



Levantamento sorológico de vírus em espécies de cucurbitáceas na região do submédio São Francisco, Brasil

Lindomar Maria da Silveira¹, Manoel A. Queiroz², José A.A. Lima³, Aline K.Q. Nascimento³ & Izaías S. Lima Neto²

¹Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, 59625-900 Mossoró, RN, Brasil; ²Universidade do Estado da Bahia, 48.905-680, Juazeiro, BA, Brasil; ³Departamento de Agronomia, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, 60.451-970, Fortaleza, CE, Brasil

Autor para correspondência: Lindomar Maria da Silveira, e-mail: lindomarmaria@yahoo.com.br

RESUMO

Com o objetivo de se obter informações sobre os vírus que ocorrem, com mais freqüência, nas espécies *Benincasa hispida*, *Citrullus* spp., *Cucumis melo*, *Cucurbita* spp., híbridos F₁ de *C. lanatus* com *C. lanatus* var. *citroides*, *Lagenaria* sp. e *Momordica charantia*, em áreas irrigadas de Petrolina-PE e Juazeiro-BA foram coletadas amostras foliares de plantas no primeiro e segundo semestre de cada ano (2005 a 2007). As amostras foram testadas por “enzyme-linked immunosorbent assay” (ELISA) indireto contra anti-soros específicos para *Papaya ringspot virus* type watermelon (PRSV-W), *Watermelon mosaic virus* (WMV), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) e *Cucumber mosaic virus* (CMV) e por Dupla Difusão em Ágar contra anti-soro específico para *Squash mosaic virus* (SqMV), no Laboratório de Virologia Vegetal da Universidade Federal do Ceará. Foram analisadas amostras de 967 plantas, das quais 608 estavam infectadas. De 125 amostras assintomáticas, 42 permitiram replicação de vírus. O PRSV-W predominou seguido por WMV e ZYMV, ocorrendo infecções mistas em todas as espécies. O CMV foi detectado em apenas uma amostra e o SqMV não foi detectado. Os resultados indicam que um programa de melhoramento para resistência a viroses em cucurbitáceas na região deve considerar os três potyvírus.

Palavras-Chave: *Citrullus lanatus*, *Cucumis melo*, sorologia, Potyvirus, infecção mista.

ABSTRACT

Serological survey of virus in cucurbit species in the Lower Middle São Francisco River Basin, Brazil

Aiming to get information about the virus that most frequently infects cucurbit plants of the species *Benincasa hispida*, *Citrullus* spp., *Cucurbita* spp., *Cucumis melo*, *Lagenaria* sp., *Momordica charantia* and also some F₁ hybrids of *C. lanatus* with *C. lanatus* var. *citroides* in irrigated areas of Petrolina-PE and Juazeiro-BA, experimental and farming areas were surveyed in the first and second half of each year (2005 to 2007). The samples were tested by indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) against antisera specific for *Papaya ringspot virus*, type watermelon (PRSV), *Watermelon mosaic virus* (WMV), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) and *Cucumber mosaic virus* (CMV), and by Agar Double Diffusion against antiserum specific for *Squash mosaic virus* (SqMV) at the Plant Virus Laboratory of the Federal University of Ceará. Leaf samples from 967 plants were analyzed and 608 of them were infected. Among 125 samples from symptomless plants, 42 allow replication. PRSV-W was predominant, followed by WMV and ZYMV, and mixed infections occurred in all infected species. CMV was detected only in one sample and SqMV was not found. This is an indication that a breeding program for virus resistance in cucurbit species in the region must consider the three potyviruses.

Keywords: *Citrullus lanatus*, *Cucumis melo*, Serology, Potyvirus, mixed infection.

Entre as famílias de plantas utilizadas para a produção de alimentos, as cucurbitáceas ocupam lugar de destaque em importância econômica e social, em particular para o Nordeste brasileiro onde seu cultivo é praticado por pequenos produtores em regime de agricultura familiar. Por outro lado, nessa região, as cucurbitáceas são também exploradas por empresas exportadoras de frutas. Entre as cucurbitáceas de importância econômica para o Nordeste

brasileiro destaca-se o melão (*Cucumis melo* L.), sendo a região a maior produtora nacional, com a produção concentrada nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará, a melancia [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai] e as abóboras (*Cucurbita* spp.), produzidas em toda região. Nessa região, onde as empresas produtoras e exportadoras de frutas utilizam da irrigação, um grande volume dessas e outras cucurbitáceas é produzido por pequenos produtores em condições de sequeiro. Esses cultivos apresentam variabilidade genética para vários caracteres que podem ser utilizadas no melhoramento das culturas. As variedades utilizadas nos cultivos irrigados não foram desenvolvidas

Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor. Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró RN. 2008.

para as condições climáticas prevalentes no Nordeste brasileiro, em particular a melancia e o melão. Estas são suscetíveis a várias doenças sendo que entre aquelas que se manifestam nas cucurbitáceas, é dado um destaque às viroses, por causarem sérios danos e serem de difícil controle, em razão da forma sistêmica de infecção dos vírus e sua disseminação por vetores. Entre as famílias de vírus que infectam as cucurbitáceas já foram relatadas no Nordeste brasileiro: Família *Potyviridae*, gênero *Potyvirus*: *Papaya ringspot virus*, type watermelon – PRSV-W; *Watermelon mosaic virus* – WMV; *Zucchini yellow mosaic virus* – ZYMV; Família *Bromoviridae*, gênero *Cucumovirus*: *Cucumber mosaic virus* – CMV; Família *Comoviridae*, gênero *Comovirus*: *Squash mosaic virus* – SqMV (Oliveira et al., 2000; Moura et al., 2001) e vírus do amarelão, que vem causando sérios prejuízos na cultura do melão e cuja etiologia foi sugerida por Lima et al. (2002) como um possível vírus da família *Closteroviridae*, gênero *Crinivirus*, embora de acordo com Nagata et al. (2003, 2005) se trate de um vírus da família *Flexiviridae*, gênero *Carlavirus*.

As plantas infectadas por vírus podem apresentar mosaico, redução do limbo foliar, deformação nas folhas e frutos, podendo a sintomatologia variar conforme o hospedeiro infectado, assim como com a ocorrência de infecções mistas (Ramos et al., 2003). Os vírus aqui mencionados já foram identificados através de levantamentos realizados de forma esporádica, sendo que as informações são insuficientes para inferir a ocorrência em épocas distintas uma vez que isso depende de vários fatores como a época do ano, a presença e preferência de vetores. Desta forma, tornou-se necessário monitorar a ocorrência de vírus em campos irrigados de cucurbitáceas do Sub-Médio São Francisco em Petrolina PE e Juazeiro BA, com o objetivo de se obter informações sobre a ocorrência e predominância nos campos experimentais e em áreas de produtores, que cultivam cucurbitáceas nos dois semestres de cada ano, para possibilitar o direcionamento dos programas de melhoramento voltados para resistência.

Durante os anos de 2005 a 2007 foram coletadas amostras foliares de cucurbitáceas com e sem sintomas de infecção por vírus em áreas irrigadas de Petrolina e Juazeiro na região do Sub-Médio São Francisco. Coletaram-se amostras na Estação Experimental de Bebedouro – Embrapa Semi-Árido, localizada a 40 km de Petrolina, no campo experimental do Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais da Universidade do Estado da Bahia (UNEB/DTCS) em Juazeiro e na localidade de Maniçoba, localizada a 50 km de Juazeiro. É importante salientar que os campos experimentais de Bebedouro e da UNEB/DTCS, bem como na localidade de Maniçoba, as coletas foram realizadas de forma seqüenciada a cada semestre durante três anos, uma vez que essas localidades apresentam histórico de cultivo com cucurbitáceas nos dois semestres todos os anos. Além de plantas exibindo sintomas de viroses também foram coletadas amostras de plantas sem sintomas aparentes de infecção por vírus que foram testadas para verificar a possível ocorrência de infecção latente. O número de amostras variou conforme

o surgimento de plantas com sintomas em campo, sendo coletadas amostras das seguintes espécies vegetais: *Benincasa hispida* Cogn., *C. lanatus* (Thunb.) Mansf., *C. lanatus* var. *citroides* (L.H. Bailey) Mansf., *Cucumis melo* L., *Cucurbita* spp., híbridos F₁ de *C. lanatus* com *C. lanatus* var. *citroides*, *Lagenaria* sp. e *Momordica charantia* L. As amostras foram enviadas ao Laboratório de Virologia Vegetal da Universidade Federal do Ceará, onde foram testadas por “enzyme-linked immunosorbent assay” (ELISA) indireto (Almeida, 2001) contra anti-soros específicos para CMV, PRSV-W, WMV e ZYMV. Todas as amostras também foram testadas por Dupla Difusão em Ágar contra anti-soro específico para SqMV.

