

Premunização de abobrinha de moita para o controle do mosaico causado pelo vírus do mosaico do mamoeiro-estirpe melancia

Antonio Ismael Inácio Cardoso*
Marcelo Agenor Pavan

Faculdade de Ciências Agronômicas/UNESP, Departamento de Produção Vegetal,
Caixa Postal 237, 18603-970, Botucatu-SP.

*Autor para correspondência

Aceito para publicação em 22/5/2001

Resumo

Com o objetivo de estudar o efeito protetor de um isolado fraco de PRSV-W em plantas de abobrinha-de-moita (cv. Caserta) contra a infecção por estirpes fortes foi instalado um experimento no município de São Manuel, SP. O delineamento foi de blocos ao acaso, com quatro repetições e dez plantas por parcela, onde foram avaliados cinco tratamentos: 1-testemunha submetida a infecção natural, 2-premunização com um isolado fraco, 3 e 4-premunização com o isolado fraco seguido de desafio com um isolado forte 5 e 10 dias após, respectivamente, e 5-inoculação com o isolado forte. Plantas inoculadas com o isolado forte apresentaram redução drástica na produção de frutos imaturos, sendo que todos os frutos colhidos apresentaram sintomas de mosaico. O desafio 5 dias após a premunização também reduziu a produção, enquanto que a premunização, isolada ou seguida de desafio 10 dias após, aumentou a produção de frutos imaturos comercializáveis em

relação às plantas infectadas com o isolado forte e com infecção natural (testemunha). Em quase todas as plantas premunizadas que apresentaram sintomas de mosaico detectou-se infecção com ZYMV pelo teste ELISA. Concluiu-se que a premunização foi eficiente em aumentar a produção e qualidade dos frutos, protegendo as plantas mesmo quando inoculadas com o isolado forte dez dias após a inoculação do isolado fraco.

Unitermos: *Cucurbita pepo*, PRSV-W, proteção cruzada, produção.

Summary

This trial set out to study the effectiveness of preimmunization for the control of PRSV-W in winter bush squash (cv. Caserta) in São Manuel, SP. Four replications with ten plants each were set out in a randomized completed block design in order to evaluate five treatments: 1-control submitted to natural infection, 2-preimmunization with a mild strain, 3 and 4-preimmunization followed by inoculation with a potent strain five and ten days after, respectively, 5-inoculation with a potent strain. The potent strain reduced drastically the fruit yield, and all harvested fruits showed mosaic symptoms. Preimmunization, alone or followed by inoculation with a potent strain ten days after, increased the marketable immature fruit yield in relation to the control and plants inoculated with a potent strain, but when a challenge inoculation with the potent strain was carried out only five days after preimmunization, there was a reduction in the immature fruit yield. Most preimmunized plants that showed mosaic symptoms were infected by ZYMV, detected by ELISA test. It was concluded that preimmunization was efficient, increasing fruit yield and quality, even when the plants were inoculated with a potent strain ten days after the inoculation of the mild strain.

Key words: *Cucurbita pepo*, PRSV-W, cross-protection, yield.

Introdução

A abobrinha de moita (*Cucurbita pepo*) cultivar Caserta, também conhecida como abobrinha italiana, é uma das principais cucurbitáceas cultivadas no Brasil (Cardoso, 1998). Um dos grandes problemas na produção desta abobrinha é a sua suscetibilidade a viroses, sendo o vírus do mosaico do mamoeiro-estirpe melancia ("papaya ringspot potyvirus – type Watermelon" – PRSV-W) um dos mais importantes, pela sua predominância em diversas regiões produtoras do país e pelos prejuízos significativos que causa à produção (Pavan et al., 1989; Yuki, 1990; Lima e Vieira, 1992; Yuki et al., 2000). A ausência de resistência ou tolerância em *C. pepo*, aliada à dificuldade de controle dessa doença por outros métodos de controle, torna importante o uso da premunização (ou proteção cruzada) nessa espécie (Rezende, 1996).

