

# IDENTIFICAÇÃO SOROLÓGICA DE ESPÉCIES DE VÍRUS QUE INFETAM CUCURBITÁCEAS EM ÁREAS PRODUTORAS DO MARANHÃO\*

MARIA C. C. L. MOURA<sup>1</sup>, J. ALBERSIO A. LIMA<sup>2</sup>, VANÚZIA B. OLIVEIRA<sup>2</sup> & M. FÁTIMA B. GONÇALVES<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Maranhão, Cx. Postal 3004, São Luis, MA; <sup>2</sup>Laboratório de Virologia Vegetal, Universidade Federal do Ceará, Cx. Postal 12.168, Fortaleza, CE-60350.00, e-mail: albersio@ufc.br

(Aceito para publicação em 02/01/2001)

Autor para correspondência: J. Albersio A. Lima

MOURA, M.C.C.L., LIMA, J.A.A., OLIVEIRA, V.B. & GONÇALVES, M.F.B. Identificação sorológica de espécies de vírus que infetam cucurbitáceas em áreas produtoras do Maranhão. *Fitopatologia Brasileira* 26:90-92. 2001.

## RESUMO

Os vírus representam sérios obstáculos para o sucesso da olericultura no mundo inteiro, constituindo a identificação daqueles de maior incidência numa região, papel fundamental para o estabelecimento de estratégias de controle. Visitas de campo foram realizadas a plantios de espécies de cucurbitáceas em áreas produtoras do Maranhão e amostras foliares foram coletadas de 118 plantas com sintomas ou suspeita de sintomas de vírus, sendo 46 de abóbora (*Cucurbita moschata*), 30 de melancia (*Citrullus lanatus*), 23 de maxixe (*Cucumis anguria*), 13 de pepino (*C. sativus*) e seis de melão (*C. melo*). Todas as amostras foram testadas contra anti-soros específicos para os principais vírus das famílias *Bromoviridae*,

*Comoviridae* e *Potyviridae* que infetam cucurbitáceas no Nordeste, mediante “enzyme-linked immunosorbent assay” (ELISA) indireto e dupla difusão em agar. Os resultados revelaram a identificação sorológica de *Papaya ringspot virus* (PRSV) em 64,4% das amostras analisadas, seguido de *Watermelon mosaic virus-2* (WMV-2) em 15,2%, *Cucumber mosaic virus* (CMV) em 6,8%, *Squash mosaic virus* (SqMV) em 3,4% e *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) em 3,4%. Este levantamento confirma a predominância do PRSV em espécies de cucurbitáceas cultivadas no estado do Maranhão.

**Palavras-chave:** *Bromoviridae*, *Comoviridae*, *Potyviridae*, incidência de vírus.

## ABSTRACT

### Serological identification of virus species infecting cucurbits in producing areas of the State of Maranhão, Brazil

Viruses represent serious obstacles for the success of producing vegetables, consisting the correct identification of those that infect cucurbits in a region, a fundamental point for establishing strategies for their control. Surveys were carried out at cucurbit fields in producing areas of the State of Maranhão. Leaf samples were collected from 118 plants showing virus like symptoms, 46 from squash (*Cucurbita moschata*); 30 from watermelon (*Citrullus lanatus*); 23 from *Cucumis anguria*; 13 from cucumber (*C. sativus*) and six from melon (*C. melo*). All samples were tested against antisera

specific to the main virus species from the families *Bromoviridae*, *Comoviridae* and *Potyviridae* that infect cucurbits in Northeastern Brazil by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and double immunodiffusion technique. The results revealed that *Papaya ringspot virus* was serologically detected in 64.4% of samples analyzed, followed by *Watermelon mosaic virus-2* in 15.2%, *Cucumber mosaic virus* in 6.8%, *Squash mosaic virus* in 3.4% and *Zucchini yellow mosaic virus* in 3.4%. This survey confirmed the prevalence of PRSV in cucurbit species grown in the State of Maranhão.

As cucurbitáceas possuem grande importância na dieta alimentar e na economia agrícola dos nordestinos, sendo várias espécies frequentemente comercializadas na Central de Abastecimento do Maranhão. As doenças infecciosas, especialmente as viroses têm sido um grande obstáculo para o sucesso da olericultura maranhense.

