



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR
UNIDADE ACADÊMICA DE AGRONOMIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
COORDENAÇÃO DO CURSO DE AGRONOMIA**

UFPG / BIBLIOTECA

AURIVAN SOARES DE FREITAS

**OCORRÊNCIA DE VIROSES NO FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)
EM MUNICÍPIOS PRODUTORES DO SERTÃO PARAIBANO**

DIGITALIZAÇÃO
SISTEMOTECA - UFPG

POMBAL - PARAÍBA

2010

AURIVAN SOARES DE FREITAS

**OCORRÊNCIA DE VIROSES NO FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata* (L). Walp.)
EM MUNICÍPIOS PRODUTORES DO SERTÃO PARAIBANO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de graduação em Agronomia.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Aparecida Cezar

POMBAL - PARAÍBA

2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA SETORIAL
CAMPUS POMBAL/UFCG

F862o Freitas, Aurivan Soares de

Ocorrência de viroses no feijão-caupi (*Vigna unguiculata*
(L). Walp.) em municípios produtores do sertão paraibano /
Aurivan Soares de Freitas .— Pombal, 2010

53 f.

Monografia (Graduação em Agronomia) – UFCG/ CCTA
Orientador: Prof^a Dr.^a Marcia Aparecida Cezar

1. *Potyvirus*. 2. *Comovirus*. 3. *Cucumovirus*. 4. *Begomovirus*
5. Detecção sorológica e biológica. I. Título.

UFCG/CCTA

CDU 632.38 (813.3) (043) feijão-caupi

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COORDENAÇÃO DO CURSO DE AGRONOMIA

PROVA DE DEFESA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Título: **Ocorrência de viroses no feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) em municípios produtores do sertão paraibano**

Autor: Aurivan Soares de Freitas

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Aparecida Cezar

JULGAMENTO

Aprovada em: 09 de julho de 2010

Profa. Dra. Márcia Aparecida Cezar
UFCC/CCTA/Presidente

Profa. Dra. Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio
UFERSA/Examinador

Profa. Dra. Cidália Gabriela dos Santos Marinho
UFCC/CCTA/Examinador

DEDICO

***Á Deus, a minha família
e a minha noiva.***

AGRADECIMENTOS

Á Deus, causa primeira de todos as coisas, por ter me proporcionado a vida, coragem e força em todos os momentos da minha vida!

Aos meus pais Maria Lucia e Wilson Alves, pelos primeiros ensinamentos, por estar sempre presente em todos os dias da minha vida e pela fiel sinceridade!

Aos meus irmãos, Aldinei, Auriene, Audione e Auriene, meus amigos de sangue, pela confiança e pelos momentos juntos felizes!

Á minha noiva, Gilmara, pela sinceridade, companheirismo, dedicação e pelos lindos momentos em que passamos juntos!

Á minha orientadora, Márcia Aparecida, pelos valiosos ensinamentos, exemplo de liderança, simpatia, respeito e sinceridade. Sou externamente grato por tudo que ela me proporcionou!

Á minha ex-orientadora, Márcia Michelle, pelos primeiros passos na pesquisa, pela confiança, amizade, competência e pelas sugestões para a composição final deste trabalho!

Á professora Cidália Gabriela, por ter aceitado o singelo convite de participar da banca e por ter contribuído para o melhoramento deste trabalho!

Aos meus avôs, Severina e João de Miro, pela experiência de vida e pelos preciosos conselhos nos momentos mais difíceis!

Á todos os meus tios e primos, especialmente a Lindomar, José, Noel, Lurdes, Sandra, Catarina, Simone, Thiago, Vanessa e Olívio!

Aos meus colegas de turma, Adriano, Rinara, Izancélio, Deuzuite, Bruno, Geraldo, Francivaldo, Aparecida, Elisdiane e Ranieri!

À universidade Federal de Campina Grande, principalmente ao quadro de professores, técnicos e funcionários terceirizados do Centro de Ciências Tecnologia Agroalimentar!

À Universidade Federal do Ceará, por ter realizado as análises sorológicas e moleculares deste trabalho!

Ao programa PIBIC/CNPq/UFCG, pelos dois anos de bolsa de iniciação científica!

À já extinta Universidade de Agronomia de Pombal – FAP, pelos primeiros ensinamentos!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVOS.....	14
2. 1 Objetivo Geral.....	14
2. 2 Objetivo específico.....	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
3.1 O Feijão-caupi.....	15
3. 2 Problemas fitossanitários.....	16
3. 2.1 Vírus que infectam o feijão-caupi.....	16
3. 2.1a – CPSMV.....	17
3. 2.1b – CABMV e <i>Bean common mosaic virus</i> (BCMV).....	19
3. 2.1c – CMV.....	20
3. 2.1d – CGMV.....	21
3. 2.1e – Infecções mistas.....	21
3. 2. 2 Pragas do feijão-caupi vetoras de vírus.....	22
3. 2. 3 Plantas silvestres como hospedeiras de vírus do feijão-caupi.....	23
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4.1 Épocas de coletas das amostras.....	24
4. 2 Coleta de amostras foliares com sintomas de viroses provenientes de municípios produtores de feijão-caupi.....	25
4. 3 Preservação do material coletado “ <i>in vitro</i> ”.....	25
4. 4 Identificação sorológica.....	26
4. 5 Análise molecular.....	27
4. 5.1 Extração de DNA.....	27

4.5.2 Amplificação por Reação de Polimerização em Cadeia (PCR).....	28
4. 6 Teste de gama de hospedeiros.....	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5. 1 Ocorrência de viroses nos município produtores de feijão-caupi em cultivo irrigado (época das secas).....	30
5. 2 Incidência de viroses nos municípios produtores de feijão-caupi em cultivo irrigado.....	31
5. 3 Ocorrência de viroses nos municípios produtores de feijão-caupi em cultivo de sequeiro (época das chuvas).....	33
5. 4 Incidência de viroses nas regiões produtoras de feijão-caupi em cultivo de sequeiro.....	35
5. 5 Ocorrência de <i>Begomovirus</i> em feijão-caupi e em plantas silvestres.....	38
5. 6 Teste de Gama de Hospedeiros.....	40
6 CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS.....	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diferentes sintomas observados em plantas de feijão-caupi provenientes de diferentes regiões produtoras.....24

Figura 2. Ocorrência de viroses no feijão-caupi em cultivo irrigado no período de agosto a dezembro de 2009.....32

Figura 3. Porcentagem de incidência de viroses no feijão-caupi em cultivo irrigado no período de agosto a dezembro de 2009.....33

Figura 4. Ocorrência de viroses no feijão-caupi em cultivo de sequeiro no período de março a maio de 2010.....35

Figura 5. Porcentagem de incidência de viroses no feijão-caupi em cultivo de sequeiro no período de março a maio de 2010.....36

Figura 6. 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).....40

Figura 7: 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).....42

Figura 8: Reações observadas nos genótipos de feijão-caupi “Macaibo” (A) e Nova Era (B) inoculados com o CPSMV.....43

Figura 9: Reações observadas nos genótipos de feijão-caupi “Macaibo” (A) e Nova Era (B) inoculados com o CABMV.....43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Meses de coleta de amostras, localidade das regiões produtoras e número de amostras de feijão-caupi coletadas com sintomas de viroses.....	25
Tabela 2. Sequência nucleotídica dos oligonucleotídeos utilizados nas reações de PCR para detecção de <i>Begomovirus</i>	29
Tabela 3. 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.....	31
Tabela 4. 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.....	34
Tabela 5 - Reações sintomatológicas observadas em plantas inoculadas com isolados de CPSMV e CABMV provenientes da região de Paulista.....	41

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.

