

## Identificação de vírus em tomate, cucurbitáceas e caupi na região do Submédio São Francisco

Diógenes da Cruz BATISTA<sup>1</sup>; Cristiane Domingos da PAZ<sup>2</sup>; Gilvan PIO-RIBEIRO<sup>3</sup>; Edson dos Santos CRUZ<sup>4</sup>; Gaudêncio Gomes PEREIRA FILHO<sup>4</sup>; Genira Pereira de ANDRADE<sup>5</sup>

**RESUMO:** Visando identificar os principais vírus que ocorrem em plantações comerciais de tomate, melão, melancia e caupi na região do Submédio São Francisco, foi feito um levantamento de viroses em campos nos seguintes projetos de irrigação: Juazeiro - BA (Maniçoba, Mandacaru e Tourão) e Petrolina - PE (Nilo Coelho e Bebedouro). Foram analisadas pelo método de ELISA indireto 101 amostras de tomate, 80 de melão e melancia e 92 de caupi. O material de caupi foi também testado por dupla difusão em ágar para o *Cowpea severe mosaic virus*-CPSMV. A análise sorológica apresentou os seguintes resultados: reação positiva com o antissoro contra o *Tomato spotted wilt virus*-TSWV ocorreu em 12,87% e contra o *Potato virus Y*-PVY em 29,7% nas amostras de tomate; o *Papaya ringspot virus* - type W-PRSV-W em 30% e o *Watermelon mosaic virus-2* - WMV-2 em 68,75% nas amostras de melão e melancia, e o *Cowpea aphid-borne mosaic virus* - CABMV em 29,35% nas amostras de caupi. Não foi detectada reação positiva para os antissoros contra: *Tobacco mosaic virus*-TMV em tomate, *Cucumber mosaic virus*-CMV e *Squash mosaic virus*-SqMV em melão e melancia, e o CPSMV e CMV em caupi.

Palavras chave: *Lycopersicon esculentum*, cucurbitáceas, *Vigna unguiculata*

### INTRODUÇÃO

A freqüente ocorrência de viroses nas culturas do tomateiro, cucurbitáceas, notadamente melão, melancia e caupi, cultivadas extensivamente no Submédio São Francisco, dipólo Petrolina/Juazeiro, tem causado significativa redução na produtividade, constituindo-se um fator limitante para a expansão das áreas de cultivo, além de provocar perdas na comercialização de produtos de significativa expressão sócio-econômica para a região.

Levantamentos recentes em tomateiros cultivados no Submédio São Francisco apresentaram perdas em torno de 30% resultantes da infecção por tospovirus, cujos prejuízos têm se agravado devido a grande suscetibilidade apresentada pelas cultivares de tomate para processamento industrial, IPA 05, e para mesa (Pozer, 1996).

Os sintomas típicos dos tospovirus, como nanismo, folíolos arroxeados, necrose dos ponteiros e manchas anelares necróticas nos frutos (Kurozawa & Pavan, 1997), são freqüentemente encontrados nos campos de produção de tomate, causando a doença nacionalmente conhecida como "vira-cabeça". Os vírus classificados neste grupo de doença pertencem a família *Bunyaviridae*, gênero *Tospovirus* cujo membro tipo é o *Tomato spotted wilt virus* - TSWV (German *et al.*, 1992). Ávila *et al.*, (1993), propuseram a inclusão de três novas espécies: *Tomato chlorotic spot virus* - TCSV, *Groundnut ringspot virus* - GRSV e *Impatiens necrotic spot virus* - INSV. Dentre as espécies citadas, apenas o TSWV, TCSV e GRSV possuem relatos de ocorrência no Brasil (Nagata *et al.*, 1995). Apesar dos levantamentos na região serem restritos a determinados grupos de vírus, a grande incidência de vetores, como

mosca branca, tripses e afídeos (Moreira *et al.*, 1997; Fernandes, 1998; Haji *et al.*, 1998), sugerem a ocorrência de outras viroses, a exemplo de geminiviruses detectadas em levantamentos realizados na região (Bezerra *et al.*, 1997).

