

PROBLEMAS NA PREMUNIZAÇÃO DE MELANCIA PARA O CONTROLE DO MOSAICO CAUSADO PELO *Papaya ringspot virus*

PAULO R. P. DIAS* & JORGE A. M. REZENDE**

Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, ESALQ/USP, Cx. Postal 09, 13418-900, Piracicaba-SP, Fax: (019) 434-4839, e-mail: jamrezen@carpa.ciagri.usp.br

(Aceito para publicação em 25/05/2001)

Autor para correspondência: Jorge A. M. Rezende

DIAS, P.R.P. & REZENDE, J.A.M. Problemas na premunização de melancia para o controle do mosaico causado pelo *Papaya ringspot virus*. Fitopatologia Brasileira 26:651-654. 2001.

RESUMO

Neste trabalho estudou-se a proteção de melancia (*Citrullus lanatus*) com estirpes fracas do *Papaya ringspot virus*, estirpe melancia, em condições de casa de vegetação e em campo. Os resultados mostraram que a proteção foi eficiente em ambos os testes. Nos testes em campo porém, as plantas protegidas da cultivar Crimson Sweet tiveram uma redução no peso médio de frutos por planta de, aproximadamente, 50% e 10,8%, em comparação às plantas não protegidas que estavam sadias, no primeiro e no segundo

teste, respectivamente. O mesmo fato ocorreu com a cultivar Crimson Tide, na qual se registrou uma redução de 36,4%, aproximadamente, em um único teste. Além da redução na produção, outro problema encontrado na premunização da melancia foi a necessidade de duas inoculações sucessivas das mudas, em dias consecutivos, para aumentar a frequência de plantas infetadas.

Palavras-chave: *Citrullus lanatus*, cucurbitácea, PRSV.

ABSTRACT

Problems associated with cross protection of watermelon for the control of *Papaya ringspot virus*

Studies were carried out to evaluate the protective effect of two mild strains of *Papaya ringspot virus*, watermelon strain, on watermelon (*Citrullus lanatus*) plants under greenhouse and field conditions. The results showed that protection was positive under both conditions. However, protected plants of 'Crimson Sweet' showed a reduction on the average weight of fruit per plant of, approximately, 50%

and 10.8%, as compared to the yield of healthy plants, in the first and second trials, respectively. Yield reduction on protected 'Crimson Tide' was approximately 36.4% in one trial. In addition to yield reduction, another problem associated with cross protection in watermelon was the requirement of two successive inoculations of the seedling, on consecutive days, to increase the frequency of protected plants.

O *Papaya ringspot virus* (PRSV), estirpe melancia, também designado por *Papaya ringspot virus - type W* (PRSV-W) é um potyvirus transmitido de maneira não persistente por afídeos e que afeta cucurbitáceas em geral, inclusive a melancia [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai], em diversos estados brasileiros. Estudos recentes revelaram que o PRSV é o vírus de maior incidência em São Paulo (Yuki *et al.*, 2000).

Plantas de melancia infetadas com o PRSV geralmente exibem mosaico e deformidades foliares, redução no limbo foliar e no desenvolvimento vegetativo e prejuízos na produção, devido à redução no número e no tamanho dos frutos.

O controle do mosaico em melancia é tão difícil quanto nas demais espécies de cucurbitáceas devido, primeiramente,

à ausência de cultivares e híbridos comerciais resistentes ao vírus. A baixa eficiência do controle químico dos afídeos vetores e a dificuldade da utilização prática de métodos físicos e culturais que minimizem a disseminação do vírus, já constatados em outras espécies (Moore *et al.*, 1965; Chalfant *et al.*, 1977; Yuki, 1990), também não parecem recomendar tais medidas para a cultura da melancia. O uso da premunização, eficiente no controle do mosaico em abobrinha-de-moita (*Cucurbita pepo* L.) (Rezende & Pacheco, 1998), abóbora rasteira (*C. moschata* (Duch. ex Lam) Duch ex Poir cv. Menina Brasileira) (Rezende *et al.*, 1999) e em abóbora híbrida (*C. maxima* Duch. ex Lam x *C. moschata*) do tipo Tetsukabuto (Dias & Rezende, 2000), surge como possível alternativa para o controle dessa doença em melancia. O presente trabalho teve por objetivo avaliar se as estirpes fracas disponíveis do PRSV também são eficientes no controle dessa virose em melancia.

