

VIEIRA JV; ÁVILA AC; SILVA GO. 2010. Avaliação de genótipos de melancia para resistência ao *Papaya ringspot virus*, estirpe melancia. *Horticultura Brasileira* 28: 7 - 11.

Avaliação de genótipos de melancia para resistência ao *Papaya ringspot virus*, estirpe melancia

Jairo V Vieira; Antonio Carlos de Ávila; Giovani Olegário da Silva
Embrapa Hortaliças, C. Postal 218, 70359-970 Brasília-DF; jairo@cnpq.embrapa.br

RESUMO

Verificou-se a eficiência de duas metodologias de avaliação em nove genótipos de melancia da resistência a três isolados de *Papaya ringspot virus*, estirpe melancia (PRSV-W), de três regiões brasileiras. O delineamento do experimento foi em blocos casualizados com quatro repetições. Cada parcela foi composta de um vaso com 5 kg de substrato com cinco plantas de melancia por vaso. Aos 10 e 13 dias após a semeadura, três isolados do PRSV-W coletados nos estados de Goiás, Pernambuco e São Paulo, foram inoculados mecanicamente. Aos 27 e 37 dias após a semeadura foram feitas avaliações visuais de sintomas de vírus. A confirmação da presença ou não do vírus nas plantas inoculadas foi feita através do teste sorológico Das-Elisa, utilizando anti-soro policlonal. Foram realizadas análises de variância, estimadas as herdabilidades, calculadas as correlações entre os caracteres, e efetuadas comparações das médias dos genótipos e dos diferentes inóculos. Pelo comportamento diferenciado dos genótipos em relação aos isolados avaliados, conclui-se que isolados provenientes de diferentes regiões devem ser testados nos programas de melhoramento de melancia. Os altos valores de herdabilidade para a maioria dos caracteres indicam que a característica em estudo está sob o controle de poucos loci e que, portanto, a possibilidade de seleção de materiais resistentes é alta. Em geral, os genótipos mostraram um nível de tolerância superior ao da cultivar predominante no mercado brasileiro (Crimson Sweet). Portanto, podem servir de base para a produção de cultivares mais tolerantes ao PRSV-W.

Palavras-chave: *Citrullus lanatus* var. *lanatus*, absorvância, correlação, herdabilidade.

ABSTRACT

Evaluation of watermelon genotypes for resistance to *Papaya ringspot virus*, type watermelon

The aim of this study was to assess the resistance of nine watermelon genotypes against three PRSV-W isolates originated from three Brazilian States (São Paulo, Goiás and Pernambuco). The experiment was carried out at Embrapa Hortaliças, Brasília, Brazil, in April 2004. Nine watermelon genotypes were appraised, in a randomized block design with four replications. Each plot was comprised of one 5 kg pot and five watermelon plants per pot. Ten to 13 days after sowing, inoculation was carried out with three PRSV-W isolates. Twenty-seven and 37 days after sowing, virus symptoms were evaluated. Virus presence or absence in the inoculated plants was confirmed by Das-Elisa. The results comprised variance analysis, heritability estimation, correlations among the characters, and genotype comparisons. Based on the different behavior of the genotypes in relation to each PRSV-W isolate, it is concluded that different isolates should be used in watermelon breeding programs. The high heritability values for most of the characters indicated that the characteristic in study is under the control of a few loci and, therefore, the possibility of selection of resistant watermelon accesses is high. The evaluated genotypes showed higher virus tolerance compared to the most planted cultivar in the country (Crimson Sweet), as it can be verified by the average values. The results suggest that the selected watermelon accesses are a good source of resistance to new watermelon cultivars tolerant to PRSV-W.

Keywords: *Citrullus lanatus* var. *lanatus*, absorbance, correlation, heritability.

(Recebido para publicação em 26 de novembro de 2008; aceito em 25 de janeiro de 2010)

(Received on November 26, 2008; accepted on January 25, 2010)

No Brasil, os vírus na família *Potyviridae* têm recebido maior atenção por parte dos melhoristas de cucurbitáceas por representarem fatores limitantes no cultivo de melancia (*Citrullus lanatus* L.) e de várias outras cucurbitáceas nas principais regiões produtoras do país.

