

**Levantamento de vírus em
cucurbitáceas no Brasil,
no período 2008-2010**



Fotos: Mirtes Lima

ISSN 1677-2229

Dezembro, 2011

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Embrapa Hortaliças

Ministério da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 76

Levantamento de vírus em cucurbitáceas no Brasil, no período 2008-2010

Mirtes Freitas Lima

Raquel Cassimiro Alves

Embrapa Hortaliças

Brasília, DF

2011

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Hortaliças

Endereço: Rodovia BR-060, trecho Brasília-Anápolis, km 9
Caixa Postal 218
Brasília-DF
CEP 70.351-970
Fone: (61) 3385.9110
Fax: (61) 3556.5744
Home page: www.cnph.embrapa.br
E-mail: sac@cnph.embrapa.br

Comitê Local de Publicações da Embrapa Hortaliças

Presidente: Warley Marcos Nascimento
Editor Técnico: Fabio Akyoshi Suinaga
Supervisor Editorial: George James
Secretária: Gislaine Costa Neves
Membros: Agnaldo Donizete Ferreira de Carvalho
Carlos Alberto Lopes
Ítalo Moraes Rocha Guedes
Jadir Borges Pinheiro
José Lindorico de Mendonça
Mariane Carvalho Vidal
Neide Botrel
Rita de Fátima Alves Luengo

Normalização bibliográfica: Antonia Veras
Edição eletrônica: Aline Rodrigues Barros
1ª edição
1ª impressão (2012): 1.000 exemplares

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610)

**Dados internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Hortaliças**

LIMA, M. F.

Levantamento de vírus em cucurbitáceas no Brasil, no período 2008-2010 / Mirtes Freitas Lima, Raquel Cassimiro Alves – Brasília, DF : Embrapa Hortaliças, 2011.

26 p. - (Boletim Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Hortaliças, ISSN 1677-2229 ; 76).

1. Cucurbitácea. 2. Virologia. 3. Brasil. I. Alves, Raquel Cassimiro. II. Título. III. Série.

CDD 632.8

Sumário

| | |
|-----------------------------|----|
| Resumo | 5 |
| Abstract..... | 7 |
| Introdução..... | 9 |
| Material e Métodos..... | 11 |
| Resultados e Discussão..... | 13 |
| Conclusões..... | 21 |
| Referências | 23 |

Levantamento de vírus em cucurbitáceas no Brasil, no período 2008-2010

*Mirtes Freitas Lima*¹

*Raquel Cassimiro Alves*²

Resumo

As viroses situam-se no grupo das doenças consideradas mais importantes para as cucurbitáceas no Brasil, podendo afetar a produção e a qualidade dos frutos. Visando conhecer a frequência de ocorrência dos vírus mais importantes (*Papaya ringspot virus* - type watermelon - PRSV-W; *Zucchini yellow mosaic virus* - ZYMV; *Watermelon mosaic virus* - WMV; *Cucumber mosaic virus* - CMV; *Zucchini lethal chlorosis virus* - ZLCV) que infectam essas culturas no Brasil, realizou-se no período de 2008 a 2010, um levantamento em 25 áreas produtoras de 21 municípios, abrangendo sete estados, além do Distrito Federal. O total de 564 amostras exibindo ou não sintomas suspeitos de viroses foi analisado para a presença desses vírus, em dot-ELISA, utilizando-se anticorpos policlonais. Os resultados dos testes sorológicos indicaram

¹ Eng. Agr., Ph.D. – Embrapa Hortaliças, C.P. 218, Brasília-DF. 70.351-970 – mflima@cnph.embrapa.br

² Estudante de Ciências Biológicas, Faculdade Católica de Brasília, Brasília, DF.

a presença de vírus em 323 (57,3%) plantas. Entre os potyvirus, PRSV-W foi detectado em 182 (32,3%), WMV em 156 (27,7%) e ZYMV em 156 (27,7%) amostras. CMV foi encontrado em 121 (21,5%) plantas enquanto que ZLCV ocorreu em 74 (19,8%). Infecção mista com o envolvimento de mais de uma espécie de vírus na planta foi identificada em 31,4% das amostras. Os três potyvirus e o CMV foram detectados em lavouras de todos os estados amostrados e também no Distrito Federal. A incidência desses vírus variou de 8,7% (DF) a 85,7% (MG) para o PRSV-W; de 6,3% (TO) a 71,4% (BA) para WMV; de 8% (AM) a 66,7% (RJ; MG) para ZYMV e, de 4% (AM) a 85,7% (MG) para o CMV. O ZLCV foi detectado em amostras coletadas em áreas dos Estados de Pernambuco (6,7%-47,6%), Bahia (11,8%-71,4%), Tocantins (28,1% a 38,1%), além do Distrito Federal (3,0%-27,3%); entretanto, não foi encontrado em lavouras dos Estados de Minas Gerais e do Amazonas no período considerado. Estes resultados confirmam a ampla disseminação desses vírus em plantios de cucurbitáceas no Brasil.