A elevada incidência de vírus em cucurbitáceas tem causado prejuízos quantitativos e qualitativos na produção de frutos (Blancard *et al.*, 1996), sendo encontradas pelo menos seis espécies infectando naturalmente plantios comerciais de melão e melancia no Brasil (Kitajima, 1999). Existem relatos de ocorrência do vírus do mosaico 1 da melancia, *Papaya ringspot virus* - type W"- PRSV-W, vírus do mosaico 2 da melancia, *Watermelon mosaic virus 2* - WMV-2 e vírus do mosaico do pepino *Cucumber mosaic virus* - CMV, em plantios de melancia no Submédio S. Francisco (Cunha *et al.*, 1992; Lima *et al.*, 1997a), induzindo sintomas de mosaico, clorose e deformação de frutos.

O caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp. subsp. *unguiculata*), leguminosa intensamente cultivada no Nordeste brasileiro, pode ter a sua produção reduzida em cerca de 60 a 80% por doenças de etiologia viral (Lima & Nelson, 1977). Existem em torno de 20 vírus diferentes que infectam o caupi (Santos *et al.*, 1982), destacando-se o CMV, vírus do mosaico severo do caupi *Cowpea severe mosaic virus* - CPSMV, e vírus do mosaico do caupi transmitido por pulgão *Cowpea aphid-borne mosaic virus* - (CABMV) (Lima & Nelson, 1977; Lima *et al.*, 1981).

Com o objetivo de identificar os possíveis vírus que ocorrem nos campos de produção de tomate, melancia, melão e caupi, foi realizado

\*Bolsista do CNPq

<sup>1</sup>Bolsista do PIBIC-CNPq - UNEB/DTCS, III-A, CP 171. 48900-000, Juazeiro-BA

<sup>2</sup>Professor assistente - UNEB/DTCS, III-A, CP 171. 48900-000, Juazeiro-BA

<sup>3</sup>Professor adjunto - UFRPE/DEPA - Fitossanidade, 52171-900, Recife-PE

<sup>4</sup>Bolsista do PICIN-UNEB - UNEB/DTCS, III-A, CP 171. 48900-000, Juazeiro-BA

<sup>5</sup>Bióloga - UFRPE/DEPA-Fitossanidade, 52171-900, Recife-PE

este levantamento nos principais perímetros irrigados do dipólo Petrolina - PE e Juazeiro - BA.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Levanteamento de vírus** – O levantamento de vírus foi realizado no ano de 1998, nas principais áreas produtoras dos perímetros irrigados de Juazeiro - BA (Mandacaru, Maniçoba e Tourão) e Petrolina - PE (Nilo Coelho e Bebedouro), sendo coletadas 101 amostras foliares de tomate, 80 de melão e melancia e 92 de caupi. As amostras foram obtidas de plantas que exibiam sintomas típicos daqueles induzidos por vírus, como mosaico, distorção foliar, clorose e nanismo, e levadas para o Laboratório de Fitovirologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE para realização das análises sorológicas.

**Técnicas para análises** – Foram utilizados dois métodos de análises: "enzyme-linked immunosorbent assay" – ELISA indireto (Hobbs, *et al.*, 1987) e dupla difusão em ágar (Purcifull & Batchelor, 1977). Para identificação dos isolados virais foram utilizados antissoros policlonais contra o TSWV, *Potato virus y* - PVY e *Tobacco mosaic virus* - TMV nas amostras de tomate; PRSV-W, WMV-2, CMV e *Squash mosaic virus* - SqMV para o melão e melancia, e CABMV, CMV e CPSMV para o caupi. A maceração das amostras foliar foi realizada em solução tampão carbonato (pH 9,6), na proporção de 1:10 (m/v). Adicionou-se a cada poço da placa de ELISA 100µl da amostra triturada e diluída em tampão carbonato, seguida de incubação por 1h em câmara úmida à 37°C. Após três lavagens com PBS-T (tampão fosfato salino - Tween), adicionou-se a cada poço 100µl de imunoglobulina preparada em coelho contra o antígeno testado, que após incubação e lavagens, cada poço recebeu 100µl da solução anti-imunoglobulina de coelho, obtida de cabra, conjugada à enzima fosfatase alcalina (SIGMA A-8025), repetindo-se incubação e lavagens. Para desenvolvimento da reação enzimática, utilizou-se o substrato "p-nitrophenil phosphate dissodium" (SIGMA N-9389), à temperatura ambiente. A paralisação da reação foi obtida com 50µL de hidróxido de sódio 3M por poço. As leituras foram realizadas visualmente, comparando-se as amostras de controle positivo e negativo. Os testes para CPSMV foram realizados em meio de ágar contendo 0,8% de ágar noble, 0,5% de dodecil sulfato de sódio (SDS) e 1% de azida de sódio preparado em água destilada. O teste foi realizado abrindo-se orifícios em arranjo hexagonal, contendo um orifício central e seis periféricos em placa de Petri (plásticas), de modo que nos orifícios externos foram colocados os extratos das

