

39339

JOSÉ JORGE PEREIRA

**HERANÇA DA RESISTÊNCIA AO VÍRUS DA MANCHA ANULAR
DO MAMOEIRO- ESTIRPE MELANCIA ("Papaya Ringspot Virus - Type -W") EM
MORANGA (*Cucurbita maxima* Duch).**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitossanidade, sub-área Fitopatologia, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Dr. WILSON ROBERTO MALUF

CDD-632.6508

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1995

FICHA CATALOGRÁFICA PREPARADA PELA SEÇÃO DE CLASSIFICAÇÃO E
CATALOGAÇÃO DA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFLA

PEREIRA, José Jorge

Herança da resistência ao vírus da mancha anular do mamoeiro -
estirpe melancia ("Papaya Ringspot Virus - Type - W") em moranga
(*Cucurbita maxima* Duch.) / José Jorge Pereira. -- Lavras : UFLA,
1995.

52p. : il.

Orientador: Wilson Roberto Maluf.

Dissertação (mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Moranga - Virose. 2. Vírus da mancha anular do mamoeiro,
estirpe melancia. 3. Resistência genética. 4. Melhoramento genético 5.
Mancha anular. 6. Mosaico da melancia. 7. PRSV-W. I. Universidade
Federal de Lavras. II. Título.

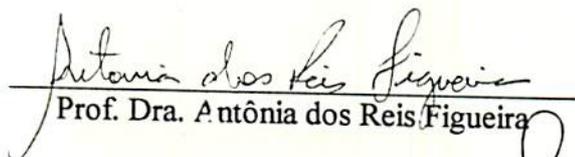
CDD-635.6298

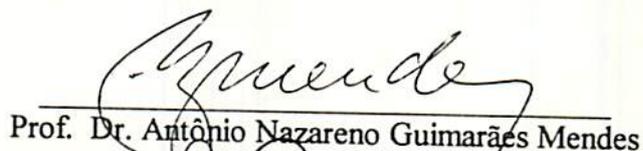
JOSÉ JORGE PEREIRA

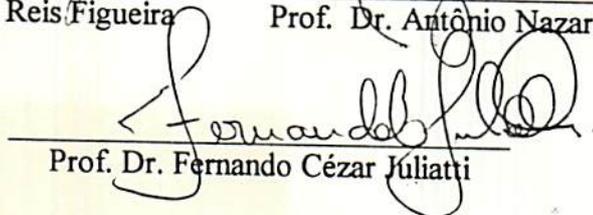
**HERANÇA DA RESISTÊNCIA AO VÍRUS DA MANCHA ANULAR
DO MAMOEIRO- ESTIRPE MELANCIA ("Papaya Ringspot Virus - Type -W") EM
MORANGA (*Cucurbita maxima* Duch).**

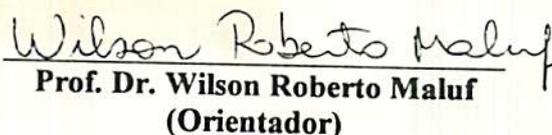
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitossanidade, sub-área Fitopatologia, para obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 31 de agosto de 1995


Prof. Dra. Antônia dos Reis Figueira


Prof. Dr. Antônio Nazareno Guimarães Mendes


Prof. Dr. Fernando César Júliatti


Prof. Dr. Wilson Roberto Maluf
(Orientador)

À Deus e

à minha querida irmã **Myrian Ignêz**

Ofereço.

“Concedei-me Senhor,

a **Serenidade** necessária para aceitar os fatos que não posso modificar;

a **Coragem**, para modificar aqueles que eu posso e

a **Sabedoria**, para distinguir uns dos outros”.

Homenagem,

aos que trabalham em prol e valorizam a atividade Agropécuaária,

em especial, ao homem do Campo.

Aos meus queridos pais,

Athanásio e Florecena

dedico.

AGRADECIMENTOS

O presente estudo foi iniciado em princípios de 1993 e levou cerca de dois anos e meio a realizar. O trabalho experimental foi efetuado na Universidade Federal de Lavras, Departamentos de Agricultura (Área de Horticultura) e de Fitossanidade (Setor de Virologia Vegetal), Lavras, Minas Gerais, Brasil, onde o autor esteve cerca de dois anos e meio como bolsista da CAPES, na qualidade de estudante a nível de mestrado. Este período, foi ocupado principalmente na realização de disciplinas, obtenção das gerações bases para a condução e obtenção dos dados experimentais. As análises e interpretações dos resultados foram sendo realizadas a medida que o prosseguimento das experiências o tornava possível. Finalmente, a pesquisa bibliográfica e a redação do trabalho foram realizadas na Universidade Federal de Lavras e na Cidade de Lavras.

O autor deseja agradecer vivamente às seguintes pessoas e entidades que tornaram possível a realização deste trabalho:

A Deus, por estar presente em todos os momentos;

Aos meus pais, Athanásio Gonçalves Pereira e Florecena Guimarães Pereira e a minha irmã Myrian Ignêz Pereira, pela minha formação e incentivos concedidos ao longo da minha vida e pelo afeto e amizade de sempre;

À minha querida namorada Cátia Cristine, pelo auxílio, sugestões e apoio no desenvolvimento deste trabalho. Pelo carinho, sensibilidade, paciência, persistência e companheirismo nos momentos de dificuldades e alegria ..., meu eterno agradecimento.

A Universidade Federal de Lavras e ao seu primeiro Reitor e Vice-reitor, Prof. Silas Costa Pereira e Prof. Gui Alvarenga, respectivamente, por esta e outras oportunidades concedidas;

Ao Prof. Wilson Roberto Maluf pela cedência do material vegetal base, pelos ensinamentos, profissionalismo, amizade, estímulo e por me haver concedido a honra de ser um de seus orientados;

A Coordenadoria de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pela bolsa concedida;

A Pioneer Tecnologia de Sementes Ltda., pela cedência do substrato e recipientes usados nos experimentos e aos seus funcionários da Estação Experimental de Ijací pela ajuda na instalação e condução do teste preliminar ao experimento;

Ao Prof. Fernando César Juliatti pela iniciação científica, pela Co-orientação, e pelo incansável auxílio em todas as fases da realização deste trabalho;

A Prof^ª. Antônia dos Reis Figueira, pela Co-orientação e principalmente pelo apoio concedido e atenciosidade demonstradas em todos os momentos;

Aos Prof^{es}. Waldenor da Rocha Gomes, Paulo de Souza, Maria Isabel Fernandes Chitarra pela iniciação científica;

Ao Prof. Antônio Nazareno Guimarães Mendes pela sua presença em minha banca de defesa de dissertação e juntamente com os Prof^{es}, João Bosco dos Santos, Ângela B. de Abreu, Daniel Furtado, Magno Antônio Patto Ramalho e Mário Sobral de Abreu, por se mostrarem sempre pacientes e dispostos à contribuir para a realização deste trabalho;

Ao Prof. Rovilson José de Souza pelo apoio concedido, nomeadamente na liberação de áreas e insumos da Olericultura para a multiplicação e desenvolvimento dos cruzamentos do material vegetal e pela colaboração no material fotográfico.