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 INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), representa uma importante cultura em diversas regiões tropicais e subtropicais. Este tipo de feijão pode ser chamado também de feijão-macáçar ou de macaça, feijão-de-corda, feijão-da-colônia, feijão-de-praia, feijão-de-estrada e feijão-miúdo nas diversas regiões em que é cultivado e consumido (FREIRE FILHO et al., 2005). O nome “Macassar” é, provavelmente, a designação mais antiga dada ao feijão-caupi no Brasil, onde, utilizado, principalmente, como alimento básico de elevado valor protéico pelas populações de baixa renda.

Em vários estados da região Nordeste do país, o feijão-caupi representa 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 produção de feijão-caupi no Brasil, concentra-se nas regiões Nordeste (1,2 milhão de hectares) e Norte (55,8 mil hectares), sendo cultivado, predominantemente, no sertão, semiárido da região Nordeste e em pequenas áreas na Amazônia.

O feijão-caupi contribui com 35,6% da área plantada e 15% da produção de feijão total (feijão-caupi + feijão-comum) no país. Anualmente, a produção é de aproximadamente 482 mil toneladas em 1,3 milhões de hectares. 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 entanto, estados como Amazonas, Goiás, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso apresentam produtividades superiores a 1.000 kg ha^{-1} .

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). Assim, exerce efetiva participação na dieta

alimentar da população, por constituir-se em excelente fonte de proteínas e carboidratos de baixo custo (SILVA; OLIVEIRA, 1993; 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.

O feijão-caupi pode ser naturalmente infectado por várias espécies de vírus, pertencentes a diferentes gêneros (HAMPTON et al., 1997). Os principais gêneros de vírus que infectam naturalmente o feijão-caupi no Brasil são o *Comovirus*; *Potyvirus*; *Cucumovirus* e *Begomovirus* (LIMA et al., 2005a; PIO-RIBEIRO et al., 2005). 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.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Realizar um levantamento da ocorrência de possíveis viroses na cultura do feijão-caupi em três regiões produtoras no Semiárido paraibano.

2.2 Específico

- Identificar, entre as épocas (secas e/ou chuvosas), que apresenta maior incidência de viroses na cultura do feijão-caupi.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 O Feijão-caupi

O feijão-caupi é uma planta dicotiledônea, tipicamente originada do oeste da África pertencente à ordem Fabales, família Fabacea, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolinae, gênero *Vigna*, subgênero *Vigna*, secção *Catiang*, espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp. e subesp. *unguiculata* (FREIRE FILHO et al., 2005).

De acordo com Freire Filho (1988), existem várias evidências de que o feijão-caupi foi introduzido na América Latina, no século XVI, pelos colonizadores espanhóis e portugueses, primeiramente nas colônias espanholas e em seguida no Brasil, provavelmente no estado da Bahia. A partir da Bahia, o feijão-caupi foi levado pelos colonizadores para outras áreas da região Nordeste e para as outras regiões do país.

O ciclo do feijão-caupi pode ser detalhado da seguinte forma: Ciclo Superprecoce: maturidade até 60 dias após a semeadura; Ciclo Precoce: maturidade entre 61 e 70 dias após a semeadura; Ciclo Médio: maturidade entre 71 e 90 dias após a semeadura; Ciclo Médio-Precoce: maturidade entre 71 e 80 dias após a semeadura; Ciclo Médio Tardio: maturidade entre 81 e 90 após a semeadura e Ciclo Tardio: Maturidade alcançada a partir de 91 dias após a semeadura (FREIRE FILHO et al., 2000).

A planta de feijão-caupi é constituída de uma haste principal, da qual partem ramos laterais, que emergem das axilas das folhas da haste principal. Existem ramos primários que se originam diretamente da haste principal, secundários que se originam dos primários, e assim por diante, dependendo da morfologia da planta, resultante do hábito de crescimento, que podem ser classificados em tipos determinado e indeterminado (CARDOSO et al., 2005).

Com relação ao porte das plantas, Freire Filho et al., (1981) determinaram que existe quatro tipos principais de portes de feijão-caupi, havendo uma grande variação dentro de cada tipo. São os seguintes: Tipo 1: Ereto; Tipo 2: Semi-Ereto; Tipo 3: Semiprostrado e Tipo 4: Prostrado.

O feijão-caupi, em relação a outras culturas, é pouco melhorado. Entretanto, possui uma ampla variabilidade genética para praticamente todos os caracteres de interesse agrônomo. Os trabalhos de melhoramento tem se concentrado principalmente na resistência a doenças, em particular as causadas por vírus, e na produtividade (FREIRE FILHO et al., 1986; MIRANDA et al., 1992), provavelmente isso se deve ao fato de que as doenças virais constituem o principal problema fitossanitário da cultura.

Ao contrário do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e de outras leguminosas, o feijão-caupi adapta-se bem às adversidades climáticas e edáficas, em virtude das suas características de rusticidade e precocidade (DANTAS et al., 2002). Por esse motivo, é uma cultura bem adaptada a regiões secas como é o caso do Nordeste do país. Nessa região, o cultivo do feijão-caupi é, na sua maioria, dependente de uma agricultura de sequeiro e do sistema de produção de subsistência em consórcio com outras culturas, como o milho (*Zea mays* L.) e a mandioca (*Manihot utilissima* Pohl.), embora seja crescente o plantio da cultura em condições de irrigação (PINHO et al., 2005).

3. 2 Problemas fitossanitários

Vários aspectos podem afetar a produção na cultura do feijão-caupi, entre eles destacam-se as pragas e as doenças, que reduzem a produtividade, a qualidade do produto, conseqüentemente, acarretam prejuízos econômicos e sociais.

As doenças são frequentes na cultura, devido a vários fatores, como clima, tratos culturais, irrigação, qualidade da semente, etc. Os insetos-praga possuem também elevado potencial de danos, uma vez que além, do dano direto, algumas espécies atuam como inseto-vetor, transmitindo e disseminando patógenos, no campo de forma eficiente (CAMARÇO, 2007).

3. 2.1 Vírus que infectam o feijão-caupi

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).

3. 2.1a – CPSMV

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. É uma doença relatada desde 1947 nos estados americanos, também estar distribuída geograficamente nos países Trinidad, Porto Rico, El Salvador, Venezuela, Costa Rica, Suriname e Peru (PIO-RIBEIRO et al., 2005).

O primeiro relato do vírus do mosaico severo do caupi (CPSMV) no Brasil foi realizado por Oliveira (1947) no Rio Grande do Sul. Desde então, a distribuição deste vírus alcançou todas as regiões produtoras de caupi (LIMA et al., 2005b). Vários isolados de CPSMV foram obtidos a partir de plantas de feijão-caupi naturalmente infectadas e já foram caracterizados, diferentes estados da região Nordeste, destacando-se entre eles, CPSMV-CE, do Ceará, estudado no início da década de 1970 (LIMA e NELSON, 1977), o CPSMV-PI, do Piauí (LIMA et al., 1998), o CPSMV-PE, de Pernambuco (LIMA et al., 1998) e o CPSMV-MC, obtido da cv. Macaibo imune a todos os outros isolados conhecidos (LIMA et al., 1992).