Para os testes em casa de vegetação e em campo, foram

* Bolsista da FAPESP

** Bolsa de produtividade em pesquisa do CNPq

utilizadas as cultivares de melancia Charleston Gray, Crimson Sweet e Crimson Tide, além da abobrinha-de-moita cv. Caserta. Duas estirpes fracas disponíveis do vírus, PRSV-W-1 e PRSV-W-2, provenientes de bolhas que ocorrem em folhas de abobrinha-de-moita com mosaico (Rezende *et al.*, 1994), e três estirpes comuns, coletadas em plantas da mesma espécie em Campinas (PRSV-W-C), Botucatu (PRSV-W-B) e Petrolina (PRSV-W-P), também foram usadas nesses estudos. As estirpes foram mantidas, separadamente, em abobrinha-de-moita em casa de vegetação.

Um teste de proteção de plantas de melancia 'Charleston Gray' e 'Crimson Sweet' foi feito em casa de vegetação. Foram comparados os seguintes tratamentos: (A) plantas premunizadas com a estirpe fraca PRSV-W-1; (B) plantas premunizadas com a estirpe PRSV-W-1 e posteriormente inoculadas (desafiadas) com as estirpes PRSV-W-C, PRSV-W-B e PRSV-W-P, separadamente, realizando duas inoculações sucessivas de desafio aos 15 e 25 dias após a inoculação de premunização; (C) plantas inoculadas apenas com as estirpes comuns, separadamente, nas épocas em que foram realizadas as inoculações de desafio e (D) plantas sadias. A inoculação de premunização foi feita mecanicamente, no estádio cotiledonar, com inóculo diluído 1:50 (P:V), em tampão fosfato 0,02 M, pH 7,0, contendo sulfato de sódio 0,02 M. O mesmo método de inoculação foi utilizado no desafio das plantas premunizadas. Em um teste de proteção de plantas do cv. Crimson Sweet, o desafio foi feito por meio de afídeos virulíferos da espécie *Myzus persicae* Sulzer, obtidos de colônias livres de vírus, criados em plantas de rabanete selvagem (*Raphanus raphanistrum* L.). Foram colocados quatro afídeos por planta. Todas as plantas foram mantidas em casa de vegetação, onde foram feitas observações periódicas de sintomas e testes de recuperação da estirpe do vírus para plantas de abobrinha-de-moita. Estas apresentam sintomas severos de mosaico quando infetadas com estirpes comuns do PRSV e ausência de sintomas quando infetadas com estirpes fracas do vírus. No segundo caso a infecção é confirmada por teste sorológico.

Dois testes de proteção em campo foram realizados em Anhembi-SP. O primeiro, em 1997, foi conduzido com a cultivar Crimson Sweet. Os tratamentos foram: (A) plantas premunizadas com a estirpe PRSV-W-1; (B) plantas premunizadas com a estirpe PRSV-W-2; (C) plantas premunizadas com a estirpe PRSV-W-1 e desafiadas com a estirpe PRSV-W-C; (D) plantas premunizadas com a estirpe PRSV-W-2 e desafiadas com a estirpe PRSV-W-C; (E) plantas inoculadas com a estirpe PRSV-W-C no estádio cotiledonar e (F) plantas não protegidas (sadias) expostas à infecção natural. Os desafios foram realizados, aproximadamente, dez dias após o transplante das mudas em campo. A proteção das plantas foi avaliada através de observações periódicas de sintomas e por meio de teste de recuperação das estirpes presentes nas melancias para plantas de 'Caserta', no final do experimento. No segundo teste, em 1999, foram utilizadas as cultivares Crimson Sweet e Crimson Tide. Os tratamentos foram iguais aos do primeiro teste, excluindo-se os tratamentos (C) e (D).

Amostras de todas as plantas foram individualmente coletadas, no meio e ao final do ciclo da cultura, e avaliadas para a identificação de possíveis infecções com o *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Watermelon mosaic virus - 2* (WMV-2), *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV) e/ou *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV), através do teste sorológico de ELISA ("Enzyme-Linked Immunosorbent Assay") do tipo PTA ("Plate-Trapped Antigen"), com antissoros policlonais específicos para os respectivos vírus. Foram realizadas duas colheitas em nov/1999 e jan/2000.

Em ambos os testes, foram plantadas três mudas por cova, duplamente premunizadas. Quinze dias após o plantio, foram coletadas amostras de folhas de todas as plantas inoculadas, separadamente, para confirmar as infecções com as estirpes fracas e comum do vírus, através do PTA-ELISA. Apenas uma planta, sabidamente infetada e representativa dos tratamentos, permaneceu na cova após a indexação. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com seis tratamentos e dez repetições para o primeiro teste e quatro tratamentos e dez repetições para o segundo. Cada parcela foi representada por uma planta. O espaçamento entre plantas foi de 3,0 x 3,0 m.