plantas testadas (antígenos) e no central o antissoro, sendo incluídos como controles, extrato de plantas sadias e o antígeno homólogo ao vírus. Para o teste ELISA, os antissoros foram diluídos em extrato de plantas sadias, preparado em tampão de conjugado, 1:20 (p/v), objetivando-se absorver os anticorpos reativos com as proteínas de plantas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Levanteamento de viroses** – Das 101 amostras de tomate analisadas, 13 reagiram positivamente com antissoro contra tospovirus e 30 foram positivas para o PVY, com reação negativa para o TMV (Tabela 1). Houve uma predominância do PVY em relação ao tospovirus nos campos demonstrados, revelando que estudos devem ser dirigidos quanto à importância desse vírus na região, que de acordo com estimativas feitas no Brasil, esta virose pode acarretar perdas de 20 a 70% na produção (Kurozawa & Pavan, 1997). No levantamento das espécies do gênero *Tospovirus* em tomateiro na região do Submédio São Francisco, pelo uso de um painel de antissoros contra quatro espécies, foram detectadas reações positivas para o GRSV, e negativas para TSWV, TCSV e INSV (Lima *et al.*, 1997). Apesar dos trabalhos confirmarem a ocorrência de uma distribuição geográfica regionalizada das diferentes espécies de *Tospovirus* (Pozer *et al.*, 1996), com a predominância do GRSV no Submédio São Francisco, foram obtidos isolados em cebola, provenientes de Petrolina, que não reagiram sorologicamente com nenhum dos antissoros, tratando-se, possivelmente, de uma nova espécie (Rezende *et al.*, 1995). A identificação de insetos vetores nas áreas de tomate e cebola em Nilo Coelho e Mandacaru demonstrou a predominância de *Thrips tabaci* na região, reforçando a hipótese de que a disseminação do GRSV pode estar sendo feita prevalentemente por esta espécie (Ávila *et al.*, 1996).

Dentre as 80 amostras analisadas de melão e melancia, 24 reagiram positivamente com o antissoro contra o PRSV-W e 55 foram positivas para o WMV-2 apresentando reação negativa para o CMV e o SqMV. (Tabela 2). A maior incidência de WMV-2 de cultivos de melão e melancia no Submédio São Francisco, divergem dos resultados de Ávila *et al.* (1984), que encontraram apenas o PRSV-W em levantamento efetuado em cucurbitáceas. Isso indica que material infectado com WMV-2 foi introduzido na região, sendo confirmado, também, com levantamentos recentes em melancia no Submédio São Francisco, no qual a mencionada presença do PRSV-W nas amostras (Lima *et al.*, 1997a). No entanto, o alto índice de infecção do WMV-2 em relação ao

PRSV-W, provavelmente é devido a fatores como virulência do patógeno, suscetibilidade das cultivares utilizada, presença de hospedeiros alternativos e população de vetores que têm influenciado na dominância de uma espécie de vírus. Há trabalhos que também destacam a importância do PRSV-W e WMV-2 como as viroses de maior importância que ocorrem em cucurbitáceas no Brasil, devido às suas altas incidências em diversos estados (Ávila, 1982).

Tabela 1 – Ocorrência de vírus em tomateiro no Submédio São Francisco, detectados por ELISA indireto

Localidade	Amostras		Porcentagem de infecção
	Testadas	Infectadas	
PVY			
Mandacaru	57	19	33,33
Maniçoba	16	2	12,50
Tourão	16	2	12,50
Nilo Coelho	12	7	59,33
Total	101	30	29,70
Tospovirus			
Mandacaru	57	5	8,77
Maniçoba	16	5	31,25
Tourão	16	0	0
Nilo Coelho	12	3	25,00
Total	101	13	12,87

Tabela 2 – Ocorrência de vírus em melão e melancia no Submédio São Francisco, detectados por ELISA indireto

Localidade	Amostras		Porcentagem de infecção
	Testadas	Infectadas	
PRSV-W			
Mandacaru	36	6	16,70
Maniçoba	24	9	37,50
Bebedouro	12	9	75,00
Nilo Coelho	8	0	0
Total	80	24	30,00
WMV-2			
Mandacaru	36	21	58,33
Maniçoba	24	23	95,83
Bebedouro	12	11	91,66
Nilo Coelho	8	0	0
Total	80	55	68,75

Em caupi, as análises sorológicas das 92 amostras indicaram a presença do CABMV em 27 e reação negativa para o CMV e CPSMV (Tabela 3).