Palavras-chave: *Papaya ringspot virus* - type watermelon (PRSV-W), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV), *Watermelon mosaic virus* (WMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV), dot-ELISA, levantamento

Survey of viruses in cucurbit crops from 2008 to 2010 in Brazil

Abstract

Viruses are the main constraint to cucurbit production in Brazil affecting production and fruit quality. This study aimed to investigate the occurrence and the incidence of the most important viruses (*Papaya ringspot virus* - type watermelon - PRSV-W; *Zucchini yellow mosaic virus* - ZYMV; *Watermelon mosaic virus* - WMV; *Cucumber mosaic virus* - CMV; *Zucchini lethal chlorosis virus* - ZLCV) infecting Cucurbits in Brazil. During 2008-2010, a survey was performed in 25 cucurbit fields comprising 21 counties of seven Brazilian states and the Federal District. A total of 564 samples showing or not virus-like symptoms were analyzed for the presence of PRSV-W, WMV, ZYMV, CMV and ZLCV, by dot-ELISA using polyclonal antibodies. Serological test results indicated that 323 (57.3%) out of 564 samples were virus-infected. PRSV-W, WMV and ZYMV were detected in 182 (32.3%), 156 (27.7%) and 156 samples (27.7%), respectively. CMV and ZLCV were less frequently found. A total of 121 (21.5%) and 74 (19.8%) samples were infected with CMV and ZLCV, respectively. Mixed infection with the involvement of more than one virus species infecting the same plant occurred in 31.4% of the samples. The potyviruses and CMV have been detected in all seven States and in the Federal District as well. Incidence rates of viruses in the samples ranged from 8.7% (DF) to 85.7% (MG) for PRSV-W; from 6.3% (TO) to 71.4% (BA) for

WMV; from 8% (AM) to 66.7% (RJ; MG) for ZYMV and, from 4% (AM) to 85.7% (MG) for CMV. ZLCV was present in samples collected from Pernambuco (6.7%-47.6%), Bahia (11.8%-71.4%) and Tocantins (28.1%-38.1%) States, and also from the Federal District (3.0%-27.3%) cucurbit fields; however, it was not found in samples collected from Minas Gerais and Amazonas States in that period of time. These data confirmed the widespread occurrence of those viruses in cucurbit fields in Brazil.

Index-terms: *Papaya ringspot virus* – type watermelon (PRSV-W), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV), *Watermelon mosaic virus* (WMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV), dot-ELISA, survey.

Introdução

No Brasil, até 2000, pelo menos dez vírus já haviam sido identificados infectando cucurbitáceas (MOURA et al., 2001), dos quais os predominantes são: vírus da mancha anelar do mamoeiro (*Papaya ringspot virus* – type watermelon, PRSV-W) (LIMA et al., 1996), vírus do mosaico da melancia (*Watermelon mosaic virus* - WMV) (SÁ; KITAJIMA, 1991) e vírus do mosaico amarelo da abobrinha-de-moita (*Zucchini yellow mosaic virus*, ZYMV) (LIMA et al., 1996), família *Potyviridae*, gênero *Potyvirus*; vírus do mosaico da abóbora (*Squash mosaic virus*, SqMV) (LIMA; AMARAL, 1985), família *Comoviridae*, gênero *Comovirus*; vírus do mosaico do pepino (*Cucumber mosaic virus*, CMV) (CUPERTINO et al., 1988), família *Bromoviridae*, gênero *Cucumovirus*, e vírus da clorose letal da abobrinha-de-moita (*Zucchini lethal chlorosis virus* – ZLCV), família *Bunyaviridae*, gênero *Tospovirus* (POZZER et al., 1996; BEZERRA et al., 1999). Dentre estes, os potyvirus possuem grande importância em plantas da família *Cucurbitaceae*, ocorrendo em todas as regiões brasileiras.

O PRSV-W, o ZYMV, o WMV e o CMV são transmitidos, de maneira não-persistente, por diversas espécies de afídeos (pulgões) (BERGER et al., 2005; ROOSSINCK et al., 2005), constituindo sérios problemas fitossanitários para as cucurbitáceas ao causarem perdas significativas na produção. Na transmissão não-persistente, os insetos vetores adquirem as partículas virais ao se alimentarem por períodos inferiores a 1 minuto, em planta infectada, na denominada “picada de prova”. Desta maneira, esses insetos tornam-se aptos a transmitir o vírus para plantas sadias, perdendo a habilidade de transmitir esses patógenos em, no máximo, 2 horas (PROVVIDENTI, 1996a; 1996b). Entretanto, a eficiência de transmissão depende do vetor, estirpe do vírus, condições ambientais e época do ano. Estes vírus são também transmitidos mecanicamente; entretanto, não há evidências de que sejam transmitidos via sementes (PROVVIDENTI, 1996a; 1996b). Dentre estes, o PRSV-W é o mais importante e o mais frequentemente detectado nas regiões produtoras de cucurbitáceas.

O ZYMV possui grande importância econômica, tendo sido registrado no Brasil, em 1992, nas culturas da melancia e do pepino, nos Estados de São Paulo e Santa Catarina, respectivamente. Este vírus pode causar severos danos em cucurbitáceas, como já relatado em outros países (LECOQ et al., 1991). No Brasil, o vírus já foi identificado em cucurbitáceas em vários estados com incidência crescente nos últimos anos (YUKI et al., 2000; MOURA et al., 2001; HALFELD-VIEIRA et al., 2004; SILVEIRA et al., 2009).

O CMV possui um amplo círculo de plantas hospedeiras, infectando espécies pertencentes a 85 famílias, incluindo as cucurbitáceas e, experimentalmente, este número pode chegar a 1000 espécies de plantas (ROOSSINCK et al., 2005). Todas as cucurbitáceas são suscetíveis ao CMV. No Brasil, apesar de ter sido relatado infectando culturas importantes, este vírus ocorre em baixa incidência. É transmitido mecanicamente, por sementes e por mais de 60 espécies de afídeos (PROVVIDENTI, 1996a).

