

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Infecção natural e experimental de cucurbitáceas com o vírus do  
mosaico do mamoeiro – estirpe mamoeiro e implicações  
epidemiológicas**

**Pedro Javier Mansilla Córdoba**

**Dissertação apresentada para obtenção do título  
de Mestre em Ciências. Área de concentração:  
Fitopatologia**

**Piracicaba  
2010**



**Pedro Javier Mansilla Córdoba**  
Engenheiro Agrônomo

**Infecção natural e experimental de cucurbitáceas com o vírus do mosaico do mamoeiro – estirpe mamoeiro e implicações epidemiológicas**

Orientador:  
Prof. Dr. **JORGE ALBERTO MARQUES REZENDE**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de Concentração: Fitopatologia

**Piracicaba**  
**2010**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Mansilla Córdoba, Pedro Javier

Infecção natural e experimental de cucurbitáceas com o vírus do mosaico do mamoeiro -  
estirpe mamoeiro e implicações epidemiológicas / Pedro Javier Mansilla Córdoba. - -  
Piracicaba, 2010.  
52 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.  
Bibliografia.

1. Abobrinha 2. Abóbora moranga 3. Pepino 4. Melancia 5. Potyvirus 6. Vírus de plantas

I. Título

**CDD 635.62  
M288i**

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

## DEDICATORIA

À bela Rosita que é a  
minha mãe.



## AGRADECIMENTOS

A Deus que em qualquer momento e lugar me cuida, por tudo o que me foi concedido;  
À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia e Nematologia e aos professores que muito contribuíram no meu aprendizado;

Ao professor Jorge Rezende pela grande paciência e compreensão, pela constante orientação e estímulo;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão da bolsa de estudos, sem a qual haveria sido difícil concluir o presente trabalho;

Ao Dr. Valdir A. Yuki pelo sentido de colaboração e valiosa orientação na identificação dos afídeos;

Ao Dr. José A. Ventura do INCAPER em Linhares, ES, ao Eng. Agr. Fernando José Levatti da Casa da Agricultura de Rinópolis, SP e ao Sr. José Trevisan em Rinópolis, SP, pelo apoio com a instalação e condução dos campos experimentais;

A todos os funcionários do Departamento, em especial ao técnico José E. Buriolla, Fernanda Groppo e Sr. Pedro C. Arthuso pela ajuda nos trabalhos em laboratório e em campo;

Ao Alécio Moreira por facilitar acesso a parte do seu trabalho, dados, idéias e conselhos fornecidos;

A Marinaldo pelo apoio com o desenho de última hora;

Aos companheiros de laboratório: Adriana Moreira, Adriana Jadão, Ana Carolina, Ana Paula, Débora, Júlio, Rogério, Vanessa, como também a Ananias, Bárbara, Fernanda, Greicy, Pastora, Guilherme e Vanessa Frare;

A todos os colegas do programa de Pós-Graduação que fizeram me sentir menos longe de casa;

A todos os amigos “latinos”, em especial a Paul Lama, Miguel Castañeda, o Franz, o Erick, a figura do Boris e a Cléu por todo o apoio recebido;

Aos companheiros da Vila Estudantil, principalmente a Priscila, a Patrícia e os rapazes da casa um: Adilson Nunes, Carlinhos Pestana e Ricardo Olinda, pelos inesquecíveis momentos compartilhados;

À minha querida mãe, aos meus irmãos José Luis e Walter António;

À toda minha família como também à família e amigos que já não estão presentes fisicamente, porém me fazem sentir a sua presença cada vez que alguma coisa dá certo;

A todos aqueles que, não por terem sido menos importantes não mencionei, mas com certeza são pessoas especiais para mim;

À oportunidade única de realizar um sonho e, portanto, a todas as pessoas que fizeram possível o meu grande desejo de continuar estudando e ser cada dia melhor;

Ao povo brasileiro.



## SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 DESENVOLVIMENTO.....	15
2.1 Revisão bibliográfica.....	15
2.1.1 O mamoeiro.....	15
2.1.2 O mosaico do mamoeiro.....	16
2.1.3 Espécies de plantas suscetíveis ao PRSV-P.....	19
2.1.4 Controle do mosaico do mamoeiro.....	20
2.2 Material e métodos.....	24
2.2.1 Localização.....	24
2.2.2 Plantas-teste.....	24
2.2.3 Isolados do PRSV-P.....	25
2.2.4 Transmissão mecânica.....	25
2.2.5 Detecção do PRSV-P nas plantas-teste.....	25
2.2.5.1 Sintomas.....	25
2.2.5.2 PTA-ELISA.....	26
2.2.5.3 Recuperação biológica.....	27
2.2.6 Avaliação da infecção experimental de cucurbitáceas com o PRSV-P.....	27
2.2.7 Avaliação da infecção natural de cucurbitáceas com o PRSV-P.....	28
2.2.7.1 Piracicaba, SP.....	28
2.2.7.2 Rinópolis, SP e Linhares, ES.....	30
2.2.8 Avaliação da incidência de afídeos.....	30
2.3 Resultados.....	31

2.3.1	Infecção experimental de cucurbitáceas com o PRSV-P.....	31
2.3.2	Infecção natural de cucurbitáceas com o PRSV-P .....	33
2.3.2.1	Piracicaba, SP .....	33
2.3.2.2	Rinópolis, SP e Linhares, ES.....	37
2.3.3	Afídeos capturados.....	38
2.4	Discussão .....	39
3	CONCLUSÕES .....	45
	REFERÊNCIAS .....	47

## RESUMO

### **Infecção natural e experimental de cucurbitáceas com o vírus do mosaico do mamoeiro – estirpe mamoeiro e implicações epidemiológicas**

Entre as hospedeiras de invasão sistêmica do vírus do mosaico do mamoeiro - estirpe mamoeiro (*Papaya ringspot virus – type P*; PRSV-P) encontram-se espécies de cucurbitáceas, cuja suscetibilidade à transmissão experimental, mecânica e com afídeos, é variável. A literatura nacional e internacional apresenta resultados distintos quanto à recuperação desse vírus a partir de cucurbitáceas presentes próximas ou no interior de plantios de mamoeiros infectados com esse vírus. O presente trabalho teve como objetivo avaliar em casa de vegetação a suscetibilidade de quatro espécies de cucurbitáceas a cinco isolados do PRSV-P obtidos de diferentes regiões do Brasil e inoculados de forma mecânica. Visou também estudar a infecção natural de cucurbitáceas cultivadas nas entrelinhas ou próximas de mamoeiros com mosaico. Para o desenvolvimento do trabalho em casa-de-vegetação os isolados do PRSV-P mantidos em mamoeiros, foram inoculados nos cotilédones de abobrinha de moita cv. Caserta, moranga cv. Exposição, pepino híbrido Primepack Plus e melancia cv. Crimson Sweet. As plantas foram avaliadas com base nos sintomas e indexadas por PTA-ELISA, e recuperação biológica do biótipo P do PRSV através de inoculações em mamoeiro. A confirmação da infecção dos mamoeiros foi realizada da mesma forma, por sintomatologia e indexação por PTA-ELISA. A abobrinha de moita foi a espécie mais suscetível aos cinco isolados do PRSV-P, seguida da melancia e do pepino. Não foi possível transmitir o vírus a moranga cv. Exposição. Para estudar a infecção natural realizou-se um ensaio com plantas de abobrinha de moita em Linhares-ES, três ensaios independentes em Rinópolis-SP e quatro em Piracicaba-SP, incluindo-se nessa última localidade a melancia e o pepino. Depois de aproximadamente 40 a 60 dias de exposição em campo coletaram-se amostras individuais ou compostas (de 3 a 5 plantas) das folhas dos ponteiros das plantas para realizar a recuperação biológica do PRSV-P para mamoeiros em casa de vegetação. A presença de afídeos foi monitorada em Piracicaba durante a execução dos experimentos no campo. No único teste de exposição em Linhares, nenhuma planta de abobrinha cultivada entre mamoeiros com mosaico mostrou-se infectada com esse vírus. O PRSV-P foi recuperado da abobrinha de moita em proporções variáveis em 2 dos 3 testes realizados em Rinópolis, e em 3 dos 4 testes realizados em Piracicaba. Nenhuma planta de melancia e pepino cultivada entre mamoeiros com mosaico foi infectada com o PRSV-P. Não foi possível recuperar o PRSV-P de nenhuma planta de abobrinha cultivada entre 5 e 80 metros de distância dos mamoeiros com mosaico em Piracicaba. Foram capturados afídeos vetores do PRSV-P e foi possível detectar plantas infectadas com os potyvirus PRSV-W e ZYMV, o que demonstra a presença e atividade dos vetores de vírus. Os resultados confirmaram a suscetibilidade variável das espécies de cucurbitáceas ao PRSV-P. Embora a abobrinha de moita fosse a única espécie encontrada naturalmente infectada pelo PRSV-P quando cultivada entre linhas de mamoeiro com mosaico, a presença de cucurbitáceas nos campos de produção de mamoeiro, especialmente quando o controle do mosaico do mamoeiro é feito através do roquiing, não é recomendada.

Palavras-chave: Abobrinha de moita; Moranga; Pepino; Melancia; Potyvírus; Vírus de planta

## ABSTRACT

### **Natural and experimental infection of cucurbits with the *Papaya ringspot virus* – type P and epidemiological implication**

Besides *Carica papaya*, *Papaya ringspot virus* – type P (PRSV-P) infects systemically only species belonging to the family Cucurbitaceae. Their susceptibility varies according to the species/cultivar, virus isolate and the method of inoculation. Attempts to recovery PRSV-P from naturally infected cucurbit plants grown near to or among diseased papaya trees have shown distinct results worldwide. This study aimed to evaluate the susceptibility of *Cucurbita pepo* cv. Caserta, *Cucurbita maxima* cv. Exposição, *Cucumis sativus* hybrid Primepack Plus, and *Citrullus lanatus* cv. Crimson Sweet to five isolates of PRSV-P obtained from different regions of Brazil. It was also evaluated the natural infection of cucurbit plants grown between rows and in the vicinity of papaya trees infected with PRSV-P. The five PRSV-P isolates were maintained in papaya plants. Cucurbit plants grown in pots under greenhouse conditions were mechanically inoculated with each isolate at the cotyledonary stage. The plants were assessed based on symptoms and infection was confirmed by PTA-ELISA using extracts from the inoculated cotyledons and upper leaves. The same extracts were also mechanically inoculated on papaya plants in order to recover the virus isolate. Inoculated papaya plants were also tested by PTA-ELISA. Zucchini squash was the most susceptible species to PRSV-P, followed by watermelon and cucumber. Pumpkin cv. Exposição was not infected. To study the natural infection of zucchini squash cv. Caserta by PRSV-P, a trial was carried out in Linhares, State of Espírito Santo; three independent trials were carried out in Rinópolis; and four trials were carried out in Piracicaba, both regions located in the State of São Paulo. Watermelon and cucurbit were also included in some trials in Piracicaba. After approximately 40 to 70 days, leaf samples were collected and tested individually or in groups of three to five plants for the presence of PRSV-P by mechanical inoculation on papaya plants under greenhouse conditions. None of the zucchini squash plants grown between rows of infected papaya trees in Linhares was found infected by PRSV-P based on the virus recovery test to papaya plants. The virus was also not recovered from watermelon and cucurbit plants grown between rows of infected papaya trees in Piracicaba. On the other hand, PRSV-P was recovery from zucchini squash plants grown intercalated with diseased papayas in Rinópolis and Piracicaba. The number of infected plants varied among the trial. Several attempts to recover PRSV-P from innumerous zucchini squash plants grown approximately five to 80 meters from diseased papaya trees in Piracicaba failed. Alates of several species of aphids were captured in the field at Piracicaba. Also, innumerous cucurbit plants were found infected by the potyviruses *Papaya ringspot virus* – type W and *Zucchini yellow mosaic virus*, suggesting aphids activity in the area. The results confirmed the variable susceptibility of cucurbit species to infection with PRSV-P. Although natural infection with PRSV-P was restricted to zucchini squash cv. Caserta grown among infected papaya trees, the presence of cucurbit plants in the vicinity of papaya orchards, especially where disease control is done by systematic rouging of diseased plants, should not be allowed.

Keywords: Zucchini squash; Pumpkin; Cucumber; Watermelon; Potyvirus; Plant virus

## 1 INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya*) é uma fruteira tropical de grande importância econômica para o Brasil que é o maior produtor mundial e um dos maiores exportadores de mamão para os mercados europeu e dos E.U.A. A importância do mamoeiro está relacionada principalmente com o valor alimentício de seus frutos, ricos em vitamina C e A.

O mosaico do mamoeiro é a doença de maior importância econômica para o mamoeiro. Ele é causado pelo *Papaya ringspot virus* - type P que é transmitido por várias espécies de afídeos de maneira não persistente, isso significa que pode ser adquirido e transmitido em questão de segundos de alimentação dos vetores.