Tabela 3 – Ocorrência de vírus em caupi no Submédio São Francisco, detectado por ELISA indireto

Localidade	Amostras		Porcentagem de infecção
	Testadas	Infectadas	
PVY			
Mandacaru	16	7	43,75
Maniçoba	24	11	45,83
Bebedouro	8	2	25,00
Tourão	24	7	29,17
Nilo Coelho	20	0	0
Total	92	27	29,35

A predominância do CABMV confirma os resultados de Lima *et. al.* (1981), quanto a importância econômica deste vírus no Ceará e

estados vizinhos. Tem sido relatada perda elevada, acima de 50%, ocasionadas pelo CABMV, em condições de casa de vegetação e campo (Pio-Ribeiro & Assis Filho, 1997). Deve-se, ainda, ressaltar a importância de plantas daninhas como reservatórios, tanto do vírus como de vetores, citando-se o exemplo de *Cassia occidentalis* L., cosmopolita tropical de grande capacidade de resistência ao déficit hídrico e importante hospedeiro para sobrevivência e perpetuação de potyvírus nos sertões do Nordeste brasileiro (Lima & Gonçalves, 1998).

Os campos com menores índices ou completa ausência de plantas infectadas de tomate, cucurbitáceas e caupi, mostrados nas tabelas, deve-se, possivelmente, a uma baixa ocorrência de plantas silvestres que funcionam como reservatórios naturais de vírus, e/ou ineficiência de insetos vetores, devido a aplicação de inseticidas, reduzindo assim a população dos mesmos. Portanto, torna-se necessário complementar o levantamento nas áreas geográficas com estudos mais detalhados de hospedeiros alternativos e possíveis vetores, de modo a estabelecer a importância de cada um desses fatores na epidemiologia e controle das viroses.

Com base na abrangência do levantamento e nos antissoros utilizados nos testes, conclui-se que os tospovírus e PVY no tomate, PRSV-W e WMV-2 em melão e melancia, e o CABMV em caupi, são os principais vírus que ocorrem em áreas expressivas de cultivo da região do Submédio São Francisco.

## ABSTRACT

### Virus identification on tomato, cucurbits, and cowpea from the Submédio São Francisco region

In order to identify the main virus in tomato, melons, watermelon and cowpea commercial fields in the submedeo São Francisco region, a survey was under taken in the following counties: Juazeiro - BA (Maniçoba, Mandacaru and Tourão) and Petrolina - PE (Nilo Coelho and Bebedouro). A total of 101 samples from tomato, 80 from melon and watermelon, and 92 from cowpea were collected and analyzed by using the method indirect ELISA. The cowpea samples were also tested by double immunodiffusion test in agar gel to *Cowpea severe mosaic virus*-CPSMV. The serological analyses showed the following results: the *Tomato spotted wilt virus*-TSWV was observed in 12.87% and *Potato virus Y*- PVY in 29.70% in the tomato samples; the *Papaya ringspot virus-type W* - PRSV-W in 30% and the *Watermelon mosaic virus-2*-WMV-2 in 68.75% in the melon and watermelon samples; and the *Cowpea aphid-borne mosaic virus*-CABMV in 29.35% in the cowpea samples. None of the sample presented positive reaction to the antisera against the following viruses: tobacco mosaic - TMV in tomato, *Cucumber mosaic*-CMV and *Squash mosaic*-SqMV in melon and watermelon, and both CPSMV and CMV in cowpea.

