. As espécies relatadas geralmente pertencem às famílias botânicas Malvaceae, Euphorbiaceae e Fabaceae (MORALES e ANDERSON, 2001). O controle de plantas daninhas nas áreas de cultivo de feijão-caupi não é, ainda, uma prática adotada na região, o que favorece a ocorrência de doenças provocadas por vírus.

ASSUNÇÃO et al., (2006) verificando a ocorrência de begomovírus em diversas espécies de plantas invasoras provenientes dos Estados de Alagoas, Pernambuco e Bahia, observaram que todas as amostras que apresentavam sintoma de mosaico amarelo, deformação do limbo foliar e redução do crescimento apresentavam-se infectadas com begomovírus. Segundo estes mesmos autores, plantas invasoras podem funcionar como fontes de inóculo de begomovirus para plantas cultivadas e que a erradicação dessas plantas das áreas de cultivo deve ser uma medida adotada visando à redução da incidência dessas viroses.

De acordo com Fernandes (2009), após a introdução do biótipo B de *Bemisia tabaci* no Brasil, a transferência de begomovírus presentes em hospedeiros naturais não cultivados para as espécies vegetais cultivadas tornou-se possível devido ao amplo espectro de hospedeiros deste biótipo. No Brasil, estudos realizados através de coletas de plantas daninhas com sintomas típicos de begomovírus, submetidas à realização de testes de detecção, identificação da espécie presente e a inoculação de begomovírus

provenientes de espécies vegetais cultivadas em plantas daninhas selecionadas demonstraram que estas podem se constituir em fonte de vírus durante a entressafra (BOITEUX et al., 2003 e ROCHA et al., 2003).

A detecção de begomovírus que infectam plantas invasoras é a etapa inicial para se chegar a importantes informações sobre aspectos ecológicos e evolutivos a respeito desses vírus. Assim, esse resultado contribui na elucidação da possibilidade desses isolados poderem infectar plantas cultivadas de importância para a região do semiárido paraibano, como o feijão-caupi.

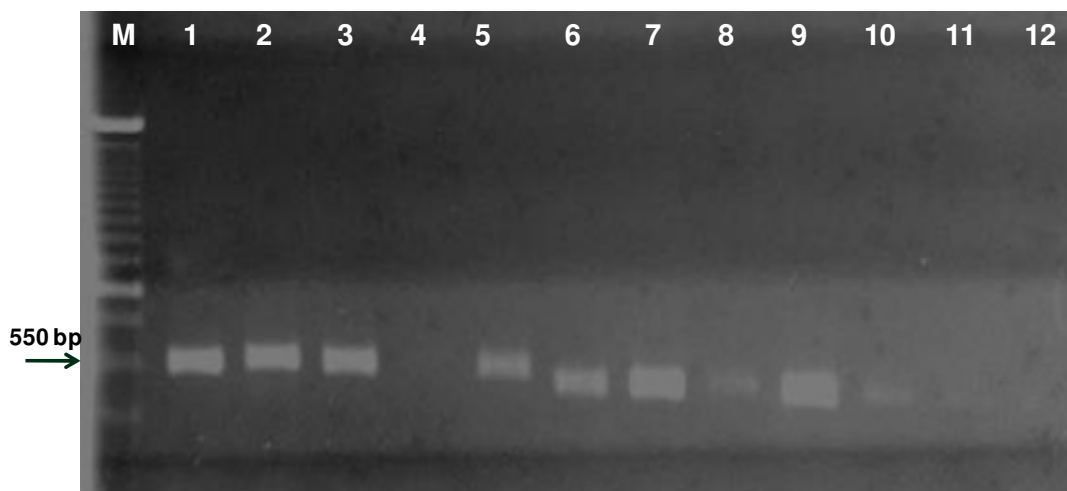


Figura 5. Padrão eletroforético obtido pelos oligonucleotídeos PCR c1 e PBLv 2040 em PCR. (M: Marcador de peso Molecular; 1: Planta de *M. lathyroides* infectada utilizada como controle positivo; 2, 3, 4, 10 e 11: Isolados de feijão-caupi; 5, 6, 7, 8 e 9: isolados de plantas silvestres e 12: Planta de feijão-caupi sadia)

Teste de Gama de Hospedeiros

No estudo de gama de hospedeiros, foram analisados isolados provenientes de Paulista, coletados na época das chuvas que foram positivos nos testes sorológicos para CPSMV e CABMV, sendo estes individualmente transmitidos por inoculação mecânica de plantas infectadas para plantas sadias de diferentes famílias e/espécies ou/cultivar (Tabela 5).