O gênero *Potyvirus* se sobressai em importância econômica para as cucurbitáceas no Brasil, por conter três espécies de relevância para os cultivos do meloeiro (*Cucumis melo* L.) e da melancia: vírus da mancha anelar do mamoeiro

estirpe melancia (*Papaya ringspot virus* strain watermelon, PRSV-W), vírus do mosaico da melancia (*Watermelon mosaic virus*, WMV) e vírus do mosaico amarelo do zucchini (*Zucchini yellow mosaic virus*, ZYMV) (Halfeld-Vieira *et al.*, 2004). Destes, o PRSV-W é o que mais causa danos econômicos na cultura da melancia no Brasil, e até o presente, não há no mercado brasileiro cultivar resistente a esse vírus (Vieira *et al.*, 2005).

O PRSV-W tem um círculo de hospedeiros abrangendo 38 espécies

botânicas em 11 gêneros de *Cucurbitaceae* (Purcifull *et al.*, 1984). O vírus é transmitido de maneira não persistente por várias espécies de afídeos, incluindo *Myzus persicae* e *Aphis* spp. (Purcifull *et al.*, 1984; Zambolin & Dusi, 1995). O controle químico dos vetores para o controle da doença é inócuo devido ao tipo de transmissão do vírus pelo vetor (Zambolin & Dusi, 1995). O controle de hospedeiros alternativos com herbicidas também pode ser realizado (Strange *et al.*, 2002). Porém, a resistência varietal é essencial para o controle da doença nas

nossas condições (Pereira, 1995).

Azevedo (2001), estudando a herança da resistência ao PRSV-W na introdução PI 595201 de melancia, estimou o número de genes em 2,61. Maluf et al. (1997), estudando a herança da resistência ao PRSV-W em moranga (*Cucurbita maxima*), observaram que a resistência parece ser mediada por oligogenes e o mecanismo de resistência é do tipo tolerância.

Os objetivos deste trabalho foram avaliar genótipos de melancia quanto à resistência a três isolados do PRSV-W de três regiões brasileiras (estados de Goiás, Pernambuco e São Paulo), e verificar a eficiência da utilização de duas metodologias de avaliação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação e em laboratório da Embrapa Hortaliças em abril de 2004. Foram avaliados nove acessos de melancia, os quais fazem parte da coleção de germoplasma da Embrapa Hortaliças: 01433 (*Citrus lanatus* var *colocynthis*), 01494 (Crimson Sweet), 02600 (*Citrus lanatus* var *colocynthis*), 03813 (*Citrus lanatus* var *colocynthis* x Crimson Sweet), 02659 (*Citrus lanatus* var *colocynthis*), 02658 (*Citrus lanatus* var *colocynthis*), 01537 (*Citrus lanatus* var *colocynthis*), 02599 (*Citrus lanatus* var *colocynthis*) e 03814 (*Citrus lanatus* var *colocynthis*). O delineamento utilizado foi de blocos casualizados com quatro repetições. Cada parcela foi composta de um vaso com 5 kg de substrato e cinco plantas de melancia em cada vaso. Como controles positivo e negativo foi utilizada a cultivar de melancia suscetível Crimson Sweet, com e sem inoculação, respectivamente, contidas no mesmo delineamento experimental.

Aos 10 e 13 dias após a semeadura, no estágio de plântula, foi efetuada inoculação mecânica com três isolados do PRSV-W coletados em três regiões brasileiras (estados de Goiás, Pernambuco e São Paulo) em plantas de melancia, formando um esquema fatorial 9 (genótipos) x 3 (inóculos). A identidade dos isolados como PRSV-W foi confirmada

por teste sorológico Das-Elisa utilizando anti-soros policlonais específicos para WMV, ZYMV e PRSV-W, produzidos no Laboratório de Virologia da Embrapa Hortaliças, a partir de *Cucurbita pepo* L. cv. Caserta, inoculada via extrato vegetal tamponado com cada uma dessas espécies de vírus. Para a produção dos anti-soros não foi feita purificação biológica a partir de lesões locais. A identificação das espécies de vírus foi feita através de sorologia. Estes anti-soros são vírus específicos não havendo reação cruzada significativa entre eles. A inoculação mecânica do vírus foi feita polvilhando carborundum 600 mesh sobre as folhas e o inóculo preparado através

da maceração de folhas infectadas em tampão fosfato 0,01 M, pH 7,0. Foram feitas duas inoculações mecânicas com intervalo de 24 horas. O inóculo foi esfregado com cotonete sobre as folhas polvilhadas com carborundum.