Aos Prof^{es} das áreas de Fitopatologia e Entomologia, melhoramento de plantas, produção de sementes de hortaliças e resistência de plantas a doenças pelos valiosos ensinamentos à minha formação;

A Engenheira Agrícola Jandira Veiga Barbosa;

Aos colegas dos Departamentos de Fitossanidade, Biologia, Engenharia e Fitotecnia, especialmente, Marcus Metri Corrêa, Luiz Antônio Augusto Gomes, Regina Melo Sartori Coelho, Zilá Ribeiro de Ávila, Carlos Antônio Medeiros, Wilson da Silva Moraes, Hudson Teixeira, Sônia Arias, Claudia Cristina, Carlos, Renatinha Silva, Ângela, a todos os alunos

orientados do Professor Wilson Roberto Maluf e em especial Roberto Feraz Passos Brito, José Ricardo Peixoto, Alessandro Diniz Campos, Frederico A. de Oliveira, Lilian Neri Matioli, Sebastião Márcio de Azevedo, Márcio Antônio da Silveira, Renato Innecco, Soraia e Megume Otta pela ajuda na condução, avaliação dos experimentos, análise e redação, também pela grande amizade, companheirismo, sugestões, e apoio durante o nosso convívio.

Aos amigos e companheiros de repúblicas, Marcus Metri Corrêa, Wilson Noel Pailo, Alberto Henrique Porto Portugal Velloso, Aguinaldo Tiwersey e Jäder Vinícios pela convivência, amizade e trocas de experiências.

Aos funcionários do Departamento de Fitossanidade e Agricultura: Psida, Di Lourdes, Sr. Sérgio, Eliana, Kleber, Ana, Eloisa Leite, Liziane, Carzinho, Sr. Pedro, Sr. Antônio, Sr. Milton, Josimar, Sr. Valdemar, Sílvia, Viviane, Antônio Carlos, Agenor, Amélia; D Zélia, Cida e Ivani pela amizade e convivência.

E a todos aqueles que cruzaram pelo meu caminho, e que direta ou indiretamente, contribuíram na realização deste trabalho ..., tenho certeza que não foi em vão ...

Meu Muito Obrigado !

BIOGRAFIA DO AUTOR

EU, JOSÉ JORGE PEREIRA, filho de Athanásio Gonçalves Pereira e Florecena Guimarães Pereira, nasci na capital de Minas Gerais, Belo Horizonte; num ano especial, ano de muitos acontecimentos e mudanças no Brasil..., 1969. Nasci na primeira hora do dia 11 de Maio, um domingo especial, o dia das Mães.

Logo fui levado por meus pais, para uma cidadezinha no interior de Minas Gerais, uma dentre as muitas cidades do interior deste belo Estado, a entre serras, tranqüila e pequena Cidade de Cláudio que, na década de setenta, ainda possuidora de muitas matas naturais e pouca poluição urbana.

Entre o campo, com suas matas, capoeiras, nascentes, plantas frutíferas, animais e plantações, e o meio urbano, passei toda minha infância e parte da adolescência. E como a maioria das pessoas ali residentes, além de crescer, também tive desde pequeno, que lutar pela sobrevivência, sem esquecer é claro, de sentir, de olhar para os lados, de fazer amigos

O tempo se passou e meu interesse pelo campo me levou a ingressar na Escola Agrotécnica Federal de Bambuí, me formando em Técnico Agrícola em dezembro de 1986.

Ciente de minhas limitações, necessidades e interesses foi que em dezembro de 1992 obtive o diploma de Engenheiro Agrônomo pela Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL) e logo após, em março de 1993 iniciei o curso de Pós-graduação, a nível de Mestrado, área de concentração em Fitopatologia, sub-área Virologia ligada a Genética e Melhoramento de plantas, graduando-me em agosto de 1995 pela Universidade Federal de Lavras -MG.

Preciso estudar um pouco mais, muito mais ..., mais vivência, ser mais disciplinado ..., melhorar minha base de conhecimento acerca dos muitos fatores que influem o comportamento vegetal, a sua produtividade, para quem sabe, poder colaborar na produção de conhecimento e principalmente ajudar a minha sofrida Classe Rural a incrementar sua produtividade e melhorar sua vida no campo.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	xi
QUADRO.....	xii
SÍMBOLOS	xiii
RESUMO	xiv
SUMMARY.....	xvi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Importância da <i>Cucurbita maxima</i> Duch.....	3
2.2 Aspectos gerais das viroses que comumente atacam cucurbitáceas no Brasil ..	4
2.3 O Complexo do vírus da mancha anular do mamoeiro estirpe melancia	7
2.4 Características do Potyvirus PRSV-W, ocorrência e estirpes	9
2.5 Sintomatologia e epidemiologia da doença	12
2.6 Transmissão	13
2.7 Manejo da doença	14
2.8 Fontes de resistência e estudo de herança	14
2.9 Aspecto inoculação	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1 Local do estudo	20
3.2 Material Viral (Isolado de PRSV-W)	20
3.2.1 Manutenção	20
3.2.2 Testes para a caracterização do isolado viral	20
3.3 Controle genético da resistência ao PRSV-W	22
3.3.1 Material Vegetal	23
3.3.2 Delineamento Experimental.....	24

3.3.3	Técnicas	24
3.3.4	Determinações	26
3.3.4.1	Métodos estatísticos	27
3.3.4.1.1	Análise de variância	27
3.3.4.1.2	Componentes de variância, estimativas de herdabilidades, número de genes, grau médio de dominância e erros de estimativas	29
3.3.4.1.3	Componentes de médias	30
4	RESULTADOS EXPERIMENTAIS E DISCUSSÕES	31
4.1	Caracterização e identificação do isolado viral	31
4.1.1	Círculo de hospedeiros	31
4.1.2	Microscopia eletrônica (Leaf dip)	33
4.1.3	Conclusões	33
4.2	Controle genético da resistência ao PRSV-W em <i>Cucubita maxima</i> - Análise em plantas individuais	34
4.2.1	Análise estatísticas e genéticas	34
4.2.1.1	Distribuição de frequências	34
4.2.1.2	Avaliação do tipo de resistência ao PRSV-W em <i>Cucurbita maxima</i> , via retroinoculação em plantas teste de <i>C. pepo</i>	37
4.2.2	Componentes de variância	37
4.2.2.1	Estimativas de parâmetros genéticos	38
4.2.3	Componentes de médias	40
4.2.3.1	Cruzamento ABL-10 x Buttercup	40
4.2.3.2	Cruzamento Redlands Trailblazer x Buttercup	42
4.2.3.1	Cruzamento Redlands Trailblazer x ABL-10	43
4.2.4	Cosiderações finais	43
5	SUMÁRIO E CONCLUSÕES	45
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