Foi observada a presença de lesões locais cloróticas (LLC) nas espécies da família Chenopodiaceae e a ausência de sintomas nas espécies da família Solanaceae, em inoculações realizadas com CPSMV e CABMV (Tabela 4 e Figura 6).

Tabela 4 - Reações sintomatológicas observadas em plantas inoculadas com isolados de CPSMV e CABMV provenientes da região de Paulista

Família/Espécie/Cultivar	Sintomas	
	CPSMV	CABMV
Chenopodiaceae		
<i>Chenopodium murale</i>	LLC	LLC
<i>C. amaranticolor</i>	LLC	LLC
<i>C. quinoa</i>	LLC	LLC
Solanaceae		
<i>Nicotiana benthamiana</i> L	SS	SS
<i>N. tabacum</i>	SS	SS
Leguminosae		
“Macaibo”	SS	ML
“Nova Era”	MS	BO, MS

SS - sem sintoma, LLC – Lesões Locais Cloróticas, BO – bolhosidade, ML - mosaico leve, MS - mosaico severo.

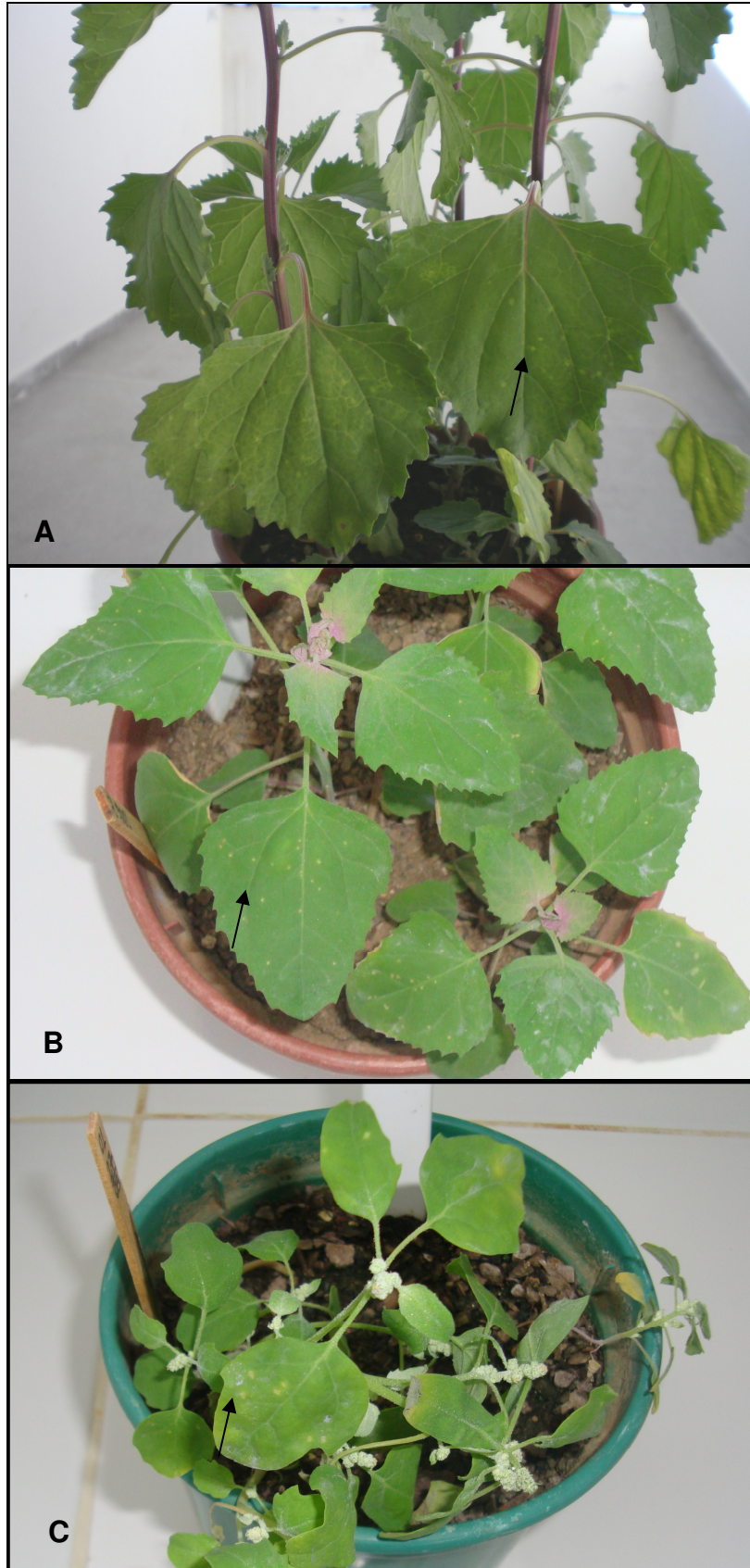


Figura 6: Reações observadas nas hospedeiras inoculadas com isolados de CABMV e CPSMV: Lesões Locais Cloróticas em *Chenopodium murale* (A), *C. amaranticolor* (B) e *C. quinoa* (C)

Nas plantas da cultivar “Nova Era” inoculadas com o isolado CPSMV, os sintomas surgiram nas folhas mais jovens, inicialmente exibindo clareamento das nervuras e mosqueado sistêmico resultando em mosaico severo. Entretanto quando inoculado em plantas da cultivar “Macaibo” as mesmas não apresentaram reação em conformidade com