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 primeiro isolado de CPSMV obtido no Ceará por Lima e Nelson (1974, 1977), designado de CPSMV-CE mostrou sua severidade em diversos genótipos de caupi, reduzindo em 86% a produtividade de cultivares comerciais. De acordo com levantamentos efetuados por estes autores o CPSMV foi o vírus prevalecente sobre o feijão-caupi no Ceará, na década de 70.

O vírus causador do mosaico severo do feijão-caupi (CPSMV), pertencente ao gênero *Comovirus*, família *Comoviridae*, possui genoma total de 9,73 Kb, bipartido, constituído por duas moléculas de RNA de fita simples de senso positivo

denominadas RNA 1 e RNA 2 com aproximadamente 6,0 Kb e 3,73 Kb respectivamente (VAN REGENMORTEL et al., 2000). Ambas as moléculas de RNA são necessárias para a infecção. Além das partículas contendo as moléculas de RNA, uma terceira partícula, sem ácido nucléico é produzida, cuja presença e concentração dependem da estirpe envolvida (PIO-RIBEIRO et al., 2005). As partículas virais, quando observadas em microscópio eletrônico, são aparentemente iguais, apresentando morfologia isométrica, com aproximadamente 28nm de diâmetro. Nas células infectadas, encontram-se três tipos de partículas, geralmente referidas como componentes B, M e T (VAN REGENMORTEL et al., 2000).

Os sintomas ocasionados pelo CPSMV em plantas de feijão-caupi são geralmente severos nas cultivares suscetíveis, incluindo modificações de cor e hábito de crescimento das plantas que são geralmente visíveis em todos os órgãos aéreos da planta. Os primeiros sintomas aparecem, normalmente, três a quatro dias após a inoculação. Quando a infecção ocorre em plantas jovens, os sintomas são drásticos e visíveis, causando inclusive necrose na extremidade superior do caule, morte dos brotos terminais e queda prematura das folhas (PIO-RIBEIRO et al., 2005).

De acordo com Lima et al., (2005b) nas folhas, os sintomas manifestam-se na forma de manchas cloróticas e necróticas, mosaico severo, distorção foliar, redução da lâmina foliar, bolhosidade, clareamento de nervura, necrose sistêmica e morte de algumas cultivares. Conseqüentemente, os danos na produção são bastante significativos, dependendo da cultivar envolvida e da época da inoculação.

O CPSMV apresenta uma larga variabilidade biológica (LIMA et al., 1998; LIMA et al., 2005b), possuindo uma ampla gama de espécies hospedeiras, especialmente dentro da família Leguminosae, incluindo plantas nativas e cultivadas (LIMA et al., 2005b). Dentre essas destacam-se a *Canavalia brasiliensis* Mart. Ex.Benth, *Canavalia ensiformis* DC, *Macroptilium atropurpureum* L. (VASCONCELOS e LIMA, 1981), *Canavalia rosea* (sw) DC, *Lupinus albus* L., *M. panduratum* Mart. Ex Benth., *Phaseolus lunatus* L., *Sesbania* sp. (CANER et al., 1969), *Centrosema pubescens* Benth, *Crotalaria juncea* L., *Pueraria* sp., *Vigna mungo* L. (LIN et al., 1982), *C. paulinea* Schrank (LIMA et al., 2005a), *Glycine max* (L.) Merrill (SOUTO et al., 2002), *M. lathyroides* (L.) Urban (LIMA e NELSON, 1977),

P. vulgaris L. (CUPERTINO et al., 1981), *Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC. (KITAJIMA et al., 1979) e *V. radiata* (L.). R Wilezek (BRIOSIO et al., 1996).

Experimentalmente, o CPSMV é de fácil transmissão mecânica. 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). Segundo Costa e Batista (1979), o CPSMV pode ser transmitido por dez espécies de coleópteros do gênero *Cerotoma*.

Quanto à transmissão por semente, embora existam informações que indicam percentuais de transmissão entre 3 e 10%, pesquisas desenvolvidas recentemente indicaram ausência de transmissão do CPSMV dessa maneira (LIMA et al., 1989), assim as sementes de caupi não são fontes de inóculo do vírus.

Para o controle do mosaico severo recomenda-se inicialmente que medidas preventivas sejam adotadas. Essas medidas envolvem a aplicação de inseticidas visando à redução das populações dos insetos vetores (coleópteros da família Chrysomelidae) e conseqüentemente a diminuição da incidência da doença (COSTA et al., 1978). Tal medida tem se apresentado ineficaz no período chuvoso, quando a planta cresce mais intensamente. O alto custo também tem desencorajado a adoção do controle químico dos vetores pelos agricultores. Em decorrência disso, a resistência genética tem sido apontada como a medida mais apropriada para o controle do CPSMV (SANTOS et al., 1987; VALE e LIMA, 1995; UMAHARAN et al., 1996; PAZ et al., 1999).

3. 2.1b – CABMV e *Bean common mosaic virus* (BCMV)

O mosaico do feijão-caupi, outra doença que ocorre nesta cultura, é ocasionado pelas espécies virais CABMV e o BCMV ambas pertencentes ao gênero *Potyvirus*, Família *Potyviridae*. Os *potyvirus* possuem partículas filamentosas e flexuosas com aproximadamente 690-760 nm de comprimento por 11-13 nm de diâmetro. O genoma é constituído por um RNA de fita simples, sentido positivo, com aproximadamente 10.000 nucleotídeos (VAN REGENMORTEL et al., 2000).

A ocorrência do CABMV foi relatada em cultivos de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) intercalados com cultivos de feijão-caupi na Paraíba (PIO-RIBEIRO et

al., 2000), onde verificaram a grande incidência dessa virose. Em diversas regiões do Nordeste a maioria dos produtores nordestinos intercala o cultivo de amendoim com o feijão-caupi, ou com o feijão comum (*P. vulgaris* L.), ou ainda com o feijão-fava (*P. lunatus* L.).

Plantas de feijão-caupi infectadas por Potyvírus apresentam sintomas de mosaico foliar intenso, formado pela alternância de coloração verde na área do limbo foliar, com áreas cloróticas. Entretanto os sintomas podem variar dependendo da estirpe (PIO-RIBEIRO et al., 2005), cultivar, e também da época e da forma de inoculação (LIMA et al., 2005b). Os potyvírus podem induzir a formação de inclusões citoplasmáticas, devido algumas proteínas se agregarem em células da epiderme de plantas infectadas, formando estruturas com aspecto de catavento, típicas do gênero *Potyvirus* (VAN REGENMORTEL et al., 2000).

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).

Para o efetivo controle dessas doenças recomendam-se: emprego de variedades resistentes; uso de sementes livres do vírus e eliminação de plantas hospedeiras. Como medidas complementares, podem ser adotadas: plantio em épocas de baixa população de vetores, e controle destes e ainda a proteção da cultura com o uso de “barreira viva” (PIO-RIBEIRO et al., 2005).

3. 2.1c – CMV

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. O CMV possui genoma do tipo RNA de fita simples, dividido em quatro segmentos. As partículas virais são isométricas, com aproximadamente 30 nm de diâmetro (VAN REGENMORTEL et al., 2000).

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).