LISTAS DE TABELAS

Página

- TABELA 1 Esquema da análise de variância, em blocos casualizados, ao nível de médias, com as respectivas esperanças matemáticas dos quadrados médios E(QM) e os componentes da variância fenotípica ao nível de plantas das gerações P₁, P₂, F₁, F₂, RC₁₁ e RC₂₁. UFLA., Lavras - MG, 1995..... 27
- TABELA 2 Sintomatologia apresentada por diferentes espécies inoculadas mecânicamente com o PRSV-W, 30 dias após a inoculação. UFLA. Lavras - MG - 1994 32
- TABELA 3 Frequências observadas nos cruzamentos entre as linhagens de *Cucurbita maxima* Duch (ABL-10 x Buttercup), quanto a severidade de sintomas, apresentados devido infecção pelo PRSV-W. UFLA, Lavras- MG, 1995... 34
- TABELA 4 Frequências observadas nos cruzamentos entre as linhagens de *Cucurbita maxima* Duch (Redlands Trailblazer x Buttercup), quanto a severidade de sintomas, apresentados devido infecção pelo PRSV-W. UFLA, Lavras- MG, 1995 35
- TABELA 5 Frequências observadas nos cruzamentos entre as linhagens de *Cucurbita maxima* Duch (Redlands Trailblazer x ABL-10), quanto a severidade de sintomas, apresentados devido infecção pelo PRSV-W. UFLA, Lavras- MG, 1995..... 35
- TABELA 6 ANAVA da severidade de sintomas, para efeito de gerações, após inoculação do PRSV-W, provenientes dos cruzamentos entre as linhagens ABL-10 e Buttercup; ABL-10 e Redlands Trailblazer e Buttercup e Redlands Trailblazer - UFLA - Lavras - MG..... 38

TABELA 7	Estimativas das variâncias aditivas (σ^2_A), dominância (σ^2_D), ambiental (σ^2_E), herdabilidades no sentido amplo (h^2_a) e restrito (h^2_r), grau médio de dominância (gmd) e número provável de genes (n). UFLA, Lavras - MG, 1995	39
TABELA 8	Componentes de médias observadas para os cruzamentos ABL-10 x Buttercup, Redlands Trailblazer x Buttercup, Redlands Trailblazer x ABL-10. UFLA, Lavras-MG, 1995.....	41
TABELA 9	Teste de escala conjunto de cruzamentos entre 3 linhagens de <i>Cucurbita maxima</i> UFLA, Lavras-MG, 1995.....	42

QUADRO

QUADRO 1	Gerações estudadas nos cruzamentos entre 3 linhagens de <i>Cucurbita maxima</i> Duch	28
----------	--	----

SIMBOLOGIA

Indicam-se a seguir os principais símbolos, abreviaturas e sinônimas convertidos e adotados no texto

a = Parâmetro que mede o afastamento dos homozigotos em relação ao ponto médio.

d = Parâmetro que mede o afastamento dos heterozigotos em relação ao ponto médio.

m = Ponto médio entre os paternos.

CMV = Cucumber mosaic virus

PRSV-W = Papaya Ringspot Virus - Type Watermelon

- Sinônimas: 1- WMV-1 = Watermelon Mosaic Virus -Type 1

2- VMMe = Vírus do mosaico da Melancia

3- VMM-Me = Vírus do mosaico do mamoeiro estirpe melancia

4- MCC = Mosaico comum das Cucurbitáceas

SqMV = Squash mosaic virus

1- VMA = Vírus do mosaico da abóbora

ZYMV = Zucchini Yellow Mosaic Virus

= Vírus do mosaico amarelo da abobrinha-de-moita

GL = Graus de Liberdade

σ^2_{ϵ} = Variância do resíduo

σ^2_p = Variância genética entre populações

σ^2_b = Variância entre blocos

σ^2_A = Variância aditiva

σ^2_D = Variância de dominância

F = covariância entre o efeito dos locos em homozigose (efeito aditivo) e locos em heterozigose (efeito de dominância).

σ^2_E = Variância ambiental.

n_1, n_2, n_3, n_4, n_5 e n_6 = Número de indivíduos do parental masculino, feminino, F_1, F_2, RC_{11} e RC_{21} , respectivamente

$(h^2_a), (h^2_r)$ = Herdabilidades no sentido amplo e no sentido restrito, respectivamente.

$S(h^2_a)$ e $S(h^2_r)$ = Erro associado as estimativas da herdabilidade no sentido amplo e restrito, respectivamente.

RESUMO

PEREIRA, José Jorge. **Herança da resistência ao vírus da mancha anular do mamoeiro, estirpe melancia ("Papaya Ringspot Virus - Type W") em moranga (*Cucurbita maxima* Duch).** Lavras: UFLA, 1995. 52p. (Dissertação - Mestrado em Fitopatologia)¹

Um isolado viral suspeito de ser o vírus indutor da mancha anular do mamoeiro, estirpe melancia (PRSV-W), foi testado com hospedeiros diferenciais e microscopia eletrônica (técnica leaf dip). Concluiu-se que o isolado viral estudado, era do potyvirus causador da mancha anular do mamoeiro, estirpe melancia (PRSV-W). Seguidamente, avaliaram-se as reações de três linhagens de *Cucurbita maxima*, ABL-10, Redlands Trailblazer e Buttercup à inoculação mecânica com o PRSV-W. Mostraram-se resistentes as linhagens ABL-10 e Redlands Trailblazer e suscetível a linhagem Buttercup. Deu-se prosseguimento ao trabalho investigando-se a herança da resistência ao PRSV-W nos cruzamentos (ABL-10 x Buttercup), (Redlands Trailblazer x Buttercup), (ABL-10 x Redlands Trailblazer). Para cada cruzamento original, utilizaram-se para o estudo 6 gerações (Progenitores, F₁, F₂, Rc₁₁, Rc₂₁) derivadas. Plantas individuais de cada geração e cruzamento foram avaliadas entre a 2^a e a 4^a semana após a inoculação mecânica com o PRSV-W, quanto à severidade de sintomas, o que permitiu estimar os componentes de variâncias e de médias, herdabilidades sentido amplo e restrito, graus médios de dominância e o número provável de genes responsável pela resistência nos parentais. A resistência da linhagem Redlands Trailblazer quando cruzada com a linhagem suscetível Buttercup, não apresentou nenhum grau apreciável de dominância; postulou-se, com base nas análises de variância a ação de aproximadamente 2 genes com ação predominantemente aditiva. Já a linhagem ABL-10 também resistente ao PRSV-W, quando cruzada com a linhagem suscetível Buttercup, mostrou ser sua resistência controlada pela ação de aproximadamente três genes com dominância parcial. Em ambos os casos, as resistências parecem ser oligogênicas. Pelo menos alguns dos locus envolvidos nas resistências de ABL-10 e Redlands Trailblazer não são comuns a ambas. A resistência conferida por Redlands Trailblazer,

¹*Orientador: Prof. Wilson Roberto Maluf **Có-orientadores: Prof.^{as} Fernando César Juliatti e Antônia dos Reis Figueira. Prof. Conselheiro: Antônio Nazareno Guimarães Mendes.

embora de nível mais elevado do que a de ABL-10, enquanto em homozigose, parece ser de nível menos elevado do que a desta última em heterozigose. Em todos os casos estudados a magnitude das herdabilidades encontradas variaram de média a alta, indicando uma relativa facilidade para a seleção de plantas resistentes ao PRSV-W em *C. maxima*. As estimativas das herdabilidades no sentido amplo e restrito ao nível de plantas individuais foram 0.44 e 0.36; 0.59 e 0.59; 0.58 e 0.58, respectivamente, para os cruzamentos ABL-10 X Buttercup; ABL-10 X Redlands Trailblazer; Redlands Trailblazer X Buttercup.