Os graus de dispersão e de severidade dos vírus são bastante diferenciados, em função da espécie de vírus e suas estirpes, espécie e variedade vegetal cultivada, proximidade

da fonte de inóculo e população dos vetores correspondentes. Mais de dez vírus já foram constatados infetando naturalmente diferentes espécies de cucurbitáceas no Brasil, sendo os mais predominantes pertencentes às seguintes famílias e gêneros: família *Comoviridae*, gênero *Comovirus*: vírus do mosaico da abóbora (*Squash mosaic virus*, SqMV) (Lima & Amaral, 1985); família *Bromoviridae*, gênero *Cucumovirus*: vírus do mosaico do pepino (*Cucumber mosaic virus*, CMV) (Cupertino *et al.*, 1988); família *Potyviridae*, gênero *Potyvirus*: vírus da mancha anelar do mamoeiro (*Papaya ringspot virus*, PRSV) (Lima *et al.*, 1996), vírus-2 do mosaico

Suporte financeiro: CNPq e EMBRAPA/CPATSA

da melancia (*Watermelon mosaic virus-2*, WMV-2) (Sá & Kitajima, 1991); vírus do mosaico amarelo da abobrinha-de-moita (*Zucchini yellow mosaic virus*, ZYMV) (Lima *et al.*, 1996).

O presente trabalho teve por objetivo efetuar a identificação sorológica dos vírus predominantes em espécies de cucurbitáceas cultivadas no estado do Maranhão, mediante testes de “enzyme-linked immunosorbent assay” (ELISA) indireto e de dupla difusão em agar, com anti-soros específicos para os principais vírus das famílias *Bromoviridae*, *Comoviridae* e *Potyviridae* que infetam cucurbitáceas no Nordeste.

Campos cultivados com espécies de cucurbitáceas em áreas de produção do Maranhão foram inspecionados no período de Julho a Novembro de 1997 visando-se avaliar a presença de plantas com infecção viral. Amostras foliares foram coletadas de diferentes espécies vegetais da família Cucurbitácea que apresentavam sintomas típicos de infecção viral. Folhas jovens com sintomas mais expressivos foram obtidas por seleção, acondicionadas em sacos plásticos, etiquetadas e colocadas em caixas de isopor contendo gelo.

As amostras foliares foram coletadas de 118 plantas com sintomas ou suspeita de infecção por vírus, sendo 46 de abóbora (*Cucurbita moschata* L.), 30 de melancia [*Citrullus lanatus* (Thumb.) Matsumi & Nakai]; 23 de maxixe (*Cucumis anguria* L.); 13 de pepino, (*Cucumis sativus* L.) e seis de melão (*Cucumis melo* L.). Todas as amostras foram enviadas ao Laboratório de Virologia Vegetal da Universidade Federal do Ceará (UFC) e testadas contra anti-soros específicos para CMV, PRSV, WMV-2 e ZYMV, mediante ELISA indireto e dupla difusão em agar para o caso do anti-soro para SqMV.

Nos testes de ELISA indireto, os extratos de plantas infetadas e de plantas sadias (testemunhas) foram preparados em tampão de carbonato, pH 9,6 e diluídos na proporção de 1:10 e os anti-soros específicos para os respectivos vírus, previamente absorvidos com extrato de tecido sadio, foram diluídos na proporção de 1:1.000. A presença da reação vírus-antígeno foi detectada através do uso de IgG de cabra anti-IgG de coelho, conjugada à fosfatase alcalina, diluída na proporção 1:2.000 e do substrato p-fosfato de nitrofenil na concentração 0,5 mg/ml. As leituras das placas foram realizadas no aparelho Labsystems Multiskan MS, utilizando-se o comprimento de onda 405 nm. Obedecendo o critério adotado para as análises no Laboratório de Virologia Vegetal da UFC, foram consideradas positivas as reações superiores ao dobro dos valores médios das absorbâncias registradas para os extratos de plantas sadias, usados como testemunhas.

Os testes de dupla difusão em agar com o anti-soro para o SqMV foram realizados em meio constituído por 0,8% de agar noble, 0,85% de NaCl e 0,05% NaN<sub>3</sub> preparado em água destilada.