Os dados de produção dos testes foram analisados com o auxílio do programa GLM ("General Linear Model") do sistema estatístico SAS ("Statistical Analysis System") para a ocorrência de dados desbalanceados (SAS Institute, 1990). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Os testes de proteção de melancia mostraram um problema inicial associado com a infecção das plantas na inoculação com as estirpes fracas do vírus. Verificou-se que duas inoculações, em dias consecutivos, foram necessárias para permitir a infecção (premunização) de aproximadamente 80% das mudas. Tentativas para tornar as estirpes fracas do PRSV melhor adaptadas à melancia foram feitas através de oito passagens consecutivas delas por plantas dessa espécie. Mesmo assim, em nenhum caso se alcançou a infecção de 100% das plantas de melancia. Considerando-se que as estirpes fracas PRSV-W-1 e PRSV-W-2 foram selecionadas a partir de bolhas das folhas de abobrinha-de-moita com mosaico (Rezende *et al.*, 1994), sugere-se que a baixa infetividade em melancia pode estar associada à origem e especificidade das estirpes. Problemas de especificidade, associados à origem das estirpes fracas, foram constatados por Costa & Müller (1980) no controle da tristeza dos citrus por premunização. Nesse caso, entretanto, a especificidade estava associada com a severidade dos sintomas causados pelas estirpes fracas. A baixa infetividade das estirpes fracas do PRSV também pode estar associada à idade da planta doadora do inóculo, concentração do inóculo e/ou estádio inicial da planta de melancia a ser inoculada.

Os testes de proteção em casa de vegetação mostraram que as 46 plantas de 'Charleston Gray' e as 48 plantas de 'Crimson Sweet', premunizadas com a estirpe PRSV-W-1 e desafiadas com as três estirpes comuns, separadamente, apresentaram sintomas pouco evidentes de mosaico e desen-

volvimento semelhante ao das sadias. Teste de recuperação das estirpes do vírus para plantas de abobrinha-de-moita 'Caserta', seguido pelo PTA-ELISA, confirmaram que as 94 plantas premunizadas e desafiadas estavam somente infetadas com a estirpe fraca PRSV-W-1. Por outro lado, todas as 64 plantas de melancia não protegidas, inoculadas com as estirpes comuns, tiveram o desenvolvimento afetado e apresentaram sintomas evidentes de mosaico e deformação foliar. Resultado semelhante de proteção foi obtido quando o desafio das plantas premunizadas foi efetuado mediante transmissão por afídeos virulíferos (dados não apresentados). Estes resultados são semelhantes aos obtidos em testes de proteção de abobrinha-de-moita (Rezende & Pacheco, 1998), abóbora 'Menina Brasileira' (Rezende *et al.*, 1999) e abóbora híbrida do tipo Tetsukabuto (Dias & Rezende, 2000).

Nos testes de proteção em campo, verificou-se inicialmente que a pressão de inóculo exercida pelo complexo normal do vírus na região não foi alta. No primeiro teste, apenas duas plantas, entre dez não protegidas, foram infetadas pela estirpe comum do PRSV. No segundo teste, essa relação foi de quatro, em 18 plantas. Deve-se lembrar, todavia, que no primeiro teste, parte das plantas premunizadas foi desafiada mecanicamente com a estirpe PRSV-W-C, dez dias após o transplante, para confirmar o efeito protetor da premunização. Resultados dos testes de recuperação para plantas de 'Caserta' indicaram que todas as plantas premunizadas estavam infetadas somente com as estirpes fracas no final do teste, sugerindo que a proteção foi eficiente, mesmo havendo baixa pressão de inóculo.

Nos dados de produção das plantas do primeiro teste (Tabela 1), deve-se ressaltar, inicialmente, que a produção das dez plantas não protegidas é composta pela soma da produção de duas plantas que foram infetadas com a estirpe comum da região e de oito que permaneceram sadias. As primeiras tiveram uma produção média de 21,0 Kg de frutos/planta e as outras, 32,3 Kg de frutos/planta.