No decorrer de três anos foram analisadas amostras de 967 plantas de cucurbitáceas, das quais 608 estavam infectadas com vírus (Tabela 1). Das amostras avaliadas, 125 não apresentavam sintomas de infecção por vírus, sendo que destas, 42 estavam infectadas. Embora sem sintomas aparentes, essas plantas podem ser fontes potenciais de inóculo, uma vez que permitem a multiplicação do vírus sem expressar sintomas. Além disso, podem levar a resultados falso-negativos em estudos onde apenas as plantas que apresentam sintomas são testadas sorologicamente. Vale salientar que as plantas sem sintomas em campo que apresentaram resultado positivo em laboratório foram acompanhadas durante todo seu ciclo para monitorar o surgimento de sintomas. Durante esse período foram realizadas novas coletas e avaliação sorológica dessas plantas, tendo as mesmas em sua maioria permanecido assintomáticas. Em diversos estudos realizados para identificação de vírus em cucurbitáceas em regiões brasileiras, tem-se utilizado testes sorológicos, porém em algumas situações, apenas plantas com sintomas têm sido envolvidas nas amostragens (Oliveira et al., 2000; Moura et al., 2001; Halfeld-Vieira et al., 2004), de forma que plantas com infecções latentes não têm sido consideradas. Das amostras sintomáticas, 192 não apresentaram reação positiva para nenhum dos anti-soros utilizados. Essas amostras foram maceradas em solução tampão (fosfato de potássio 0,05 M e pH 7,5), na proporção de 1,0 g de tecido foliar para 2,0 ml de solução e inoculadas mecanicamente em plantas de abobrinha Caserta (*Cucurbita pepo* L.) para verificar a presença de possíveis vírus para os quais não se dispunha de anti-soro. Porém, as plantas inoculadas não exibiram nenhum sintoma de infecção por vírus. É possível que esses sintomas tenham sido ocasionados por deficiência nutricional, uma vez que sintomas como deformação foliar, encurtamento de internós e redução no crescimento da planta podem ser ocasionados pelo suprimento inadequado de nutrientes e ser facilmente confundidos com sintomas de infecção por vírus.

O PRSV-W predominou na maioria das avaliações, o WMV ocorreu em proporções variadas, com número de amostras infectadas superior a ZYMV, e o CMV foi detectado em apenas uma avaliação, no primeiro semestre 2007 (Tabela 1), sendo detectado em infecção mista com os potyvírus PRSV-W, WMV e ZYMV (dados não apresentados). Não foram identificadas infecções com SqMV, indicando a ausência ou baixa prevalência desse comovírus na região. De outra parte, a ausência do SqMV nas avaliações pode ser justificada pelo fato

TABELA 1 - Levantamento da presença dos vírus: *Papaya ringspot virus*, type watermelon (PRSV-W), *Watermelon mosaic virus* (WMV), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV) e *Squash mosaic virus* (SqMV) em espécies de cucurbitáceas coletadas em Petrolina PE e Juazeiro BA. UNEB-DTCS, Juazeiro BA / Laboratório de Virologia Vegetal - UFC, Fortaleza CE

Ano / semestre	Número de Plantas			Número de plantas infectadas por vírus			
	Avaliadas *	Infectadas	Com infecções mistas	CMV	PRSV-W	WMV	ZYMV
2005/1	157	111	46	-	62	47	42
2005/2	10	06	01	-	06	01	01
2006/1	232	117	53	-	51	61	65
2006/2	317	210	48	-	143	108	54
2007/1	143	79	50	01	61	42	23
2007/2	108	85	26		77	27	06
Total	967	608	224	01	400	286	191
Espécies de cucurbitáceas							
<i>Benincasa hispida</i>	03	03	02	-	02	-	03
<i>Citrullus lanatus</i>	655	442	145	01	297	216	132
<i>Citrullus lanatus</i> var. <i>citroides</i>	127	41	06	-	03	16	19
<i>Cucumis melo</i>	17	07	06	-	06	05	05
<i>Cucurbita</i> sp.	11	09	09	-	09	09	4
Híbridos <i>C. lanatus</i> x <i>C. lanatus</i> var. <i>citroides</i>	4	100	52	-	81	38	25
<i>Momordica charantia</i>	04	-	-	-	-	-	-
<i>Lagenaria</i> sp.	07	06	04	-	02	02	03
Total	967	608	224	01	400	286	191