Aos 27 e 37 dias após a semeadura foram feitas avaliações visuais de sintomas por dois avaliadores independentes, com notas variando de 1 a 3: (1= planta sem sintomas; 2= planta com clareamento de nervuras; 3= plantas com clareamento de nervuras, mosaico severo e deformação foliar). Posteriormente, foi verificada a presença ou não do vírus nas plantas inoculadas através do teste sorológico Das-Elisa (Clark & Adams,

Tabela 1. Resumo da análise de variância para caracteres relacionados à tolerância ao vírus PRSV-W em melancia, avaliados a partir de três isolados provenientes de Goiás, Pernambuco e São Paulo, com respectivos coeficientes de variação ambiental (CV) e herdabilidades médias no sentido amplo (Ha^2), obtidos pela avaliação de nove genótipos de melancia (summarized variance analysis for characters related to the tolerance to the virus PRSV-W in watermelon, appraised from three isolates of Goiás, Pernambuco and São Paulo States, with respective coefficients of environmental variation (CV) and medium heritabilities in the wide sense (Ha^2), obtained by the evaluation of nine watermelon genotypes). Brasília, Embrapa Hortaliças, 2007.

Fontes de variação	GL	Quadrado médio		
		Avaliação aos 27 *dps	Avaliação aos 37 dps	Absorbância (405 nm)
Isolado de PRSV-W / Goiás				
Bloco	3	0,01	0,01	0,10
Genótipo	8	0,18*	0,19*	0,29*
Resíduo	24	0,01	0,01	0,08
CV	-	7,65	0,01	23,52
Ha^2 (%) média	-	0,94	0,99	0,73
Isolado de PRSV-W / Pernambuco				
Bloco	3	0,01	0,03	0,15
Genótipo	8	0,21*	0,07*	0,38
Resíduo	24	0,01	0,02	0,25
CV	-	2,19	7,53	26,53
Ha^2 (%) média	-	0,99	0,79	0,34
Isolado de PRSV-W / São Paulo				
Bloco	3	0,01	0,01	0,01
Genótipo	8	0,21*	0,16*	0,04*
Resíduo	24	0,01	0,01	0,01
CV	-	0,01	8,72	2,22
Ha^2 (%) média	-	0,99	0,91	0,98

*Significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F. Aos 39 dias após o semeio, foi feita a leitura de absorbância no teste Das-Elisa a 405 nm, 30 minutos após adição de substrato. Avaliações visuais foram feitas aos 27 e 37 dias após semeio (*significant at 5% of error probability by the F test. 39 days after sowing, the absorbance reading was done through the Das-Elisa test on 405 nm, 30 minutes after substratum addition. Visual evaluations were made 27 and 37 days after sowing).

1977) utilizando anti-soro policlonal contra o PRSV-W.

Os dados foram submetidos à análise de homogeneidade de variância (teste de Bartlett) e de normalidade (Lilliefors) para cada isolado de PRSV-W. Os caracteres avaliados aos 27 e 37 dias foram transformados por \sqrt{x} para atender a pressuposição de normalidade de distribuição.

Foi realizada análise de variância para cada isolado viral, e análise de variância conjunta. A herdabilidade foi estimada pelo quadrado médio (Cruz & Regazzi, 2001). As correlações fenotípicas entre os caracteres, e comparações das médias dos genótipos e dos diferentes inóculos foram efetuadas através do teste Tukey a 5% de probabilidade.

Todas as operações estatísticas foram realizadas utilizando-se o aplicativo computacional Genes (Cruz, 1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância conjunta, todos os caracteres foram significativos em diferenciar os genó-

tipos, e da mesma forma as interações genótipo e isolados de vírus (dados não mostrados). Por este motivo, os dados foram analisados em separado para cada isolado do PRSV-W.