O controle do mosaico do mamoeiro é difícil. Em razão das características de transmissão desse vírus o controle químico do inseto vetor é considerado ineficiente por não poder conter a chegada do inóculo do exterior das plantações, e nem mesmo a disseminação secundária. Tem se encontrado resistência ou tolerância natural em algumas espécies do gênero *Vasconcellea*, porém somente em poucos casos a inclusão dessa resistência nas variedades comerciais tem sido bem sucedida. O emprego da premunização que consiste na pré-inoculação deliberada de um isolado fraco não tem controlado efetivamente a doença por conta da instabilidade e/ou quebra de proteção dos isolados fracos até então selecionados. Uma alternativa de sucesso no controle do mosaico do mamoeiro foi alcançada recentemente através da biotecnologia. Mamoeiros transgênicos cultivados no Havaí são resistentes ao PRSV-P. No entanto, o mecanismo de resistência é específico e existem problemas de diversa natureza para a adoção dessa tecnologia em diversos países, inclusive no Brasil.

O controle cultural através da erradicação sistemática de plantas com mosaico tem sido a principal e mais eficiente estratégia para o controle do mosaico em convivência com o patógeno nas principais regiões produtoras de mamão nos estados de Espírito Santo e da Bahia.

Como medida adicional de manejo, no Espírito Santo, tem sido recomendada a supressão de plantas daninhas hospedeiras de pulgões das lavouras de mamoeiro. Também tem sido recomendado muitas vezes evitar o plantio de cucurbitáceas nas

entrelinhas ou nas proximidades dos plantios de mamoeiro, pois estas podem servir de fonte de inóculo do PRSV-P.

Além do mamoeiro, as cucurbitáceas são as únicas hospedeiras alternativas de invasão sistêmica do vírus do mosaico do mamoeiro, porém, a susceptibilidade à transmissão experimental, mecânica e com afídeos é variável em função da origem do isolado viral e das espécies/variedades avaliadas. Embora a eliminação das espécies pertencentes a esta família botânica tem sido freqüentemente recomendada no manejo do mosaico do mamoeiro, são poucos os relatos de cucurbitáceas naturalmente infectadas com o PRSV-P.

Para melhor definir a importância dessa família na epidemiologia da doença objetivou-se no presente trabalho:

- Avaliar a suscetibilidade de quatro espécies/variedades de cucurbitáceas à infecção experimental com cinco isolados do vírus do mosaico do mamoeiro;
- Avaliar a infecção natural de cucurbitáceas, plantadas nas entrelinhas ou próximas de mamoeiros com mosaico, com o vírus do mosaico do mamoeiro.



## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 Revisão bibliográfica

#### 2.1.1 O mamoeiro

O mamoeiro é uma dicotiledônea pertencente à família *Caricaceae*, de ciclo semiperene, com pico de produção entre três a cinco anos. Seu centro de origem na Bacia Amazônica Superior, onde a diversidade genética é máxima, caracteriza o mamoeiro como planta tipicamente tropical (DANTAS; MORALES, 1996). Segundo Murayama (1986 apud LIMA et al., 2001), o mamoeiro é uma das poucas plantas frutíferas capazes de produzir durante todo o ano, representando uma das atividades de elevada expressão econômica, ressaltando sua função social geradora de empregos e absorvente de mão-de-obra de forma continuada. No Brasil, as principais cultivares de mamoeiro atualmente exploradas são classificadas em dois grupos de acordo com o tipo de fruto: Solo e Formosa (DANTAS, 2000).

De acordo com o Agriannual (FNP, 2010), com base em dados de 2007, o Brasil foi o maior produtor mundial de mamão, seguido do México, Nigéria, Índia e Indonésia. A participação brasileira no mercado externo foi de 15% do volume total exportado no mundo em 2008, sendo superado somente pelo México. No ano de 2008 a cultura ocupou no Brasil uma área de 36.585 hectares, com uma produção de 1.890.286 toneladas, o que determinou a maior produtividade mundial, estimada em 51,7 t/ha. Os maiores importadores de mamão são os Estados Unidos, a Alemanha, o Reino Unido e os Países Baixos.

A região norte do estado de Espírito Santo (ES) é o principal pólo exportador e a micro-região do extremo Sul da Bahia (BA) o maior pólo produtor de mamão do país, sendo ambos responsáveis por 81,1% da produção nacional. O estado do Espírito Santo tem a maior produtividade do país, estimada em 79 t/ha, devido ao alto nível tecnológico adotado pelos produtores e à utilização de práticas fitossanitárias eficientes com destaque para o “roguing” ou erradicação de plantas doentes, no manejo das viroses que incidem sobre a cultura (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2008).

O estado de São Paulo (SP) no ano 2008 contava com apenas 360 ha plantadas com mamoeiro, sendo Martinópolis e Rinópolis (RI) os municípios com maior contribuição (IBGE, 2008).

Entre as doenças que afetam o mamoeiro existem várias causadas por vírus. No Brasil, os vírus que freqüentemente têm sido encontrados afetando a produção nos pomares são o vírus da meleira do mamoeiro (*Papaya meleira virus*, PMeV), o vírus do amarelo letal do mamoeiro (*Papaya lethal yellowing virus*, PLYV) e o vírus do mosaico do mamoeiro (*Papaya ringspot virus – type P*, PRSV-P), que é o que causa maiores prejuízos fitossanitários (CONOVER, 1964b; LIMA et al., 2001; MARTINS; VENTURA, 2007; REZENDE; MARTINS, 2005).

### **2.1.2 O mosaico do mamoeiro**

Segundo Jensen (1949a), o primeiro relato do mosaico do mamoeiro foi no Haváí; no entanto, teria sido observada desde 1929 na Jamaica. No Brasil foi relatada pela primeira vez no estado de São Paulo em 1969 (COSTA; CARVALHO; KAMADA, 1969), e no final da década de 70 e início dos anos 80, esta doença proporcionou um caráter itinerante à cultura do mamoeiro, forçando o deslocamento da principal área produtora nacional em São Paulo para o eixo Bahia - Espírito Santo (REZENDE; MARTINS, 2005; ZAMBOLIM; SOUZA, 2002).

Os sintomas iniciais da doença no mamoeiro manifestam-se na forma de mosaico, distorção foliar e, posteriormente, anéis oleosos nos frutos e manchas oleosas no caule que constituem as principais características sintomatológicas da doença. As mudas infetadas apresentam destacado clareamento de nervuras e as folhas mais jovens encurvam para baixo, uma a duas semanas após a inoculação. Com o decorrer de algumas semanas as folhas tornam-se mosqueadas e distorcidas, com os lóbulos bastante reduzidos e com bolhas (BARBOSA; PAGUIO, 1982a; CAPOOR; VARMA, 1958; CONOVER, 1964a, 1964b, 1962; COSTA; CARVALHO; KAMADA, 1969; JENSEN, 1949a; LANA, 1980; LIMA; GOMES, 1975; SÁNCHEZ DE LUQUE; MARTÍNEZ-LÓPEZ, 1976; REZENDE; MARTINS, 2005; YEH; GONSALVES; PROVVIDENTI, 1984). O período de incubação na planta que é o tempo entre a inoculação e a manifestação de sintomas varia entre 9 a 21 dias, segundo a

temperatura, o tipo de planta e o isolado do vírus (BARBOSA; PAGUIO, 1982a; CAPOOR; VARMA, 1958; JENSEN, 1949a; LIMA; GOMES, 1975; REZENDE; MARTINS, 2005; SÁNCHEZ DE LUQUE; MARTÍNEZ-LÓPEZ, 1976; YEH; GONSALVES; PROVVIDENTI, 1984). O mosaico pode reduzir o número médio e o peso de frutos por planta em 22% a 60%. Um campo de produção pode apresentar 100% das plantas infetadas em um período de quatro a sete meses após o plantio, caso nenhuma forma de controle seja utilizada (BARBOSA; PAGUIO, 1982b; CONOVER, 1964a; COSTA; CARVALHO; KAMADA, 1969; LIMA et al., 2001; LOPEZ, 1972; REZENDE; MARTINS, 2005; WANG et al., 1987; ZAMBOLIM; SOUZA, 2002).

O mosaico do mamoeiro é causado pelo *Papaya ringspot virus* – type P (PRSV-P) e é o principal fator limitante na produção dessa frutífera em todos os países onde ocorre. O PRSV-P pertence à família *Potyviriidae*, gênero *Potyvirus* (FAUQUET et al., 2005). Possui partículas alongadas e flexuosas, medindo 780 x 12 nm, com genoma composto por uma fita de RNA senso positivo, contendo 10.326 pb (REZENDE; MARTINS, 2005; YEH et al., 1992). O vírus está classificado em duas estirpes que não são possíveis de diferenciar sorologicamente (GONSALVES; ISHII, 1980; PURCIFULL; HIEBERT, 1979), mas são distinguíveis por suas características biológicas. A estirpe W (“Watermelon”) (PRSV-W) infecta sistemicamente espécies da família *Cucurbitaceae*, constituindo fator de importância econômica para estas culturas no Brasil. A estirpe P (“Papaya”) (PRSV-P) é capaz de infectar sistemicamente espécies das famílias *Caricaceae* e *Cucurbitaceae*, sendo o mamoeiro seu hospedeiro natural de maior importância (GONSALVES, 1998; GONSALVES; ISHII, 1980; LIMA et al., 2001; REZENDE; MARTINS, 2005; TRIPATHY et al., 2008; YEH; GONSALVES; PROVVIDENTI, 1984).

Diversos estudos foram realizados nos últimos anos visando caracterizar o grau de identidade do gene da proteína capsidial (*cp*) entre isolados de PRSV. A análise de seqüência de nucleotídeos do gene *cp* de quarenta diferentes isolados, tanto do tipo P quanto do W, de diversas regiões no mundo, foi de 90,71%. A distinção entre o tipo P e o W não é possível pela seqüência do gene *cp*. No Brasil, onde o vírus pode ser encontrado em ecossistemas bastante distintos, foi observado grau de identidade de 97,29 e 97,09% em relação às seqüências de nucleotídeos e de aminoácidos,

respectivamente, quando analisados 13 diferentes isolados de ambos os tipos (LIMA et al., 2002; ZAMBOLIM; SOUZA, 2002). Um estudo de sete isolados australianos do PRSV, sendo quatro do tipo P e três do tipo W, mostrou identidade da ordem de 98% na seqüência de nucleotídeos do gene *cp*. Além disso, os isolados W foram mais relacionados aos isolados P australianos do que aos outros isolados W asiáticos ou americanos. Baseada nessa constatação foi formulada a hipótese de que os isolados australianos do PRSV-P, que tinham sido relatados na Austrália pela primeira vez em 1993, tinham se originado de isolados australianos do tipo W, que já estavam naquele país desde 1978. Em outro estudo observou-se que os isolados brasileiros do PRSV-W foram mais relacionados aos isolados P brasileiros do que aos isolados W da Flórida, Austrália e Índia, indicando que a mesma hipótese pode estar associada com a origem desse vírus no Brasil (BATESON et al., 1994; ZAMBOLIM; SOUZA, 2002).

A transmissão mecânica do PRSV-P se dá com facilidade; porém não tem valor epidemiológico. Com exceção dos resultados obtidos por Bayot et al. (1990), que de um total de 1,355 sementes obtidas de frutos de mamão com PRSV-P encontrou duas plantas infectadas, não existem evidências de transmissão do vírus por sementes de mamão ou de cucurbitáceas (BARBOSA; PAGUIO, 1982a; BOKX, 1965; BONILHA, 2007; CAPOOR; VARMA, 1958; CONOVER, 1964a; COSTA; CARVALHO; KAMADA, 1969; REZENDE; MARTINS, 2005).