A premunização de plantas é uma prática que pode ser aplicada a qualquer cultura de propagação vegetativa ou por semente, desde que o isolado premunizante seja fraco, estável, de valor protetor e tenha efeito negligenciável no desenvolvimento e produção das plantas (Kunkel, 1934; Rast, 1972; Müller e Costa, 1977; Rezende, 1996). No caso de plantas propagadas por sementes deve-se considerar, ainda, o custo da inoculação das mudas a cada geração (Müller et al., 1991).

Estudos para o controle do mosaico (PRSV-W) na abobrinha de moita por premunização foram iniciados em Campinas, SP, quando foi verificado que alguns isolados, obtidos a partir de bolhas que apareciam em folhas com mosaico, protegeram plantas da cultivar Caserta contra a infecção com um isolado forte do vírus (Rezende et al., 1992a, b). Rezende (1996) observou que um isolado, denominado de PRSV-W-1, causava sintomas fracos estáveis durante todo o período das observações, sem prejudicar as plantas e protegendo-as eficientemente contra os efeitos dos isolados normais.

superinoculados. Com isto, a premunização apresentou reflexos diretos e positivos na produção das plantas de abobrinha de moita 'Caserta', com aumentos de produção na ordem de 10 a 633%.

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito protetor de um isolado fraco de PRSV-W em plantas de abobrinha de moita (cv. Caserta) contra a infecção por isolados fortes na produção de frutos imaturos.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental São Manuel, localizada no município de São Manuel-SP, pertencente à Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu. A localidade apresenta as seguintes coordenadas geográficas: longitude 48°34'W, latitude 22°44'S e uma altitude média de 750 m.

Foi utilizado o delineamento experimental de blocos ao acaso, com cinco tratamentos e quatro repetições, sendo cada parcela constituída por 10 plantas. Utilizou-se a cultivar Caserta, no espaçamento de 1,2 x 0,5m.

Para garantia do estande ideal, evitando-se falhas e desuniformidade no desenvolvimento inicial das plantas, foram produzidas mudas em bandejas de poliestireno expandido de 128 células, para posterior transplante no local definitivo.

A testemunha (tratamento 1) foi constituída por plantas não inoculadas, submetidas à infecção natural. A premunização (tratamento 2) foi realizada na fase de folhas cotiledonares, quando as plantas ainda estavam nas bandejas de poliestireno expandido. O "desafio" (ou superinoculação) foi realizado com um isolado forte do PRSV-W aos cinco (plantas ainda nas bandejas) e dez dias (plantas já sob condições de campo) após a premunização, nos tratamentos 3 e 4, respectivamente. No

tratamento 5, as plantas foram inoculadas com o isolado forte ainda na fase cotiledonar.

A semeadura foi realizada no dia 12 de março de 1998 e o transplante, 14 dias após. A premunização (tratamentos 2, 3 e 4), assim como a inoculação com o isolado forte (tratamento 5) foram realizadas oito dias após a semeadura.

O isolado fraco (PRSV-W-1) utilizado foi cedido pelo Prof. Dr. Jorge A.M. Rezende, do Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP, Piracicaba, SP, sendo o mesmo utilizado em trabalhos anteriores (Rezende et al., 1992a; Rezende, 1996).

A técnica de inoculação utilizada foi a mecânica convencional, ou seja, os inóculos foram obtidos de folhas de abobrinha infectadas (isolado fraco ou forte, de acordo com o tratamento), macerando-as em almofariz de porcelana, em presença de tampão de fosfato de potássio 0,02 M, pH 7,0, acrescido de sulfito de sódio na mesma molaridade.

As inoculações foram feitas nas folhas cotiledonares das plantas, exceto o desafio dez dias após a premunização, quando foi feita na primeira folha definitiva, pois os cotilédones já estavam em senescência. As folhas foram polvilhadas com carbureto de silício ("carborundum"), friccionadas com gase umedecida no extrato e, em seguida, foram lavadas com água para retirar o excesso de "carborundum" e de inóculo.