O ZLCV é o mais novo integrante do grupo de vírus que infectam espécies da família Cucurbitaceae. Foi, inicialmente, identificado em abobrinha-de-moita no Estado de São Paulo (POZZER et al., 1996; REZENDE et al., 1997) e, posteriormente, em pepino no Distrito Federal (NAGATA et al., 1998) e em outras cucurbitáceas no Estado do Mato Grosso do Sul (STANGARLIN et al., 2000). O vírus é transmitido por insetos raspadores-sugadores, os tripses, de maneira persistente-propagativa. O tripses *Frankliniella zucchini* é a única espécie relatada até o momento como transmissora do vírus. Neste modo de transmissão, o tripses, no estágio larval, adquire as partículas virais que se multiplicam no vetor, tornando estes insetos capazes de transmitir o vírus durante todo seu ciclo de vida. O ZLCV ocorre em vários estados brasileiros, entretanto, sua incidência tem aumentado, principalmente, nos últimos anos, tendo sido relatado no Estado de São Paulo (YUKI et al., 2000) e no Submédio do Vale do São Francisco (LIMA; NAGATA, 2008).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a distribuição e a relativa incidência de *Papaya ringspot virus* – type watermelon (PRSV-W),

Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV), *Watermelon mosaic virus* (WMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV) e *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV) em cucurbitáceas no Brasil, visando o monitoramento, assim como também o mapeamento desses vírus em áreas produtoras do País.

Material e Métodos

Amostras de plantas exibindo ou não sintomas semelhantes àqueles causados por vírus, foram coletadas em áreas produtoras de cucurbitáceas nos anos de 2008 (111 plantas), 2009 (368) e 2010 (85). Amostras de melão (*Cucumis melo* L.; 18 plantas), melancia (*Citrullus lanatus* Thunb. (Matsui & Nagai); 201 plantas), abóbora (*Cucurbita* spp.; 154 plantas), maxixe (*Cucumis anguria* L.; 128 plantas), pepino (*Cucumis sativus* L.; 51 plantas), chuchu (*Sechium edule* Swartz; quatro plantas), bucha (*Luffa* spp.; três plantas), andiroba de rama (*Fevillea cordifolia* L.; duas amostras) e espécies silvestres não identificadas (três plantas) foram coletadas de 25 lavouras situadas em 21 municípios abrangendo sete estados brasileiros, além do Distrito Federal (Figura 1).



Figura 1. Mapa indicando os municípios (estrelas azuis) por estado nos quais foram realizadas coletas de cucurbitáceas para testes de detecção viral.

As amostras ficaram assim distribuídas: Região Norte, 32 plantas, Região Nordeste, 144, Região Centro-Oeste, 307 e Região Sudeste, 81 plantas, totalizando 564 amostras.

Os testes de detecção viral nas amostras coletadas foram realizados para os vírus mais importantes que ocorrem infectando cucurbitáceas no Brasil: *Papaya ringspot virus* – type watermelon (PRSV-W), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV), *Watermelon mosaic virus* (WMV) e *Cucumber mosaic virus* (CMV). Para *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV) foi testado um lote de apenas 374 plantas. Para algumas das amostras realizou-se a inoculação mecânica em plantas indicadoras (e.g. *Cucurbita pepo* cv. Caserta) e folhas coletadas dessas plantas, 10-15 dias após a inoculação, foram utilizadas nos testes de detecção. O extrato para inoculação foi preparado pela maceração de folhas da amostra em tampão fosfato, pH 7,0 na proporção de 1:10 (p:v) e friccionado em folhas de abobrinha, previamente polvilhadas com carborundo. A análise do material foi realizada no Laboratório de Virologia da Embrapa Hortaliças, Brasília-DF. O teste selecionado foi dot-ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) ou dot-blot (CLARK; ADAMS, 1977), utilizando-se anticorpos policlonais específicos produzidos contra a capa protéica de PRSV-W, WMV, ZYMV, CMV e ZLCV. O dot-ELISA consiste na deposição do extrato da planta diluído (1:100) em tampão $\frac{1}{2}$ PBS, em membrana de nitrocelulose, previamente umedecida no mesmo tampão. As etapas seguintes do procedimento foram conduzidas sob agitação em *shaker*, à temperatura ambiente. Imersão da membrana em solução $\frac{1}{2}$ PBS contendo 2% de leite em pó desnatado, por 2 horas, para bloquear os sítios da membrana não ocupados pelo antígeno e, em seguida, imersão em antissoro diluído (1:1000) em $\frac{1}{2}$ PBS, *overnight*. A lavagem da membrana foi realizada três vezes em $\frac{1}{2}$ PBS, permanecendo nesta solução por cerca de cinco minutos, em cada lavagem. A incubação da membrana no conjugado universal (anti-imunoglobulina de coelho produzida em cabra e conjugado à enzima fosfatase alcalina) foi realizada na diluição 1:1000 em $\frac{1}{2}$ PBS, por 3 horas e, em seguida, procedeu-se ao enxágue em $\frac{1}{2}$ PBS. Na revelação utilizou-se solução de revelação (100 mM NaCl; 100 mM Tris-HCl; 5 mM MgCl₂(6H₂O); pH 9,5) contendo BCIP

(5-Bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate) e NBT (Nitro blue tetrazolium). A membrana ficou imersa na solução, na ausência de luz até o surgimento dos resultados. Como controle positivo, utilizou-se extrato de folhas de abobrinha (*C. pepo* cv. Caserta) inoculadas, individualmente, com cada um dos vírus e extrato de folhas saudáveis, também de abobrinha, como controle negativo. Na avaliação dos resultados, as amostras positivas apresentaram coloração arroxeada como resultado da formação de precipitado pela ação da enzima fosfatase alcalina sobre o substrato BCIP e NBT.

Resultados e Discussão

Plantas em campo exibiram sintomas diversos como mosqueado, mosaico, embolhamento, enrugamento, deformação foliar, amarelecimento de nervuras e redução no desenvolvimento da planta, não sendo possível a distinção do vírus segundo apenas a expressão de sintomas. A estimativa visual da incidência de sintomas nas lavouras visitadas variou de 5% a 80%.