SUMMARY

Inheritance of resistance to papaya ringspot virus - watermelon strain (PRSV-W) in winter squash (*Cucurbita maxima* Duch)

A putative papaya ringspot virus - watermelon strain isolate (PRSV-W) was tested through differential host range and electron microscope leaf dip techniques, and the identity of the isolate as PRSV-W was established. Three *Cucurbita maxima* lines (ABL-10, Redlands Trailblazer and Buttercup) were mechanically inoculated with the PRSV-W isolate, and their reactions (virus symptoms) were evaluated. ABL-10 and Redlands Trailblazer were found to be PRSV-W resistant, and Buttercup to be susceptible. Crosses ABL-10 x Redlands Trailblazer, ABL-10 x Buttercup and Redlands Trailblazer x Buttercup were made in order to study the inheritance of the PRSV-W resistance. For each cross, six generations were obtained (Parental lines P₁ and P₂, plus F₁, F₂, and backcrosses to both parents BC₁₁, BC₂₁). Individual plants of each generation / cross were rated for PRSV-W symptom severity after 2 to 4 weeks after mechanical inoculation, and estimates of mean and variance components, broad and narrow-sense heritabilities, average degree of dominance and number of genes involved in resistance were obtained. Resistance issued from Redlands Trailblazer showed no dominance in cross with susceptible Buttercup, and action of 2 genes with predominantly additive gene action was postulated to control resistance in this cross. Resistance issued from ABL-10 in cross with susceptible Buttercup could be explained by the action of 3 genes with partial dominance. At least one of the loci involved in the control of resistance in ABL-10 is not allelic to their counterpart loci in Redlands Trailblazer. The resistance issued from Redlands Trailblazer appears to be of higher level than that of ABL-10 in the homozygous state, but not in the heterozygous state.

In all cases, heritability estimates found for PRSV-W resistance were moderate to high broad and narrow sense heritabilities for selection on individual plants basis was 0.44 and 0.36, 0.59 and 0.59, 0.58 and 0.58 respectively for crosses (ABL-10 x Buttercup), (ABL-10 x Redlands Trailblazer) and (Redlands Trailblazer x Buttercup),

1 INTRODUÇÃO

Pode afirmar-se que o principal fator responsável pela redução na produtividade na maioria das espécies vegetais cultivadas é a ocorrência de doenças fitopatogênicas. A procura de alternativas conducentes à reduzir ou até mesmo eliminar o efeito dos fitopatógenos assume grande interesse, uma vez que poderia influenciar de modo significativo o melhoramento genético e cultural, a capacidade produtiva das plantas e a qualidade final de seus produtos.

O controle de doenças de plantas é o mais importante objetivo prático da Fitopatologia (Kimati e Bergamin Filho, 1995). Dentre as fitopatogêneses conhecidas, as doenças de etiologia viral, são as que apresentam maiores dificuldades no controle, restringindo às medidas de caráter preventivo.

Em particular, a enfermidade causada pelo vírus indutor da mancha anular do mamoeiro - estirpe melancia (PRSV-W), transmitido por afídios, é hoje considerada uma das enfermidades de maior importância em cucurbitáceas na maioria das áreas produtoras do mundo. No Brasil é destacadamente o maior problema patológico ao cultivo comercial de cucurbitáceas (Ávila et al., 1984; Maluf e Souza, 1984 e Rezende et al., 1994), provocando significativamente perdas de plantas e frutos.

O controle convencional, via aplicação de produtos químicos, tem apresentado uma baixa efetividade, limitando-se apenas a reduzir a disseminação interna do vírus.

Dentre as alternativas conhecidas, a resistência genética de cultivares tem-se mostrado ser a mais importante e eficiente, sobretudo por não onerar os custos de produção, não provocar problemas ecológicos e nem contaminar os produtos.

A existência de resistência genética ao PRSV-W em várias espécies do gênero *Cucurbita*, inclusive em *Cucurbita maxima*, possibilita a obtenção de material-planta resistente e o controle desta enfermidade via variedades resistentes. Para a condução de um programa de melhoramento genético visando resistência a doenças, alguns aspectos relativos a correta identidade do patógeno e informações genéticas básicas são fundamentais.

O presente trabalho teve início com uma investigação visando a correta identificação do agente etiológico viral (PRSV-W). Utilizou-se hospedeiros diferenciais e de técnica de microscopia eletrônica. Seguidamente, procedeu-se a multiplicação das linhagens progenitoras contrastantes quanto a resistência ao PRSV-W, e os inter cruzamentos das linhagens, obtendo-se as gerações segregantes, base do estudo. Apartir daí, investigou-se alguns parâmetros genéticos, estudou-se a variabilidade, ao nível individual e também populacional, culminando no objetivo do trabalho, o estudo da herança da resistência ao PRSV-W em *C. maxima* nos cruzamentos entre as linhagens resistentes ABL-10; Redlands Trailblazer e a linhagem suscetível Buttercup. Admite-se que o estudo, que ora apresenta, incluindo a metodologia utilizada, poderá contribuir para o progresso da horticultura, notadamente no que diz respeito a resistência de *Cucurbita maxima* ao PRSV-W e ao melhoramento genético visando a obtenção de material planta resistente a viroses.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importância da *Cucurbita maxima* Duch.

A moranga é uma espécie vegetal pertencente à família das cucurbitáceas, que se caracteriza, quanto ao modo de reprodução, pela alogamia decorrente da monoiccia (Amaral Júnior, 1994).

Tem como provável centro de origem, a América do Sul (Peru, Argentina, Uruguai, Bolívia e sul do Brasil), onde foi cultivada desde a época pré-colombiana, principalmente pelas civilizações Astecas, Incas e Maias (Casali, Saturnino e Pedrosa, 1982 e Amaral Júnior, 1994). Expandiu-se dos trópicos às zonas temperadas, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais sendo atualmente conhecida e cultivada em todo o mundo. Apesar de serem cultivada em todo território brasileiro, assumem maior importância no Centro-Sul, onde constituem-se em alimento das classes média e baixa da população (Bittar, 1990). Ocupa o 7^o lugar em volume comercializado no CEAGESP - SP. Sua importância social nos países desenvolvidos e subdesenvolvidos, devem-se aos fatos de serem elas utilizadas na dieta alimentar de grande parcela da população, ao valor alimentício e versatilidade culinária de seus frutos e a excelente utilização na alimentação animal

Os frutos de *Cucurbita maxima* quando maduros, constituem-se excelentes fontes de β caroteno (pró-vitamina A), vitamina C, carboidratos, proteínas, sólidos solúveis e minerais. No Brasil, utiliza-se a polpa, os brotos, as flores e as sementes, todos, largamente consumidos 'in natura'. A polpa, é mais empregada na alimentação humana, animal e com menor expressão, nas indústrias de doces. As sementes, são consideradas importantes suplementos protéicos, por conter entre 30 e 37% de proteína bruta. (Saturnino et al., 1982; Casali, Saturnino e Pedrosa, 1982 e Amaral Júnior, 1994).