Não foram consideradas as influências de adubação e irrigação, pois todos os tratamentos foram conduzidos da mesma maneira. A irrigação foi por aspersão e a adubação constou de uma aplicação de composto (5 L/m²) e adubo formulado 4-14-8 (150 g/m²) incorporados ao solo durante o preparo dos canteiros. As adubações em cobertura foram realizadas com nitrocálcio (5g/planta) a cada 15 dias.

Foram avaliados os seguintes parâmetros: a) produção de frutos total e comercialável por planta (número e peso); b) peso

médio de fruto; c) produção de frutos com sintomas de mosaico (porcentagem).

As colheitas de frutos imaturos, com cerca de 15 cm de comprimento, foram realizadas em intervalos de aproximadamente 2 dias, iniciando-se no dia 4 de maio e terminando no dia 22 de junho de 1998.

Também realizou-se outras duas avaliações: a) número de plantas com sintomas de mosaico em cada parcela, contadas semanalmente, a partir de 22/04 até 03/06/98; b) serologia: foram realizados dois testes ELISA, o primeiro no dia 22 de abril e o segundo em 03 de junho de 1998. Na primeira época foram coletadas amostras de folhas por parcela, enquanto que na segunda, foram feitas amostras de plantas individuais que apresentavam sintomas de mosaico nos tratamentos 1 (infecção natural) e 2 (premunização). Os testes foram realizados para detecção dos vírus PRSV-W e o vírus do mosaico amarelo da abobrinha de moita ("zucchini yellow mosaic virus" – ZYMV), que são os mais comuns na Fazenda Experimental São Manuel.

Após as análises de variância as médias foram comparadas pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade. Os resultados referentes a incidência (%) de frutos com sintomas de mosaico foram transformados em arcoseno da raiz quadrada para serem analisados.

Resultados e Discussão

As inoculações realizadas foram eficientes na infecção das plantas de abobrinha, conforme confirmação pelo teste ELISA 27 dias após o transplante (Tabela 1). Não foi detectada infecção por ZYMV em nenhum dos tratamentos nesta amostragem, nem por PRSV-W na testemunha (tratamento 1). Nos demais tratamentos o teste foi positivo para o PRSV-W, visto que as

plantas foram inoculadas com este vírus, quer seja o isolado forte (tratamento 5) ou fraco (tratamentos 2, 3 e 4).

Na figura 1 está apresentada graficamente a evolução da incidência de plantas sintomáticas, com avaliações semanais. Estes resultados são a média de todas as repetições. Todas as plantas que foram inoculadas com o isolado forte do PRSV-W já apresentavam sintomas severos de mosaico 33 dias após a inoculação, enquanto que o tratamento onde se realizou o desafio cinco dias após a premunização mais de 80% das plantas apresentavam sintomas nesta data, chegando a 98% no final do período avaliado. Os tratamentos onde as plantas foram premunizadas com ou sem desafio dez dias após apresentaram comportamento semelhante entre si, com poucas plantas sintomáticas 33 dias após a premunização (cerca de 5%) e chegando a cerca de 48% no final das avaliações, sempre com