os isolados de CPSMV relatados no Brasil (Tabela 5 e Figura 7), dos quais o primeiro isolado do vírus obtido foi designado de CPSMV-CE proveniente do Ceará (LIMA e NELSON, 1977). Vários outros isolados de CPSMV foram obtidos em plantios de caupi naturalmente infectados: CPSMV-PI isolado no estado do Piauí (LIMA et al.,1986); CPSMV-PE isolado no estado de Pernambuco; CPSMV-PR isolado de soja, no estado do Paraná (BERTACINI et al., 1998). Os isolados CPSMV-MC foram assim designados por infectarem a cultivar “Macaibo”, imune aos demais isolados até então obtidos no Brasil (LIMA et al., 1992).

Diferentes estirpes ou isolados virais foram registradas e se distribuem por todas as regiões produtoras de feijão-caupi no Brasil, causando uma gama de sintomas diversificados, que dificulta agrupá-las em graus de severidade. Uma comparação biológica de diferentes isolados de CPSMV foi realizada por Camarço (2007) onde relatou que os estudos envolvendo gama de hospedeiros e genótipos exercem papel fundamental na diferenciação dos isolados do CPSMV.

O isolado de CABMV proveniente de Paulista causou os mesmos sintomas nas hospedeiras diferenciadoras, entretanto foi observado o sintoma de mosaico leve e mosaico severo nas cultivares “Macaibo” e “Nova Era”, respectivamente (Tabela 5 e Figura 8).