*Plantas avaliadas por ELISA indireto contra anti-soros específicos para os potyvirus PRSV-W, WMV e ZYMV; para o cucumovirus CMV e por dupla difusão em ágar para o comovirus SqMV.

de somente algumas estirpes desse vírus infectarem a melancia (Lima & Vieira, 1992), espécie de planta que mais predominou entre as amostras coletadas (Tabela 1). Quando consideradas as espécies individualmente, mesmo aquelas com um pequeno número de amostras avaliadas, das oito, apenas *M. charantia* não apresentou infecção por nenhum dos vírus analisados (Tabela 1). O baixo número de plantas analisadas não permite inferir a respeito de resistência dessa espécie de planta a esses vírus, principalmente dada a possibilidade de escape, uma vez que a transmissão de vírus em campo é influenciada por fatores como condições ambientais e preferência alimentar de vetores. Nas demais espécies, foi possível observar infecção por PRSV-W, WMV e ZYMV, sendo que em todas as espécies foi observada infecção mista. Em *C. lanatus*, além desses três vírus também foi encontrada infecção por CMV (Tabela 1). O elevado índice de infecções mistas pode ser explicado pelo fato desses vírus serem transmitidos de forma não persistente por várias espécies de afídeos, de modo que infecções mistas por potyvirus são bastante frequentes em condições naturais. Quando ocorre sinergismo entre os vírus em infecção mista podem acontecer alterações nos sintomas da doença (Ramos et al., 2003). É importante salientar que hospedeiros diferentes, mesmo dentro de uma mesma espécie, podem apresentar reações sintomatológicas diferenciadas dependendo da combinação de vírus que estão causando a infecção. Ramos et al. (2003), ao

estudarem os efeitos da interação de potyvirus em híbridos de meloeiro e variedades de melancia e abobrinha, puderam verificar a ocorrência de efeitos interativos diferenciados entre os vírus com relação ao hospedeiro. Dessa forma, as estratégias para convivência com essas viroses não devem considerar os vírus isoladamente, uma vez que os três estão ocorrendo de forma simultânea e podem causar maiores prejuízos quando infectam uma mesma planta ao mesmo tempo. A transmissão de vários potyvirus é dependente da presença de uma proteína viral não estrutural, denominada componente auxiliar (Helper Component-Protein, HC-Pro) (Froissart et al., 2002). Lecoq & Pitrat (1985) demonstraram a eficiência de HC-Pro na transmissão de PRSV-W, WMV e ZYMV para melão através de *Myzus persicae* (Sulser, 1976) (Hemiptera: Aphididae), onde HC-Pro de PRSV-W permitiu alta transmissão de PRSV-W, mas não foi eficiente para ZYMV, enquanto que HC-Pro de WMV permitiu alto índice de transmissão para os três vírus e HC-Pro de ZYMV, embora eficiente para WMV e ZYMV, foi significativamente baixa para PRSV-W.

A baixa incidência do CMV nos campos avaliados pode ser explicada por uma possível inibição ou interferência na sua transmissão pela presença de outros vírus. Pinto (2003) verificou a interferência dos potyvirus PRSV-W e ZYMV na transmissão do CMV por *Aphis*