2.2 Aspectos gerais das viroses que comumente atacam cucurbitáceas no Brasil.

Dar-se-á neste item, relatos acerca das principais viroses ocorrentes no Brasil, bem como, suas semelhanças, particularidades e meios mais comumente usados para distingui-las.

Mais de 20 diferentes tipos de vírus já foram encontrados na natureza infectando plantas da família Cucurbitaceae (Lovisol, 1981; Vega, Rezende e Yuki, 1995). No Brasil, até o ano de 1991, apenas 6 desses foram relatados: Vírus do mosaico da abóbora ("Squash mosaic virus", Comovirus) (Chagas, 1970; Vega, Rezende e Yuki, 1995); Vírus do Mosaico do pepino ("Cucumis mosaic virus", Cucumovirus) (Costa, Kitajima e Nagai, 1972 e Vega, Rezende e Yuki, 1995); Vírus do mancha anular do mamoeiro - estirpe melancia ("Papaya Ringspot Virus - Type W, PRSV-W) (Albuquerque, Ikeda e Costa., 1972 e Vega, Rezende e Yuki, 1995); Vírus do mosaico da melancia -estirpe 2 ("Watermelon mosaic virus 2," Potyvirus - WMV-2) (Vega, Rezende e Yuki, 1995); Vírus do vira-cabeça do tomateiro (tospovirus) (Kitajima e Costa, 1972 e Vega, Rezende e Yuki, 1995) e Vírus da necrose da abóbora, provável necrovirus, (Lin, Kitajima e Munhoz, 1983 e Vega, Rezende e Yuki, 1995). Em 1992 foi relatada pela primeira vez no Brasil, a ocorrência do Vírus do mosaico amarelo da abobrinha-de-moita (Potyvirus) (VMAA, "Zucchini yellow mosaic virus" ZYMV) (Vega et al., 1992 e Caner et al., 1992).

Existem pelo menos quatro tipos de vírus capazes de induzir sintomas de mosaico em Cucurbitáceas (Ávila, 1982); O principal, é o vírus causador do mosaico da melancia, com suas duas estirpes: WMV-1 e WMV-2. Atualmente, o WMV-1, está enquadrado dentro do grupo Papaya Ringspot Virus (PRSV) e é hoje denominado de "Papaya Ringspot Virus - Type Watermelon" ("PRSV-W"). Salienta-se que o grupo PRSV, até o momento, possui além da estirpe W, a estirpe P, relativo ao hospedeiro' mamoeiro (Papaya); Os outros vírus indutores de sintomatologia semelhante são, o Vírus do Mosaico do pepino (CMV); O Vírus do Mosaico da abóbora (SqMV); e o quarto vírus, como já citado, de ocorrência mais recentemente relatada no Brasil, o vírus do mosaico amarelo da abobrinha-de-moita (ZYMV). Ressalta-se que o mosaico amarelo da abobrinha-de-moita é uma moléstia com grande potencial, que poderá rapidamente se

constituir em sério problema ao cultivo de cucurbitáceas no Brasil (Vega et al., 1992; Caner et al., 1992 e Lotz et al., 1994). Quase todos esses vírus citados podem infectar plantas de morangas (*Cucurbita maxima* Duch.), abóboras (*Cucurbita moschata* Duch.) melancia (*Citrullus lanatus* (Thumb) Matsum e Nakai), pepino (*Cucumis sativus* L.), abobrinha (*Cucurbita pepo* L.), melão (*Cucumis melo* L.), melão de São Caetano (*Momordica charantia* L.); tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), erva do diabo (*Datura stramonium* L.), caupi (*Vigna sinensis* L. Savi ex Hassk.), *Chenopodium quinoa* Willd., *C. amaranticolor* Coste e Reyn; fumo (*Nicotiana tabacum* L.) e *N. glutinosa* L..

A separação dessas viroses no campo, através de sintomatologia, torna-se praticamente impossível. A possibilidade de ocorrência de infecções mistas na mesma planta torna o diagnóstico ainda mais difícil (Lotz et al., 1994). No entanto, uma boa segurança na separação destas viroses pode ser conseguida quando se utiliza uma combinação de métodos diferenciais tais como, o círculo de hospedeiros, teste de transmissão via vetores, sementes, serologia e Microscopia eletrônica (Ávila et al., 1984; Garcia de Salcedo, 1984; Kuabara 1984 e Purcifull et al., 1984).

Sintomas denominado de 'enação' são característicos do Vírus do "Mosaico da Abóbora" (SqMV). Esse, apresenta ainda, algumas características marcantes, como a incapacidade de ser transmitido por afídeos, a presença de 3 partículas esféricas e poliédricas à visão ao microscópio eletrônico, a incapacidade de infectar plantas de tomate, caupi e *Chenopodium spp.* e não ser transmitido via sementes.

O vírus do mosaico do pepino (CMV) apresenta-se ao microscópio eletrônico com duas (2) partículas esféricas e poliédricas. É transmitido por mais de 60 espécies de afídeos, através de sementes de 19 espécies vegetais (Tomlinson e Carter, 1970, citados por Purcifull et al., 1984) e por cerca de 10 espécies de cuscuta, além de conseguir infectar plantas de tomate, caupi e *Chenopodium spp.* (Gibbs e Harrison, 1980; Garcia de Salcedo, 1984; Purcifull et al., 1984; Bittar, 1990 e Mathews, 1992). O Papaya Ringspot Virus (PRSV), o Watermelon Mosaic

Virus - type 2 (WMV-2) e o Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZYMV) são Potyvirus, portanto, são vírus que possuem partícula alongada, filamentosa e flexível.

Comparando-se as duas estirpes do PRSV verificou-se que, o PRSV-W encontrava-se amplamente distribuído em áreas onde se cultivava cucurbitáceas, limitando-se a hospedeiros desta família. Em inoculações artificiais, pode infectar *Chenopodium amaranticolor* e *C. quinoa*, as quais reagem com reações necróticas locais. O PRSV-P, apesar de também se encontrar distribuído em extensas áreas sobre a superfície terrestre ataca 17 espécies de dicotiledôneas distribuídas nas famílias Caricaceae, Chenopodiaceae e Cucurbitaceae (Jensen, 1949; Conover, 1964 e Wang et al., 1978, citados por Purcifull, 1984).

O WMV - 2 pode ser distinguido do PRSV-W através de testes em hospedeiros diferenciais, pois o WMV-2 é capaz de infectar cerca de 160 espécies de dicotiledôneas dentro de 23 famílias, enquanto o PRSV-W praticamente só infecta plantas da família Cucurbitaceae. A espécie *Luffa acutangula*, apresenta-se resistente ao WMV-2 e suscetibilidade ao PRSV-W, já a espécie *Nicotiana benthamiana* apresenta resistência ao PRSV-W e suscetibilidade ao WMV-2 (Provvidenti e Schroeder, 1970; Purcifull e Hiebert, 1979 e Purcifull, Hiebert e Edwardson, 1984 e Sá e Kitajima 1991).