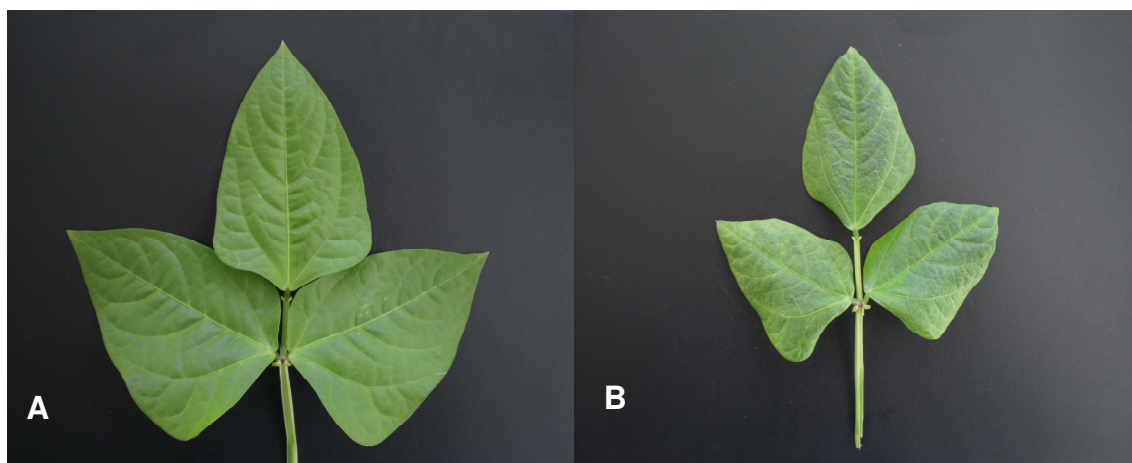


Figura 7: Reações observadas nos genótipos de feijão-caupi “Macaibo” (A) e Nova Era (B) inoculados com o CPSMV.

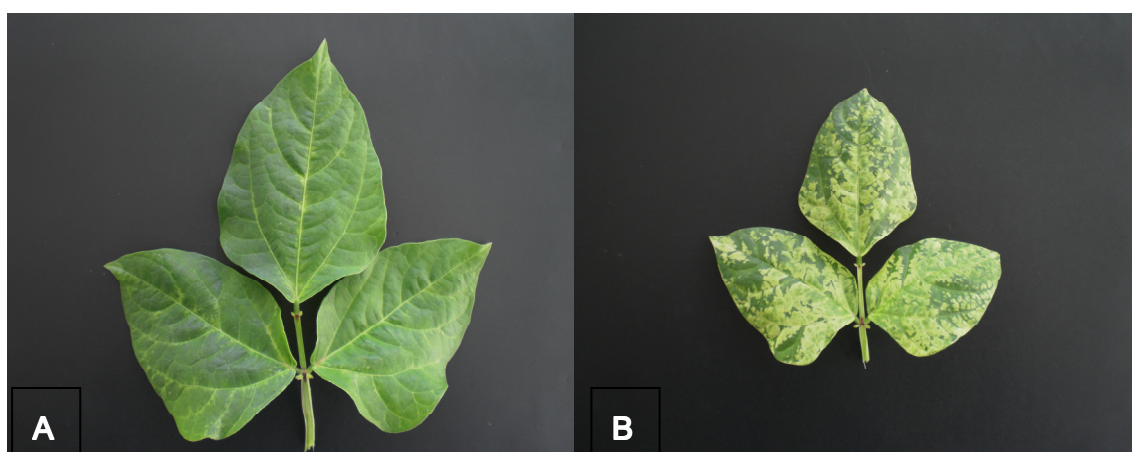


Figura 8: Reações observadas nos genótipos de feijão-caupi “Macaibo” (A) e Nova Era (B) inoculados com o CABMV.

Este estudo trata-se da primeira referência sobre a ocorrência e incidência de viroses na região de Pombal, Bom Sucesso e Paulista localizada no sertão paraibano. Conforme informações da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural/EMATER-PB esta região abrange nove municípios entre eles Cajazeirinha, Condado, Coremas, Lagoa, Paulista, Pombal, São Bentinho, São Domingos e Vista Serrana.

Como esse problema fitossanitário foi detectado, torna-se imprescindível a criação de estratégias de manejo e controle preventivo de viroses na cultura do feijão-caupi. Inicialmente deve-se informar a comunidade produtora local, sobretudo quanto à ocorrência, sobrevivência e modo de disseminação destas viroses, bem como a necessidade da introdução de cultivares selecionados com bom nível de resistência.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos no decorrer desta pesquisa, avaliando a ocorrência de viroses em diferentes municípios e épocas de cultivo de feijão-caupi no semiárido paraibano, pode-se concluir que: os vírus CPSMV e CABMV foram detectados em todos os municípios analisados bem como em cultivos de feijão-caupi nas épocas seca e chuvosa no sertão paraibano, sendo a maior incidência dos vírus CPSMV; CABMV ocorreu em cultivo irrigado (época seca); houve ocorrência de *Begomovirus* em feijão-caupi e nas plantas silvestres do Gênero *Sida* sp.e não foi detectada a ocorrência do CMV nas amostras analisadas em nenhum dos municípios e/ou nas diferentes épocas de cultivo.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela concessão da bolsa PIBIC;

Ao Laboratório de Virologia Vegetal da Universidade Federal do Ceará pela realização das análises sorológicas e moleculares;

A Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural/EMATER-PB no auxílio nas coletas de amostras vegetais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A. M. R.; LIMA, J. A. A. **Princípios e técnicas de diagnóstico aplicados em fitovirologia**. Fortaleza: SBF, 2001. 186 p.