Key words: *Lycopersicon esculentum*, Cucurbitáceas, *Vigna unguiculata*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1  
ÁVILA, A.C. Viroses de Cucurbitáceas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.8, p.52-53, 1982.
- 2  
ÁVILA, A.C. et al. Classification of tospoviruses based on phylogeny of nucleoprotein gene sequences. **Journal of General Virology**, London, v.74, p.153-159, 1993.
- 3  
ÁVILA, A.C. et al. Identificação do vírus do mosaico da melancia e melão (*Cucumis melo*) e melancia (*Citrullus lanatus*) na região do Submédio São Francisco. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.9, p.113-117, 1984.
- 4  
ÁVILA, A.C. et al. Identificação de Tospovirus em hortaliças no Submédio São Francisco utilizando DAS – ELISA e DOT-ELISA. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.21, p.503-508, 1996.
- 5  
BEZERRA, I.C. et al. Occurrence of geminivirus in tomato-producing areas in submédio S. Francisco. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.22, p.331, 1997.
- 6  
BLANCARD, D.; LECOQ, H.; PITRAT, M. **Enfermedades de las cucurbitáceas**. Madri:Ediciones Mundi-Prensa, 1996. 301p.
- 7  
CUNHA, M.M. et al. Problemas fitossanitários em melancia no perímetro irrigado senador Nilo Coelho (PCN) em 1991. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.10, p.53, 1992.
- 8-  
FERNANDES, O.A. Pragas do meloeiro. In: SOBRINHO, R. B.; CARDOSO, J.E.; FREIRE, F.C.O. **Pragas de fruteiras tropicais de importância agroindustrial**. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 1998. p.181-189.
- 9  
GERMAN, T.L.; ULLMAN, D.E.; MOYER, J.W. Tospoviruses: diagnosis, molecular biology, phylogeny, and vector relationships. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v.30, p.315-348, 1992.
- 10  
HAJI, F.N.P.; ALENCAR, J.A. ; PREZOTTI, L. **Principais pragas do tomateiro e alternativas de controle**. Petrolina:EMBRAPA-CPATSA, 1998. 51p.
- 11  
HOBBS, H.A. ; REDDY, D.V.R.; RAJESWARI, R. Use of direct antigen coating and protein A coating ELISA procedures for detection of three peanut viruses. **Plant Disease**, St. Paul, v.71, p.747-749, 1987.
- 12  
KITAJIMA, E.W. Viroses de fruteiras tropicais no Brasil. **Summa Phypathologica**, Piracicaba, v.25, p.78- 83, 1999.
- 13  
KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A. Doenças do tomateiro In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3ª ed. São Paulo:Agronômica Ceres, 1997. v.2, p.690-697.
- 14  
LIMA, M.F.; BARBOSA, L.F.; ÁVILA, A.C. Levantamentos das espécies de Tospovirus na cultura do tomate na região do Submédio São Francisco através de DAS-ELISA. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.22, p.340, 1997.
- 15  
LIMA, M.F.; BARBOSA, L.F.; DE ÁVILA, A.C. Levantamento de viroses em cultura da melancia na região do Submédio São Francisco. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.22, p.337, 1997a.
- 16  
LIMA, J.A.A.; GONÇALVES, M.F.B. *Cassia occidentalis*, potencial reservatório de potyvirus que infestam caupi. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.13, p.365-368, 1998.
- 17  
LIMA, J.A.A. et al. Propriedades biológicas, citológicas e sorológicas de um *Potyvirus* isolado de feijão-de-corda no Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6, p.205-216, 1981.
- 18  
LIMA, J.A.A.; NELSON, M.R. Etiology and epidemiology of mosaic of cowpea in Ceará, Brasil. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v.61, p.864-867, 1977.
- 19  
MOREIRA, J.O.T.; ARAÚJO, J.F.; CAMPOS, C.O. Ocorrência de mosca branca (*Bemisia argentifolii*) no Vale do São Francisco. 2. ed. ver. e aum., p 1-9, 1997. (FAMESF Informa, n.1).
- 20  
NAGATA, T. et al. Occurrence of different tospoviruses in six states of Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.20, p.90-95, 1995.
- 21  
POZZER, L. et al. Tospovirus: uma visão atualizada. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.4, p.95-148, 1996.
- 22  
PIO-RIBEIRO, G.; ASSIS FILHO, F.M. Doenças do caupi. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p.233-244.
- 23  
PURCIFULL, D.E.; BATCHELOR, D.L. **Immunodiffusion tests with sodium dodecyl sulfate (SDS)- treated plant viruses and plant viral inclusions**. Gainesville: University of Florida, 1977. 39p. (Florida University. Agricultural Experiment Station. Bulletin, 788).
- 24  
RESENDE, R. de O. et al. Diversity of Tospoviruses in Brazil. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TOSPOVIRUSES AND THRIPS OF FOLRAL AND VEGETABLE CROPS. Program and abstracts, Taichung, Taiwan. AVRDC, 1995. p.39.
- 25  
SANTOS, A. A.; RODRIGUES FILHO, F.; CARDOSO, M.J. Ocorrência de viroses em feijão macassar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) no Estado do Piauí. Teresina: EMBRAPA/UEPAE, 1982. 11p. (Circular Técnica, 2).