Os resultados sorológicos indicaram a prevalência do PRSV em todas as espécies de cucurbitáceas inspecionadas, onde foi detectado em mais de 60% das amostras (Tabela 1). Embora em menores percentuais, o WMV-2 foi identificado nas espécies de abóbora, melancia, maxixe e pepino, sendo

que o SqMV foi identificado somente em duas plantas de abóbora e duas de maxixe (Tabela 1). Mesmo em expansão no Brasil (Lima *et al.*, 1996), o ZYMV foi detectado somente em duas amostras de abóbora, uma de melão e uma de pepino, e o CMV, vírus de fácil transmissibilidade por pulgão e de ampla gama de hospedeiros, foi detectado somente em abóbora (duas amostras), maxixe (quatro amostras) e pepino (duas amostras) (Tabela 1). O maxixe foi a única espécie onde foram constatados os vírus das três famílias, isoladamente ou em combinações, sendo que a infecção tripla de CMV, PRSV e WMV-2 foi constatada numa única amostra. Casos de infecção dupla foram também detectados em pepino. Avaliações sorológicas de amostras foliares de melão e de melancia de campos de produção dos estados do Ceará e do Rio Grande do Norte demonstraram, também, a larga dispersão dos vírus da família *Potyviridae* em cultivos de cucurbitáceas no Nordeste brasileiro (Oliveira *et al.*, 2000). Infecções mistas com vírus de famílias diferentes já foram, também, registradas em outros estados brasileiros (Lima & Vieira, 1992; Yuki *et al.*, 2000). Lima & Vieira (1992) constataram sintomas de mosaico severo e necrose sistêmica em plantas de melancia resultantes de infecção simultânea de SqMV e PRSV, em campos irrigados no estado do Piauí. Infecções duplas, triplas e quadruplas foram constatadas em cucurbitáceas no estado de São Paulo, envolvendo CMV, PRSV, WMV-2 e ZYMV (Yuki *et al.*, 2000).

Os resultados aqui constatados (Tabela 1) e aqueles de estudos semelhantes em outras regiões do Brasil (Pavan *et al.*, 1989; Cruz *et al.*, 1999; Oliveira *et al.*, 2000; Yuki *et al.*, 2000) e de outras partes do mundo (Ullman *et al.*, 1991; Luis-Arteaga *et al.*, 1998) demonstram que a incidência de vírus em espécies de cucurbitáceas cultivadas é bastante dinâmica, variando em função do vírus e suas estirpes, condições climáticas, população e migração de vetores, espécie e variedade vegetal cultivada e reservatórios naturais de vírus predominantes. Estudando a ocorrência e a distribuição de vírus em cucurbitáceas no estado de São Paulo, Yuki *et al.* (2000) constataram que PRSV e ZYMV eram os vírus mais predominantes nas amostras avaliadas por ELISA. Cruz *et al.* (1999) constataram maior incidência de WMV-2 em cultivos de melancia e melão no Submédio São Francisco. Estudos de levantamento sorológico de vírus em cucurbitáceas, desenvolvidos por Ullman *et al.* (1991) em ilhas do Havaí, demonstraram a ausência de WMV-2 e baixa incidência de CMV nas regiões amostradas. De outra parte, levantamentos dos graus de incidência de vírus em campos de produção de melão na Espanha, revelaram maior predominância de WMV-2 e de CMV (Luis-Arteaga *et al.*, 1998).

Embora todas as amostras tenham sido coletadas de plantas com sintomas em condições de campo, algumas deixaram de apresentar resultados positivos com os anti-soros usados (Tabela 1), possivelmente, em razão da demora entre a coleta e a realização dos testes, o que pode ter proporcionado a degradação enzimática da capa protéica dos vírus, especialmente do CMV, vírus altamente lábil (Kaper & Waterworte, 1981; Murphy *et al.*, 1995) interferindo na reação

**TABELA 1 - Identificação sorológica de *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Papaya ringspot virus* (PRSV), *Squash mosaic virus* (SqMV) *Watermelon mosaic virus-2*, (WMV-2) e *Zucchini yellow mosaic virus*, (ZYMV) em amostras foliares de espécies de cucurbitáceas de áreas de produção do estado do Maranhão**

Espécie de Cucurbitácea	No. de Amostras Testadas	No. de Amostras Negativas	No. de Amostras com Vírus e Percentagem de Incidência				
			CMV	PRSV	SqMV	WMV-2	ZYMV
Abóbora ( <i>Cucurbita moschata</i> )	46	3	2 (4,3)*	32 (69,6)*	2 (4,3)*	6 (13,0)*	2 (4,3)*
Maxixe ( <i>Cucumis anguria</i> )	23	5	4 (17,4)	13 (56,5)	2 (8,7)	2 (8,7)	0 (-)
Melancia ( <i>Citrullus lanatus</i> )	30	4	0 (-)	18 (60,0)	0 (-)	8 (26,7)	0 (-)
Melão ( <i>C. melo</i> )	6	0	0 (-)	5 (83,3)	0 (-)	0 (-)	1 (16,7)
Pepino ( <i>C. sativus</i> )	13	2	2 (15,4)	8 (61,5)	0 (-)	2 (15,4)	1 (7,7)
<b>Total</b>	<b>118</b>	<b>14</b>	<b>8 (6,8)</b>	<b>76 (64,4)</b>	<b>4 (3,4)</b>	<b>18 (15,2)</b>	<b>4 (3,4)</b>

\* ( ) percentagem de amostras com vírus

antígeno - anticorpo. De outra parte, as amostras com resultados negativos poderiam estar infetadas com um vírus para o qual não foi usado anti-soro ou as plantas estavam apresentando anomalias de natureza diversas das infecções por vírus (Yuki *et al.*, 1999).