ASSUNÇÃO, I. P.; LISTIK, A. F.; BARROS, M. C. S.; AMORIM, E. P. R.; SILVA, S. J. C.; IZABEL, O. S.; RAMALHO-NETO, C. E.; LIMA, G. S. A. Diversidade genética de *Begomovirus* que infectam plantas invasoras na região Nordeste. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 24, n. 2, p. 239-244, 2006.

BERTACINI, P.V., ALMEIDA, A.M.R., LIMA, J. A. A., CHAGAS, C. M. Biological and physiochemical properties of cowpea severe mosaic virus isolated from soybean in the State of Paraná. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 41, n.1, p. 409-416, 1998.

CALVERT, L. A.; GHABRIAL, S. A. Enhancement by soybean mosaic virus of bean pod mottle virus titer in double infected soybean. **Phytopathology**, v.73, p.992-997, 1983.

CAMARÇO, R. F. E. A. **Comparação Biológica, Sorológica e Molecular de Isolados de Cowpea severe mosaic virus**. Fortaleza, CE: UFC, 2007. 82p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

COLARICCIO, A.; BARRADAS, M. M.; VICENTE, M. Interação do vírus da necrose branca do tomateiro com dois outros vírus que afetam o tomateiro: mosaico do fumo (TMV) e vira-cabeça (TSWV). **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 58, p.51-59, 1991.

COSTA, C. L.; BATISTA, M. F. Viroses transmitidas por coleópteros no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.4, n.2, p. 177-179, 1979.

DELLAPORTA, S. L.; WOOD, J.; HICKS, J. B. A plant DNA miniprep: version II. **Plant Molecular Biology Reporter**, v.1, n.1, p.19-21, 1983.

FAO. FAOSTAT. CROPS. COW PEAS, DRY. Disponível em:<
<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em: 04 de out, 2009.

FERNANDES, F. R. **Caracterização molecular e biológica de begomovírus de soja (*Glycine Max*) e leiteiro (*Euphorbia heterophylla*) e resistência a vírus mediada por RNA indiferente em plantas**