Os resultados obtidos com os testes sorológicos das amostras coletadas nos vários estados brasileiros encontram-se listados na Tabela 1. Dentre as 564 amostras analisadas, 323 (57,3%) estavam infectadas com um ou mais vírus para os quais os antissoros foram testados, indicando a alta incidência desses vírus nessas lavouras. Duzentas e quarenta e uma amostras (42,7%) sintomáticas ou assintomáticas não reagiram contra os antissoros testados, indicando que as plantas que originaram as amostras não estavam infectadas com PRSV-W, WMV, ZYMV, CMV ou ZLCV. Estes resultados sugerem que os vírus poderiam estar presentes em baixa concentração viral nas plantas sintomáticas (180), a presença de infecção causada por outros vírus diferentes daqueles contra os quais os antissoros foram testados, ou ainda, que os sintomas poderiam ter sido induzidos por fatores não bióticos.

Tabela 1. Localidades onde foram realizadas as amostragens de cucurbitáceas para detecção viral (Papaya ringspot virus – type watermelon - PSRV-W; Watermelon mosaic virus – WMV; Cucumber mosaic virus – CMV; Zucchini yellow mosaic virus - ZYMV; Zucchini lethal chlorosis virus – ZLCV) e número de amostras infectadas por espécie de vírus. Embrapa Hortaliças, Brasília-DF. 2011.

| Município | Mês de Coleta | Amostra (Nº) | Infecção (%) | | | | |
|--|---------------|--------------|--------------|------|------|------|------|
| | | | PSRV-W | WMV | ZYMV | CMV | ZLCV |
| Petrolina - PE | 05/2008 | 18 | 50 | 61,1 | 27,8 | 44,4 | 27,8 |
| Petrolina - PE | 11/2008 | 21 | 28,6 | 47,6 | 42,9 | 42,9 | 47,6 |
| Sobradinho - BA | 05/2008 | 9 | 55,6 | 44,4 | 33,3 | 55,6 | 55,6 |
| Juazeiro - BA | 11/2008 | 7 | 57,1 | 71,4 | 57,1 | 57,1 | 71,4 |
| Uruana - GO | 10/2008 | 38 | 31,6 | 42,1 | 50 | 39,5 | 0 |
| Paty do Alferes; Nova Friburgo; São Sebastião do Alto - RJ | 11/2008 | 9 | 55,6 | 22,2 | 66,7 | 44,4 | nt |
| Goianópolis - GO | 04/2009 | 46 | 32,6 | 17,4 | 41,3 | 0 | nt |
| Brazlândia - DF | 10/2009 | 33 | 57,6 | 58,3 | 27,3 | 12,1 | 3,0 |
| Gama - DF | 03/2009 | 9 | 22,2 | 22,2 | 22,2 | 0 | nt |
| Gama - DF | 03/2009 | 35 | 8,7 | 8,7 | 11,4 | 0 | nt |
| Brazlândia - DF | 10/2009 | 10 | 20 | 20 | 10 | 20 | nt |
| Gama - DF | 10/2009 | 10 | 80 | 20 | 45,5 | 45,5 | 27,3 |
| Petrolina - PE | 09/2009 | 30 | 45 | 33,3 | 13,3 | 40 | 6,7 |
| Juazeiro - BA | 09/2009 | 17 | 47,1 | 52,9 | 11,8 | 17,6 | 11,8 |
| Petrolina - PE | 09/2009 | 30 | 45 | 33,3 | 13,3 | 40 | 6,7 |
| Araxá - MG | 05/2009 | 14 | 85,7 | 57,1 | 64,3 | 85,7 | nt |
| Francisco Sá - MG | 08/2009 | 47 | 29,8 | 19,1 | 19,1 | 0 | nt |
| Gurupi - TO | 10/2009 | 32 | 0 | 6,3 | 18,8 | 0 | 28,1 |
| Gurupi; Palmas - TO | 11/2009 | 84 | 38,1 | 35,7 | 36,9 | 42,9 | 38,1 |
| Lapão - BA | 10/2010 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | nt |
| M. Urandi - BA | 05/2010 | 2 | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Cordisburgo - MG | 10/2010 | 5 | 20 | 0 | 60 | 20 | 0 |
| Francisco Sá; Janaúba - MG | 05/2010 | 5 | 80 | 16,7 | 66,7 | 0 | 0 |
| Petrolina - PE | 08/2010 | 20 | 30 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Iranduba; Manacapuru; Rio Preto da Eva - AM | 04/2010 | 25 | 24 | 8 | 8 | 4 | 0 |

nt = amostra não testada.

Os potyvirus PRSV-W, WMV e ZYMV foram os mais frequentes, tendo sido detectados em 182 (32,3%), 156 (27,7%) e em 156 amostras (27,7%), respectivamente. Estes dados indicam a prevalência de potyvirus infectando cucurbitáceas nas áreas avaliadas. O CMV ocorreu em 121 amostras e o ZLCV em 74 amostras, representando 21,5% e 19,8% do total de amostras analisadas, respectivamente.

Os potyvirus e o CMV foram detectados em lavouras de todos os estados considerados na avaliação, além do Distrito Federal (Figura 2; Tabela 1). A incidência do PRSV-W variou de 8,7% (Distrito Federal; 03/2009) a 85,7% (Minas Gerais; 05/2009); para o WMV esses valores ficaram entre 6,3% (Tocantins; 10/2009) e 71,4% (Bahia; 11/2008) e para o ZYMV a incidência variou de 8% (Amazonas; 04/2010) a 66,7% (Rio de Janeiro, 11/2008; Minas Gerais, 05/2010).