O PRSV-P é transmitido naturalmente por mais de 20 diferentes espécies de afídeos, sendo a relação vírus-vetor do tipo não persistente, não sendo capazes de transmitir o vírus seqüencialmente a mais de quatro plantas (JENSEN, 1949b; KALLESHWARASWAMY; KRISHNA KUMAR, 2008). No Brasil, já foi demonstrado, experimentalmente, que as espécies *Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, *A. fabae*, *A. coreopsidis* e *Toxoptera citricida* são eficientes vetoras do vírus (CAPOOR; VARMA, 1958; COSTA; CARVALHO; KAMADA, 1969; JENSEN, 1949b; REZENDE; MARTINS, 2005; SÁNCHEZ DE LUQUE; MARTÍNEZ-LÓPEZ, 1976, 1977; ZETTLER; EDWARDSON; PURCIFULL, 1968). São também espécies vetores *Aphis spiraeicola*, *Lipaphis erysimi*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Pentalonia nigronervosa*, *Rhopalosiphum maidis*, *Sinomegoura citricola*, (ADSUAR, 1950; JENSEN, 1949b; LIMA; GOMES, 1975; LANA, 1980; MARTINS; VENTURA, 2007; SÁNCHEZ DE LUQUE; MARTÍNEZ-LÓPEZ,

1976, 1977). Outras espécies de afídeos relatadas como vetoras do PRSV-P mediante estudos conduzidos sob condições de laboratório são *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora*, *A. illinoisensis*, *A. medicaginis*, *A. nerii*, *A. rumicis*, *A. umbrella*, *Carolinaia cyperi*, *Dactynotus* sp., *Neotoxoptera formosana*, *Rhopalosiphum porosum*, *Toxoptera aurantii*, *Uroleucon ambrosiae*, *U. sonchi* (BARBOSA; PAGUIO, 1982a; CAPOOR; VARMA, 1958; JENSEN, 1949b; LANA, 1980; MARTINS; VENTURA, 2007; SÁNCHEZ DE LUQUE; MARTÍNEZ-LÓPEZ, 1976, 1977; ZETTLER; EDWARDSON; PURCIFULL, 1968). Embora os afídeos, normalmente, não colonizem plantas de mamoeiro (BARBOSA; PAGUIO, 1982b; CAPOOR; VARMA, 1958; CONOVER, 1964a; COSTA; CARVALHO; KAMADA, 1969; MORA-AGUILERA et al., 1996; NG; FALK, 2006), os processos de aquisição e de inoculação do vírus ocorrem por ocasião das picadas de prova para reconhecimento de seus hospedeiros (POWELL; TOSH; HARDIE, 2006), durante suas visitas às plantas infetadas e posteriormente às plantas sadias. Por tal razão, a transmissão se dá com mais eficiência devido às constantes movimentações dos afídeos dentro do pomar (LIMA et al., 2001; REZENDE; MARTINS, 2005).

### 2.1.3 Espécies de plantas suscetíveis ao PRSV-P

Além de *C. papaya*, o PRSV-P já foi transmitido experimentalmente para algumas espécies do gênero *Vasconcellea*, família *Caricaceae*. Entre elas estão *Vasconcellea (Carica) cauliflora*, *V. goudotiana*, *V. monoica* (CONOVER, 1964a, 1962; SÁNCHEZ DE LUQUE; MARTÍNEZ-LÓPEZ, 1976).

As espécies *Chenopodium amaranticolor* e *C. quinoa* são hospedeiras experimentais sem valor epidemiológico, pois reagem apenas com lesões locais nas folhas inoculadas mecanicamente com o PRSV-P, dependendo da variedade da planta, condições ambientais e/ou isolado do vírus (BAYOT et al., 1990; GONSALVES; ISHII, 1980; LANA, 1980; REZENDE; COSTA, 1985; REZENDE; MARTINS, 2005; WANG et al., 1987; YEH; GONSALVES; PROVVIDENTI, 1984).

Outras hospedeiras de invasão sistêmica do vírus do mosaico do mamoeiro pertencem à família *Cucurbitaceae*, cuja susceptibilidade à transmissão experimental, mecânica e com afídeos é variável em função da origem do isolado viral e das espécies/variedades avaliadas. Adsuar (1950), em Porto Rico, transmitiu o PRSV-P

para *Melothria guadalupensis* e Capoor e Varma (1958) na Índia, transmitiram esse vírus para *Cucurbita maxima*, *C. pepo*, *Citrullus vulgaris*, *C. fistulosus*, *Cucumis melo*, *C. sativus*, *Lagenaria siceraria*, *Tricosanthes anguina* e *Luffa acutangula*. Posteriormente, também foram identificadas como hospedeiras de infecção sistêmica do PRSV-P as espécies *Citrullus lanatus*, *Cucumis anguria*, *C. metuliferus*, *C. dipsaceus*, *C. dinteri*, *C. meeusii*, *Cucurbita moschata*, *C. ficifolia*, *Diplocyclos palmatus*, *Momordica charantia*, *Melothria fluminesis*, *M. pendula* e *Luffa vulgaris* (BOKX, 1965; CHIN; AHMAD; TENNANT 2007; CONOVER, 1962, 1964a, 1964b; COSTA; CARVALHO; KAMADA, 1969; GONZÁLES; TRUJILLO; VEGAS, 2003; LAKSHMINARAYANA et al., 2007; LANA, 1980; LIMA; GOMES, 1975; LOPEZ, 1972; MAGDALITA; BAYOT; VILLEGAS, 1990; SÁNCHEZ DE LUQUE; MARTÍNEZ-LÓPEZ, 1976, 1977; TRIPATHY et al., 2008; WANG et al., 1987; YEH; GONSALVES; PROVVIDENTI, 1984; ZETTLER et al., 1968). Na década de 1980, no Brasil, Rezende e Costa (dados não publicados) avaliaram experimentalmente a suscetibilidade da abobrinha de moita cv. Caserta, abobrinha de moita var. I-1909, dez variedades de abóbora e sete variedades de melancia ao PRSV-P. Todas foram infectadas com o PRSV-P, sendo a abobrinha de moita a espécie mais suscetível ao vírus.

#### **2.1.4 Controle do mosaico do mamoeiro**

O controle do mosaico do mamoeiro não é fácil. Diversas estratégias têm sido investigadas na procura de alternativas eficientes e duradouras para o controle dessa doença. Entre essas se encontram a adoção de práticas culturais como o uso de mudas sadias, plantio em áreas livres do vírus, evitar consórcio com cucurbitáceas e programas de erradicação de plantas doentes, que minimizem a entrada e a posterior disseminação do vírus na plantação, desenvolvimento de variedades resistentes por meio do melhoramento genético clássico ou por transgenia, premunização com estirpes fracas do vírus, controle químico dos vetores, entre outras. (CONOVER, 1964a; COSTA, 2005; COSTA; CARVALHO; KAMADA, 1969; GONSALVES, 1998; REZENDE; MARTINS, 2005; TENNANT et al., 1994; TRIPATHI et al., 2008).

O controle químico dos afídeos vetores não tem dado resultados satisfatórios devido às características de transmissão do PRSV-P pelos vetores e o não

estabelecimento dos afídeos nos mamoeiros (ADSUAR, 1950; CONOVER, 1964a; KALLESHWARASWAMY et al., 2009; NAMETH et al., 1986; PERRING; GRUENHAGEN; FARRAR, 1999; TOSCANO et al., 1979).

O melhoramento genético clássico para a obtenção de variedades resistentes, que corresponde ao método ideal de controle, foi por muitos anos exaustivamente estudado por investigadores de diversos países como Brasil (COSTA; CARVALHO; KAMADA, 1969), Venezuela, Taiwan, Austrália (DREW et al., 2006; MAGDALITA et al., 1997), E.U.A. (CONOVER; LITZ, 1978; CONOVER, 1976), entre outros, através de cruzamentos interespecíficos, porém sem sucesso. Recentemente, um grupo de investigadores da Austrália e das Filipinas logrou a obtenção de um híbrido interespecífico (*C. papaya* x *V. quercifolia*) resistente ao vírus e com características agrônômicas adequadas para a exploração comercial naqueles países (DREW et al., 2006).

O controle por premunização, em que plantas de mamoeiro previamente infectadas por uma estirpe fraca e estável do vírus ficam protegidas contra a infecção e/ou manifestação de isolados mais severos que ocorrem em campo, também já foi motivo de investigação na década de 80 em Taiwan, no Brasil e nos E.U.A. (LIMA et al., 2001; REZENDE; MARTINS, 2005; TENNANT et al., 1994; YEH; GONSALVES, 1984; YEH; GONSALVES; PROVVIDENTI, 1984; REZENDE, 1985; WANG et al., 1987; YEH et al., 1988). No entanto, apesar dos esforços despendidos, os resultados obtidos não permitiram a implantação comercial permanente dessa tecnologia no controle da doença em campo por conta da quebra da proteção e/ou da instabilidade da estirpe fraca protetora (TENNANT et al., 1994). Mais recentemente Moreira (2009) não teve sucesso na proteção com isolados fracos do PRSV-P em casa de vegetação e em campo no estado do Espírito Santo.

A estratégia de controle por meio de plantas transgênicas abriu uma nova possibilidade para a solução do problema do mosaico, de forma mais eficiente e possivelmente mais duradoura (FERMIN et al., 2004; FERREIRA et al., 2002; LIMA et al., 2001; TENNANT et al., 1994; TRIPATHI et al., 2008). No entanto, existe especificidade na resistência, isto é os mamoeiros transgênicos são susceptíveis à infecção por isolados do PRSV-P de regiões geográficas distintas (TENNANT et al.,

1994). Ademais, a sua obtenção requer um grande investimento e ainda não é aceita pela maior parte da sociedade além das restrições legais para sua liberação. Atualmente mamoeiros transgênicos resistentes ao vírus do mosaico somente são cultivados em algumas áreas do Havaí, E.U.A. (TRIPATHI et al., 2008).

No Brasil, a erradicação (“roguing”) de mamoeiros com mosaico, acompanhada de outras práticas culturais, tais como produzir mudas sadias em locais protegidos, eliminar pomares velhos ou abandonados antes do início do novo plantio, eliminar plantas enfermas localizadas na beira de estradas, chácaras, fundos de quintais, evitar o crescimento ou plantio de cucurbitáceas nas proximidades ou dentro do pomar, tem sido a maneira mais eficiente para o controle dessa doença principalmente nos Estados do Espírito Santo e da Bahia. A prática de erradicação de plantas doentes é mandatória e apoiada em legislações específicas (Portaria N° 175 de 25/10/1994, da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura; Instrução Normativa N° 4 de 01/03/2002; Portaria SEAGRI/BA N° 086, de 17/03/1998; Instrução Normativa N°2, de 08/01/2009).

Embora se recomende evitar o crescimento ou plantio de cucurbitáceas nas proximidades ou dentro do pomar por serem elas experimentalmente suscetíveis ao PRSV-P (ADSUAR, 1950; COSTA; CARVALHO; KAMADA, 1969; REZENDE; MARTINS, 2005), pouco se conhece sobre a real importância dessas plantas na epidemiologia do mosaico do mamoeiro, pois não têm sido freqüentemente encontradas plantas infectadas naturalmente em campo (BARBOSA; PAGUIO, 1982b; CONOVER, 1964b; GONSALVES, 1998; LOPEZ, 1972; SÁNCHEZ DE LUQUE; MARTÍNEZ-LÓPEZ, 1977; YEH; GONSALVES; PROVVIDENTI, 1984). Por exemplo, testes sorológicos e biológicos em 454 plantas de cucurbitáceas crescendo em áreas no nordeste da Tailândia, que mantinham mamoeiros infectados com o PRSV, mostraram que 31% das cucurbitáceas encontraram-se infetadas, mas só com o PRSV-W (PRASARTSEE apud GONSALVES, 1998). Observações similares foram feitas no Havaí, E.U.A. (FERREIRA apud GONSALVES, 1998). Estudos realizados na Flórida, E.U.A., para recuperar o PRSV-P de diversas cucurbitáceas ocorrendo próximas ou dentro de plantações de mamoeiros com mosaico forneceram resultados negativos (CONOVER, 1964b). No Estado de Pernambuco, no Brasil, Barbosa e Paguio (1982b) não recuperaram o PRSV-



P de *Momordica charantia*, *Melothria fluminensis* e *Cucurbita pepo* localizadas dentro ou próximas a plantios de mamoeiros com mosaico. Por outro lado, A. S. Costa (REZENDE, 1985) obteve recuperação desse vírus de abóboras que estavam presentes em um pomar de mamoeiros com mosaico. Magdalita et al. (1990), nas Filipinas, recuperaram o PRSV-P de plantas de *Diplocyclos palmatus* que ocorriam em abundância nas proximidades de plantações de mamoeiro. Chin et al. (2007) recuperaram o PRSV-P de *M. charantia* na Jamaica. No Brasil, Moreira (2009), em dois plantios sucessivos de abobrinha de moita (*C. pepo* cv. Caserta), próximos de mamoeiros com mosaico, não recuperou o PRSV-P quando extratos foliares de todas as plantas foram inoculados em mamoeiros. No entanto, análise molecular dos mamoeiros inoculados permitiu a detecção do gene da inclusão citoplasmática (CI) em uma amostra composta, sugerindo que pelo menos uma planta de abobrinha de moita, entre 40 analisadas conjuntamente, estava infectada com esse vírus. Por outro lado, em dois outros plantios sucessivos de *C. maxima* cv. Exposição, próximas dos mesmos mamoeiros, não encontrou nenhuma abobreira naturalmente infectada com o PRSV-P. Moura et al. (2001) coletaram amostras de folhas de campos de produção de *C. moschata*, *C. lanatus*, *C. anguria*, *C. sativus* e *C. melo* no Estado do Maranhão e constataram a presença do PRSV em todas elas. Halfeld-Vieira et al. (2004) fez o mesmo para *C. lanatus* no Estado de Roraima e encontrou também o PRSV. No entanto, em ambos os trabalhos não foi identificada a estipe do PRSV.