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CRUZ, E.S., PAZ, C.D., PIO-RIBEIRO, G., BATISTA, D.C., PEREIRA FILHO, G.G. & ANDRADE, G.P. Levantamento de viroses em melancia e melão no Submédio São Francisco. *Summa Phytopathologica* 25:21. 1999 (Resumo).
- CUPERTINO, F.P., KITAJIMA, E.W., FONSECA, M.E.N. & MEYER, N.C. Viroses em plantas olerícolas no Estado de Goiás. *Fitopatologia Brasileira* 13:101. 1988. (Resumo).
- KAPER, J.M. & WATERWORTE, H.E. Cucumoviruses. In: Kurstak, E. (Ed.). *Handbook of plant virus infections. Comparative diagnosis*. Elsevier. New York. 1981. pp. 257-232.
- LIMA, J.A.A. & AMARAL, M.R.G. Purificação e sorologia de "squash mosaic virus" isolado de melancia. *Fitopatologia Brasileira* 10:605-611. 1985.
- LIMA, J.A.A., VALE, C.C., MIRANDA, A.C.M.M. & OLIVEIRA, V.B. Identificação sorológica do ZYMV em plantios de melão no Rio Grande do Norte. *Fitopatologia Brasileira* 21: 426. 1996. (Resumo).
- LIMA, J.A.A. & VIEIRA, A.C. Distribuição do vírus do mosaico da abobara em municípios cearenses e gama de hospedeiras de um isolado. *Fitopatologia Brasileira* 17:112-114. 1992.
- LUIS-ARTEAGA, M., ALVAREZ, J.M., ALONSO PRADOS, J.L., BERNAL, J.J., GARCIA-ARENAL, F., LAVIÑA, A., BATTLE, A. & MORINOES, E. Occurrence, distribution, and relative incidence of mosaic viruses infecting field-grown melon in Spain. *Plant Disease* 82: 979-982. 1998
- MURPHY, F.A., FAUQUET, C.M., BISHOP, D.H.L., GHABRIEL, S.A., JARVIS, A.W., MARTELLI, G.P., MAYO, M.A. & SUMMERS, M.D. *Virus Taxonomy: Classification and nomenclature of viruses*. Springer-Verlag, New York. 1995.
- OLIVEIRA, V.B., LIMA, J.A.A., VALE, C.C. & PAIVA, W.O. Caracterização biológica e sorológica de isolados de potyvirus obtidos de cucurbitáceas no Nordeste Brasileiro. *Fitopatologia Brasileira* 25:628-636. 2000.
- PAVAN, M.A., CARVALHO, M.G. & FERNANDES, J.J. Distribuição do vírus do mosaico da melancia (*Papaya ringspot virus-W*) nas principais Regiões produtoras de pepino (*Cucumis sativus*) e abobrinha (*Cucurbita pepo*) de Minas Gerais. *Fitopatologia Brasileira* 14:84-65. 1989.
- SÁ, P.B. & KITAJIMA, E.W. Characterization of an isolate of watermelon mosaic virus 2 (WMV-2) from Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 16: 217-223. 1991.
- ULLMAN, D.E., CHO, J.J. & GERMAN, T.L. Occurrence and distribution of cucurbit viruses in Hawaiian Islands. *Plant Disease* 75:367-370. 1991
- YUKI, V.A., KUNIYUKI, H., GROppo, G.A., REZENDE, J.A.M., KITAJIMA, E.W. & PAVAN, M.A. Anomalias de natureza diversa observadas em cucurbitáceas cultivadas em São Paulo. *Summa Phytopathologica* 25:51. 1999 (Resumo).
- YUKI, V.A., REZENDE, J.A.M., KITAJIMA, E.W., BARROSO, P.A.V., KUNIYUKI, H., GROppo, G.A. & PAVAN, M.A. Occurrence, distribution, and relative incidence of five viruses infecting cucurbits in the State of São Paulo, Brazil. *Plant Disease* 84:516-520. 2000.