3. 2.1d – CGMV

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*. As espécies deste gênero possuem genoma composto de dois segmentos de DNA. Denominados de DNA-A e DNA-B que é responsável pelas funções de replicação e encapsidação da progênie viral. O DNA-B contém os genes requeridos para o movimento célula-a-célula e a longa distância, além de estarem relacionados com a gama de hospedeiros e o desenvolvimento dos sintomas (TIMMERMANS et al., 1994).

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 (LIMA et al., 2005b). 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).

3. 2.1e – Infecções mistas

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.

Embora, em muitos casos, haja correlação entre o aumento da severidade dos sintomas e o aumento da concentração de, pelo menos, um dos vírus, isso nem sempre ocorre. Em algumas combinações, um vírus pode alcançar concentrações menores do que quando sozinho na planta, caracterizando um efeito antagonista (LIMA et al., 2005b).

3. 2. 2 Pragas do feijão-caupi vetoras de vírus

A cultura do feijão-caupi está sujeita ao ataque de pragas durante todo o seu ciclo produtivo, cujos danos variam de acordo com a suscetibilidade da planta e a intensidade do ataque da praga. De acordo com o local de ataque na planta, as pragas do feijão-caupi, podem ser agrupadas em: pragas subterrâneas; pragas da parte aérea (ramos, folhas e órgãos reprodutivos) e pragas dos grãos armazenados. Conforme (SILVA et al., 2005).

De acordo com Silva et al., (2005) as vaquinhas *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) e *Cerotoma arcuata* (Coleoptera: Chrysomelidae), os pulgões *Aphis craccivora* (Hemiptera: Aphididae), *A. gossypii* (Hemiptera: Aphididae) e *A. fabaei*, (Hemiptera: Aphididae) e a mosca-branca *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) são considerados importantes vetores de vírus que infectam o feijão-caupi.

Um dos maiores problemas ocasionados pelas vaquinhas *D. speciosa* e *C. arcuata* é a sua capacidade de transmitir vírus do mosaico severo do feijão-caupi CPSPMV, com taxas de transmissibilidade de 40% para ambas as espécies (SILVA et al., 2005).

As espécies de pulgões *A. craccivora*, *A. gossypii* e *A. fabae* comumente encontradas no feijão-caupi alimentam-se da seiva das plantas, provocando encarquilhamento de folhas, injetam toxinas e podem atuar como vetores do CABMV e CMV (SILVA et al., 2005).

De acordo com GALLO et al., (2002) a mosca branca representa um dos maiores problemas para a agricultura de uma forma geral. Até 1995, a mosca branca (*B. tabaci* biótipo A) era a única espécie que causava danos a cultura do feijão-caupi. Tais danos ocorriam, não pela sua ação direta, mas, pela capacidade de transmitir o vírus do mosaico dourado do feijão-caupi CGMV. Em 1996, outro biótipo de mosca-branca, biótipo B (*Bemisia argentifolii*), passou a constituir não somente em mais um vetor do CGMV, mas também em um biótipo de mosca-branca mais agressivo, causando danos diretos pela sucção da seiva e indiretos pela injeção de toxinas.

3. 2. 3 Plantas silvestres como hospedeiras de vírus do feijão-caupi

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 de plantas causadas por vírus são amplamente disseminados

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Épocas de coletas das amostras

Baseado nos potenciais produtivos da cultura do feijão-caupi encontrados 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 (Figura 1), 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.



Figura 1. Diferentes sintomas observados em plantas de feijão-caupi provenientes de diferentes regiões produtoras.

4. 2 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.

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

4. 3 Preservação do material coletado “*in vitro*”

Parte das amostras foliares dos isolados coletados foram cortadas em finas tiras e colocadas no interior de placas de Petri sobre uma camada de cloreto de cálcio e papel de filtro, sendo mantidas em dessecador contendo sílica gel, durante sete dias a 4°C. Após esse período o armazenamento das folhas dessecadas foi efetuado em pequenos frascos preparados com uma camada de sílica gel no fundo, sobreposta com algodão e papel filtro. Os frascos foram vedados, etiquetados e

armazenados a -20°C (BOS, 1977). Dessa forma pôde ser preservada a infectividade viral dos isolados. Outra parte foi enviada para o Laboratório de Virologia Vegetal da Universidade Federal do Ceará – UFC para a análise sorológica.

4. 4 Identificação sorológica

As amostras foram testadas por “enzime 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 absorvâncias registradas para os extratos de plantas sadias, usadas como testemunhas.

4. 5 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.

4. 5.1 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 ul 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 ressuspenso com 150 ul de água ultrapura.

4. 5. 2 Amplificação por Reação de Polimerização em Cadeia (PCR)

Na reação de polimerização em cadeia (PCR) foram utilizados 2 uL de DNA total extraído; 5 uL de tampão Gotaq Flexi (5x) Promega; 2,5 uL de MgCl₂ (25mM); 0,5 uL de cada um dos oligonucleotídeos específicos para o componente B de *Begomovirus* (Tabela 2), 0,2 uL 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.

Tabela 2. Sequência nucleotídica dos oligonucleotídeos utilizados nas reações de PCR para detecção de *Begomovirus*.

Nome	Sequência Nucleotídica 5' – 3'	Referência
PBLv 2040	5' GCTCTGCAGCARTGRTCKATCCTTCATACA 3'	Rojas et al., (1993)
PCR C1	5' CTAGGTGCAGCATATTTACRARWATGCCA 3'	

4. 6 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.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. 1 Ocorrência de viroses nos município 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 3).

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 3).

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 3 e Figura 2).

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 3 e Figura 2). Predominância de plantas de feijão-caupi com sintoma de mosaico dourado foram observadas no campo.

Tabela 3. 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)

5. 2 Incidência de viroses nos municípios produtores de feijão-caupi em cultivo irrigado

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 3 e Figura 3). 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.

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.