Yuki et al. (2000), fizeram um levantamento da incidência de cinco vírus em todo o estado de São Paulo entre 1997 e 1999, avaliando mediante PTA-ELISA um total de 621 cucurbitáceas. O PRSV-W foi o vírus mais freqüentemente encontrado seguido do ZYMV com 49,1% e 24,8% respectivamente. A técnica do PTA-ELISA não permite diferenciar o PRSV-W do PRSV-P, portanto, a possibilidade da ocorrência desse último biótipo não pode ser descartada. Em *Cucurbita pepo* foram encontradas incidências de 57%, 20,5% e 12,5% para o PRSV-W, ZYMV e ZLCV, respectivamente. Em *Cucumis sativus* as incidências dos mesmos vírus foram de 33%, 33% e 8% respectivamente, e de 69%, 19% e 3% para *Citrullus lanatus*.

A recuperação do PRSV-P de cucurbitáceas infectadas experimentalmente para mamoeiros não tem sido tarefa difícil. Em estudos de recuperação experimental em

casa de vegetação, Adsuar (1950) avaliou 49 espécies em 21 famílias botânicas, sendo 10 espécies de cucurbitáceas e apenas obteve recuperação do PRSV-P a partir de plantas de abóbora-do-mato (*M. guadalupensis*). Na Colômbia, Sánchez de Luque e Martínez-López (1976, 1977), recuperaram o vírus do mosaico do mamoeiro a partir de plantas de *C. melo*, de duas variedades de *C. vulgaris* e *C. pepo*, com maior eficiência quando os mamoeiros foram inoculados com *Myzus persicae* do que inoculados mecanicamente.

## **2.2 Material e métodos**

### **2.2.1 Localização**

Os ensaios de transmissão mecânica e recuperação biológica foram conduzidos em casa de vegetação no Departamento de Fitopatologia e Nematologia da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ).

Os ensaios de exposição de cucurbitáceas em Piracicaba, SP foram realizados no campo experimental do Departamento de Fitopatologia e Nematologia da ESALQ, onde existia um plantio experimental de mamoeiros infectados com o PRSV-P. Os ensaios de exposição em Rinópolis, SP e Linhares, ES foram realizados em plantações comerciais de mamoeiros cujas plantas também tinham alta incidência da doença.

### **2.2.2 Plantas-teste**

Foram utilizadas mudas de abobrinha de moita (*Cucurbita pepo* cv. Caserta), abóbora moranga (*Cucurbita maxima* cv. Exposição), pepino (*Cucumis sativus*, híbrido Primepack Plus), melancia (*Citrullus lanatus* cv. Crimson Sweet) e mamoeiro (*Carica papaya* cv. Golden).

Nos ensaios de exposição de cucurbitáceas no campo em Piracicaba foram utilizadas as mesmas espécies dos ensaios em casa-de-vegetação com exceção da moranga por ter se mostrado altamente resistente ao PRSV-P nas inoculações mecânicas. Mudanças de pepino e de melancia foram produzidas em bandejas de isopor com o substrato formulado (Basaplant®) e transplantadas dez dias após a emergência em covas previamente preparadas com mistura de solo, areia, esterco de curral curtido

e adubo mineral. A abobrinha de moita foi semeada diretamente nas covas preparadas da mesma maneira. Após a emergência deixou-se uma planta por cova. As plantas foram irrigadas por aspersão e receberam os tratos culturais convencionais para o seu bom desenvolvimento.

### **2.2.3 Isolados do PRSV-P**

Foram utilizados isolados do PRSV-P obtidos de Petrolina-PE, Linhares-ES, Rinópolis-SP, Piracicaba-SP e Florianópolis-SC. Esses isolados foram mantidos em mamoeiros em condições de casa de vegetação e renovados mediante transmissão mecânica para novos mamoeiros cada dois ou três meses.

### **2.2.4 Transmissão mecânica**

O inóculo foi preparado macerando-se as folhas em almofariz de porcelana, na diluição 1:20 (p:v), com tampão fosfato de potássio 0,02 M, pH 7,0, acrescido de sulfito de sódio na mesma molaridade. As inoculações foram feitas em casa de vegetação, nas folhas dos mamoeiros ou cotilédones das cucurbitáceas previamente polvilhadas com o abrasivo carbureto de silício (Carborundum) de grão 320 e friccionadas manualmente junto com a solução de inóculo. Logo em seguida as folhas das plantas-teste foram lavadas com água para retirar o excesso de abrasivo e de inóculo. As folhas do controle negativo foram friccionadas apenas com tampão. As plantas foram mantidas em casa de vegetação para as avaliações.

### **2.2.5 Detecção do PRSV-P nas plantas-teste**

#### **2.2.5.1 Sintomas**

As plantas testadas foram observadas a partir dos sete a nove dias após a inoculação para detectar a possível manifestação de sintomas como clareamento de nervuras, mosaico, clorose, deformação foliar, bolhas e manchas no caule que fornecem indícios de infecção por vírus.

### 2.2.5.2 PTA-ELISA

O teste sorológico de “Enzyme-Linked Immunosorbent Assay” do tipo “Plate Trapped Antigen” (PTA-ELISA), com algumas modificações da forma descrita por Mowat e Dawson (1987), foi usado para confirmar a infecção pelo PRSV-P. Em todos os testes foram incluídos controles negativos (plantas saudas) e positivos (plantas infectadas com as estirpes severas dos vírus), na diluição de 1:10.

Para esta análise foi utilizado antissoro específico contra a proteína capsidial do PRSV-P, com o qual conta o Laboratório de Virologia. Foram colocados 100 µl das amostras, diluídas 1:50 (p/v), em placas de ELISA de 96 cavidades e posteriormente incubadas por 15 minutos, a 37°C. Foram utilizadas duas cavidades para cada amostra. Em seguida, as placas foram lavadas três vezes consecutivas com PBS-Tween (0,0015 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,14 M NaCl, 0,004 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,003 M KCl, pH 7,4 + 0,5 ml Tween 20). Na etapa seguinte, foram colocados em cada cavidade 100 µl do antissoro diluído 1:1000 em tampão PBS-TPB (PBS-Tween + 2% polyvinylpyrrolidone MW 44.000 + 0,2% Bovine Serum Albumin). As placas foram incubadas por 2 horas, a 37°C, sendo posteriormente lavadas como descrito. Foram colocados 100 µl do conjugado enzimático (SIGMA Anti Rabbit IgG, A-8025) diluído 1:34.000 em tampão PBS-TPB e incubado novamente por duas horas a 37°C. As placas foram lavadas novamente e, a seguir, foram colocados em cada cavidade 100 µl do substrato p-fosfato de nitrofenil (SIGMA, S0942), diluído em tampão de dietanolamina pH 9,8 (0,6 mg/ml). As placas foram incubadas por 30 minutos a temperatura ambiente, no escuro, onde ocorreu a reação enzimática. A absorbância de cada uma das cavidades foi medida em leitor de ELISA, utilizando-se um filtro de 405 nm. A reação foi considerada positiva quando o valor médio da absorbância for superior em três vezes o valor médio de absorbância do extrato da planta sadia.

Quando necessário o teste de PTA-ELISA também foi usado para a detecção dos seguintes vírus: *Papaya ringspot virus* – type W (PRSV-W), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) e *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV). Os antissoros foram disponibilizados pelo laboratório de Virologia da ESALQ/USP.

### **2.2.5.3 Recuperação biológica**

A detecção do PRSV-P em plantas-teste de cucurbitáceas também foi feita através da recuperação do vírus para plantas-teste de mamoeiro. Para isso, extratos de folhas cotiledonares e/ou dos ponteiros das cucurbitáceas, previamente inoculadas com os isolados do PRSV-P, foram inoculados mecanicamente em plantas de mamoeiro conforme descrito anteriormente. As plantas foram mantidas em casa de vegetação e avaliadas por meio de sintomas a partir do sétimo dia após a inoculação e por PTA-ELISA.

Esta metodologia foi empregada também para a detecção do PRSV-P em amostras foliares das cucurbitáceas dos ensaios em campo, sendo utilizadas tanto amostras individuais quanto compostas (dois a cinco plantas) pelo elevado número de plantas a serem analisadas.

### **2.2.6 Avaliação da infecção experimental de cucurbitáceas com o PRSV-P**

No caso das cucurbitáceas foram semeadas três sementes em vasos de alumínio esterilizado contendo uma mistura de terra e matéria orgânica previamente esterilizada. Por ocasião do desbaste, no estágio de folha cotiledonar, foi deixada uma planta em cada vaso. As plantas foram freqüentemente irrigadas e adubadas com aproximadamente 0,5 gr. de sulfato de amônia por vaso. As plantas foram também periodicamente tratadas com acaricidas (Avermectina B1 e Enxofre 80%) para evitar a colonização com ácaros.

Para os mamoeiros foi utilizado o mesmo substrato utilizado para as cucurbitáceas. As plantas foram produzidas em sementeiras e estas foram transplantadas quando se formava a primeira folha verdadeira. Foram mantidas duas plantas por vaso e os tratos culturais foram as mesmas efetuadas com as cucurbitáceas.

Os ensaios foram realizados em diferentes épocas, entre abril de 2009 e fevereiro de 2010, com os cinco isolados do PRSV-P. Cada uma das espécies de cucurbitáceas foi inoculada separadamente com cada um dos isolados do PRSV-P, com três repetições. Uma planta de cada espécie foi mantida sadia (controle). Adicionalmente,

foram inoculadas uma ou duas mudas de mamoeiro da variedade Golden como controle positivo da infectividade dos isolados do PRSV-P (Figura 1).



Figura 1 - Mudanças de melancia, pepino, abóbora moranga e abobrinha de moita utilizadas na transmissão mecânica com um dos isolados do PRSV-P

As inoculações foram realizadas nos cotilédones das cucurbitáceas e após aproximadamente sete dias da inoculação, tempo suficiente para que ocorresse a invasão sistêmica do vírus, estes foram coletados para detecção de vírus por PTA-ELISA e recuperação biológica em mamoeiro. Entre 14 e 21 dias após a inoculação, as folhas dos ponteiros das cucurbitáceas e dos mamoeiros controles foram coletadas e submetidas à detecção do vírus como descrito acima. Estas plantas também foram analisadas com base na expressão de sintomas. Após aproximadamente o mesmo período de tempo, os mamoeiros inoculados a partir das folhas dos ponteiros das cucurbitáceas foram analisados pela mesma metodologia. O ensaio foi repetido uma vez para todas as espécies/variedades de cucurbitáceas e isolados do vírus.

## **2.2.7 Avaliação da infecção natural de cucurbitáceas com o PRSV-P**

### **2.2.7.1 Piracicaba, SP**

Plantas de abobrinha de moita, pepino e melancia foram cultivadas entre fileiras de mamoeiros infectados com o PRSV-P, no campo experimental do Departamento de

Fitopatologia e Nematologia, conforme ilustrado na Figura 2. O espaçamento entre plantas foi de um metro para todas as espécies. Após aproximadamente 40 a 60 dias de exposição no campo, coletaram-se amostras foliares do ponteiro de cada uma delas, utilizando sacos plásticos. Em seguida, os extratos das amostras individuais ou agrupadas em conjuntos de cinco, foram inoculados de forma mecânica em mudas de mamoeiro mantidas em casa de vegetação para a recuperação biológica do PRSV-P. A partir de sete dias após a inoculação os mamoeiros foram avaliados com base na expressão de sintomas e a infecção foi confirmada mediante o PTA-ELISA.

Os extratos das folhas de abobrinha de moita, melancia e pepino também foram analisados por PTA-ELISA para a detecção do PRSV-W, ZYMV e ZLCV.

Esse ensaio foi repetido quatro vezes durante o período de abril de 2009 a agosto de 2010, com diferentes números de plantas conforme indicado na Tabela 2.

Na mesma área experimental também foi avaliada a infecção natural de plantas de abobrinha de moita cv. Caserta cultivadas a diferentes distâncias (de aproximadamente 5, 15, 20, 35, 35, 70, 75, 80 metros) das plantas de mamoeiro com mosaico (Figura 2).