Para os isolados coletados nos três estados em estudo, verificou-se efeito significativo de genótipo para todos os caracteres, com exceção para absorvância em se tratando do isolado de Pernambuco. Desta forma, para os demais caracteres avaliados, todos os isolados permitiram a diferenciação dos genótipos (Tabela 1).

Os coeficientes de variação fenotípicos, que são indicativos da precisão experimental, foram reduzidos para os caracteres avaliados visualmente através de notas, sendo superiores para o caráter absorvância em relação aos isolados de Goiás e Pernambuco (Tabela 2). Assim, para este caráter, as conclusões devem ser efetuadas com cautela, considerando a menor precisão experimental.

Para os caracteres avaliados visualmente (avaliação aos 27 e aos 37 dias após a semeadura), os valores de herdabilidade foram elevados, da mesma forma para absorvância em relação ao

isolado do PRSV-W proveniente de São Paulo. Isto sugere que a característica em estudo está sob o controle de poucos *loci*, e que conseqüentemente, a possibilidade de seleção de materiais resistentes é alta (Beserra Junior *et al.*, 2006). Ainda em relação ao caráter absorvância, com os dados relativos ao inóculo proveniente de Goiás, a herdabilidade foi menor (0,73), enquanto que para o inóculo de Pernambuco, que não apresentou significância, foi muito reduzida (0,34) (Tabela 1).

Estimativas elevadas de herdabilidade no sentido amplo para resistência ao vírus PRSV-W em melancia estão de acordo com os resultados de Beserra Junior *et al.* (2006), que verificaram valor de 0,80. Herdabilidades variando de 0,39 a 0,80 também foram verificadas por Azevedo (2001). Entretanto, em trabalho avaliando severidade de sintomas do PRSV-W com *Cucurbita moschata* Duchesne, Oliveira *et al.* (2003) obtiveram herdabilidades no sentido amplo variando de 0,44 a 0,70.

Pela comparação das médias dos genótipos para cada isolado de vírus, verificou-se que o genótipo 01494 (Ta-

Tabela 2. Comparações de médias por Tukey a 5% de probabilidade entre nove genótipos de melancia, em relação a caracteres relacionados à tolerância ao vírus PRSV-W em melancia, avaliados a partir de isolados provenientes de Goiás, Pernambuco e São Paulo (means comparison through Tukey test at 5% probability among nine watermelon genotypes, in relation to characters related to the virus PRSV-W tolerance in watermelon, appraised from isolates coming from Goiás, Pernambuco and São Paulo States). Brasília, Embrapa Hortaliças, 2007.

Genótipo	Goiás			Pernambuco			São Paulo		
	Avaliação visual		Absorvância (405 nm)	Avaliação visual		Absorvância (405 nm)	Avaliação visual		Absorvância (405 nm)
	27 *dps	37 dps		27 dps	37 dps		27 dps	37 dps	
01433**	1,25 b*	1,00 b	1,16 b	1,13 d	1,50 b	1,68 a	1,00 d	1,13 b	1,01 b
01494***	3,00 a	3,00 a	1,88 a	3,00 a	3,00 a	1,55 a	3,00 a	3,00 a	1,33 a
02600	1,00 b	1,00 b	1,06 b	1,00 d	2,13 ab	1,91 a	1,00 d	1,00 b	1,02 b
03813	1,00 b	1,00 b	1,28 ab	1,00 d	2,00 ab	2,60 a	1,00 d	1,00 b	1,01 b
02659	1,00 b	1,00 b	1,12 b	1,50 c	2,25 ab	2,04 a	1,00 d	1,13 b	1,04 b
02658	1,00 b	1,00 b	1,01 b	2,00 b	2,75 a	2,03 a	2,00 b	1,25 b	1,01 b
01537	1,00 b	1,00 b	1,11 b	2,00 b	2,50 a	1,67 a	1,50 c	1,38 b	1,01 b
02599	1,50 b	1,00 b	1,12 b	2,00 b	2,38 ab	1,74 a	1,00 d	1,25 b	1,04 b
03814	1,25 b	1,00 b	1,01 b	1,00 d	2,00 ab	1,85 a	1,00 d	1,00 b	1,02 b