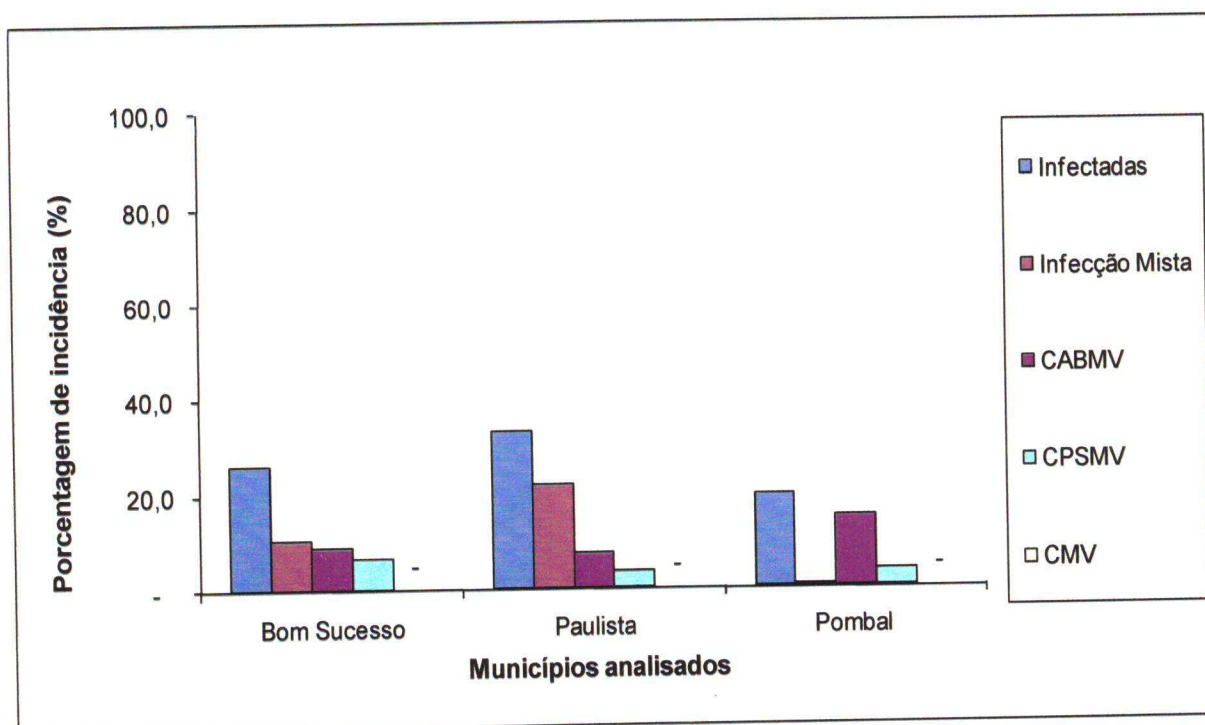


Figura 3. Porcentagem de incidência de viroses no feijão-caupi em cultivo irrigado no período de agosto a dezembro de 2009.

5. 3 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 4 e Figura 4).

Tabela 4. 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		
	Avaliadas	Infectadas	Sem	Infecção	CMV	CPSMV	CABMV
			Infecção	Mista			
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 4 e Figura 4).

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 4).

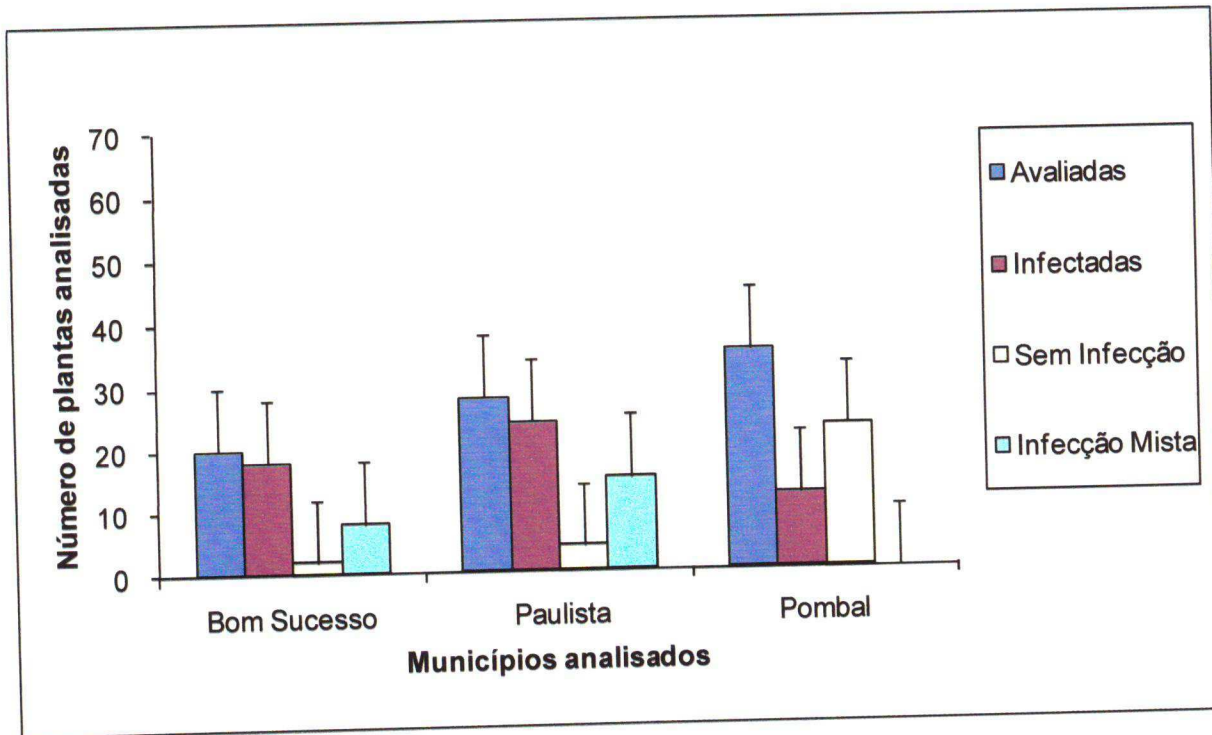


Figura 4. Ocorrência de viroses no feijão-caupi em cultivo de sequeiro no período de março a maio de 2010.

5. 4 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 4 e Figura 5). 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.

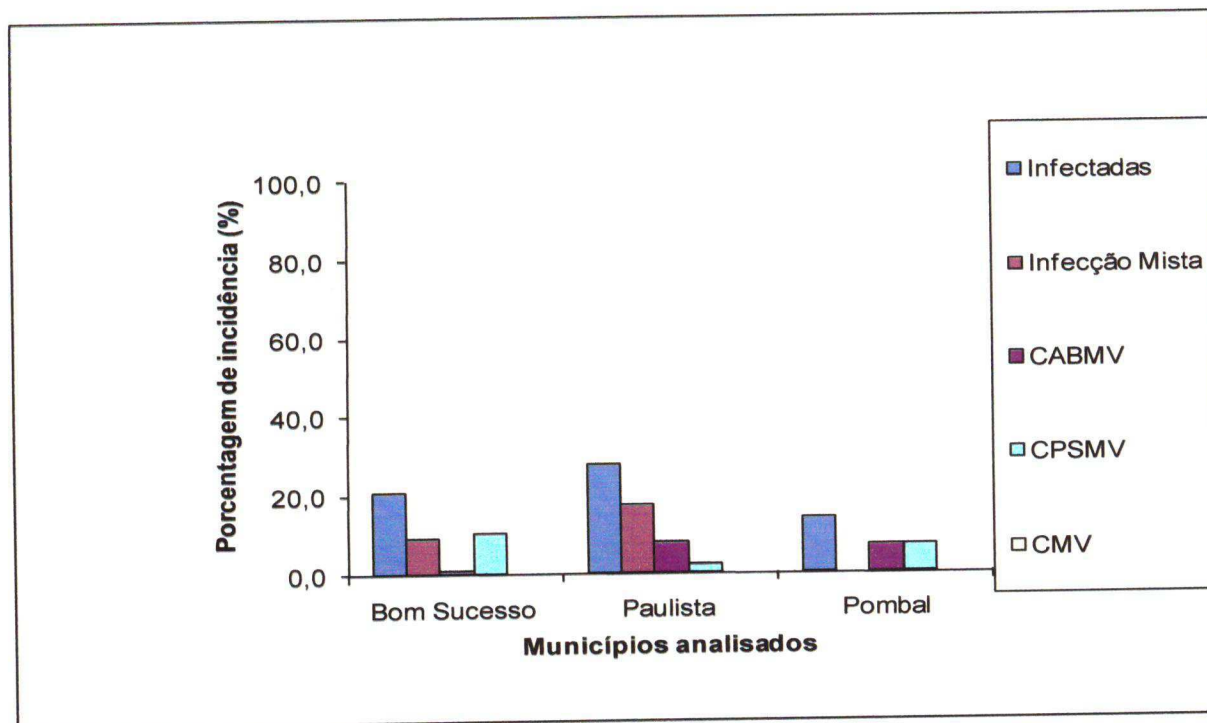


Figura 5. Porcentagem de incidência de viroses no feijão-caupi em cultivo de sequeiro no período de março a maio de 2010.