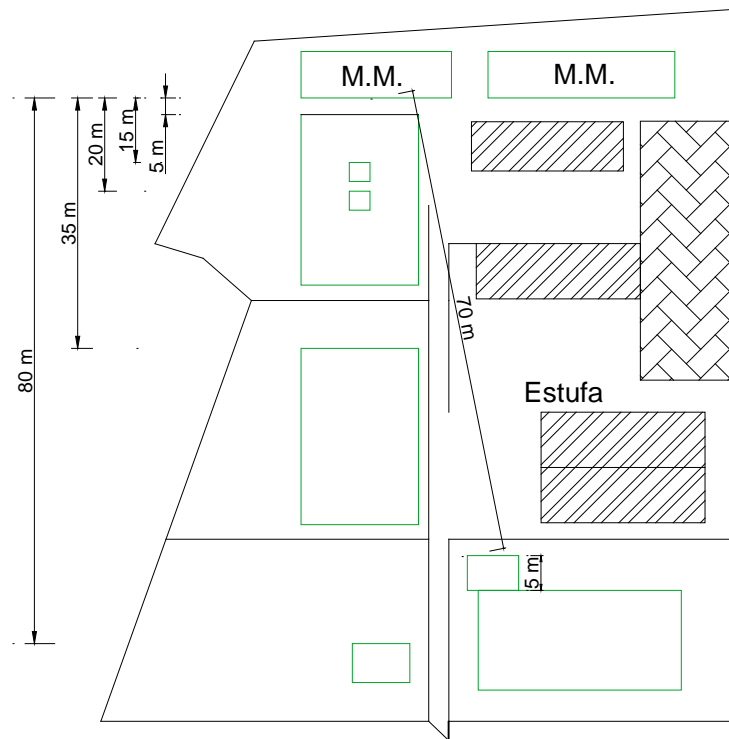


Figura 2 - Croqui da área experimental do Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP, Piracicaba-SP, onde foram conduzidos os ensaios de exposição de três espécies de cucurbitáceas à infecção natural com o PRSV-P; M.M. = Área de mamoeiros infectados com o PRSV-P

Amostras das folhas dos ponteiros das plantas de abobrinha de moita foram coletadas no final do ciclo da cultura (aproximadamente 60 dias) para os testes de recuperação biológica do PRSV-P em mamoeiro e posterior confirmação da infecção conforme descrito acima.

Em todos os ensaios a infecção das cucurbitáceas com o PRSV-W, ZYMV e ZLCV foi analisada por PTA-ELISA com antissoros policlonais contra esse vírus.

### **2.2.7.2 Rinópolis, SP e Linhares, ES**

Em Rinópolis, SP e Linhares, ES, foram realizados simultaneamente testes de exposição com abobrinha de moita, em plantios de mamoeiro severamente infectados com o PRSV-P.

Aproximadamente 40 a 60 dias após a exposição em campo, amostras foliares de cada uma das plantas foram coletadas e acondicionadas individualmente em sacos plásticos. As amostras foram trazidas para a ESALQ/USP, Piracicaba para análise.

Extratos foliares foram inoculados individualmente ou em grupos de 3 e 4 plantas em plantas teste de mamoeiros em casa de vegetação para a recuperação do PRSV-P. A infecção do mamoeiro foi avaliada conforme descrito anteriormente.

As amostras também foram submetidas a testes de PTA-ELISA para a detecção da infecção com o PRSV (W ou P), ZYMV, ZLCV.

### **2.2.8 Avaliação da incidência de afídeos**

Durante os ensaios de exposição em campo das cucurbitáceas ao PRSV-P em Piracicaba, foi quantificada a população de afídeos capturados em uma armadilha do tipo Moericke pintada internamente com látex sintético amarelo e contendo água e detergente líquido para romper a tensão superficial (RIVAS-VALENCIA, 2008). A armadilha foi colocada sobre tijolos na parte central do campo de mamoeiros infectados, a uma altura de 18 cm do solo. Os afídeos foram coletados duas vezes por semana, como realizado por Barbosa e Paguio (1982b), e conservados em álcool a 70% para posterior contagem e identificação dos principais gêneros e espécies com a ajuda de um estereomicroscópio. Para a identificação dos afídeos utilizou-se material bibliográfico de fonte diversa, como aquela do Jadot (1975) e Blackman e Eastop (2000).



## 2.3 Resultados

### 2.3.1 Infecção experimental de cucurbitáceas com o PRSV-P

No primeiro ensaio de avaliação da susceptibilidade da abobrinha de moita cv. Caserta aos diferentes isolados do PRSV-P, 85% das plantas inoculadas mecanicamente apresentaram sintomas de infecção, o que foi confirmado por PTA-ELISA e recuperação biológica dos isolados em mamoeiro. No segundo ensaio mais de 90% das plantas de abobrinha de moita inoculadas com os diferentes isolados do PRSV-P apresentaram sintomas. A infecção foi confirmada por PTA-ELISA. No entanto, somente a metade das plantas teste de mamoeiros utilizados para a recuperação biológica apresentou sintomas, indicando possíveis falhas na transmissão mecânica. A detecção do vírus por PTA-ELISA foi mais eficiente em extratos de folhas dos ponteiros do que dos cotilédones. O mesmo, no geral, ocorreu para o teste de recuperação biológica. Os dados não permitem explicação para esse fato.

As plantas de melancia cv. Crimson Sweet também foram susceptíveis à infecção com os diferentes isolados do PRSV-P em pelo menos um dos dois ensaios realizados com cada isolado. No primeiro ensaio 55% das plantas inoculadas apresentaram sintomas. A infecção foi confirmada por PTA-ELISA e recuperação dos isolados do vírus para mamoeiros. No segundo ensaio, todas as plantas inoculadas com os diferentes isolados do vírus apresentaram sintomas, porém somente em 73% das plantas foi confirmada a presença do vírus por PTA-ELISA. O PRSV-P foi recuperado somente de 20% das plantas sintomáticas.

Na avaliação da susceptibilidade do pepino híbrido Primepack Plus aos isolados do PRSV-P, no primeiro ensaio não houve manifestação de sintomas e não foi possível detectar o vírus diretamente nas plantas inoculadas mediante PTA-ELISA. Porém, se obtiveram resultados positivos na recuperação biológica do vírus a partir dos cotilédones e folhas dos ponteiros de 25% das plantas. No segundo ensaio foi possível identificar plantas com sintomas (40%) quando inoculadas com os isolados de Linhares e de Piracicaba. Em 27% das plantas inoculadas foi confirmada a presença do vírus por PTA-ELISA. Também foi possível a recuperação biológica a partir dos cotilédones e folhas dos ponteiros de algumas plantas.

Tabela 1 - Testes de transmissão mecânica de cinco isolados do *Papaya ringspot virus* – type P (PRSV-P) a quatro cucurbitáceas. Infecção avaliada por PTA-ELISA e recuperação do vírus para mamoeiros

Espécie	Isolado do PRSV-P	Ensaio I					Ensaio II				
		Inf. / Inoc.	PTA - ELISA		R.B. <sup>d</sup>		Inf. / Inoc.	PTA - ELISA		R.B.	
			C <sup>b</sup>	P <sup>c</sup>	C	P		C	P	C	P
<b><i>Citrullus lanatus</i></b>	Florianópolis - SC	2/3 <sup>a</sup>	0/3	2/3	0/3	2/3	3/3	0/3	3/3	0/3	0/3
	Linhares-ES	2/3	1/3	2/3	1/3	2/3	3/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	Petrolina-PE	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	3/3	0/3	3/3	0/3	1/3
	Piracicaba-SP	3/3	0/3	3/3	0/3	1/3	3/3	0/3	3/3	0/3	0/3
	Rinópolis-SP	3/3	0/3	3/3	0/3	3/3	3/3	0/3	2/3	0/3	2/3
<b>Total</b>	<b>10/18</b>	<b>1/18</b>	<b>10/18</b>	<b>1/18</b>	<b>8/18</b>	<b>15/15</b>	<b>0/15</b>	<b>11/15</b>	<b>0/15</b>	<b>3/15</b>	
<b><i>Cucumis sativus</i></b>	Florianópolis - SC	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	Linhares-ES	0/3	0/3	0/3	3/3	1/3	3/3	1/3	1/3	0/3	1/3
	Petrolina-PE	0/8	0/8	0/8	0/8	2/8	0/3	0/3	0/3	2/3	0/3
	Piracicaba-SP	0/3	0/3	0/3	2/3	0/3	3/3	3/3	3/3	0/3	1/3
	Rinópolis-SP	0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3
<b>Total</b>	<b>0/20</b>	<b>0/20</b>	<b>0/20</b>	<b>5/20</b>	<b>5/20</b>	<b>6/15</b>	<b>4/15</b>	<b>4/15</b>	<b>3/15</b>	<b>2/15</b>	
<b><i>Cucurbita pepo</i></b>	Florianópolis - SC	2/3	n.t.	2/3	n.t.	1/3	3/3	0/3	3/3	0/3	0/3
	Linhares-ES	3/3	0/3	3/3	0/3	3/3	3/3	0/3	3/3	0/3	1/3
	Petrolina-PE	6/9	0/9	6/9	1/2 <sup>e</sup>	7/9	2/3	0/3	2/3	1/3	3/3
	Piracicaba-SP	3/3	0/3	3/3	1/3	3/3	3/3	0/3	3/3	0/3	2/3
	Rinópolis-SP	3/3	0/3	0/3	3/3	3/3	2/2	n.t. <sup>f</sup>	2/2	n.t.	1/2
<b>Total</b>	<b>17/20</b>	<b>0/18</b>	<b>14/21</b>	<b>5/11</b>	<b>17/20</b>	<b>13/14</b>	<b>0/11</b>	<b>13/14</b>	<b>1/12</b>	<b>7/14</b>	
<b><i>Cucurbita maxima</i></b>	Florianópolis - SC	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	Linhares-ES	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	Petrolina-PE	0/11	0/11	0/11	0/11	0/11	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	Piracicaba-SP	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	Rinópolis-SP	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
<b>Total</b>	<b>0/23</b>	<b>0/23</b>	<b>0/23</b>	<b>0/23</b>	<b>0/23</b>	<b>0/15</b>	<b>0/15</b>	<b>0/15</b>	<b>0/15</b>	<b>0/15</b>	

<sup>a</sup> Número de plantas infectadas / número de plantas inoculadas.

<sup>b</sup> C: Cotilédones.

<sup>c</sup> P: Folhas do ponteiro.

<sup>d</sup> RB: Recuperação biológica para mamoeiros com extratos de cotilédones (C) e folhas do ponteiro (P).

<sup>e</sup> Amostras compostas de três a cinco plantas.

<sup>f</sup> n.t.: não testado.

Em abóbora moranga cv. Exposição não foi possível detectar infecção com os diferentes isolados do PRSV-P mediante manifestação de sintomas, PTA-ELISA, nem pela recuperação biológica.

Na figura 3 são apresentadas imagens dos sintomas virais encontrados nas cucurbitáceas susceptíveis ao PRSV-P.



Figura 3 – Sintomas em folhas de melancia, pepino e abobrinha de moita inoculadas mecanicamente com isolado do *Papaya ringspot virus* – type P

### 2.3.2 Infecção natural de cucurbitáceas com o PRSV-P

#### 2.3.2.1 Piracicaba, SP

Os resultados de quatro ensaios independentes de exposição de abobrinha de moita, pepino e melancia à infecção natural com o PRSV-P, quando plantadas nas entrelinhas de mamoeiros com mosaico (Figura 4), estão apresentados na tabela 2.

No primeiro ensaio, o teste de recuperação do PRSV-P para mamoeiros foi feito com extratos de amostras compostas de três a cinco plantas. O vírus não foi detectado em nenhuma planta de pepino e de melancia. No entanto, foi detectado em seis amostras compostas por cinco plantas de abobrinha de moita. Nos demais ensaios as plantas foram analisadas individualmente. Novamente, em nenhum deles foi detectada a presença do PRSV-P em 46 plantas de pepino e 28 plantas de melancia. Somente a abobrinha de moita mostrou-se mais uma vez suscetível à infecção natural com esse potyvirus. Entre 42 plantas expostas no período, 17 (40,5%) foram infectadas com o PRSV-P.



Figura 4 – Abobrinha de moita, melancia e pepino cultivadas entre linhas de mamoeiros infectados com o *Papaya ringspot virus* – type P, em Piracicaba, SP

Tabela 2 – Infecção natural de três espécies de cucurbitáceas, plantadas nas entrelinhas de mamoeiros com mosaico, com o *Papaya ringspot vírus* – type P (PRSV-P), avaliada por meio da recuperação biológica do vírus para mamoeiros, seguida da confirmação por PTA-ELISA

<b>Espécie</b>	<b>Nº de plantas</b>	<b>Período de exposição</b>	<b>Nº mamoeiros inf./ Nº mamoeiros inoc.</b>	<b>PTA - ELISA</b>
<i>Cucurbita pepo</i>	45		6/9	6/9
<i>Cucumis sativus</i>	11	09/04 - 02/06/09	0/3	0/3
<i>Citrillus lanatus</i>	9		0/3	0/3
<i>Cucurbita pepo</i>	27		15/27	15/27
<i>Cucumis sativus</i>	20	18/09 - 17/11/09	0/20	0/20
<i>Citrillus lanatus</i>	12		0/12	0/12
<i>Cucurbita pepo</i>	6		0/6	0/6
<i>Cucumis sativus</i>	13	16/02 - 29/03/10	0/13	0/13
<i>Citrillus lanatus</i>	6		0/6	0/6
<i>Cucurbita pepo</i>	9		2/9	2/9
<i>Cucumis sativus</i>	13	26/06 - 08/08/10	0/13	0/13
<i>Citrillus lanatus</i>	10		0/10	0/10

<sup>a</sup> A recuperação biológica em mamoeiro no período 09/04 - 02/06/09 foi realizada com amostras compostas de três a cinco plantas.