gossypii (Glover, 1877) (Hemiptera: Aphididae) e *M. persicae* para abobrinha de moita (*Cucurbita pepo*). Essa 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. Em levantamento realizado em campos irrigados de melão e melancia no Submédio São Francisco em 1997 foram avaliadas 269 amostras de cucurbitáceas com sintomas de viroses, tendo ocorrido a predominância de PRSV-W (Lima et al., 1997), o que corrobora com os resultados aqui apresentados. Em levantamento realizado em 1999 predominaram as amostras infetadas com WMV (Cruz et al., 1999). Nos levantamentos realizados anteriormente não foi avaliado o ZYMV. Ainda no Nordeste brasileiro, trabalhos têm demonstrado um crescente aumento na presença do ZYMV (Oliveira et al., 2000; Moura et al., 2001), que induz sintomas mais severos que o PRSV-W e o WMV, podendo causar maiores prejuízos, especialmente quando ocorre em infecção mista (Ramos et al., 2003). Considerando os danos causados por viroses em cucurbitáceas e a ineficiência do controle dos vetores, a melhor maneira de conviver com essas doenças é o uso de resistência genética. Paralelamente, pode-se constatar que os potyvirus PRSV-W, WMV e ZYMV predominam nas áreas amostradas e ocorrem de forma simultânea e consistentemente em todos os anos e épocas considerados. Os programas de melhoramento de cucurbitáceas que buscam o desenvolvimento de híbridos e/ou cultivares resistentes para cultivo nessa região devem, obrigatoriamente, considerar a possibilidade de fontes de resistência para as três espécies aqui estudadas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão de Bolsa de Doutorado ao primeiro autor, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pela concessão de bolsa aos demais autores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida AMR (2001) Detecção e quantificação de vírus pelo teste Elisa. In: Almeida AMR, Lima JAA (Eds.) Princípios e técnicas de diagnose aplicados em fitovirologia. Londrina PR. Embrapa Soja e Sociedade Brasileira de Fitopatologia. pp. 63-94.

Cruz ES, Paz CD, Pio-Ribeiro G, Batista DC, Pereira Filho GG, Andrade GP (1999) Levantamento de viroses em melancia e melão no Submédio São Francisco. *Summa Phytopathologica* 25:21 (Resumo)

Froissart R, Michalakakis Y, Blanc S (2002) Helper Component-Transcomplementation in the Vector Transmission of Plant Viruses. *Phytopathology* 92:576-579.

Halfeld-Vieira BA, Ramos NF, Rabelo Filho FAC, Gonçalves MFB, Nechet KL, Pereira RRV, Lima JAA (2004) Identificação sorológica de potyvirus em melancia no Estado de Roraima. *Fitopatologia Brasileira* 29:687-689.

Lecoq H, Pitrat M (1985) Specificity of the helper-component mediated aphid transmission of three potyviruses infecting muskmelon. *Phytopathology* 75:890-893.

Lima, JAA, Ramos NF, Sales Junior R, Lima RCA, Matsuoka K (2002) Estudos preliminares do vírus amarelão do meloeiro. *Fitopatologia Brasileira* 27 (Supl.):207.

Lima MF, Queiroz MA, Dias RCS (1997) Avaliação de germoplasma de melancia a viroses no Submédio do Vale do São Francisco. *Horticultura Brasileira* 17 (Supl.):20-22.

Lima JAA, Vieira AC (1992) Distribuição do vírus do mosaico da abóbora em municípios cearenses e gama de hospedeiras de um isolado. *Fitopatologia Brasileira* 17:112-114.

Moura, MCCL, Lima JAA, Oliveira VB, Gonçalves MFB (2001) Identificação sorológica de espécies de vírus que infetam cucurbitáceas em áreas produtoras do Maranhão. *Fitopatologia Brasileira* 26:90-92.

Nagata T, Alves DMT, Inoue-Nagata AK, Tian TY, Kitajima EW, Cardoso JE, Ávila AC (2005) A novel melon flexivirus transmitted by whitefly. *Archives of Virology* 150:379-387.

Nagata T, Kitajima EW, Alves DMT, Cardoso JE, Inoue-Nagata AK, Oliveira, RV, Ávila AC (2003) Isolation of a novel carlavirus from melon in Brazil. *Plant Pathology* 52:797-797.

Oliveira VB, Lima JAA, Vale CC, Paiva WO (2000) Caracterização biológica e sorológica de isolados de potyvirus obtidos de cucurbitáceas no Nordeste brasileiro. *Fitopatologia Brasileira* 25:628-636.

Pirone TP (1981) Efficiency and selectivity of the helper-component-mediated aphid transmission of purified potyviruses. *Phytopathology* 71:922-924.

Pinto ZV (2003) 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. Dissertação de Mestrado. Piracicaba SP. ESALQ, Universidade de São Paulo.

Ramos NF, Lima JAA, Gonçalves MFB (2003) Efeitos da interação de potyvirus em híbridos de meloeiro, variedades de melancia e abobrinha. *Fitopatologia Brasileira* 28:199-203.

Recebido 16 Junho 2008 - Aceito 20 Fevereiro 2009 - TPP 8041
Editor Associado: F. Murilo Zerbini