Menor incidência do CABMV foi observada no cultivo de sequeiro sendo detectado em 14 (16,86%) amostras entre as 83 analisadas (Tabela 4). 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 5), 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 4 e Figura 4). O mesmo foi verificado no cultivo irrigado (Tabela 3 e Figura 2). 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).

5. 5 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 6, 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.

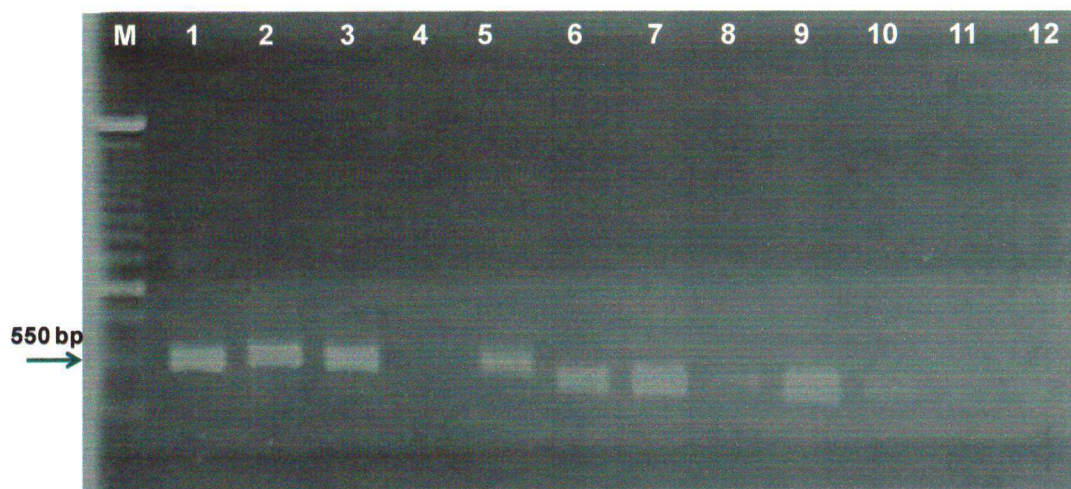


Figura 6. Padrão eletroforético obtido pelos oligonucleotídeos PCR c1 e PBLv 2040 em PCR. (M: Marcador de peso Molecular; 1: Planta de *M. lathyroides* infectada utilizada como controle positivo; 2, 3, 4, 10 e 11: Isolados de feijão-caupi; 5, 6, 7, 8 e 9: isolados de plantas silvestres e 12: Planta de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

5. 6 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 saudias de diferentes famílias e/espécies ou/cultivar (Tabela 5).

Foi observado 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 5 e Figura 7).

Tabela 5 - 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.

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 8), 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).

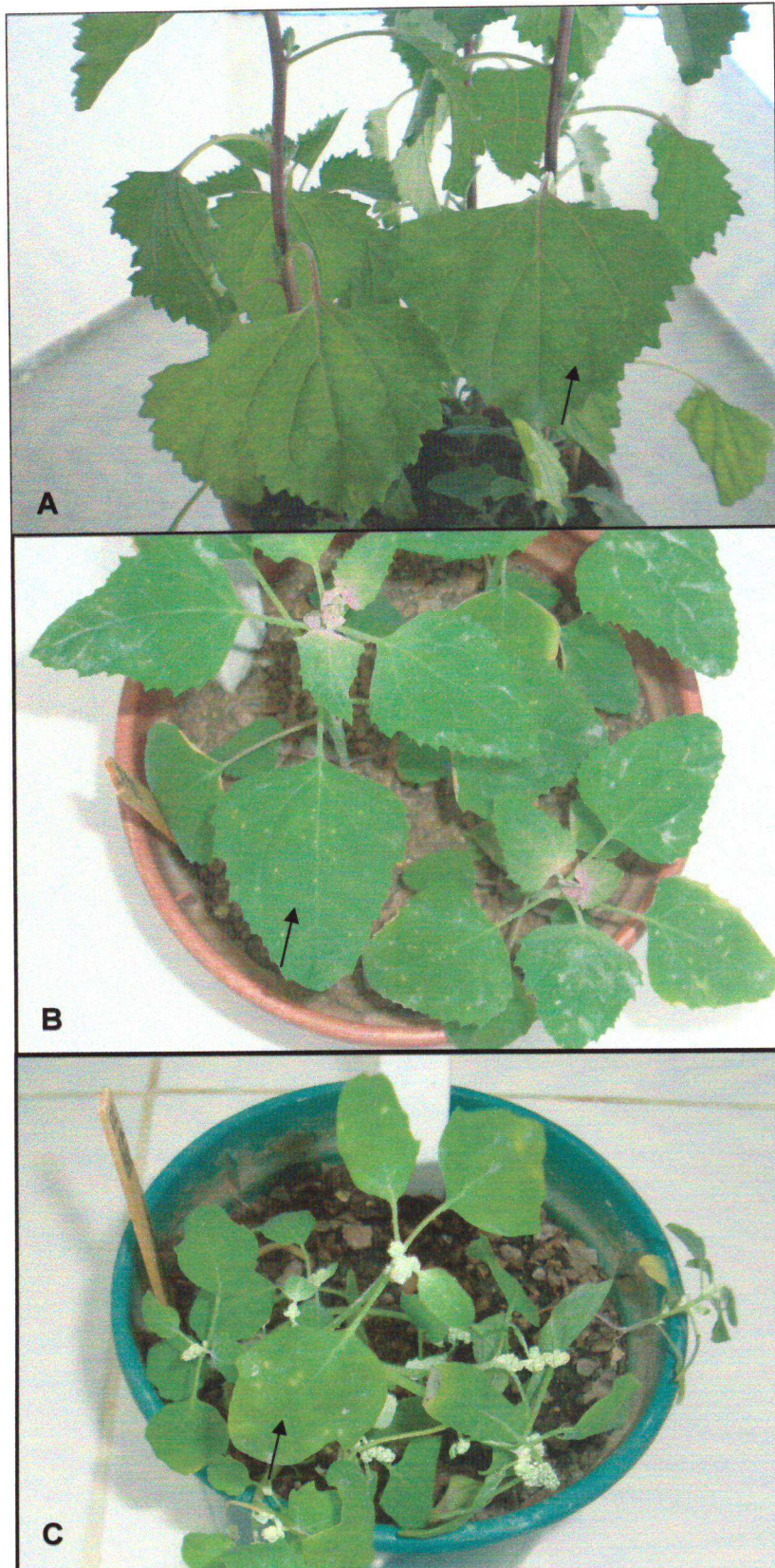


Figura 7: Reações observadas nas hospedeiras inoculadas com isolados de CABMV e CPSMV: Lesões Locais Cloróticas em *Chenopodium murale* (A), *C. amaranticolor* (B) e *C. quinoa* (C).

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. Comparação biológica de diferentes isolados de CPSMV foi realizada por Camarço (2007) onde relatou que os estudos envolvendo gama de hospedeiros e genótipos exerceram 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 9).