As espécies *Gomphrena globosa* e *Pisum sativum* cv. Alasca, mostraram-se resistentes ao PRSV-W e suscetíveis ao ZYMV em inoculação, distinguindo-os (Purcifull et al., 1984; Purcifull; Hiebert e Edwardson, 1984 e Vega et al., 1995).

Grande importância e atenção especial devem ser dispensada na fase de identificação do agente etiológico viral, devido a semelhança entre a sintomatologia apresentada pelas viroses citadas acima, e ainda pela existência de uma boa possibilidade da presença de mais de um vírus no hospedeiro caracterizando uma infecção mista em algumas cucurbitáceas (Sá e Kitajima, 1987).

Na morangueira 'coroa' o PRSV-W induz no primeiro par de folhas pontuações cloróticas que se necrosam e rasgam; nas folhas mais velhas, forma-se um mosqueado. O SqMV causa lesões cloróticas nas folhas cotiledonares e manchas anulares cloróticas no primeiro par de

folhas. Nas folhas mais velhas ocorre um mosaico difuso e enações. Na infecção mista, no primeiro par de folhas ocorre uma mistura dos sintomas descritos para o SqMV e PRSV-W seguindo-se um mosaico e enações mais acentuadas (Sá e Kitajima, 1987).

O CMV causa em abóboras sintomas de infecção sistêmica (mosaico). Já o SqMV, além de mosaico, induz na planta deformações foliares, enação e anelamento nos frutos não sendo porém, transmitido por afídeos. O PRSV-W é transmitido por Afídeos, não induz sintomas em tomate, Caupi, , mas induz aparecimento de lesão local necrótica em *Chenopodium quinoa* e *Chenopodium amaranticolor*. O PRSV-W além de induzir mosaico e distorções foliares nas partes vegetativas, inibe o desenvolvimento normal dos frutos.

Provvidenti e Schroeder (1970), relataram que o feijão 'Black Turtle' constitui-se em um bom separador entre CMV e WMV-2, visto sua resistência ao CMV. Pode-se ainda, complementar a identificação do agente etiológico viral com a determinação de algumas de suas propriedades físicas, como o Ponto de Inativação Térmico (PIT), Longevidade "in vitro" (LIV) e o Ponto Final de Diluição (Zabala e Ramallo 1968; Purcifull et al., 1984; Pavan, 1985 e Bedendo 1995).

2.3 O Complexo do Vírus da Mancha Anular do mamoeiro, estirpe melancia.

A enfermidade conhecida por mosaico da melancia ou simplesmente mosaico comum das cucurbitáceas (Costa 1975), tem como agente etiológico o Vírus da mancha anular do mamoeiro, estirpe melancia (PRSV-W). Seu nome deveu-se a sua semelhança morfológica e bioquímica ao PRSV-P, patógeno do mamoeiro que induzia mosaico em folhas de abóbora e ringspot (manchas anulares) em frutos do mamoeiro, sendo enquadrado no grupo PRSV. Como foi este vírus relatado pela primeira vez no hospedeiro denominado melancia, sugeriu-se o nome de PRSV-W.

Sabe-se hoje que o PRSV-W infecta cerca de 38 espécies em 11 gêneros de cucurbitáceas e mais duas espécies de Chenopodiáceas (Purcifull et al., 1984).

O Vírus do Mancha anular do mamoeiro - estirpe melancia (“Papaya Ringspot Virus -Type W”) é um membro do grupo dos potyvirus distribuído mundialmente com significativa importância econômica. Ocasiona perdas na produção que podem chegar a 100%, pois além da redução no número de frutos, estes podem estar manchados e deformados, reduzindo o seu valor comercial. (Nagai, 1973; Lin et al.,1977; Ávila et al.,1984; Maluf e Souza, 1984 e Rezende et al., 1994).

No Brasil, foi relatada e descrita inicialmente no Estado do Pará, em 1972 por Albuquerque, Ikeda e Costa e em São Paulo por Costa, Kitajima e Nagai em 1972. Em 1977, sua ocorrência era relatada em regiões distintas, sugerindo que o vírus já se encontrava distribuído e vinha ocorrendo a algum tempo no país (Lin et al., 1977). Em São Paulo e Rio de Janeiro, o referido vírus foi detectado em pepino, abóboreia italiana, melão, melancia e maxixe (Lin et al., 1977 e Kitajima, 1984). Em Pernambuco (Barbosa e Paguio, 1982), Goiás, Distrito Federal e no Amazonas o PRSV-W foi identificado em diferentes cucurbitáceas, já na região metropolitana de Curitiba -PR, foi encontrado apenas em abobrinha (Lin et al., 1977; Lima Neto et al., 1984 e Cupertino et al.,1988). No submédio São Francisco, a virose causado pelo PRSV-W tem reduzido a área de plantio de melão e melancia (Ávila et al., 1984), enquanto que no Rio Grande do Norte além de melão e melancia, a abóbora é afetada. Nas três principais zonas produtoras de cucurbitáceas de Minas Gerais, Zona da Mata, Metalúrgica e Triângulo Mineiro foi constatado predominância do PRSV-W sobre os demais tipos de vírus causadores de mosaico e deformação foliar que infectavam as culturas de pepino e abobrinha (Pavan., 1985 e Silva e Costa (1978) relataram que a dificuldade em manejar a doença causado pelo PRSV-W deveu-se principalmente a suscetibilidade apresentada pelas principais cultivares de importância econômica no Brasil, a diversidade hospedeira existente e distribuída por todo território nacional durante todo ano e ao constante fluxo aéreo de vetores de áreas vizinhas contaminados.

Atualmente, a enfermidade causada pelo PRSV-W é considerada a mais importante virose das cucurbitáceas nas condições brasileiras (Yuki 1990 e Vega, Rezende e Yuki., 1995). Encontra-se amplamente distribuída por todo o território nacional, limitando, as vezes, o cultivo

de cucurbitáceas suscetíveis em algumas regiões, como exemplo, cita-se certa restrição ao cultivo do melão no Nordeste Brasileiro.

2.4 Características do Potyvirus PRSV-W, Ocorrência, Estirpes

O grupo Potyvirus, com pelo menos 180 membros definidos é o maior e mais importante grupo de vírus de plantas. Seu genoma consiste de RNA positivo de fita simples, de aproximadamente 10000 nucleotídeos ligados covalentemente a uma Vpg na extremidade 5' e a um poliadenilato na extremidade 3'. Todos os Potyvirus estudados até o momento, formam inclusões citoplasmáticas cilíndricas (Mathews, 1992 e Purcifull, Hiebert, Edwardson e Gonsalves, 1984).

Em particular, o PRSV-W, morfológicamente, apresenta-se como uma partícula simples, flexível e filamentosa com dimensões girando em torno de 780nm X 12 nm. Seu genoma consiste de RNA de fita simples, medindo de 760 - 800 nm de comprimento por aproximadamente 11 nm de diâmetro (Purcifull et al., 1984).