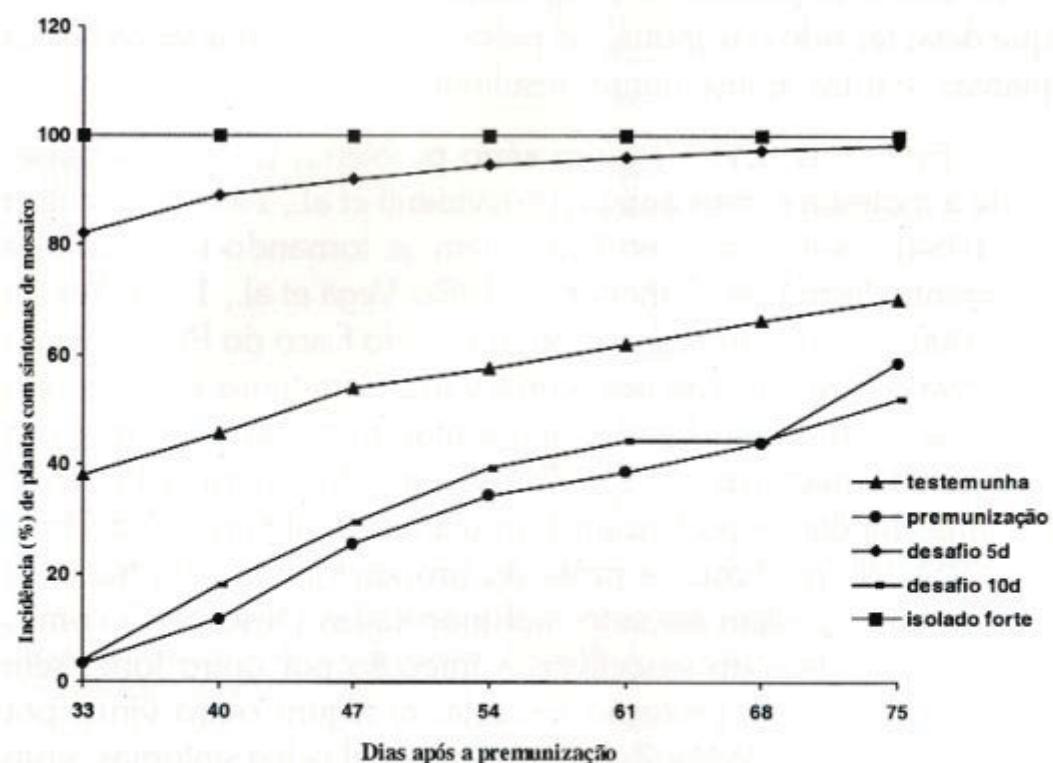


FIGURA 1: Evolução da porcentagem de plantas com sintomas de mosaico nos diferentes tratamentos. São Manuel-SP, FCA/UNESP, 1998.

menor porcentagem de plantas com sintomas de mosaico, quando comparado à testemunha não inoculada que apresentou cerca de 38 e 68%, aos 33 dias e final do período avaliado, respectivamente. Estes resultados demonstram a viabilidade da premunização na produção de frutos de abobrinha, pois houve redução e atraso na evolução do aparecimento dos sintomas de mosaico.

- Das plantas que apresentaram sintomas de mosaico ao final do ciclo, foram avaliadas doze do tratamento 1 e onze do tratamento 2 pelo teste ELISA (Tabela 1). No tratamento 1, com infecção natural, seis plantas apresentaram resultado positivo para o PRSV-W e seis negativo. Para o ZYMV nove plantas apresentaram resultado positivo e três negativo. Neste tratamento três plantas apresentaram infecção mista, isto é, com ambos os vírus. No tratamento 2 todas as plantas reagiram positivamente ao PRSV-W como era de se esperar, visto que foram inoculadas com o isolado fraco. Das onze plantas, nove apresentaram infecção com o ZYMV, que deve ter sido o responsável pelos sintomas visualizados nestas plantas, e duas apresentaram resultado negativo.

Este vírus (ZYMV) é um sério problema em outros países onde a moléstia é mais antiga (Provvidenti et al., 1984; Purcifull et al., 1984), assim como no Brasil vem se tornando importante e altamente destrutivo (Caner et al., 1992; Vega et al., 1995; Yuki et al., 2000), e a premunização com o isolado fraco do PRSV-W não é efetiva contra infecção por outros vírus. Entretanto, duas plantas (plantas 4 e 6) premunizadas apresentaram sintomas de mosaico e resultado negativo para o ZYMV e positivo para o PRSV-W. Algumas hipóteses podem ser formuladas: a) algum isolado forte do PRSV-W "quebrou" a proteção proporcionada pelo fraco; b) estas plantas podem ter sido mal inoculadas ("escapes") com o isolado fraco ficando suscetíveis a infecção por outro forte, sem haver "quebra" da proteção cruzada; c) algum outro vírus, por exemplo CMV ou WMV-2, foi o responsável pelos sintomas, visto que mais de 20 vírus diferentes já foram encontrados na natureza