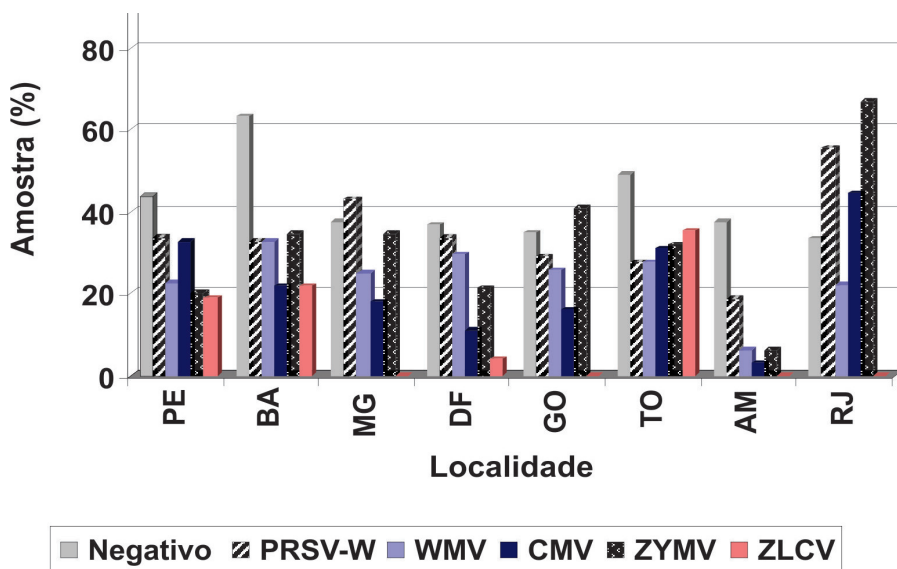


Figura 2. Detecção de vírus em cucurbitáceas por estado. PE = Pernambuco; BA = Bahia; MG = Minas Gerais; DF = Distrito Federal; GO = Goiás; TO = Tocantins; AM = Amazonas; RJ = Rio de Janeiro. PRSV-W = *Papaya ringspot virus* – type watermelon; WMV = *Watermelon mosaic virus*; CMV = *Cucumber mosaic virus*; ZYMV = *Zucchini yellow mosaic virus*; ZLCV = *Zucchini lethal chlorosis virus*.

A maior porcentagem de infecção do CMV ocorreu em amostras coletadas em Minas Gerais (85,7%; 05/2009); entretanto, o vírus foi detectado em apenas 4% das amostras coletadas no Estado do Amazonas (04/2010). O ZLCV foi encontrado apenas nos Estados de Pernambuco, Bahia e Tocantins, além do Distrito Federal. Nas amostras coletadas em Minas Gerais, Goiás e Amazonas e testadas para o ZLCV, o vírus não foi detectado, enquanto que aquelas coletadas no Rio de Janeiro não foram analisadas para a presença deste vírus.

O PRSV-W ocorreu com maior frequência nas lavouras amostradas que os outros vírus, não tendo sido detectado em apenas duas áreas produtoras amostradas, Lapão-BA (10/2010) e Gurupi-TO (10/2009). Porcentagens de infecção iguais ou superiores a 50% foram verificadas em mais de 50% das lavouras visitadas no período, destacando-se aquelas situadas em Petrolina-PE (05/2008), Sobradinho-BA (05/2008), Juazeiro-BA (11/2008), Paty do Alferes, Nova Friburgo e São Sebastião do Alto-RJ (11/2008), Brazlândia-DF (10/2009), Gama-DF (10/2009), Araxá-MG (05/2009) e Francisco Sá-MA e Janaúba-MA (05/2010). Devido ao pequeno número de amostras coletadas em M. Urandi-BA (duas amostras) os resultados obtidos para este município não serão relatados e discutidos por se considerar que o número de amostras não é representativo.

O WMV ocorreu em um número de amostras 14,3% inferior quando comparado ao PRSV-W; não foi detectado em lavouras de três municípios da Região Nordeste (Petrolina-PE, 08/2010; Lapão-BA, 10/2010; M. Urandi-BA, 05/2010) e um da Região Sudeste (Cordisburgo-MG, 10/2010). Porcentagens de infecção superiores a 50% foram verificadas em plantas coletadas em Petrolina-PE (05/2008), Juazeiro-BA (11/2008; 09/2009), Brazlândia-DF (10/2009) e Araxá-MG (05/2009).

O ZYMV ocorreu na mesma frequência que o WMV, em 27,7% das amostras analisadas. Os resultados dos testes sorológicos indicaram que a porcentagem de amostras infectadas foi maior que 20% em lavouras de 12 municípios. As coletas realizadas nos Estados da Bahia

(Juazeiro, 11/2008), Minas Gerais (Cordisburgo, 10/2010; Francisco Sá e Janaúba, 05/2010; Araxá, 05/2009) e Rio de Janeiro (Paty do Alferes, Nova Friburgo e São Sebastião do Alto, 11/2008) revelaram a presença do ZYMV em mais de 50% das plantas analisadas.

O CMV foi identificado nas amostras coletadas em porcentagens de infecção inferiores àquelas dos potyvirus, sendo 33,5% menor que PRSV-W e 22,4% menor que WMV e que ZYMV. A incidência do vírus foi maior que 50% nas lavouras dos Municípios de Juazeiro-BA (57,1%; 11/2008), Sobradinho-BA (55,6%; 05/2008) e Araxá-MG (87,5%; 05/2009). Ocorreu em menor frequência nas amostras coletadas no Estado do Amazonas (4%; 04/2010), enquanto que não foi encontrado em plantas coletadas em plantios do Gama-DF (03/2009) e dos Municípios de Petrolina-PE (08/2010), Lapão-BA (10/2010), Goianópolis-GO (04/2009), Francisco Sá-MG (08/2009; 05/2010), Janaúba-MG (05/2010) e Gurupi-TO (10/2009).