Quanto a estratégia da expressão genômica e clivagem da poliproteína dos potyvirus, Dos Anjos (1992), relatou que o genoma deste grupo é expresso em uma poliproteína de aproximadamente 350 kda, que posteriormente é clivada para produzir pelo menos 8 proteínas. Destas, somente quatro têm funções biológicas conhecidas: a capa protéica, cuja função primária é encapsidar o RNA, tem envolvimento na transmissão dos potyvirus por afídeos. O 'helper component' (hc), é necessário para a transmissão por afídeos, e em alguns potyvirus, comprovadamente exerce atividade proteolítica na sequência glicina/glicina, entre a extremidade c do 'helper' e a proteína de 42 Kda. Uma das inclusões nucleares, a NIa, é uma proteinase de 49 Kda responsável pela clivagem da poliproteína em pelo menos cinco sequências polipeptídicas. Mais recentemente, foi demonstrado que pelo menos três proteínas estão envolvidas na clivagem das poliproteínas dos potyvirus. Recentes avanços nas tecnologias de transformações de plantas, têm possibilitado a transferência de clones de cDNA de vírus para plantas visando principalmente desenvolver resistência de plantas a diferentes grupos de vírus (construção de gene quimérico). A

intenção é que a expressão do gene da capa protéica em plantas transgênicas confira resistência contra o vírus, do qual a capa protéica foi isolada.

O PRSV-W apresenta certa estabilidade “in vitro” (dado pelo tempo de armazenamento de um extrato vegetal, a partir do qual o vírus ali contido, não é mais capaz de infectar uma planta). Seu ponto de inativação térmica (temperatura na qual um determinado vírus perde sua capacidade infectiva) situa-se entre 50-60°C durante 10 minutos e seu ponto final de diluição em torno de 5×10^{-4} (Purcifull et al., 1984). O PRSV-W foi infectivo após ser armazenado durante 6 anos em folhas de *C. pepo* dessecadas em CaCl_2 a vácuo abaixo de 4°C (Purcifull et al., 1984).

Considerando-se vírus e mais especificamente o PRSV-W, juntamente com a ocorrência de diversos nichos ecológicos e hospedeiros, é de se esperar a ocorrência também de uma grande diversidade genotípica para os isolados virais; explica-se assim a ocorrência de variantes fenotípicas encontrados afetando a mesma ou diferentes espécies de plantas, provocando variações em sintomas e descrições: ora como estirpes, ora como diferentes isolados. Bateson e Dale (1992) estudando e determinando a sequência de nucleotídeos e similaridade entre a capa-protéica de 2 isolados americanos de PRSV em cucurbitáceas (uma estirpe-W e uma estirpe-P(papaya)), e dois isolados Australiano (uma estirpe-W e uma estirpe -P), verificaram que entre os isolados americanos, ocorria 100% de homologia entre uma região com sequência de aminoácido, com uma outra sequência de aminoácido do ácido nucléico na sequência do gene da capa-proteica. Para esta mesma sequência, os isolados Australianos apresentaram similaridade, com as estirpes W e P de PRSV, em 96,8% e 96,4%, respectivamente, com a sequência de nucleotídeos dos dois isolados americanos.

Webb e Scott em 1965, embasaram-se em resultados envolvendo inoculações de proteção cruzada, estreita relação serológica e diferenças de amplitude de hospedeiros, para relatar a existência de dois vírus diferentes: Watermelon Mosaic Virus-1 (PRSV-W) e Watermelon Mosaic Virus-2 (WMV-2) (Purcifull, et al., 1984). Mais tarde, Milne e Grogan

(1969), citados por Purcifull e Hiebert em 1979, estudando a caracterização por serologia e semelhanças entre partículas, em tamanho, forma e outras propriedades em comum, só conseguiram diferir os dois vírus através do círculo de hospedeiros. Assim, descobriram que os dois tipos de isolados utilizados por Webb e Scott em 1965, se tratavam na verdade de duas estirpes de WMV e não de vírus diferentes. Hoje sabe-se que são na verdade dois vírus diferentes (PRSV-W e WMV-2)

Importante observação na diferenciação e identificação do PRSV-W e do WMV-2 está relacionada com suas regiões de ocorrências Kuabara (1984). O PRSV-W é referenciado como estirpe prevalecente em regiões tropicais, enquanto que o WMV-2 prevalecente em regiões temperadas (Purcifull e Hiebert, 1979 e Lovisolo, 1981). Em Marrocos há citações da existência de uma terceira estirpe, a WMV-W (Provvidenti, 1978).

O PRSV-W não induz sintomas em Tomate, Caupi e induz aparecimento de lesão local necrótica em *Chenopodium amaranticolor* e *C. quinoa*. No caso de hospedeiros diferenciais, Kuabara (1984), relatou que há dificuldades em obter um padrão comparativo, pois nem todos os pesquisadores trabalham com as mesmas plantas testadoras. O PRSV-W pode ser detectado através da inoculação mecânica em pepino e abóbora, nos quais induz sintomas de mosaico e deformações foliares (Silva, 1977 e Ávila, 1982). Não infecta porém, plantas de 'Fumo TNN', diferenciando-o do mosaico do pepino, ao qual é suscetível (Ávila, 1982). Os isolados de PRSV-W estudados, ocorrentes no Brasil, induziam mosqueado em abóbora cv. 'Early Prolific Straightneck', melão linha 34340 e *Luffa acutangula*, não infectavam porém, *Cucumis melo* linha B70 096, *Chenopodium amaranticolor* e *Cucumis metuliferus*, contrastando com o WMV-2 que induzia lesão local em *C. amaranticolor*, mosaico sistêmico em *C. melo* linha B70-96 e não infectivo a *L. acutangula* (Ávila, 1982). Consideram-se o melão de São Caetano imune ao PRSV-W e suscetível ao WMV-2.

Sowell e Denski, usaram a resistência ao PRSV-W, dada pela linhagem de melão 633-3, originada da seleção PI 180280 para separar PRSV-W do WMV-2 no caso de se ter mistura de vírus. Neste estudo a linhagem 633-3 de melão, inoculada com PRSV-W, manifestou

sintomas de lesões locais e ocasionalmente necroses na ponta do caule. As mesmas linhagens, quando inoculadas com WMV-2 apresentaram mosqueamento sistêmico (Garcia de Salcedo 1984). A microscopia eletrônica constitui-se hoje, numa maneira rápida para a detecção de partículas virais em tecido doente, evidenciando a natureza do agente causal e auxiliando na diagnose da doença (Sá e KITAJIMA, 1991 e Bedendo, 1995).

2.5 Sintomatologia e epidemiologia da doença

A incidência periódica do PRSV-W e a sintomatologia desenvolvida podem variar muito. Há de se considerar a espécie de cucurbitácea, o estado nutricional e vigor da planta, o estágio que a infecção se encontra na planta hospedeira, as condições ambientais, principalmente temperatura, a proximidade de boas fontes de inóculo, a presença e a eficiência do vetor, bem como a virulência da estirpe viral (Purcifull et al., 1984 e Yuki, 1990).