Por ocasião da coleta das amostras para análise da infecção com o PRSV-P, as plantas de alguns ensaios também foram analisadas para a detecção de três vírus que normalmente infectam cucurbitáceas: PRSV-W, ZYMV e ZLCV. Os resultados dessa análise, que foi realizada por PTA-ELISA, estão na tabela 3. De uma maneira geral, constatou-se que nos três primeiros ensaios ocorreu infecção com os potyvirus PRSV-W e ZYMV e com o tospovirus ZLCV.

Tabela 3 – Infecção natural de três espécies de cucurbitáceas, plantadas nas entrelinhas de mamoeiros com mosaico, com o *Papaya ringspot virus* – type W ou P, *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) e *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV), avaliada por PTA-ELISA

Espécie	N° de plantas	Período de exposição	N° plantas inf./ N° plantas testadas		
			PRSV	ZYMV	ZLCV
<i>Cucurbita pepo</i>	45		9/45	4/45	n.t.
<i>Cucumis sativus</i>	11	09/04 - 02/06/09	0/11	0/11	n.t.
<i>Citrillus lanatus</i>	9		0/9	7/9	n.t.
<i>Cucurbita pepo</i>	27		n.t.	n.t.	n.t.
<i>Cucumis sativus</i>	20	18/09 - 17/11/09	n.t.	n.t.	n.t.
<i>Citrillus lanatus</i>	12		5/12	3/12	3/12
<i>Cucurbita pepo</i>	6		2/6	6/6	2/6
<i>Cucumis sativus</i>	13	16/02 - 29/03/10	1/13	12/13	2/13
<i>Citrillus lanatus</i>	6		1/6	4/06	4/06
<i>Cucurbita pepo</i>	9		n.t.	n.t.	n.t.
<i>Cucumis sativus</i>	13	26/06 - 08/08/10	n.t.	n.t.	n.t.
<i>Citrillus lanatus</i>	10		n.t.	n.t.	n.t.

n.t.: não testado.

Os resultados da infecção natural de plantas de abobrinha de moita com o PRSV-P, quando cultivadas a distâncias aproximadas de cinco a 80 metros dos mamoeiros com mosaico, estão na tabela 4. Nenhum dos extratos foliares das 285 plantas analisadas, em amostras compostas (plantio do 09/04/2009) e individuais (demais plantios), causou infecção nas plantas-teste de mamoeiros. Extratos foliares dessas amostras também não reagiram com antissoro contra PRSV-P em teste de PTA-ELISA.

Tabela 4 – Infecção natural da abobrinha de moita cv. Caserta, plantadas próximas de mamoeiros com mosaico, com o *Papaya ringspot virus* – type P (PRSV-P). Avaliação por meio da recuperação biológica do vírus para mamoeiros, seguida da confirmação por PTA-ELISA

Distância aprox. da fonte de inóculo (m)	Período de exposição	N° de plantas	N° mamoeiros inf./ N° mamoeiros inoc.		PTA - ELISA
5 - 25	6/10 – 1/12/09	40	0/8 <sup>a</sup>	0/8 <sup>a</sup>	0/8 <sup>a</sup>
15 - 17	26/06 – 08/08/10	5	0/5	0/5	0/5
20 - 22	26/06 – 08/08/10	3	0/3	0/3	0/3
35 - 55	6/10 – 1/12/09	60	0/12 <sup>a</sup>	0/12 <sup>a</sup>	0/12 <sup>a</sup>
35 - 55	18/10 – 30/11/09	60	0/60	0/60	0/60
70 - 75	16/02 – 29/03/10	14	0/14	0/14	0/14
75 - 90	22/04 – 04/07/10	91	0/45 <sup>b</sup>	0/45	0/45
80 - 82	16/02 – 29/03/10	12	0/12	0/12	0/12

<sup>a</sup> Recuperação biológica e PTA-ELISA realizados com amostras compostas de cinco plantas.

<sup>b</sup> Recuperação biológica e PTA-ELISA realizados com amostras compostas de duas plantas.

Mais uma vez, em diversas plantas foi detectada a infecção com os potyvirus PRSV-W e ZYMV e com o tospovirus ZLCV (Tabela 5).

Tabela 5 – Infecção natural da abobrinha de moita cv. Caserta, plantadas próximas de mamoeiros com mosaico, à infecção com o *Papaya ringspot virus* – type W ou P, *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) e *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV), avaliada por PTA-ELISA

Distância aprox. da fonte de inóculo (m)	Período de exposição	N° de plantas	N° plantas infectadas / N° plantas avaliadas		
			PRSV	ZYMV	ZLCV
5 - 25	6/10 – 1/12/09	40	n.t.	n.t.	n.t.
15 - 17	26/06 – 08/08/10	5	n.t.	n.t.	n.t.
20 - 22	26/06 – 08/08/10	3	n.t.	n.t.	n.t.
35 - 55	6/10 – 1/12/09	60	n.t.	n.t.	n.t.
35 - 55	18/10 – 30/11/09	60	12/18 <sup>a</sup>	18/18 <sup>a</sup>	17/18 <sup>a</sup>
70 - 75	16/02 – 29/03/10	14	07/13	14/14	08/14
75 - 90	22/05 – 04/07/10	130	10/130	10/130	88/130
80 - 82	16/02 – 29/03/10	12	0/12	12/12	05/12

<sup>a</sup> Análise realizada com amostras compostas de três e quatro plantas.

### 2.3.2.2 Rinópolis, SP e Linhares, ES

Das folhas dos ponteiros da abobrinha de moita cultivadas dentro de plantações comerciais de mamoeiros infectados em Rinópolis – São Paulo foi possível identificar plantas infectadas com o PRSV-P por meio do teste de recuperação biológica para mamoeiros e posterior análise desses por PTA-ELISA (Tabela 6). Os resultados positivos foram encontrados no segundo (13-50%) e no terceiro (7,5%) ensaios realizados nessa localidade. No único ensaio realizado em Linhares (ES) o resultado foi negativo para as 14 plantas analisadas (Tabela 6).

Por meio da análise de PTA-ELISA realizada em algumas amostras detectou-se porcentagens variáveis de infecção com o ZYMV, PRSV e o ZLCV (Tabela 7), indicando a atividade de vetores.

Tabela 6 – Infecção natural da abobrinha de moita cv. Caserta, plantadas nas entre linhas de mamoeiros com mosaico, com o *Papaya ringspot vírus* - type P (PRSV-P)

Localidade	Período de exposição	Nº de plantas	Nº mamoeiros inf. / Nº mamoeiros inoc.	PTA - ELISA
Rinópolis-SP	20/04 - 17/06/09	30	0/10 <sup>a</sup>	0/10 <sup>a</sup>
Rinópolis-SP	05/06 - 23/07/09	46	06/12 <sup>a</sup>	06/12 <sup>a</sup>
Rinópolis-SP	05 /09 - 05/11/09	40	03/40	03/40
Linhares-ES	05/10 - 20/11/09	14	0/14	0/14

<sup>a</sup> A recuperação biológica e o teste de PTA-ELISA foram realizados com amostras compostas de três plantas.

Tabela 7 – Infecção natural da abobrinha de moita cv. Caserta, plantadas nas entre linhas de mamoeiros, com o *Papaya ringspot virus* – type W ou P, *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) e *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV), avaliada por PTA-ELISA

Localidade	Período de exposição	Nº de plantas	Nº plantas inf./ Nº plantas testadas		
			PRSV	ZYMV	ZLCV
Rinópolis-SP	20/04 - 17/06/09	30	13/30	19/30	0/6
Rinópolis-SP	05/06 - 23/07/09	46	11/12 <sup>a</sup>	n.t.	n.t.
Rinópolis-SP	05 /09 - 05/11/09	40	17/40	05/40	02/40
Linhares-ES	05/10 - 20/11/09	14	n.t.	n.t.	n.t.

<sup>a</sup> Análise realizada com amostras compostas de três plantas

### 2.3.3 Afídeos capturados

O número de afídeos capturados durante os meses de maio a novembro de 2009 em uma armadilha amarela localizada entre os mamoeiros com mosaico. Foram identificados 11 gêneros e/ou espécies de afídeos, reconhecidas como vetores do PRSV-P na literatura (Tabela 8).

Tabela 8 – Número total de afídeos capturados durante os ensaios de exposição de cucurbitáceas ao PRSV-P no campo, durante o ano 2009 na ESALQ, Piracicaba, SP

Gênero / espécie	Maio	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro
<i>Acyrtosiphum pisum</i>	1	0	1	0	0	0	0
<i>Aphis</i> spp. <sup>a</sup>	44	7	51	49	139	147	165
<i>Liphaphis erysimi</i>	4	0	12	3	40	48	31
<i>Macrosiphum</i> spp.	0	0	1	0	0	3	1
<i>Myzus persicae</i> <sup>a</sup>	7	1	7	17	27	21	7
<i>Pentalonia nigronervosa</i>	0	1	1	1	1	1	1
<i>Rhopalosiphum</i> spp.	4	1	2	0	0	1	0
<i>R. rufoabdominalis</i>	4	0	0	0	1	0	0
<i>Toxoptera aurantii</i>	1	0	0	1	1	5	0
<i>Toxoptera citricida</i> <sup>a</sup>	2	0	0	4	4	11	0
<i>Uroleucon</i> spp.	16	1	21	1	7	1	0
<b>Outras</b>	60	9	49	46	48	90	29
<b>TOTAL</b>	143	20	145	122	268	328	234

<sup>a</sup> Estas espécies e algumas do gênero *Aphis* são consideradas eficientes vetoras do PRSV-P no Brasil.

Além do gênero *Aphis*, as espécies com maior número de capturas foram: *Liphaphis erysimi* e *Myzus persicae*, esse último uma reconhecida espécie vetora do PRSV-P. Os dados indicam bastante variabilidade no número de capturas, sendo que durante o mês de junho se obteve a menor quantidade de afídeos capturados.



## 2.4 Discussão

A susceptibilidade de espécies de cucurbitáceas ao vírus do mosaico do mamoeiro é fato amplamente conhecido, pois já foi relatada em diversos trabalhos realizados por investigadores de diferentes partes do globo (BOKX, 1965; CHIN; AHMAD; TENNANT 2007; CONOVER, 1962, 1964a, 1964b; COSTA; CARVALHO; KAMADA, 1969; GONZÁLES; TRUJILLO; VEGAS, 2003; LAKSHMINARAYANA et al., 2007; LANA, 1980; LIMA; GOMES, 1975; LOPEZ, 1972; MAGDALITA; BAYOT; VILLEGAS, 1990; SÁNCHEZ DE LUQUE; MARTÍNEZ-LÓPEZ, 1976, 1977; TRIPATHY et al., 2008; YEH; GONSALVES; PROVVIDENTI, 1984; ZETTLER et al., 1968). Os resultados do presente trabalho, de transmissão experimental de cinco isolados do vírus do mosaico do mamoeiro de diferentes regiões do Brasil para quatro espécies de cucurbitáceas (Tabela 1), estão de acordo com aqueles relatados na literatura nacional e internacional. A abobrinha de moita (*C. pepo* cv. Caserta) foi a espécie mais suscetível à infecção com os cinco isolados do vírus, seguida da melancia (*C. lanatus* cv. Crimson Sweet) e do pepino (*C. sativus*, híbrido Primepack Plus). A moranga (*C. maxima* cv. Exposição) mostrou-se resistente à infecção com esses isolados do PRSV-P. Lopez (1972), na Venezuela, também constatou que *C. pepo* cv. Early Prolific Straighneck foi a mais suscetível à infecção com o vírus do mosaico do mamoeiro, entre dez espécies de cucurbitáceas inoculadas mecanicamente. Constatou também que o cultivar Big-Tom de *C. maxima* foi resistente à infecção com esse potyvirus. A maior suscetibilidade de *C. pepo* (cv. Small Sugar e cv. Senator) à inoculação mecânica com o vírus do mosaico do mamoeiro também foi constatada por Sánchez de Luque e Martínez-López (1976, 1977) na Colômbia. Esses autores, no entanto, constataram que a suscetibilidade à infecção pode variar em função do método de inoculação, sendo superior quando as plantas foram inoculadas por meio do afídeo *M. persicae*.

