

# **Detecção de formas replicativas de vírus em plantas de mamoeiro inoculadas com látex de plantas afetadas pela meleira**

**Cristiane de J. Barbosa<sup>1</sup>**  
**Epaminondas do Patrocínio<sup>1</sup>**  
**Tuffi C. Habibe<sup>1</sup>**  
**Antonio S. Nascimento<sup>1</sup>**  
**Walter J. R. Matrangolo<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Embrapa Mandioca e Fruticultura, Caixa Postal 07, 44380-000,  
Cruz das Almas, BA.

Aceito para publicação em 07/06/2000

## **Resumo**

A meleira é atualmente a mais importante doença do mamoeiro. A sua etiologia ainda não está esclarecida, apesar de terem sido encontradas partículas de vírus em plantas afetadas. Neste trabalho avaliou-se a suscetibilidade à doença através de inoculação mecânica em 30 espécies vegetais das famílias: Leguminosae, Chenopodiaceae, Solanaceae, Passifloraceae, Gramíneae, Compositae, Euphorbiaceae, Caricaceae, Malvaceae e Pedaliaceae. Também foi testada a transmissão da meleira para plântulas sadias de mamoeiro via ferimentos com cortes e agulhas, e por enxertia de encostia de brotações laterais. As indicadoras foram avaliadas quanto a presença de sintomas por sessenta dias. Para monitorar as inoculações no mamoeiro foram efetuadas extrações de RNA de fita dupla. Nenhuma das indicadoras desenvolveu sintomas, entretanto, nos mamoeiros

inoculados via ferimento com agulhas foi detectado a presença de RNAs de fita dupla com peso aproximado de  $6 \times 10^6$  D.

**Unitermos:** doença, viroses, mamão

### Summary

The sticky disease was first reported in the south of Bahia in 1980 and today it is the most important disease of papaya. Its etiology is still little known in spite of the fact that isometric virus particles have been found in affected plants. In this work, we have tried to find other hosts for this disease. The plants were mechanically inoculated using leaves, latex and bark as green-fruit inoculum sources. Plants from Leguminosae, Chenopodiaceae, Solanaceae, Passifloraceae, Gramineae, Compositeae, Euphorbiaceae, Caricaceae, Malvaceae and Pedaliaceae were evaluated. Papaya plants were inoculated by cuts with needles and razor blades and by lateral graft. The plants were observed over 60 days for symptom expression. To evaluate the inoculation's efficiency, double stranded RNA (dsRNA) was extracted from the tested plants. None of the evaluated indicators developed symptoms, but dsRNA of  $6 \times 10^6$  D were found in needle-inoculated papaya plants.

**Key words:** disease, viruses, papaya

### Introdução

A meleira foi constatada na década de 80 em Teixeira de Freitas, no sul da Bahia (Nakagawa et al., 1987; Correa et al., 1988). Já em 1989, a doença foi detectada no norte do Espírito Santo afetando até 100% das plantas nas lavouras vistoriadas (Rodrigues et al., 1989a), estando presente hoje em praticamente todos os pomares. Recentemente a doença também foi detectada no Nordeste da Bahia (Barbosa et al., 1997).



Os sintomas da meleira caracterizam-se pelo escorrimento de látex com consistência bem fluida dos frutos afetados. O látex escorrido escurece devido a sua oxidação, dando um aspecto melado ao fruto, do qual deriva o nome da doença. Os frutos afetados também podem apresentar manchas claras na casca e também na polpa. Sintomas da doença também podem aparecer em folhas de plantas jovens, antes da frutificação. Neste caso as margens das folhas parecem estar necrosadas devido ao escorrimento e oxidação do látex (Rezende e Costa, 1993).

A meleira foi inicialmente atribuída a deficiência na absorção de cálcio e/ou boro resultante da falta de água no solo (Nakagawa et al., 1987), ou do desbalanceamento de bases no solo (Correa et al., 1988). Entretanto, a injeção de látex de plantas afetadas em mamoeiros sadios resultou em plantas infectadas (Rodrigues et al., 1989b). Tais resultados reforçaram a hipótese do envolvimento de um patógeno, provavelmente um vírus, com a meleira. Foram as observações de Kitajima et al. (1993), que associaram um vírus com a meleira. Eles observaram ao microscópio eletrônico partículas isométricas, ca. 50 nm, em suspensões de látex de plantas afetadas pela meleira. Além disso, foi extraído RNA de fita dupla (dsRNA) de ca.  $6 \times 10^6$  D de folhas e frutos de plantas doentes, o que é um indicativo da presença de um vírus na planta.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a transmissão da meleira em mamoeiro e em plantas indicadoras inoculadas.

## Material e Métodos

Amostras provenientes de folhas novas e maduras, látex e casca de frutos verdes foram coletadas em plantas afetadas pela meleira no município de Miguel Calmon - BA. Estas foram utilizadas para a inoculação mecânica, via tampão fosfato de sódio 0.1 M, pH 7,0 + mercaptoetanol a 1%, em grupos de no

mínimo 30 plantas de *Nicotiana tabacum*, *N. tabacum* NN, *N. benthamiana*, *N. glutinosa*, *N. sylvestris*, *Datura stramonium*, *D. metel*, *Gomphrena globosa*, *Nicandra physaloides*, *Helianthus* spp., *Chenopodium quinoa*, *C. amaranticolor*, *Phaseolus vulgaris* cv. 'Manteiga', 'IAPAR 57', 'Tabagi', 'Rico', *Physalis* spp., *Crotalaria spectabilis*, *Gossypium hirsutum*, *Carica cauliflora*, *C. papaya*, *Brachiaria dictyoneura*, *Passiflora edulis*, *Sesamum indicum* cv. 'Sibranka', *Cassia occidentalis*, *Ricinus communis* cv. 'Preta' e 'Verme-lha'. Também foi testada a transmissão via ferimentos com cortes e agulhas para trinta plântulas de mamão e por encostia de brotações laterais de mamociros afetados em 10 mudas sadias. Foram mantidos grupos de dez plantas controle para cada teste e avaliou-se as plantas inoculadas, quanto a presença de sintomas, por 60 dias em casa de vegetação.