- transgênicas de soja.** Viçosa, MG: UFV, 2009. 121p. Tese (Doutorado em Fitopatologia), Universidade Federal de Viçosa.
- FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-caupi: avanços tecnológicos.** 1 ed. Brasília, DF. Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 519p.
- FREITAS, F. A.; ZANUNCIO, T. V.; LACERDA, M. C.; ZANUNCIO, J. C. Fauna de Coleoptera coletada com armadilhas luminosas em plantio de *Eucalyptus grandis* em Santa Bárbara, Minas Gerais. **Revista Árvore**, v.26, n.4, p. 505-511, 2002.
- HAMPTON, R. O; THOTTAPPILY, G; ROSSEL, H. W. Viral diseases of cowpea and their control by resistance-conferring genes. In: SINGH, B. B.; MOHAN RAJ, D. R.; DASHIELL, K.E.; JACKAI, L.E.N. (Eds.). **Advances in cowpea research.** Ibanda: IITA; JIRCAS, 1997.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Sistema IBGE de recuperação automática - SIDRA.** Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 04 Jul., 2005.
- KAREEM, K. T.; TAIWO, M. A. Interactions of viruses in Cowpea: effects on growth and yield parameters. **Virology Journal.** v. 4, 2007.
- LIMA, J. A. A., GONÇALVES, M. F. B.; SANTOS, C. D. G. Diferenças e similaridades entre estirpes de *Cowpea severe mosaic virus* isoladas no Ceará e Piauí. **Fitopatologia Brasileira**, v.11, p.115- 129, 1986.
- LIMA, J. A. A.; GONÇALVES, M. F. B. *Cassia occidentalis*, potencial reservatório de potyvirus que infectam caupi. **Fitopatologia Brasileira**, v. 13, n.4, p. 365-368,1988.
- LIMA, J. A. A.; LIMA, R. C. A.; GONÇALVES, M. F. B.; SITTOLIN, I. M. Biological and serological characteristics of a genetically different cowpea severe mosaic virus strain. **Virus: Reviews and Research**, v. 3, p. 57-65, 1998.
- LIMA, J. A. A.; MARQUES, M. A. L.; CAMARÇO, R. F. E. A. Efeito sinérgico entre o vírus do mancha anelar e o vírus do amarelo letal do mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, 18(Suplemento): 289. (Resumos),1993.
- LIMA, J. A. A.; NELSON, M. R. Etiology and epidemiology of mosaic of cowpea in Ceará, Brazil. **Plant Disease**, v. 63, p. 864-867, 1977.
- LIMA, J. A. A.; NASCIMENTO, A. K. Q.; SILVA, G. S.; CAMARÇO, R. F. E. A.; GONÇALVES, M. F. B. *Crotalaria paulinea*, novo hospedeiro natural do vírus do mosaico do caupi. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, n.4, p. 429-433, 2005a.
- LIMA, J. A. A.; SITTOLIN, I. M.; LIMA, R. C. A. Diagnose e estratégias de controle de doenças ocasionadas por vírus. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-caupi: avanços tecnológicos.** 1 ed. Brasília, DF. Embrapa Informação Tecnológica, 2005b.
- LIMA, J. A. A.; SITTOLIN, I. M.; GONÇALVES, M. F. B.; BRITO, E. M. Isolado do vírus do mosaico severo do caupi capaz de infetara cultivar Macaibo. **Fitopatologia Brasileira** v.17, 186 (Resumo), 1992.
- LOURENÇO, A.; PINTO, J. Os níveis populacionais de afídeos nas Searas do Alentejo anos de 1981 e 1982. **Agronomia Lusitana**, v.43, n.1/4, p. 81-87, 1988.
- MORALES, F. J.; ANDERSON, P. K. The emergence and dissemination of whitefly-transmitted geminiviruses in Latin America. **Archives of Virology**, v. 146, n. 3, p. 415-441, 2001.
- PINTO, Z. V. **Efeito da origem dos isolados do Cucumber mosaic vírus (CMV) e da presença de dois potyvirus na transmissão do CMV para abobrinha de moita por meio de duas espécies de afídeos.** Piracicaba, SP: ESALQ, 2003. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia), Universidade de São Paulo.
- PIO-RIBEIRO, G.; ASSIS FILHO, F. M.; ANDRADE, G. P. Doenças do caupi (*Vigna unguiculata*). In: KIMATE, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas.** 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, p. 215-222, 2005.

- POOLPOL, P.; INOUE, T. Enhancement of cucumber mosaic virus multiplication by zucchini yellow mosaic virus in double infected cucumber plants. **Annals of Phytopathological Society of Japan**, v. 52, p.22-30, 1986.
- RAMOS, N. F.; LIMA, J. A. A.; GONÇALVES, M. F. B. Efeitos da interação de potyvirus em híbridos de meloeiro, variedades de melancia e abobrinha. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 199-203, 2003.
- ROJAS, M. R. et al. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. **Plant Disease**, v. 77, n. 4, p. 340-347, 1993.
- SHOYINKA, S. A.; THOTTAPPILLY, G.; ADEBAYO, G. G.; ANNO-NYAKO, F. O. Survey on cowpea virus incidence and distribution in Nigeria. **International Journal of Pest Management**, v.43, n.2, p. 127-132, 1997.
- SILVA, K. J. D. Estatística da Produção de feijão-caupi. **Embrapa Meio-Norte**, 2009.
- TAIWO, M. A.; KAREEM, K. T.; NSA, I. Y.; HUGHES, J. Cowpea viruses: Effect of single and mixed infections on symptomatology and virus concentration. **Virology Journal**. v. 4 n.95, 2007.
- TRUMBLE, J. T. Aphid (Homoptera: Aphididae) population dynamic on brocoli in an interior valley of California. **Journal of Economic Entomology**, v.75, n.5, p.841-847, 1982.
- VANCE, V. Replication of Potato virus X RNA is altered in coinfections with potato virus Y. **Virology**, v. 182, n.2, p. 486-494, 1991.