A recuperação dos diferentes isolados do PRSV-P que infectaram as três espécies suscetíveis de cucurbitáceas, para mamoeiros, por meio da inoculação mecânica foi possível em diversos casos (Tabela 1). A recuperação sempre foi mais eficiente quando se utilizou extratos de folhas dos ponteiros do que de folhas cotiledonares previamente inoculadas com o vírus. Os mamoeiros infectados desenvolveram sintomas severos de

mosaico, acompanhado por deformações foliares e estrias oleosas na haste; sintomas esses característicos desse vírus nessa espécie vegetal.

As plantas de abobrinha de moita, pepino e melancia infectadas com os cinco isolados brasileiros do PRSV-P de uma maneira geral não exibiram sintomas severos de mosaico, acompanhados de bolhas, deformações e reduções do limbo foliar, como aqueles usualmente induzidos nessas espécies pelo vírus do mosaico do mamoeiro - estirpe melancia (*Papaya ringspot virus - type W*) (KUROZAWA et al., 2005). Em alguns casos notou-se inclusive certa remissão de sintomas quando as plantas ficaram mais velhas. A indução de sintomas fracos em diversas espécies de cucurbitáceas infectadas com isolados do PRSV-P também foi relatada em experimentos dessa natureza realizados na Índia (CAPOOR; VARMA, 1958), Colômbia (SÁNCHEZ DE LUQUE; MARTÍNEZ-LÓPEZ, 1976), e no Brasil (BARBOSA; PAGUIO, 1982; REZENDE, dados não publicados), embora casos de sintomas severos em algumas espécies de cucurbitáceas também tenham sido observados (CAPOOR; VARMA, 1958; LÓPEZ, 1972).

A exposição de plantas de abobrinha de moita cv. Caserta, melancia cv. Crimson Sweet e pepino híbrido Primepack Plus à infecção natural com o vírus do mosaico do mamoeiro, quando cultivadas nas entrelinhas de mamoeiros com mosaico em Piracicaba, SP, mostrou que somente as plantas de abobrinha de moita foram suscetíveis à infecção com esse vírus, uma vez que este foi recuperado de diversas plantas para mamoeiros por meio da inoculação mecânica (Tabela 2). A suscetibilidade da abobrinha de moita à infecção natural com o PRSV-P também foi constatada nos plantios nas entrelinhas de mamoeiros com mosaico na região de Rinópolis, SP, mas não em Linhares, ES (Tabela 6). O PRSV-P, no entanto, não foi recuperado de nenhuma planta de pepino e de melancia cultivada entre os mamoeiros com mosaico em Piracicaba, SP, sugerindo que essas espécies exibem resistência de campo (THE TERMINOLOGY SUB-COMMITTEE OF THE FEDERATION OF BRITISH PLANT PATHOLOGISTS, 1973) a esse potyvirus, uma vez que foram suscetíveis à infecção quando inoculadas mecanicamente em casa de vegetação. No entanto, não se pode excluir a possibilidade de a ausência de recuperação do vírus dessas duas espécies estar associada à inoculação mecânica, visto que nos testes em casa de vegetação

nem sempre foi possível recuperar esse vírus de algumas plantas sintomáticas de pepino e de melancia. Outros testes de exposição dessas duas espécies no campo, seguidos da recuperação do vírus por meio de afídeos vetores ou métodos moleculares específicos para a detecção do PRSV-P, poderão confirmar ou não a suposta resistência de campo.

Fato interessante, todavia, foi a ausência de recuperação do PRSV-P de plantas de abobrinha de moita cv. Caserta quando cultivadas a distâncias variáveis de cinco a 80 metros dos mamoeiros com mosaico no campo experimental em Piracicaba, SP. Esse resultado é semelhante ao encontrado por Moreira (2009) que avaliou a infecção natural dessa mesma variedade ao PRSV-P em dois ensaios independentes, com 340 plantas cada um, cultivadas nas proximidades de mamoeiros com mosaico na mesma localidade. Nos testes de recuperação do PRSV-P para mamoeiros, por meio da inoculação mecânica de extratos de folhas de amostras compostas, não foi possível recuperá-lo de nenhuma das 680 plantas testadas. No entanto, análises de RT-PCR para a detecção dos genes da proteína capsidial (cp) e da inclusão citoplasmática (CI) indicaram a presença desse último em RNA total extraído conjuntamente de folhas de 12 plantas de mamoeiro inoculadas com extratos foliares de abobrinha de moita. A autora concluiu que pelo menos uma planta de abobrinha de moita, entre as quarenta das amostras compostas, estava infectada com o vírus do mosaico do mamoeiro.

É importante relatar que durante os ensaios na região de Rinópolis, SP, foram analisadas 15 amostras de plantas de abóbora rasteira com mosaico, identificada pelo produtor como sendo da variedade Paulistinha, plantadas aproximadamente a 10 metros de distancia de mamoeiros doentes. Os testes de recuperação indicaram que uma planta estava infectada com o PRSV-P. Também foram analisadas outras 12 amostras de abóbora rasteira de variedade não identificada, plantadas distantes de pomares de mamoeiro com mosaico, e o PRSV-P não foi recuperado de nenhuma delas. Os potyvirus ZYMV e o PRSV-W também foram detectados por PTA-ELISA em plantas das duas coletas, sendo que o segundo vírus foi detectado em 14 das 15 plantas da variedade Paulistinha.

É interessante observar que em grande número das cucurbitáceas analisadas nos diferentes ensaios de exposição em campo em Piracicaba e Rinópolis, foi possível

detectar a presença dos potyvirus PRSV-W e ZYMV que normalmente infectam essas plantas (Tabelas 3 e 5). Mais ainda, no campo experimental em Piracicaba foi confirmada a ocorrência de diversas espécies de afídeos durante o período em que alguns ensaios de exposição foram realizados, entre elas as espécies *Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, *A. fabae*, *A. coreopsidis* e *Toxoptera citricida*, relatadas como vetoras do PRSV-P no Brasil (REZENDE; MARTINS, 2005). Em conjunto esses dados revelam que as cucurbitáceas estiveram igualmente expostas às fontes de inóculo dos três potyvirus (PRSV-P, PRSV-W e ZYMV), bem como aos afídeos capazes de transmiti-los.

A infecção natural de cucurbitáceas com o PRSV-P, avaliada por meio de testes de recuperação do vírus de plantas sintomáticas para mamoeiros, por meio de inoculação mecânica, tem se mostrado muito variável, conforme relato de diversos autores (CONOVER, 1964; BARBOSA; PAGUIO, 1982; REZENDE, 1985; MAGDALITA et al., 1990; CHIN; AHMAD; TENNANT, 2007; MOREIRA, 2009) e os obtidos nesse trabalho. Esses resultados sugerem que a importância das cucurbitáceas, atuando como fonte de inóculo, na epidemiologia do mosaico do mamoeiro, pode ser muito pequena ou quase nula. Também depende da espécie e/ou variedade, uma vez que a susceptibilidade dessas ao PRSV-P é muito variável. Costa et al. (1969) e Barbosa e Paguio (1982b) apontaram que a fonte primária do inóculo do PRSV-P para os novos plantios de mamoeiro e representada principalmente por mamoeiros com mosaico. Essa opinião é compartilhada por J.A.M. Rezende (informação pessoal).

Considerando-se a hipótese de que o PRSV-P originou-se do PRSV-W, conforme sugerido por Bateson et al. (1994), pode-se supor que o primeiro, amplamente adaptado ao mamoeiro em todas as regiões do mundo onde ocorre, não necessita mais das cucurbitáceas para a sua perpetuação (GONSALVES, 1998). Dessa forma essas passam a ter pouca importância como fonte de inóculo do PRSV-P. Caso semelhante foi relatado para o vírus do intumescimento da haste do cacauero (*Cocoa swollen shoot virus*) em Gana (Owusu, 1983). Segundo o autor, as primeiras epidemias originaram-se de hospedeiros selvagens do vírus. Depois que este se disseminou amplamente nas plantações de cacaueros, os hospedeiros selvagens passaram a ter pouca importância como fontes de inóculo.

Apesar da aparente reduzida importância das cucurbitáceas como fonte de inóculo do PRSV-P, nas regiões produtoras de mamão em que o controle do mosaico é feito principalmente por meio do “roguing” sistemático de plantas doentes, é sempre aconselhável evitar cucurbitáceas nas proximidades da plantação e, principalmente nas entrelinhas.



### 3 CONCLUSÕES

As espécies de cucurbitáceas estudadas apresentaram suscetibilidade variável à infecção com o PRSV-P;

A abobrinha de moita (*Cucurbita pepo* cv. Caserta) foi a única espécie encontrada naturalmente infectada com o PRSV-P quando cultivada entre linhas de mamoeiro com mosaico;

Não foi possível recuperar o PRSV-P de plantas abobrinha de moita (*Cucurbita pepo* cv. Caserta) cultivadas afastadas dos mamoeiros infectados.





## REFERÊNCIAS

- ADSUAR, J. **Studies on virus diseases of papaya (*Carica papaya*) in Puerto Rico.** IV: Preliminary studies on the host range of papaya mosaic. Rio Piedras: University of Puerto Rico, 1950. 5 p. (Technical Paper, 5).
- BARBOSA, F.R.; PAGUIO, O.R. Identificação do vírus da mancha anelar do mamoeiro no Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 7, p. 37-45, 1982a.
- \_\_\_\_\_. Vírus da mancha anelar do mamoeiro: incidência e efeito na produção do mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 7, p. 365-373, 1982b.
- BATESON, M.; HENDERSON, J.; CHALEEPROM, W.; GIBBS, A.J.; DALE, J.L. *Papaya ringspot potyvirus*: isolate variability and the origin of PRSV type P (Australia), **Journal of General Virology**, London, v. 75, p. 3547–3543, 1994.
- BATESON, M.; LINES, R.E.; REVILL, P.; CHALEEPROM, W.; HA, C.V.; GIBBS, A.J.; DALE, J.L. On the evolution and molecular epidemiology of the potyvirus Papaya ringspot virus, **Journal of General Virology**, London, v. 83, p. 2575–2585, 2002.
- BAYOT, R.G.; VILLEGAS, V.N.; MAGDALITA, P.M.; JOVELLANA, M.D.; ESPINO, T.M.; EXCONDE, S.B. Seed transmissibility of *Papaya ringspot virus*. **Philippine Journal of Crop Science**, Manila, v.15, p. 107-111, 1990.
- BLACKMAN, R.L.; EASTOP, V.F. **Aphids on the world's crops: an identification and information guide.** 2<sup>nd</sup> ed. New York: John Wiley; The Natural History Museum. 2000. 467 p.
- BOKX, J.A. de. Host and electron microscopy of two papaya viruses. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 49, n. 9, 742-746, 1965.
- CAPOOR, S.P.; VARMA, P.M. A mosaic disease of papaya in Bombay. **Indian Journal of Agricultural Science**, New Delhi, v. 28, p. 225-233, 1958.
- CHIN, M.; AHMAD, M.H.; TENNANT, P. *Momordica charantia* is a weed host reservoir for *Papaya ringspot virus* type P in Jamaica. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 91, n. 11, p. 1518, 2007. (Disease Notes).
- CONOVER, R.A. Virus diseases of the papaya in Florida. **Phytopathology**, Lancaster, v. 52, p. 6, 1962.
- \_\_\_\_\_. Distortion ringspot, a severe virus disease of papaya in Florida. **Proceedings of the Florida State for Horticultural Society**, Miami, v. 77, p. 440-444, 1964a.
- \_\_\_\_\_. Mild mosaic and faint mottle ringspot, two papaya virus diseases of minor importance in Florida. **Proceedings of the Florida State for Horticultural Society**, Miami, v. 77, p. 444-448, 1964b.

\_\_\_\_\_. A program for development of papayas tolerant to the distortion ringspot virus. **Proceedings of the Florida State for Horticultural Society**, Miami, v. 89, p. 229-231, 1976.

CONOVER, R.A.; LITZ, R.E. Progress in breeding papayas with tolerance to *Papaya ringspot virus*. **Proceedings of the Florida State for Horticultural Society**, Miami, v. 91, p. 182-184, 1978.

COSTA, A.S.; CARVALHO, A.M.; KAMADA, S. Constatado o mosaico do mamoeiro em São Paulo. **O agrônomo**, Campinas, v. 21, p. 38-43, 1969.

COSTA, C. L. As inter-relações vírus-afídeos vetores e o controle da mancha anelar do mamoeiro causado pelo *Papaya ringspot virus* – P. In: MARTINS, D.S. (Ed.). **Papaya Brasil: mercado e inovações tecnológicas para o mamão**. Vitória: INCAPER, 2005. cap. 13, p. 181-191.

DANTAS, J.L.L. Introdução: mamão produção. In: TRINIDADE, A.V. **Mamão produção: aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa Mandioca e Fruticultura; Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. p. 5-13.