TABELA 1 - Produção de melancia (*Citrullus lanatus*) 'Crimson Sweet' em teste de proteção em campo para o controle do *Papaya ringspot virus*. Anhembi, SP, 1997

Tratamento *	Nº médio frutos/planta	Peso médio do fruto (Kg)	Peso médio de frutos (Kg)/planta
PRSV-W-1	2,7	6,0	16,6 a**
PRSV-W-2	2,8	5,9	16,8 a
PRSV-W-1 + PRSV-W-C	2,0	7,7	15,5 a
PRSV-W-2 + PRSV-W-C	2,1	7,4	15,7 a
PRSV-W-C	1,4	2,6	3,8 b
Não protegidas	2,6	11,6	30,1 c

* PRSV-W-1 = plantas premunizadas com esta estirpe fraca.
 PRSV-W-2 = plantas premunizadas com esta estirpe fraca.
 PRSV-W-C = plantas inoculadas com esta estirpe comum.
 PRSV-W-1 + PRSV-W-C = plantas premunizadas e desafiadas com a estirpe comum.
 PRSV-W-2 + PRSV-W-C = plantas premunizadas e desafiadas com a estirpe comum.
 Não protegidas = plantas não inoculadas, expostas à infecção natural de campo.
 ** Médias seguidas da mesma letra não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

No segundo teste em campo, conduzido com as cultivares Crimson Sweet e Crimson Tide (Tabela 2), constatou-se que dez plantas da primeira e duas da segunda cultivar foram infetadas com o ZYMV ou o ZLCV. Essas plantas foram desconsideradas para os testes de recuperação e análise de dados de produção. O teste de recuperação das estirpes do vírus indicaram que todas as plantas premunizadas das duas cultivares, não infetadas com outro vírus, estavam infetadas apenas com as estirpes fracas previamente inoculadas. Entre as oito plantas não protegidas de 'Crimson Sweet', três foram infetadas pela estirpe comum do vírus da região e duas foram premunizadas naturalmente com a estirpe PRSV-W-1 e/ou PRSV-W-2. As produções médias desses grupos de plantas foram de 11,4 Kg e 15,7 Kg de frutos/planta, respectivamente. As três plantas restantes que permaneceram sadias até o final do ciclo da cultura produziram 9,2 Kg de frutos/planta. No caso de 'Crimson Tide', das dez plantas expostas à infecção natural, quatro foram naturalmente premunizadas, uma foi infetada com a estirpe comum da região e cinco permaneceram sadias até o final do ciclo da cultura. As produções médias desses grupos de plantas foram de 9,6 Kg, 5,6 Kg e 20,2 Kg de frutos/planta, respectivamente.

Nos testes em campo, de uma maneira geral, as plantas protegidas de 'Crimson Sweet' tiveram uma redução no peso médio de frutos por planta de, aproximadamente, 50% e 10,8%, em comparação às plantas não protegidas que permaneceram sadias, no primeiro e no segundo teste, respectivamente. As plantas premunizadas de 'Crimson Tide' também apresentaram uma redução de produção de 36,4% em comparação às plantas não protegidas que permaneceram sadias. Comparando-se a produção média de todas as plantas inoculadas no estádio cotiledonar com a estirpe comum, com a daquelas premunizadas, nota-se que a proteção proporcionou um aumento no peso médio de frutos por planta de 302%,

TABELA 2 - Produção de melancia (*Citrullus lanatus*) 'Crimson Sweet' e 'Crimson Tide' em testes de proteção em campo para o controle do *Papaya ringspot virus*. Anhembi, SP, 1999

Tratamento *	Nº médio frutos/planta	Peso médio do fruto (Kg)	Peso médio de
			frutos (Kg)/planta
<i>Crimson Sweet</i>			
PRSV-W-1	1,7	3,9	6,7 ab **
PRSV-W-2	1,9	5,1	9,7 a
PRSV-W-C	0,9	3,1	3,1 b
Não protegidas	2,1	5,4	11,7 a
<i>Crimson Tide</i>			
PRSV-W-1	1,9	6,4	12,2 a **
PRSV-W-2	2,6	5,2	13,5 a
PRSV-W-C	1,4	4,7	6,3 a
Não protegidas	2,3	6,9	16,1 a

* PRSV-W-1 = plantas premunizadas com esta estirpe fraca.
 PRSV-W-2 = plantas premunizadas com esta estirpe fraca.
 PRSV-W-C = plantas inoculadas com esta estirpe comum.
 Não protegidas = plantas não inoculadas, expostas à infecção natural de campo.
 ** Médias seguidas da mesma letra não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

aproximadamente. Apesar da redução na produção das plantas premunizadas de ambas as cultivares, as estirpes fracas não afetaram a aparência externa dos frutos.