Para monitorar o resultado das inoculações em plântulas e mudas de mamoeiro efetuou-se extrações de RNAs de fita dupla (dsRNA). A extração de dsRNA baseou-se no método descrito por Dodds et al. (1984) com modificações nos volumes utilizados na extração, lavagens e eluição final. O dsRNA foi extraído de folhas novas, caule e raízes de plantas inoculadas e controles, sessenta dias após a inoculação. O extrato obtido foi analisado em géis de agarose a 1%. Os géis foram corados com brometo de etídio.

## Resultados e Discussão

Todas as plantas indicadoras utilizadas nos testes de transmissão não apresentaram sintomas. Este resultado foi semelhante ao obtido por Kitajima et al. (1993) que também não conseguiram a transmissão mecânica do agente causal da meleira.

Somente as plantas de mamoeiro inoculadas via ferimentos por agulhas evidenciaram, na análise eletroforética, bandas de



dsRNA com peso aproximado de  $6 \times 10^6$  D (Figura 1). Em nenhuma das plantas controle foi detectada a presença de dsRNA. Kitajima et al. (1993) detectaram dsRNA, com peso similar ao observado nas plantas inoculadas via ferimento com agulha, em amostras de mamoeiros afetados pela meleira no Espírito Santo.

Nenhuma das plantas que apresentaram dsRNA, na análise eletroforética, exibiu sintomas. Isto pode ser explicado pelo fato dos sintomas característicos da meleira serem evidentes nos frutos de plantas afetadas. Nenhum sintoma foliar tem sido descrito em plantas novas e a meleira tem sido identificada pelos sintomas em frutos, observados em plantas com mais de seis meses de idade (Rezende e Costa, 1993).



FIGURA 1: Gel de agarose 1% contendo extrações de dsRNA purificados de amostras de mamoeiro sadios e inoculados: 1 e 9. Marcador molecular DNA ladder 1Kb; 2 e 4. Respectivamente, amostras e raízes de planta controle; 3 e 5. Respectivamente, amostra de folha e raízes de plantas inoculadas por ferimento com agulha; 6. Controle água; 7 e 8. Respectivamente, amostras de mamoeiros inoculados via inoculação mecânica e encostia de hastes.

Grande parte das espécies de vírus de plantas constituídos de RNA apresentam dsRNAs como formas replicativas (Valverde et al., 1990). A recuperação de dsRNA das plantas inoculadas é um indicativo da possível transmissão do agente por ferimentos. Esta hipótese é reforçada pelo fato de Rodrigues et al. (1989b) conseguirem transmitir o agente, em condições de campo, através da injeção de látex de plantas afetadas para plantas sadias.

### Referências bibliográficas

- Barbosa, C. J.; Meissner Filho, P. E.; Dantas, J. L. L.; Matrangolo, W. J. R.; Almeida, G. L. P.; Habibe., T. C. 1997. Ocorrência da meleira em mamoeiros cv. 'Solo' cultivados no Nordeste da Bahia. **Fitopatologia Brasileira**, 22 (Suplemento): 331.
- Correa, F. J. E.; Franco, B. J. D. C.; Watanabe, H. S.; Sakay, M. Y.; Yamashita, E. 1988. Estudo preliminar sobre a exsudação do látex do mamoeiro – Teixeira de Freitas. **Anais do Simpósio Brasileiro sobre a cultura do mamoeiro**, Jaboticabal, Brasil, p. 405-428.
- Doods, J. A.; Moraes, T. J.; Jordan, R. L. 1984 Plant viral double stranded RNA. **Annual Review Phytopathology**, 22: 1151-168.
- Kitajima, E. W.; Rodrigues, C. H.; Silveira, J. S.; Alves, E.; Ventura, J. A.; Aragão, F. J. L.; Oliveira, L. H. R. 1993. Association of isometric viruslike particles, restricted to laticifers, with meleira (sticky disease) of papaya (*Carica papaya*). **Fitopatologia Brasileira**, 18 (1): 118-122.
- Nakagawa, J.; Takayama, Y.; Suzukama, Y. 1987. Exsudação do látex pelo mamoeiro: estudo de ocorrência em Teixeira de Freitas, BA. **Anais do Congresso Brasileiro de Fruticultura**, Campinas, Brasil, p. 555-559.



- Rezende, J. A. M.; Costa, A. S. 1993. Doenças de vírus e micoplasma de mamoeiro. **Summa Phytopathologica**, 19 (2): 73-79.
- Rodrigues, C. H.; Alves, F. L.; Marin, S. L. D. 1989a. Ocorrência e sintomas da meleira do mamoeiro (*C. papaya*) no Estado do Espírito Santo. **Anais do Congresso Brasileiro de Fitopatologia**, Recife, Brasil, p.118.
- Rodrigues, C. H.; Ventura, J. A.; Maffia, L. D. 1989b. Distribuição e transmissão da meleira em pomares de mamão no espírito santo. 1989b. **Anais do Congresso Brasileiro de Fitopatologia**, Recife, Brasil, p. 118.
- Valverde, R. A.; Nameth, S. T.; Jordan, R. L. 1990. Analysis of double stranded rna for plantvirus diagnosis. **Plant Disease**, 74 (3): 255-258.