Premunização de abobrinha para o controle do mosaico

TABELA 1: Resultados do teste ELISA para infecção pelos vírus PRSV-W e ZYMV em duas amostragens. São Manuel-SP, FCA/UNESP, 1998.

Época da amostragem	Tratamento	Bloco ou Planta	PRSV-W	ZYMV
1ª época (22/04/98)	1 - Testemunha	Blocos A a D ¹	- ²	-
	2 - Premunização	Blocos A a D ¹	+	-
	3 - Prem. + desafio 5 dias após	Blocos A a D ¹	+	-
	4 - Prem. + desafio 10 dias após	Blocos A a D ¹	+	-
	5 - Inoculação com estirpe forte	Blocos A a D ¹	+	-
2ª época (03/06/98)	1 - Testemunha	Planta 1	-	+
		Planta 2	-	+
		Planta 3	+	+
		Planta 4	+	-
		Planta 5	-	+
		Planta 6	+	+
		Planta 7	+	-
		Planta 8	-	+
		Planta 9	-	+
		Planta 10	+	+
		Planta 11	+	-
		Planta 12	-	+
2 - Premunização	Planta 1	+	+	
	Planta 2	+	+	
	Planta 3	+	+	
	Planta 4	+	-	
	Planta 5	+	+	
	Planta 6	+	-	
	Planta 7	+	+	
	Planta 8	+	+	
	Planta 9	+	+	
	Planta 10	+	+	
	Planta 11	+	+	

¹ Todos os blocos (A, B, C e D) apresentaram o mesmo resultado.

² Teste sorologico - Antissoro contra PRSV-W e ZYMV: (-) resultado negativo, (+) resultado positivo.

infectando plantas dessa família (Lovisolo, 1980), sendo que desses, oito já foram encontrados no Brasil até o final de 1995 (Rezende, 1996); d) reversão do isolado fraco para forte, conforme relatado para outros isolados (Rezende, 1996).

Na tabela 2 estão apresentadas as médias dos resultados obtidos na produção de frutos imaturos, ou seja, número de frutos por planta (total e comerciável), porcentagem de frutos com sintomas de mosaico, peso médio de fruto e produção (g) de frutos total e comercializável por planta, com as respectivas comparações pelo teste de Duncan (5%).

TABELA 2: Número e produção médias de frutos imaturos total e comercializável, porcentagem de frutos com sintomas de mosaico e peso médio de fruto. São Manuel-SP, FCA/UNESP, 1998.

Tratamento	Nº de frutos		% Frutos com mosaico	Produção (g)		Peso médio de fruto (g)
	Total	Comerciável		Total	Comerciável	
Testemunha	4,8 a	3,2 b	34,1 b	610,6 a	428,3 b	126,0 a
Premunização	4,8 a	4,2 a	12,6 c	581,0 a	511,7 ab	120,0 a
Desafio 5 dias	2,7 b	1,5 c	43,3 b	280,5 b	157,6 c	103,9 b
Desafio 10 dias	5,0 a	4,4 a	12,4 c	644,4 a	576,4 a	127,8 a
Isolado forte	1,0 c	0,0 d	100,0 a	94,5 c	0,0 d	98,2 b
C.V.	11,0 %	14,6%	10,0 %	15,3 %	18,1 %	7,6 %

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan (5%).

Quanto a produção total de frutos por planta observou-se que a menor produção, tanto em número como peso, foi obtida no tratamento onde as plantas foram inoculadas com o isolado forte ainda na fase cotiledonar, com um fruto por planta. A seguir vem o tratamento onde foi realizada a premunização seguida da inoculação com o isolado forte (desafio) cinco dias após. Os outros três tratamentos (testemunha, premunização e desafio dez dias após) não diferiram entre si, com cerca de cinco frutos (ou 600g) por planta.