*médias com letras diferentes na coluna diferiram significativamente. Aos 39 dias após o semeio, foi feita a leitura de absorvância no teste Das-Elisa a 405 nm, 30 minutos após adição de substrato. Avaliações visuais foram feitas aos 27 e 37 dias após semeio (*means with different letters on the column differed significantly). 39 days after sowing the absorbance reading was done in the Das-Elisa test at 405 nm, 30 minutes after substratum addition. Visual evaluations were done 27 and 37 days after sowing); **01433 (*Citrus lanatus* var *colocynthis*), 01494 (Crimson Sweet) (**controle positivo) (** positive witness), 02600 (*Citrus lanatus* var *colocynthis*), 03813 (*Citrus lanatus* var *colocynthis* x Crimson Sweet), 02659 (*Citrus lanatus* var *colocynthis*), 02658 (*Citrus lanatus* var *colocynthis*), 01537 (*Citrus lanatus* var *colocynthis*), 02599 (*Citrus lanatus* var *colocynthis*) e 03814 (*Citrus lanatus* var *colocynthis*).

Tabela 3. Comparações de médias por Tukey a 5% de probabilidade entre isolados de PRSV-W provenientes de Goiás, Pernambuco e São Paulo, em relação a caracteres relacionados à tolerância ao PRSV-W, e correlação simples entre os caracteres, pela avaliação de nove genótipos de melancia (means comparisons through Tukey at 5% of probability among isolates of PRSV-W coming from Goiás, Pernambuco and São Paulo States, in relation to characters related to the tolerance to PRSV-W, and simple correlation among the characters, for the evaluation of nine watermelon genotypes). Brasília, Embrapa Hortaliças, 2007.

	Médias		
	Goiás	Pernambuco	São Paulo
27 **dps	1,38 b*	1,62 a	1,38 b
37 dps	1,22 b	2,27 a	1,35 b
Absorbância (405nm)	1,19 b	1,89 a	1,05 b
Absorbância (405nm) do controle negativo***	0,01	0,01	0,01
	Correlação		
27 dps x 37 dps	0,85*	0,67*	0,83*
27 dps x absorbância	0,56*	-	0,82*
37 dps x absorbância	0,68*	-	0,90*

*médias com letras diferentes na linha diferiram significativamente (*means with different letters in the line differed significantly); **significativo a 5% pelo teste T. Aos 39 dias após o semeio, foi feita a leitura de absorbância no teste Das-Elisa a 405 nm, 30 minutos após adição de substrato. Avaliações visuais foram feitas aos 27 e 37 dias após semeio (**significant at 5% through T test. 39 days after sowing, the absorbance reading was done in the Das-Elisa test at 405 nm, 30 minutes after substratum addition. Visual evaluations were done 27 and 37 days after sowing); ***Plantas controle negativo de melancia (Crimson Sweet) (**negative watermelon plant witness (Crimson Sweet)).

bela 2) apresentou as maiores médias, ou seja, sintomas mais severos do PRSV-W, o que já era esperado devido a ser uma cultivar conhecidamente suscetível e cultivada amplamente no Brasil e em outros países (Crimson Sweet). Em geral, os demais genótipos mostraram um nível de tolerância superior ao desta cultivar (Tabela 2).

Apesar de todos os genótipos testados permitirem a replicação viral em taxas elevadas (como o teste não foi realizado de forma quantitativa, não é possível concluir acerca de maior ou menor taxa de replicação com base nos valores de absorbância de genótipos específicos), entretanto, com base nas avaliações visuais, as plantas de alguns acessos continuaram assintomáticas. Pode-se verificar algumas diferenças significativas nos valores de médias, no entanto não caracterizando resistência à replicação de vírus. Verificou-se que a base genética em melancia, buscando resistência ao PRSV-W, parece ser bastante estreita, porém o genótipo 01433 se destaca com indicação de ser promissor para retrocruzamentos com cultivares comerciais por ser tolerante à infecção viral. No entanto, a conclusão

definitiva da tolerância exige dados de produção, mostrando que essa não é reduzida devido à infecção viral.