Pequena redução na produção de plantas premunizadas pode ser esperada e é até compreensível, pois tratam-se de plantas infetadas com o vírus. Em abobrinha-de-moita 'Caserta', Rezende & Pacheco (1998) verificaram que a produção de frutos de plantas protegidas com estirpes fracas do PRSV foi 10% menor do que a daquelas que permaneceram sadias. Relato semelhante foi feito por Lecoq *et al.* (1991) no controle do ZYMV por premunização, quando detectaram uma redução de 11% no peso de frutos por planta de abobrinha-de-moita premunizada, em relação ao daquelas sadias. Montasser *et al.* (1998), por outro lado, em trabalho de premunização de melão (*Cucumis melo* L.), para o controle do CMV, não verificaram diferenças nas produções das plantas premunizadas e sadias. Este é o primeiro caso em que a premunização de cucurbitáceas, para o controle do mosaico causado pelo PRSV-W, causou redução significativa na produção, apesar da proteção oferecida pelas estirpes fracas. Estudos para equacionar os problemas encontrados com a premunização de melancia estão em andamento, de tal sorte que essa tecnologia também possa ser útil para o controle do mosaico nesta espécie de cucurbitácea.

AGRADECIMENTOS

Os autores expressam seus agradecimentos ao Dr. Hugo Kuniyuki e ao Dr. Valdir A. Yuki, do Centro de Fitossanidade, Instituto Agronômico de Campinas, SP, pela revisão do manuscrito e sugestões apresentadas. Também agradecem o Dr. Valdir A. Yuki pela identificação da espécie de afídeo e ao Dr. Antônio C. de Ávila, CNPH/EMBRAPA, Brasília, pelo fornecimento do anti-soro contra o ZLCV.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHALFANT, R.B., JAWORSKI, C.A., JOHNSON, A.W. & SUMMER, D.R. Reflective film mulches, millet barriers, and pesticides effects on watermelon mosaic virus, insects, nematodes, soil borne fungi, and yield of yellow summer squash. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 102:11-15. 1977.
- COSTA, A.S. & MÜLLER, G.W. Tristeza control by cross protection: a U.S.-Brazil cooperative success. *Plant Disease* 64:538-541. 1980.
- DIAS, P.R.P & REZENDE, J.A.M. Premunização da abóbora Tetsukabuto para o controle do mosaico causado pelo *Papaya ringspot virus - type W*. *Summa Phytopathologica* 26:390-398. 2000.
- LECOQ, H., LEMAIRE, J.M. & WIPF-SCHEIBEL, C. Control of zucchini yellow mosaic virus in squash by cross protection. *Plant Disease* 75:208-211. 1991.
- MONTASSER, M.S., TOUSIGNANT, M.E. & KAPER, J.M. Virus satellite RNAs for the prevention of cucumber mosaic virus (CMV) disease in field-grown pepper and melon plants. *Plant Disease* 82:1298-1303. 1998.
- MOORE, W.D., SMITH, F.F., JOHNSON, G.V. & WOLDENBARGER, W.O. Reduction of aphid population and delayed incidence of virus infection on yellow neck squash by use of aluminum foil. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 78:187-191. 1965.
- REZENDE, J.A.M. & PACHECO, D.A. Control of papaya ringspot virus-type W in zucchini squash by cross protection in Brazil. *Plant Disease* 82:171-175. 1998.
- REZENDE, J.A.M., PACHECO, D.A. & IEMMA, A.F. Efeitos da premunização da abóbora 'Menina Brasileira' com estirpes fracas do vírus do mosaico do mamoeiro-estirpe melancia. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 34:1481-1489. 1999.
- REZENDE, J.A.M., YUKI, V.A., VEGA, J., SCAGLIUSI, S.M.M., BORBA, L.F. & COSTA, A.S. Isolados fracos do Potyvirus causador do mosaico da abobrinha presentes em bolhas atuam na premunização. *Fitopatologia Brasileira* 18:55-61. 1994.
- SAS INSTITUTE. SAS/STAT user's guide. 4 ed.: Statistical Analysis System Institute, 1990.
- YUKI, V. A. Epidemiologia e controle do mosaico (VMM-Me) em abobrinha-de-moita (Tese de Doutorado). Piracicaba. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. 1990.
- 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 viruses infecting cucurbits in the State of São Paulo, Brazil. *Plant Disease* 84:516-520. 2000.