A presença do ZLCV foi verificada em cerca de 20% das 374 amostras analisadas, representando dezesseis coletas. A ocorrência do vírus foi assinalada em Petrolina-PE (05/2008; 11/2008; 09/2009), Sobradinho-BA (05/2008), Juazeiro-BA (11/2008; 09/2009), Brazlândia-DF (10/2009), Gama-DF (10/2009) e em lavouras de municípios do Estado de Tocantins. Nessas localidades que compreendem apenas áreas das Regiões Nordeste e Centro-Oeste, a incidência do ZLCV variou de 3,0% em amostras coletadas em Brazlândia-DF (10/2009) a 71,4% naquelas coletadas em Juazeiro-BA (11/2008). O vírus não foi identificado em 92 amostras de seis coletas (Petrolina-PE, 08/2010; M. Urandi-BA; Uruana-GO; Cordisburgo-MG; Francisco Sá, Janaúba-MG; municípios do Estado do Amazonas). Apesar do menor número de amostras testadas para detecção do ZLCV em relação ao número de plantas analisadas para a detecção dos demais vírus, a amostragem foi considerada como sendo representativa e a detecção do ZLCV, em 74 plantas sugere que este se apresenta disseminado nas áreas avaliadas.

A detecção de infecção mista, com a presença de mais de uma espécie de vírus infectando a mesma planta foi verificada em 31,4%

das amostras, ocorrendo em combinações de dois, três ou mesmo de quatro vírus na mesma planta.

As informações geradas neste trabalho confirmam resultados obtidos por outros autores quanto à incidência e distribuição de vírus em cucurbitáceas no País. LIMA et al. (1999) verificaram que 64% das 269 amostras de melancia coletadas no Submédio do Vale do São Francisco em 1995, estavam infectadas com pelo menos um vírus. Ainda nesta região, alta incidência de viroses foi verificada por Silveira et al. (2009). Estes autores registraram infecção por vírus em 608 das 967 plantas analisadas. Em avaliações conduzidas nos Estados de Roraima (HALFELD-VIEIRA et al., 2004) e São Paulo (YUKI et al., 2000) a ocorrência de vírus foi relatada em pelo menos 85% e 49% das amostras analisadas, respectivamente. No presente trabalho, a alta porcentagem de plantas infectadas (57,3%) reafirma a importância dessas doenças em cucurbitáceas no País e a necessidade da utilização de medidas eficientes de controle como a resistência genética.

No Brasil, levantamentos realizados em áreas produtoras de cucurbitáceas tem indicado que o PRSV-W encontra-se amplamente disseminado no País (LIMA et al., 1999; CRUZ et al., 1999; YUKI et al., 2000; MOURA et al., 2001). A incidência do PRSV-W nas amostras analisadas no presente estudo foi maior (32,3%) que a incidência de cada um dos outros vírus, indicando a prevalência desse vírus nas lavouras de cucurbitáceas avaliadas. Análises realizadas em 1995 no Submédio do Vale do São Francisco revelaram a presença do PRSV-W em 49,1% das amostras avaliadas (LIMA et al., 1997) e em 2008, o vírus foi identificado em 51,8% das plantas de cucurbitáceas coletadas nesta região (LIMA; NAGATA, 2008). No Estado do Maranhão, o PRSV-W ocorreu em 64,4% das 118 amostras testadas (MOURA et al., 2001). Resultados semelhantes foram também obtidos por Yuki et al. (2000) e Halfeld-Vieira et al. (2004), nos Estados de São Paulo e Roraima, respectivamente. A incidência do PRSV-W foi de 49,1% em áreas produtoras de cucurbitáceas de São Paulo, enquanto que em lavouras de melancia do Estado de Roraima, a incidência foi de 84,2%

e de 7,1% em 2003 e de 55,6% em 2004. Esses resultados indicam que o PRSV-W tem se mantido como vírus predominante ao longo dos anos infectando plantios comerciais de cucurbitáceas no País.

O WMV ocorreu em menor frequência que o PRSV-W nas áreas visitadas, tendo sido identificado em 156 (27,7%) amostras. Entretanto, a sua ocorrência também foi assinalada em todos os estados amostrados (Figura 2), indicando que apesar da menor incidência em relação ao PRSV-W, o WMV se encontra disseminado em lavouras de cucurbitáceas no País. Estes resultados confirmam dados obtidos em levantamentos realizados por SILVEIRA et al. (2009), MOURA et al. (2001) e YUKI et al. (2000) que detectaram WMV em porcentagens inferiores àquelas do PRSV-W. Estes autores identificaram a presença do WMV em 29,6%, 15,2% e 4,5% das amostras coletadas no Submédio do Vale do São Francisco, Maranhão e São Paulo, respectivamente. Entretanto, alguns estudos tem relatado a prevalência do WMV sobre o PRSV-W (CRUZ et al., 1999; LIMA; NAGATA, 2008).

A importância do ZYMV em cucurbitáceas no País tem sido reavaliada, considerando o aumento na frequência de detecção deste vírus em levantamentos conduzidos nos últimos anos. Trabalhos realizados previamente registraram a detecção do ZYMV em 24,8% das 605 amostras coletadas em São Paulo (YUKI et al., 2000), em 3,4% das amostras coletadas no Maranhão (MOURA et al., 2001) e em 29,6% das plantas provenientes do Submédio do Vale do São Francisco (LIMA; NAGATA, 2008). Em Roraima, Halfeld-Vieira et al. (2004) detectaram incidência crescente de ZYMV em amostras coletadas em anos consecutivos, sendo de 10,5% e 21,4% em 2003 e 25,9% em 2004. No presente trabalho, observou-se que 27,7% (156) das amostras analisadas estavam infectadas com ZYMV, tendo ocorrido em porcentagem de infecção igual à do WMV. Estes resultados indicam que o registro deste vírus no Brasil tem ocorrido em valores crescentes de incidência, o que é preocupante considerando a severidade de sintomas que este vírus pode causar em plantas infectadas. Lecoq et al. (1991)

ressalta que o ataque de cucurbitáceas pelo ZYMV pode resultar em severos danos.