DANTAS, J.L.L.; MORALES, C.F.G. Melhoramento genético do mamoeiro. In: MENDES, L.G.; DANTAS, J.L.L.; MORALES, C.F.G. (Ed.). **Mamão no Brasil**. Cruz das Almas: EUFBA; EMBRAPA, CNPMF, 1996. p. 121-143.

DREW, R.A.; SIAR, S.V.; O'BRIEN, C.M.; SAJISE, A.G.C. Progress in backcrossing between *Carica papaya* x *Vasconcellea quercifolia* intergeneric hybrids and *C. papaya*. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v. 46, p. 419-424, 2006.

FAUQUET, C.M.; MAYO, M.A.; MANILOFF, J.; DEESELBERGER, U.; BALL, L.A. (Ed.). **Virus taxonomy: eighth report of the International Committee of Taxonomy of Viruses**. New York: Elsevier Academic Press, 2005. 1162 p.

FERMIN, G.; INGLESSIS, V.; GARBOZA, C.; RANGEL, S.; DAGERT, M.; GONSALVES, D. Engineered resistance against *Papaya ringspot virus* in Venezuelan transgenic papayas. **Plant Disease**, St. Paul, v. 88, p. 516-522, 2004.

FERREIRA, S.A.; PITZ, K.Y.; MANSCHARDT, R.; ZEE, F.; FITCH, M.; GONSALVES, D. Virus coat protein transgenic papaya provides practical control of *Papaya ringspot virus* in Hawaii. **Plant Disease**, St. Paul, v. 86, p. 101-105, 2002.

FNP CONSULTORIA E AGROINFORMATIVOS. Mamão. In: \_\_\_\_\_. **AGRIANUAL 2010: anuário da agricultura brasileira**. São Paulo, 2010. p. 368 – 374.

GONSALVES, D. Control of *Papaya ringspot virus*: a case of study. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 36, p. 415-437, 1998.

GONSALVES, D.; ISHII, M. Purification and serology of *Papaya ringspot virus*. **Phytopathology**, Lancaster, v. 70, p. 1028-1032, 1980.

GONZÁLES, A.; TRUJILLO, G.; VEGAS, A. Uso de hospedantes diferenciales para la identificación de cepas del virus de la mancha anillada de la lechosa (PRSV). **Revista Mexicana de Fitopatología**, Obregón, v. 21, p. 67-70, 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, v. 29, p. 687-689, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola**: pesquisa mensal de acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. Rio de Janeiro, 2008. Disponível em: <[www.ibge.gov.br/servidor\\_arquivos.htm](http://www.ibge.gov.br/servidor_arquivos.htm)>. Acesso em: 15 out. 2010.

JENSEN, D.D. Papaya virus diseases with special reference to *Papaya ringspot virus*. **Phytopathology**, v. 39, p. 191-211, 1949a.

\_\_\_\_\_. Papaya ringspot virus and its insect vector relationships. **Phytopathology**, Lancaster, v. 39, p. 212-220, 1949b.

KALLESHWARASWAMY, C.M.; KRISHNA KUMAR, N.K. Transmission efficiency of Papaya ringspot virus by three aphid species. **Phytopathology**, Lancaster, v. 98, n. 5, p. 541-546, 2008.

KALLESHWARASWAMY, C.M.; KRISHNA KUMAR, N.K.; DINESH, M.R.; CHANDRASHEKAR, K.N.; MANJUNATHA, M. Evaluation of insecticides and oils on aphids vectors for the management of *Papaya ringspot virus* (PRSV). **Karnataka Journal of Agricultural Science**, Bangalore, v. 22, n. 3, p. 552-553, 2009. Supplemental Issue.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A.; REZENDE, J.A.M. Doenças das cucurbitáceas (abóbora, abobrinha, chuchu, melancia, melão, moranga, pepino). In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. cap. 32, p. 293-302.

LAKSHMINARAYANA REDDY; NAGARAJU, C.N.; KUMAR, M.K.P.; VENKATARAVANAPPA, V. Transmission and host range of the papaya ring spot virus (PRSV). **Journal of Plant Disease Sciences**, Akola, v. 2 n. 1, p. 9-13. 2007.

LANA, A.F. Transmission and properties of viruses isolated from *Carica papaya* in Nigeria. **Journal of Horticultural Science**, Wellesbourne, v. 55, n. 2, 191-197, 1980.

LIMA, J.A.A.; GOMES, M.N.S. Identificação de *Papaya ringspot virus* em Fortaleza, Ceará. **Fitossanidade**, Fortaleza, v. 1 n. 2, p. 56-59, 1975.

LIMA, R.C.A., LIMA, J.A.A., SOUZA Jr., M.T., PIO-RIBEIRO, G.; ANDRADE, G.P. Etiologia e estratégias de controle de viroses do mamoeiro no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 689-702, 2001.

LIMA, R.C.A.; SOUZA Jr., M.T.; PIO-RIBEIRO, G.; LIMA, J.A.A. Sequences of the coat protein gene from Brazilian isolates of *Papaya ringspot virus*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 174-180, 2002.

LOPEZ, O.P. Identificación de las virosis de la lechosa (*Carica papaya* L.) en Venezuela. **Revista de la Facultad de Agricultura**, Caracas, v. 6, p. 5-36, 1972.

MAGDALITA, P.M.; BAYOT, R.G.; VILLEGAS, V.N. *Diplocyclos palmatus* L. Jeffrey: a new weed host of *Papaya ringspot virus*. **Philippine Journal of Crop Science**, Manila, v. 15, p. 163-168, 1990.

MAGDALITA, P.M.; PERSLEY, D.M.; GODWIN, I.D.; DREW, R.A.; ADKINS, S.W. Screening *Carica papaya* x *C. cauliflora* hybrids for resistance to papaya ringspot virus-type P. **Plant Pathology**, London, v. 46, p. 837-841, 1997.

MARTINS, D.S.; VENTURA, J.A. Vetores de doenças do mamoeiro: monitoramento e controle. **Papaya Brasil**, p. 115-128, 2007. Disponível em: <[www.fundagres.org.br/downloads/pi-mamao/2007\\_cap\\_07.pdf](http://www.fundagres.org.br/downloads/pi-mamao/2007_cap_07.pdf)>. 07 feb. 2010

MORA-AGUILERA, G.; NIELO-ANGEL, D.; CAMPBELL, C. L.; TÉLIZ, D.; GARCÍA, E. Multivariate comparison of *Papaya ringspot* epidemics. **Phytopathology**, Lancaster, v. 86, p. 70-78, 1996.

MOREIRA, A.G. **Avaliações da infecção natural de *Cucúrbita pepo* cv. Caserta e *C. maxima* cv. Exposição com o *Papaya ringspot virus* - type P (PRSV-P)**. 2009. 162 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

MOREIRA, A.G.; REZENDE, J.A.M.; BURIOLLA, J.E. Baixa infecção natural de abobrinha de moita com o *Papaya ringspot virus* P (PRSV-P). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, p. S-36, 2008. Apresentado no CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 31., 2008, Campinas.

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, v. 26, p. 90-92, 2001.

MOWAT, W. P.; DAWSON, S. Detection of plant viruses by ELISA using crude sap extracts and unfractionated antisera. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 15, p. 233-247, 1987.

NAMETH, S.T.; DODDS, J.A.; PAULUS, A.O.; LAEMMLEN, F.F. Cucurbit viruses: An ever-changing problem. **Plant Disease**, St. Paul, v. 70, p. 8-12, 1986.

NG, J.C.K.; FALK, B.W. Virus-vector interactions mediating nonpersistent and semipersistent transmission of plant viruses. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 44, p. 183-212, 2006.

OWUSU, G.K. The cocoa swollen shoot disease problem in Ghana. In: PLUMB, R.T.; THRESH, J.M. (Ed.). **Plant virus epidemiology: the spread and control of insect-borne viruses**. Australia: Federation of British Plant Pathologists; Blackwell Scientific Publications, 1983. p. 73-83.

PERRING, T.M.; GRUENHAGEN, N.M.; FARRAR, C.A. Management of plant viral diseases through chemical control of insect vector. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 44, p. 457-481, 1999.

POWELL, G.; TOSH, C.R.; HARDIE, J. Host plant selection by aphids: behavioral, evolutionary, and applied perspectives. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 51, p. 309–30, 2006.

PURCIFULL, D.E.; HIEBERT, E. Serological distinction of *Watermelon mosaic virus* isolates. **Phytopathology**, Lancaster, v. 69, p. 112-116, 1979.

REZENDE, J.A.M. **Tentativas de premunização para o controle do mosaico do mamoeiro**. 1985. 64 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1985.

REZENDE, J.A.M.; COSTA, A.S. Produção de lesões locais em *Chenopodium quinoa* pelo Potyvirus causador do mosaico do mamoeiro no Brasil depende da origem das sementes. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 11, p. 39-42, 1985

REZENDE, J.A.M.; MARTINS, M.C. Doenças do mamoeiro (*Carica papaya*). In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. cap. 49, p. 435-443.

RIVAS-VALENCIA, P.; MORA-AGUILERA, G.; TÉLIZ-ORTIZ, D.; MORA-AGUILERA, A. Evaluación de barreras vegetales en el manejo integrado de la mancha anular del papayo en Michoacán, México. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 4, p. 307-312, 2008.

SÁNCHEZ DE LUQUE, C.; MARTÍNEZ-LÓPEZ, G. Identificación de plantas hospedantes del virus de la mancha anular de la papaya. **Fitopatología Colombiana**, Bogotá, v. 6, n. 3, p. 112-121, 1977.

\_\_\_\_\_. Reconocimiento del virus de la mancha anular de la papaya (*Carica papaya* L.) en Colombia. **Revista del Instituto Colombiano Agropecuario**, Bogotá, v. 11, n. 3, p. 205-220, 1976.

TENNANT, P.F.; GONSALVES, C.; LING, K.S., FITCH, M.M.M.; MANSARDT, R., SLIGHTOM, J.L.; GONSALVES, D. Differential protection against *Papaya ringspot virus* isolates in coat protein gene transgenic papaya and classically cross-protected papaya. **Phytopathology** 84:1359-1366. 1994.

THE TERMINOLOGY SUB-COMMITTEE OF THE FEDERATION OF BRITISH PLANT PATHOLOGISTS. **A guide to the use of terms in plant pathology**. Wallingford: CAB, 1973. 36 p. (Phytopatological Papers, 17).

TOSCANO, N.C.; WYMAN, J.; KIDO, K.; JOHNSON, H.; MAYBERRY, K. Reflective mulches foil insects. **California Agriculture**, Berkeley, v. 33, p. 17-19, 1979.

TRIPATHY, S.; SUZUKI, J.Y.; FERREIRA, S.A.; GONSALVES, D. *Papaya ringspot virus* – P: characteristics, pathogenicity, sequence variability and control. **Molecular Plant Pathology**, London, v. 9, p. 269-280, 2008.

YEH, S.D.; GONSALVES, D. Evaluation of induced mutants of *Papaya ringspot virus* for control by cross protection. **Phytopathology**, Lancaster, v. 74, p. 1086-1091, 1984.

YEH, S.D.; GONSALVES, D.; PROVVIDENTI, R. Comparative studies on host range and serology of *Papaya ringspot virus* and *Watermelon mosaic virus* I. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 74, p. 1081-1085, 1984.

YEH, S.D.; GONSALVES, D.; WANG, H.L.; NAMBA, R.; CHIU, R.J. Control of *Papaya ringspot virus* by cross protection. **Plant Disease**, St. Paul, v. 72, p. 375-380, 1988.

YEH, S.D.; JAN, F.J.; CHIANG, C.H.; DOONG, P.J.; CHEN, M.C.; CHUNG, P.H. Complete nucleotide sequence and genetic organization of *Papaya ringspot virus* RNA. **Journal of General Virology**, London, v. 73, p. 2531-2541, 1992.

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 five viruses infecting cucurbits in the state of São Paulo, Brazil. **Plant Disease**, St. Paul, v. 84, p. 516-520, 2000.

ZAMBOLIM, E.M.; SOUZA Jr., M.T.S. Controle das doenças causadas por vírus em mamoeiro. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R. do; MONTEIRO, A.J.A.; COSTA, H. **Controle de doenças de plantas fruteiras**. Viçosa: UFV, 2002. v. 2, cap. 17, p. 1171-1204.

ZETTLER, F.W.; EDWARDSON, J.R.; PURCIFULL, D.E. Ultramicroscopic differences in inclusions of *Papaya mosaic virus* and *Papaya ringspot virus* correlated with differential aphid transmission. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 58, p. 332-335, 1968.

WANG, H.L.; YEH, S.D.; CHIU, R.J.; GONSALVES, D. 1987. Effectiveness of cross-protection by mild mutants of papaya ringspot virus for control of ringspot disease of papaya in Taiwan. **Plant Disease**, St. Paul, v. 71, p. 491-497, 1987.