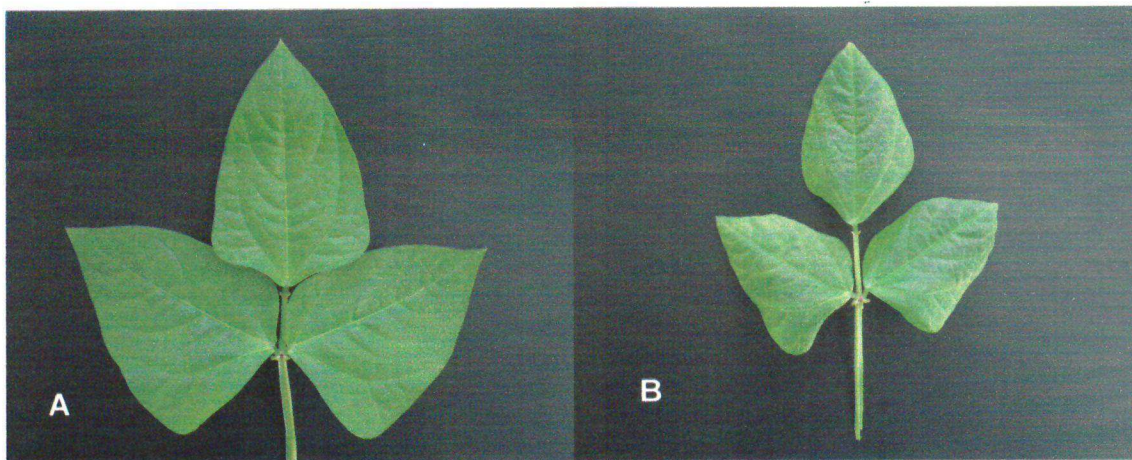


Figura 8: Reações observadas nos genótipos de feijão-caupi “Macaibo” (A) e Nova Era (B) inoculados com o CPSMV.

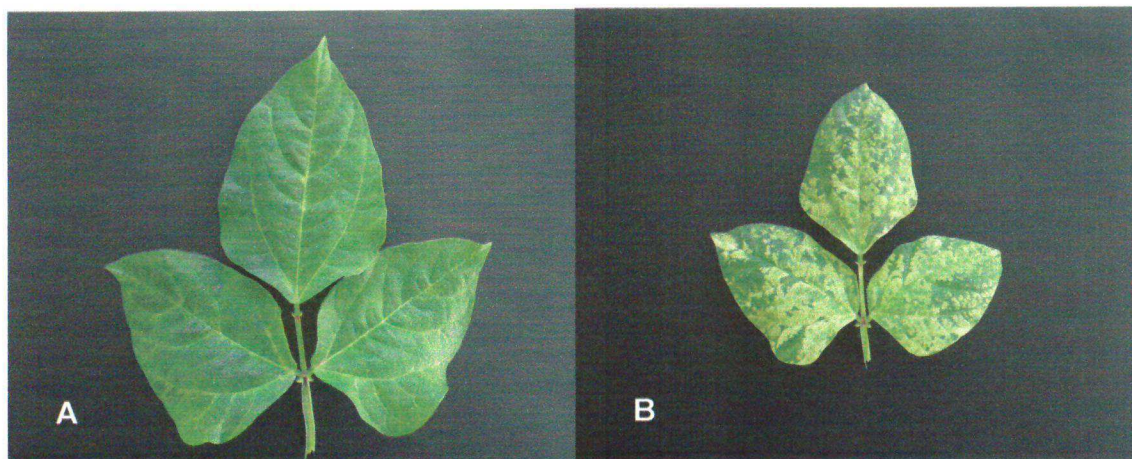


Figura 9: Reações observadas nos genótipos de feijão-caupi “Macaibo” (A) e Nova Era (B) inoculados com o CABMV.

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.

6 CONCLUSÕES

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 todas os municípios analisados;
- Os vírus CPSMV, CABMV foram detectados em cultivos de feijão-caupi nas épocas seca e chuvosa no sertão paraibano;
- 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.;
- Não foi detectada a ocorrência do CMV nas amostras analisadas em nenhum dos municípios e/ou nas diferentes épocas de cultivo.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. M. R.; LIMA, J. A. A. **Princípios e técnicas de diagnóstico aplicados em fitovirologia**. Fortaleza, 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, p. 409-416, 1998.

BOITEUX, L. S.; INOUE-NAGATA, A. K.; MENDONÇA, J. L.; ÁVILA, A. C.; GIORDANO, L. B.; FONSECA, M. E. N. Caracterização molecular de um isolado distinto de *Begomovirus* infectando *Physalis angulata*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 247, 2003.

BOS, L. Persistence of infectivity of three viruses in plant material dried over CaCl_2 and stored under different conditions. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v. 83, p. 217-220, 1977.

BRIOSO, P. S. T.; SANTIAGO, L. J. M.; ANJOS, J. R. N.; OLIVEIRA, D. E. Identificação de espécies do gênero *Comovirus* através de "polymerase chain reaction". **Fitopatologia Brasileira** v. 21, p. 219-225, 1996.

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 vírus**. Fortaleza, CE: UFC, 2007. 82p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

CARDOSO, M. J.; MELO, F. B.; LIMA, M. G. Ecofisiologia e Manejo de plantio. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. 1 ed. Brasília, DF. Embrapa Informação Tecnológica. 519 p, 2005.

CANER, J.; SILBERSCHIMIDT, K. M.; FLORES, E. Ocorrência do vírus do mosaico do *Vigna* no estado do São Paulo. **O Biológico**, v. 35, 13-16, 1969.

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.

COSTA, C. L.; LIN, M. T.; KITAJIMA, E. W.; SANTOS, A. A.; MESQUITA, R. C. M.; FREIRE, F. R. F. *Cerotoma arcuata* (Oliv.) um crisomelídeo vetor do mosaico da *Vigna* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 3, p.81-82, 1978.

CUPERTINO, F. P.; COSTA, C. L.; LIN, M. T.; KITAJIMA, E. W. Infecção natural do feijoeiro pelo vírus do mosaico severo do caupi no Centro-Oeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.6, p.529, 1981. (Resumo).

DANTAS, J. P.; MARINHO, F. J. L.; FERREIRA, M. M. M.; AMORIM, M. S. N.; ANDRADE, S. I. O.; SALES, A. L. Avaliação de genótipos de caupi sob salinidade. Campina Grande, PB. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.6, n.3, p.425-430, 2002.

DELLAPORTA, S. L.; WOOD, J.; HICKS, J. B. A plant DNA minipreparation: 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), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

FERNANDES, J. B.; HOLANDA, J. S.; SOUZA, N. M.; CHAGAS, M. C. M. A adaptabilidade ambiental e incidência de viroses em cultivares de caupi no Rio Grande do Norte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n. 28, n.1, p33-37, jan., 1993.

FREIRE FILHO, F. R.; CARDOSO, M. J.; ARAÚJO, A. G.; SANTOS, A. A.; SILVA, P. H. S. **Características botânicas e agrônômicas de cultivares de feijão macacar**

(*Vigna unguiculata* L. Walp.). Teresina: Embrapa-UEPAE de Teresina, (Embrapa-UEPAE de Teresina. Boletim de Pesquisa, 4), 1981. 40p.

FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. 1 ed. Brasília, DF. Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 519p.