A infecção por CMV foi observada em 121 amostras, representando 21,5% do total de plantas testadas, ressaltando a importância desse vírus para as cucurbitáceas. Moura et al. (2001), Yuki et al. (2000) e Lima et al. (1999) identificaram CMV em 6,8%, 6% e 1,9% das amostras testadas, indicando a sua baixa frequência de ocorrência nestes levantamentos. Halfeld-Vieira et al. (2004) não encontraram nenhuma amostra infectada com o CMV e Silveira et al. (2009) identificaram CMV em apenas uma amostra. A variação entre as porcentagens de plantas infectadas detectadas nestes levantamentos, pode ter ocorrido devido aos diferentes períodos de amostragem considerados nestes estudos, além de fatores inerentes à planta hospedeira (idade da planta por ocasião da coleta; variedade), ao vetor (presença em campo), ao patógeno (presença de fontes de inóculo no campo; virulência), dentre outros.

A frequência de detecção do ZLCV em cucurbitáceas tem aumentado no País nos últimos anos em diversos estados brasileiros (YUKI et al., 2000; LIMA NAGATA, 2008). Neste trabalho, o ZLCV ocorreu em 74 amostras, representando 19,8% do total de plantas analisadas. A sua detecção em lavouras dos Estados de Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, Tocantins e no Distrito Federal, confirma estas observações (Tabela 1; Figura 2). No Submédio do Vale do São Francisco, o vírus foi encontrado em 37% das amostras analisadas (LIMA; NAGATA, 2008), enquanto que no Estado de São Paulo, Yuki et al. (2000) verificaram a presença do ZLCV em 7,8% das 612 plantas coletadas. Esses resultados indicam que o vírus encontra-se disseminado em áreas produtoras de cucurbitáceas dos estados amostrados e sugere a necessidade do estabelecimento de estratégias para o manejo da doença.

Os resultados obtidos neste trabalho indicaram que a doença, em 31,4% (177) das plantas, foi causada por infecção múltipla

com a ocorrência de mais de uma espécie de vírus na mesma planta. Este tipo de infecção é comum em condições naturais, sendo frequentemente detectada em cucurbitáceas infectadas (SILVEIRA et al., 2009; MOURA et al., 2001; YUKI et al., 2000; CRUZ et al., 1999; LIMA et al., 1999). YUKI et al. (2000) identificaram infecção mista em 97 das 621 plantas analisadas, representando 15,6% do total geral. Este tipo de infecção pode ser atribuída ao modo de transmissão desses vírus (PRSV-W; WMV ; ZYMV; CMV) que ocorre de maneira não persistente, por diversas espécies de afídeos. O PRSV-W tem sido relatado em associação com outros vírus como WMV, ZYMV e CVM (PROVVIDENTI, 1996b; LIMA et al., 1999; YUKI et al., 2000). Neste tipo de infecção, a interação entre os vírus pode resultar em sinergismo e conseqüentemente, na produção de alterações quanto à expressão de sintomas quando comparado às infecções simples (FAIZA, 2003; WANG et al., 2002).

A alta incidência de vírus detectada neste trabalho e a constância de detecção desses patógenos em cucurbitáceas reafirmam a sua importância nessas culturas.

Conclusões

- Os resultados dos testes sorológicos indicaram a presença de vírus em 323 (57,3%) plantas, reafirmando a importância desses patógenos em cucurbitáceas;
- PRSV-W, WMV e ZYMV foram detectados em 182 (32,3%), 156 (27,7%) e em 156 amostras (27,7%), respectivamente, indicando a ampla disseminação desses potyvirus em cucurbitáceas nas áreas amostradas;
- CMV foi encontrado em 121 (21,5%) amostras enquanto que ZLCV ocorreu em 74 (19,8%), indicando que no período de 2008-2010, esses vírus ocorreram em menor incidência, quando comparado aos demais vírus;

- O ZLCV foi detectado em amostras coletadas em áreas dos Estados de Pernambuco (6,7%-47,6%), Bahia (11,8%-71,4%), Tocantins (28,1%-38,1%), além do Distrito Federal (3,0%-27,3%); entretanto, não foi detectado em lavouras dos Estados de Minas Gerais e do Amazonas no período considerado.

Agradecimentos

As autoras agradecem ao CNPq pelo suporte financeiro ao Projeto “Caracterização de vírus em cucurbitáceas de importância econômica visando à geração de informações para o agronegócio brasileiro e para a agricultura familiar”, Chamada 064/2008, Edital CNPq/MAPA/DAS, Processo 578546/2008-6.

Referências

- BERGER, P.H.; ADAMS, M.J.; BARNETT, O.W.; BRUNT, A.A.; HAMOND, J.; HILL, J.H.; JORDAN, R.I.; KASHIWAZAKI, S.; RYBICKI, E.; SPENCE, N.; STENGER, D.C.; OHKI, S.T.; UYEDA, I.; Van ZAAZEN, A.; VALKONEM, J.; VETTEN, H.J. *Family Potiviridae*. In: FAUQUET, C.M.; MAYO, M.A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L.A. (Ed.). **Virus Taxonomy Classification and Nomenclature of Viruses: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. Elsevier Academic Press, San Diego. p. 819-841, 2005.
- BEZERRA, I. C.; RESENDE, R. de O.; POZZER, L.; NAGATA, T.; KORMELINK, R.; ÁVILA, A. C. Increase of tospoviral diversity in Brazil, with the identification of two new tospovirus species, one from chrysanthemum and one from zucchini. *Phytopathology*, v. 89, p. 823-830, 1999.
- CLARK, M. F.; ADAMS, A. N. Characteristics of the microplate method of enzyme linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. **Journal of General Virology**, v. 34, p. 475-483, 1977.
- CRUZ, E. S.; PAZ, C. D.; PIO-RIBEIRO, G.; BATISTA, D. C.; PEREIRA FILHO, G. G.; ANDRADE, G. P. Levantamentos de viroses em melancia e melão no Submédio São Francisco. **Summa Phytopathologica**, v. 25, p. 21, 1999.
- CUPERTINO, F. P.; KITAJIMA, E. W.; FONSECA, M. E. N.; MEYER, N. C. Viroses em plantas olerícolas no Estado de Goiás. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 13, p. 101, 1988.
- FAIZA, A. F. *Double infection of a cucurbit host Zucchini yellow mosaic virus and Cucumber mosaic virus*. **Pakistan Journal of Plant Pathology**, v. 2, p. 85-90, 2003.
- HALFELD-VIEIRA, B. A.; RAMOS, N. F.; RABELO FILHO, F. A. C.; GONÇALVES, M. F. B.; NECHET, K. L.; PEREIRA, P. R. V. S.;