Os tratamentos que apresentaram maior produção comercial foram a premunização e o desafio dez dias após, com mais de quatro frutos por planta, seguidos da testemunha, depois do desafio cinco dias após e finalmente pela inoculação com o isolado forte, onde não se obteve nenhum fruto comercial.

Além da menor produção de frutos, os tratamentos inoculação com o isolado forte e desafio aos cinco dias, também apresentaram frutos menores, com cerca de 20% a menos de peso médio que os outros tratamentos.

Quando as plantas foram inoculadas somente com o isolado forte, todos os frutos produzidos apresentavam sintomas de mosaico, inutilizando-os para a comercialização. Quando o desafio foi realizado cinco dias após a premunização, quase metade dos frutos colhidos apresentaram sintomas, não diferindo da testemunha não inoculada. Os tratamentos com menor porcentagem de frutos com sintomas de mosaico foram a premunização e o desafio dez dias após, com cerca de 12%.

Os resultados demonstraram claramente o grande efeito prejudicial de uma infecção precoce por um isolado forte do PRSV-W, que pode levar a perda de 100% da produção comercial (tratamento 5). A premunização foi eficiente na proteção das plantas, levando a um aumento no número de frutos comercializáveis por planta, quando comparado à testemunha submetida a infecção natural. O efeito protetor não foi eficiente quando as plantas foram inoculadas com o isolado forte cinco dias após a premunização, mas foi eficiente quando este desafio foi realizado dez dias após. Portanto, as plantas, após realizar-se a inoculação com o isolado fraco, devem ficar dez dias sem serem infectadas com um isolado forte para que o isolado fraco proteja a planta. Seria interessante serem testados períodos intermediários, entre 6 e 9 dias, para se saber o período exato a partir do qual as plantas já estão protegidas. Um controle eficiente dos insetos vetores neste período deve ser realizado para que a premunização

seja eficaz no controle do mosaico causado pelo PRSV-W. Os resultados com o desafio realizado dez dias após a premunização demonstraram a efetividade do tratamento, pois todas as plantas deste tratamento foram inoculadas mecanicamente com um isolado forte do PRSV-W e tiveram um comportamento semelhante às plantas apenas premunizadas e muito superiores às plantas inoculadas somente com este isolado forte.

Quando se compara os resultados da premunização, da testemunha submetida a infecção natural e a inoculação com o isolado forte, os resultados são muito semelhantes aos obtidos por Rezende (1996), com o mesmo isolado fraco, demonstrando, mais uma vez, a efetividade do controle pela utilização da premunização com o isolado fraco na produção e qualidade dos frutos da abobrinha 'Caserta', mesmo em condições climáticas e, principalmente, de inóculo natural diferentes.

Os resultados permitem concluir que a premunização com o isolado fraco do PRSV-W foi eficiente para proteção das plantas de abobrinha, proporcionando um aumento na produção comercial de frutos imaturos. Entretanto, não foi eficiente para proteção das plantas quando estas foram inoculadas com o isolado forte cinco dias após a premunização ou quando foram infectadas naturalmente pelo ZYMV.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Prof. Dr. Jorge A.M. Rezende por ceder o isolado fraco de PRSV-W utilizado na premunização e a FUNDUNESP pelo auxílio financeiro (processo 022/97-DFP).