Apesar de o isolado de Goiás ter sido menos virulento que os demais, em geral, para os isolados de Goiás e São Paulo, pode-se notar uma similaridade muito grande na classificação dos genótipos de acordo com os diferentes métodos de avaliação. Quanto ao inóculo proveniente de Pernambuco os genótipos não foram classificados semelhantemente nem com outros isolados e nem entre os dois métodos de avaliação deste mesmo inóculo (27 e 37 dias) (Tabela 2).

O comportamento diferenciado do isolado de Pernambuco, em relação aos demais, e a associação apenas mediana entre a avaliação aos 27 e 37 dias após a semeadura para o inóculo de Pernambuco, podem ser confirmadas com os dados da Tabela 3, com a análise de comparação de médias entre os inóculos e pela correlação entre os métodos de avaliação para cada inóculo.

Ainda, na Tabela 3 tem-se a confirmação de que para os isolados de Goiás e São Paulo, existe associação positiva entre as diferentes metodologias de avaliação. Isso indica que pode ser

utilizada na avaliação visual de vírus, com economia de custos e metodologias laboratoriais. Pode-se verificar ainda que, pelos valores das médias, o inóculo de Pernambuco apresentou as maiores médias, ou seja, foi o mais virulento.

Pelo comportamento dos genótipos em relação aos três isolados avaliados, conclui-se que na geração de cultivares com resistência ao vírus PRSV-W, para serem utilizadas em diversas regiões brasileiras, isolados provenientes de diferentes regiões devem ser testados nos programas de melhoramento de melancia para esse vírus.

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO SM. 2001. *Herança da resistência ao vírus da mancha anelar do mamoeiro-estirpe melancia (PRSV-W) em melancia, Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsu. & Nakai. Lavras: UFLA. 68p (Tese doutorado).
- BESERRA JEA; MALUF WR; FIGUEIRA AR; BARGUIL BM. 2006. Herança da resistência ao *Watermelon mosaic virus* em melancia (*Citrullus lanatus* L.). *Fitopatologia Brasileira* 31: 302-305.
- CLARK MF; ADAMS AN. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology* 34: 475-483.
- CRUZ CD. 1997. *Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística*. Viçosa: UFV. 442p.
- CRUZ CD; REGAZZI AJ. 2001. *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: Editora UFV, 390p.
- HALFELD-VIEIRA BA; RAMOS NF; RABELO FILHO FAC; GONÇALVES MFB; NECHET KL; PEREIRA PRVS; LIMA JAA. 2004. Identificação sorológica de espécies de potyvirus em melancia, no estado de Roraima. *Fitopatologia Brasileira* 29: 687-689.
- MALUF WR; PEREIRA JJ; FIGUEIRA AR. 1997. Inheritance of resistance to the *Papaya ringspot virus*-watermelon strain from two different accessions of winter squash *Cucurbita maxima* Duch. *Euphytica* 94: 163-168.
- OLIVEIRA ACB; MALUF WR; PINTO JEBP; AZEVEDO SM. 2003. Resistance to papaya ringspot virus in *Cucurbita pepo* L. introgressed from a interspecific *C. pepo* x *C. moschata* cross. *Euphytica* 132: 211-215.
- PEREIRA JJ. 1995. *Herança da resistência ao vírus da mancha anelar do mamoeiro-estirpe melancia ('papaya ringspot virus-type W') em moranga (Cucurbita maxima Duch.)*. Lavras: UFLA. 52p. (Tese mestrado).
- PURCIFULL, DJ; EDWARDSON E; HIEBERT D; GONSALVES. 1984. *Papaya Ringspot Virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses. 292. 8 p.

STRANGE EB; GUNER N; PESIC-VANESBROECK Z; WEHNER TC. 2002. Screening the watermelon germplasm collection for resistance to (Papaya Ringspot Virus Type-W). *Crop Science* 42: 1324-

1330.
VIEIRAJV; ÁVILAAC; PINTO MN; SILVA BM; BORGES CL. 2005. Avaliação da coleção de germoplasma de melancia da Embrapa Hortaliças para tolerância a viroses. *Boletim de*

Pesquisa e Desenvolvimento 12: 12p. Brasília: Embrapa Hortaliças.

ZAMBOLIN EM; DUSI AN. 1995. Doenças causadas por vírus em cucurbitáceas. *Informe Agropecuário* 17 182: 60-62.