LIMA, J. A. A. Identificação sorológica de espécies de potyvirus em melancia, no estado de Roraima. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, p. 687-689, 2004.

LECOQ, H., LEMAIRE, J. M.; WIPF-SCHEIBEL, C. Control of zucchini yellow mosaic virus in squash by cross protection. **Plant Disease**, v. 75, p. 208-211, 1991.

LIMA, J. A. A.; AMARAL, M. R. G. Purificação e sorologia de "squash mosaic virus" isolado de melancia. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 10, p. 605-611, 1985.

LIMA, M. F.; INOUE-NAGATA, A. K. Report of *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV) infecting cucurbits in the Northeast Brazil. In: ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, 19. Caxambu, MG. *Virus: Reviews and Research/ Sociedade Brasileira de Virologia*, v. 13- Suplemento 2 – 2008 – Caxambu, MG. p. 283, 2008.

LIMA, M. F.; QUEIROZ, M. A.; DIAS, R. C. S. Avaliação de germoplasma de melancia a viroses no Submédio do Vale São Francisco. **Horticultura Brasileira**. Brasília-DF, v. 17. p. 20-22, dez. 1999. Suplemento.

LIMA, M. F.; BARBOSA, L. F.; ÁVILA, A. C. de. Levantamento de viroses na cultura da melancia na região do Submédio São Francisco. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 22, p. 337, 1997. Resumo. Suplemento.

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**, Brasília, DF, v. 21, p. 426, 1996.

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**, Brasília, DF, v. 26, n. 1, p. 90-92, Mar. 2001.

NAGATA, T.; RESENDE, R. O.; KITAJIMA, W. E.; COSTA, H.; INOUE-NAGATA, A. K.; AVILA, A. C. First report on natural occurrence of *Zucchini lethal chlorosis tospovirus* in cucumber and *Chrysanthemum stem necrosis tospovirus* on tomato in Brazil. **Plant Disease**, v. 82, n. 12, p. 143, Dec. 1998.

POZZER, L.; RESENDE, R. de O.; BEZERRA, I. C.; NAGATA, T.; LIMA, M. I.; KITAJIMA, E. W.; ÁVILA, A. C. Zucchini lethal chlorosis virus (ZLCV), a proposed new species in the *Tospovirus* genus. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 21, p. 432, 1996.

PROVVIDENTI, R. Cucumber mosaic. In: ZITTER, A.; HOPKINS, D. L.; THOMAS, C. E. **Compendium of cucurbit diseases**. APS PRESS: St. Paul. 1996a. p. 438-39.

PROVVIDENTI, R. Papaya ringspot-W. In: ZITTER, A.; HOPKINS, D. L.; THOMAS, C. E. **Compendium of cucurbit diseases**. APS PRESS: St. Paul. 1996b. p. 40.

REZENDE, J. A. M.; GALLETI, S. R.; RESENDE, R. de O.; de AVILA, A. C.; SCAGLIUSI, S. M. M. Incidence and the biological and serological characteristics of a tospovirus in experimental fields of zucchini in São Paulo State, Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 22, p. 92-95, 1997.

ROSSINCK, M. J.; BUJARSKI, J.; DING, S. W.; HAJIMORAD, R.; HANADA, K.; SCOTT, S.; TOUSIGNANT, M. *Family Bromoviridae*. In: FAUQUET, C. M.; MAYO, M. A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L. A. (Ed.). **Virus Taxonomy Classification and Nomenclature of Viruses: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. San Diego, Elsevier Academic Press, p. 1049-1058, 2005.

SÁ, P. B. de; KITAJIMA, E. W. Characterization of an isolate of watermelon mosaic virus 2 (WMV-2) from Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília-DF, v. 16, p. 217-222, 1991.

SILVEIRA, L. M. da; QUEIRÓZ, M. A.; LIMA, J. A. A.; NASCIMENTO, A. K. Q.; LIMA NETO, I.S. Levantamento sorológico de vírus em espécies de cucurbitáceas na região do submédio São Francisco, Brasil. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 2, p. 123-126, 2009.

STANGARLIN, O. S.; DIAS, P. R. P.; BURIOLLA, J. R.; RESENDE, J. A. M.; Incidencia de vírus em ensaios de avaliações de genótipos de abóboras e pepino na região de Dourados/MS. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, p. 26, p. 523, 2001.

WANG, Y.; GABA, V.; YANG, J.; PALUKAITIS, P.; GAL-ON, A. Characterization of synergy between Cucumber mosaic virus and potyviruses in cucurbit hosts. **Phytopathology**, v. 92, p. 51-58, 2002.

YUKI, V. A.; REZENDE, J. A. M.; KITAJIMA, E. W.; BARROSO, P. A. V.; KUNIYUKI, H. Occurrence, distribution and relative incidence of five viruses infecting cucurbits in the state of São Paulo, Brazil. **Plant Disease**, v. 84, p. 516-520, 2000.