Referências bibliográficas

- Caner, J.; Galleti, S.R.; Lotz, I.P.M.; Oliveira, J.M. 1992. Natural infection of cucumber (*Cucumis sativus*) by zucchini yellow

- mosaic virus (ZYMV) in Santa Catarina, Brazil. In.: **Anais do VI Encontro Nacional de Virologia**, São Lourenço, Brasil, p. 36.
- Cardoso, A.I.I. 1998 A cultura da abobrinha de moita. In: Goto, R.; Tivelli, S.W. (ed). **Produção de hortaliças em ambiente protegido: condições subtropicais**. Fundação Editora da Unesp, São Paulo, p.105-135.
- Kunkel, L.O. 1934. Studies on acquired immunity with tobacco and aucuba mosaics. **Phytopathology**, **24**: 437-466.
- Lima, J.A.A.; Vieira, A.C. 1992. Distribuição do vírus do mosaico da abóbora em municípios cearenses e gama de hospedeiros de um isolado. **Fitop. Bras.**, **17**: 112-114.
- Lovisolo, O. 1980. Virus and viroid diseases of cucurbits. **Acta Horticulturae**, **88**: 33-71.
- Müller, G.W.; Costa, A.S. 1977. Tristeza control in Brazil by preimmunization with mild strains. **Proc. Intern. Soc. Citriculture**, **3**: 868-872.
- Müller, G.W.; Rezende, J.A.M.; Costa, A.S. 1991. Premunização no controle de fitoviroses: situação atual, problemas e perspectivas. **Fitop. Bras.**, **16**: 9.
- Pavan, M.A.; Carvalho, M.G.; Fernandes, J.J. 1989. Distribuição do vírus do mosaico da melancia (papaya ringspot virus-W) nas principais regiões produtoras de pepino (*Cucumis sativus*) e abobrinha (*Cucurbita pepo*) de Minas Gerais. **Fitop. Bras.**, **14**: 84-85.
- Provvidenti, R.; Gonsalves, D.; Humaydan, H.S. 1984. Occurrence of zucchini yellow mosaic virus in cucurbits from Connecticut, New York, Florida and California. **Plant Dis.**, **68**: 443-486.
- Purcifull, D.; Adlearz, W.C.; Simone, G.W.; Hiebert, E.; Christie, S.R. 1984. Serological relationship and partial characterization of zucchini yellow mosaic virus isolated from squash in Florida. **Plant Dis.**, **68**: 230-233.

- Rast, A.T.B. 1972. MII-16, an artificial symptomless mutant of tobacco mosaic virus for seedling inoculation on tomato crops. *Neth. J. Pl. Path.*, **28**: 110-112.
- Rezende, J.A.M. 1996. **Premunização de duas espécies e um híbrido de Cucurbita para o controle do mosaico causado pelo vírus do mosaico do mamoeiro - estirpe melancia**. Tese de Livre Docência, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil, 88pp.
- Rezende, J.A.M.; Yuki, V.A.; Vega, J.; Scagliusi, S.M.M.; Costa, A.S. 1992a. Bolhas podem fornecer isolados fracos também do potyvirus do mosaico da abobrinha de moita (VMM-Me). *Summa Phytopathologica*, **18**: 11.
- Rezende, J.A.M.; Yuki, V.A.; Vega, J.; Scagliusi, S.M.M.; Costa, A.S. 1992b. Uso da premunização no controle do mosaico da abobrinha causado pelo vírus do mosaico do mamoeiro - estirpe melancia em abobrinha de moita. *Summa Phytopathologica*, **18**: 12.
- Vega, J.; Rezende, J.A.M.; Yuki, V.A. 1995. Detecção do vírus do mosaico amarelo da abobrinha de moita no Brasil: caracterização parcial de um isolado encontrado em São Paulo. *Fitop. Bras.*, **20**(1): 72-79.
- Yuki, V.A. 1990. **Epidemiologia e controle do mosaico (VMM-Me) em abobrinha de moita**. Tese de doutorado, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil, 84pp.
- Yuki, V.A.; Rezende, J.A.M.; Kitajima, E.W.; Barroso, P.A.V.; Kuniyuki, H.; Groppo, G.A.; Pavan, M.A. 2000. Occurrence, distribution and relative incidence of five viruses infecting cucurbits in the State of São Paulo, Brasil. *Plant Disease*, **84**: 516-520.