FREIRE FILHO, F. R. Origem, evolução e domesticação do caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). In: ARAÚJO, J. P. P.; WATT, E. E. (Org.). **O caupi no Brasil**. Goiânia: Embrapa-CNPAP: Ibadan: IITA, p. 25-46, 1988.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; SANTOS, A. A. Cultivares de caupi para a região Meio-Norte do Brasil. In: CARDOSO, M. J. (Org.). **A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: Embrapa-CPAMN, p. 67-88. (Embrapa-CPAMN, Circular Técnica, 28), 2000.

FREIRE FILHO, F. R.; SANTOS, A. A.; ARAÚJO, A. G.; CARDOSO, M. J.; RIBEIRO, V. Q.; GOMES, S. M. F. Melhoramento do feijão macacar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) no Piauí- Período 1980-1981. In: SEMINÁRIO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DO PIAUÍ, 4, 1986, Teresina. **Anais**. Teresina; **EMBRAPA-UEPAE**, 1986 p. 204-229.

FREITAS, F. A.; ZANUNCIO, T. V.; LACERDA, M. C.; ZANUNCIO, J. C. Fauna de Coleóptera Coletada com armadilhas luminosas em plantio de *Eucalyptus grandis* em Santa Bárbara, Minas Gerais. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.26, n.4, p. 505-511, 2002.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMINI, J. D.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: Fealq, 2002. 920p.

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.

KITAJIMA, E. W.; NODA, H.; LIN, M. T.; COSTA, C. L. Um mosaico em feijão-de-asa (*Psophocarpus tetragonolobus*) causado por um isolado do subgrupo severo do vírus do mosaico da *Vigna*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 4, p. 519-528, 1979.

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**, p. v. 11, p115-129, 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): 289p. (Resumos), 1993.

LIMA, J. A. A.; NELSON, M. R. Purificação e identificação sorológica de "cowpea mosaic virus" em *Vigna sinensis* Endl., no Ceará. **Ciência Agrônômica** v. 3, p. 5-8, 1974.

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.; SILVEIRA, L. F. S.; OLIVEIRA, J. P. Não-transmissibilidade de cowpea severe mosaic virus por sementes de *Vigna unguiculata* cvs. Pitiúba e Seridó. **Fitopatologia Brasileira**, v.14, n. 1, p. 50-54, 1989.

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, 186p (Resumo), 1992.

LIN, M.T.; ANJOS, J. R. N.; RIOS, G. P. Cowpea severe mosaic virus in five legumes in Central Brazil. **Plant Disease** v. 66, p. 67-70, 1982.

LOURENÇO, A.; PINTO, J. Os níveis populacionais de afídeos nas Searas do Alentejo anos de 1981 e 1982. **Agronomia Luzitana**, v.43, n.1/4, p. 81-87, 1988.

MIRANDA, P.; RAPOSO, J. A. A.; BARROS, E. O. C.; PIMENTEL, M. L.; MARQUES, M. S.; SOUZA, O. P.; PERREIRA, G. C. S.; Melhoramento genético do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária**, Recife. Programa Feijão, 1992.

MORALES, F. J.; ANDERSON, P. K. The emergence and dissemination of whitefly-transmitted geminiviruses in Latin America. **Arch. Virol.**, v. 146, n. 3, p. 415-441, 2001.

OLIVEIRA, M. A. Contribuição ao estudo dos vírus causadores de mosaico no feijão macassar (*Vigna* spp). Instituto Agrônômico do Sul (Pelotas). **Boletim Técnico** v.1, p.1-36, 1947.

PAZ, C. D.; LIMA, J. A. A.; PIO-RIBEIRO, G.; ASSIS FILHO, F. M.; ANDRADE, G. P.; GONÇALVES, M. F. B. Purificação de um isolado do vírus do mosaico severo do caupi, obtido em Pernambuco, produção de antissoros e determinação de fontes de resistência em caupi. **Summa Phytopathologica**, v. 25, p.285-188, 1999.

PINHO, J. L. N.; TÁVORA, F. J. A. F.; GONÇALVES, J. A. Aspectos Fisiológicos. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. 1 ed. Brasília, DF. Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 519p.

PINTO, Z. V. **Efeito da origem dos isolados do *Cucumber mosaic virus* (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). Universidade de São Paulo, Piracicaba.

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.

PIO-RIBEIRO, G.; PAPPU, S. S.; PAPPU, H. R.; ANDRADE, G. P.; REDY, D. V. R. Occurrence of *Cowpea aphid-borne mosaic virus* in peanut in Brazil. **Plant Disease**, v. 84, p. 760–766, 2000.

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**, p. 199-203, 2003.

ROCHA, W. B.; NAGATA, T.; GIORDANO, L. B.; PEREIRA, W.; INOUE-NAGATA, A. K. Susceptibility of weeds to a tomato begomovirus. **Virus Reviews and Research**, v.8, p.187-188, 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.

SANTOS, J. F.; GRANGEIRO, J. I. T.; BRITO, C. H.; SANTOS, M. C. C. A. Produção e componentes produtivos de variedade de feijão-caupi na microregião Cariri Paraibano. **Engenharia Ambiental**, v. 6, n. 1, p. 214-222, 2009.

SANTOS, A. A.; FREIRE-FILHO, F. R.; CARDOSO, M. J. BR 10 – Piauí: cultivar de feijão macassar (*Vigna unguiculata*) com resistência múltipla a vírus. **Fitopatologia Brasileira** v.12, p.400-402, 1987.

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.

SILVA, P. H. S.; CARNEIRO, J. S.; QUINDERÉ, M. A. W. Pragas. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. 1 ed. Brasília, DF. Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 519 p.

SILVA, P. S. L.; OLIVEIRA, C. N. Rendimentos de feijão verde e maduro de cultivares de caupi. **Horticultura Brasileira**, v. 11, n. 2, p. 133-135, 1993.

SOUTO, E. R.; ALMEIDA, A. M. R.; ANÉSIO, B.; FÁBIO, S.; ÉBERSON, S. C. Análise molecular de segmento do RNA-2 de *Comovirus* isolado de soja no estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p. 525-527, 2002.

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.

TIMMERMANS, M. C. P.; DAS, O. P.; MESSING, J. Geminivirus and their use as extrachromosomal replicans. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.45, p. 79-112, 1994.

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.

UMAHARAN, P.; ARIYANAYAGAN, R. P.; HAQUE, S. Q. Resistance to *cowpea severe mosaic virus*, determined by three dosage dependent genes in *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Euphytica**, v.95, p. 49-55, 1996.

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

VANCE, V. Replication of Potato virus X RNA is altered in coinfections with potato virus Y. **Virology**, p. v. 182, p.486-494, 1991.

VAN REGENMORTEL, M. H. V.; FAUQUET, C. V.; BISHOP, D. H. L.; CARSTENS, E. B.; ESTES, M. K.; LEMON, S. M.; MANILOFF, J.; MAYO, M. A.; MCGEOCH, D. J.; PRINGLE, C. R.; WICKNER, R. B. Virus taxonomy. Classification and nomenclature of viruses. In: REPORT OF THE INTERNATIONAL COMMITTEE ON THE TAXONOMY OF VIRUSES, 7., New York. **Report... New York**, 985 p., 2000.

VASCONCELOS, M. F. R.; LIMA, J. A. A. Purificação e sorologia de raças de “cowpea severe mosaic virus” isoladas de 4 espécies de leguminosas. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, p. 534-534, 1981.