Os sintomas são sistêmicos e se traduzem inicialmente por uma leve clorose das nervuras das folhas. Evoluem para mosaico, folhas crespas, rugosas, cloróticas, com formação de bolhosidades ou ilhas verdes mais escuras, induz finalmente ao aparecimento de deformações filiformes das folhas (Whitaker e Davis, 1962; Provvidenti e Schroeder 1970). Ocorre comprometimento qualitativo e quantitativo do desenvolvimento e produção da planta. Os frutos podem apresentar-se com manchas em forma de anéis (Rezende, 1984), nodosidades sobre a epiderme e tamanho reduzido. Ocorre também inibição do desenvolvimento normal dos frutos e folhas, raquitismo pronunciado, mosaico das partes vegetativas, deformações nos frutos em abobrinhas, morangas, abóboras, pepinos, melões e melancias. (Whitaker e Davis, 1962; Provvidenti e Schroeder, 1970 e Ávila, 1982;). A sintomatologia em melancia (*Citrullus lanatus*) pode variar desde descoloração dos bordos foliares com recuperação das folhas adultas sem perda de vigor pós-infecção, até danos severos (Purcifull e Hiebert, 1979). Segundo Della Vecchia e Della Vecchia e Ávila, 1985), plantas infectadas no início do ciclo exibem mosaico severo, deformações de folhas e frutos com prejuízos econômicos que podem ser totais

A nível histológico podem ser observadas inclusões cilíndricas irregulares do tipo cata-vento, no citoplasma da célula hospedeira (Van Regenmortel et al., 1962, citado por Yuki, 1990; Purcifull et al., 1984 e Vega Rezende e Yuki, 1995) e inclusões amorfas (Purcifull et al., 1984 e Vega, Rezende e Yuki, 1995). As inclusões cilíndricas são sulcadas de 5 em 5 nm e estão arranjados em espirais. Caracterizam-se por estruturas epidérmicas em forma de fibras que são claramente visíveis como faixas quando coloridas e observadas em microscopia luminosa (Purcifull et al., 1984), indicando a presença de RNA e proteínas nestas inclusões (Martelli e Russo, 1976; Christie e Edwardson (1977), citados por Purcifull, 1984).

A ocorrência da virose está associada a maior população de afídeos vetores, cedo ou durante o desenvolvimento dos hospedeiros, fator importante na difusão do vírus. Os elevados índices de ocorrência e a severa incidência do mosaico verificados, parecem implicar na presença de grandes populações ativas de pulgões e na persistência de fontes de vírus para esses vetores, que estão presentes no campo em cucurbitáceas silvestres e comerciais o ano todo, indicando uma tendência de aumento na disseminação (Yuki, 1990).

Em Campinas, períodos de maior incidência da enfermidade está correlacionada com os períodos mais quentes do ano, ou seja, final da primavera (novembro), até meados do outono (maio) (Yuki, 1990).

2.6 Transmissão

O PRSV-W é um vírus de fácil transmissão mecânica, que na natureza, se caracteriza por ser transmitido por afídeos de maneira não persistente e não circulativa com o vetor. O vetor pode adquirir o inóculo em questão de poucos segundos, com um período relativamente curto de retenção, já é capaz de transmitir o vírus, não sendo necessário um período de incubação do vírus no vetor (Purcifull et al., 1984). Segundo Adlerz (1977), citado por Purcifull et al., (1984), o tempo para a transmissão é de aproximadamente 1 hora. Karl e Schmelzer relataram cerca de 24 espécies em 15 gêneros de afídios (Purcifull et al., 1984). Na Região de Campinas, os vetores cuja curva de frequência apresentaram as melhores correlações

gráficas com a incidência da moléstia foram das espécies de *Aphis* e *Schizaphis graminum* (Yuki, 1990). Quanto a eficiência experimental na transmissão do PRSV-W, a espécie *Myzus persicae* seguida por *Aphis fabae solanella* e *Schizaphis graminum* (Gallo, 1988) foram citadas por Yuki (1990) como as melhores.

2.7 Manejo da doença

Estudos visando controlar o PRSV-W através do controle do vetor mostraram que os inseticidas Carbamatos, Aldicarb, Carbofuram, reduziram a incidência do mosaico. Essa redução no entanto, não foi suficiente para que pudessem ser recomendados. Aplicações de carbamato, Pirimicarb, óleo vegetal (Natur'oil) e mineral (Triona B), as purpurinas dourada e prateada e ainda a água de cal, não reduziram a incidência da virose. Cascas de arroz, aplicadas em faixas cobrindo total ou parcialmente a superfície do solo podem retardar em 1 a 2 semanas a entrada do vírus na cultura (Yuki, 1990). O uso da pré-imunização com de isolados fracos de PRSV-W também não surtiu os efeitos benéficos esperados (Rezende et al., 1994).

Baseando-se na baixa eficiência e no custo financeiro das estratégia usadas até o momento para o controle do PRSV-W, acredita-se que o uso de resistência varietal seja hoje, a alternativa mais plausível para um efetivo controle desta fitovirose. Seu custo é baixo e o uso, de mais fácil utilização pelo produtor. Estas são algumas fortes razões pelas quais esta alternativa tem merecido um crescente interesse por parte dos investigadores de vários países e de órgãos internacionais (CYMMIT, IRRI, CIAT) (Rodrigues JR. e Bettencourt, 1980) e nacionais (IAC, UFV, ESAL, IAPAR, ESALQ etc...)

O desenvolvimento de programas de melhoramento visando obtenção de genótipos superiores, depende da disponibilidade de recursos genéticos e da variabilidade entre os materiais para a característica que se quer selecionar (Ramalho, 1993); no caso, a existência de fontes de resistência ao PRSV-W.

2.8 Fontes de resistência e estudos de herança

Diante do problema e da perspectiva de seu controle, é preciso salientar que para se ter sucesso no processo de melhoramento, é necessário uma exaustiva pesquisa em busca de materiais, preferencialmente daqueles materiais resistentes portadores de fenótipos mais desejáveis para os caracteres que já são prioritários. A partir disto, importante será se estudar o modo como esses caracteres são transmitidos, embasando o melhorista no processo de melhoramento.

Sabe-se que o genótipo da planta e sua caracterização tem um efeito significativo sobre a sua reação à infecção de um vírus específico. Baseando-se nisso, Bawdem e Smith, classificaram as reações de resistência a viroses, de acordo com a resistência oferecida, em: imunidade, resistência a infecção, hipersensibilidade e tolerância (Kuabara, 1984). Na família Cucurbitaceae, os tipos de resistência ao PRSV-W que prevalecem e tem sido observadas são de resistência à multiplicação e de tolerância a infecção viral (Silva, 1977).

Prowidenti (1978), após não identificar nenhuma fonte de resistência em *C. maxima*, *C. moschata* e *C. pepo*, realizou testes com 14 espécies selvagens em campo, submetendo às viroses mais comuns e destrutivas que afetam as abóboras nos EUA, relatou que as espécies *Cucurbita ecuadorensis* e *Cucurbita foetidissima* são muito promissoras para o melhoramento, pois mostraram-se altamente resistentes ao PRSV-W, WMV-2 e ao CMV. Wall e Whitaker (1971) citados por Prowidenti (1978), demonstraram a possibilidade e viabilidade de hibridização entre *C. ecuadorensis* e *C. maxima* em cruzamentos recíprocos. Ressaltaram no entanto, a diminuição da resistência ao PRSV-W e ao WMV-2 em relação ao progenitor resistente nos descendentes, mas externaram que a resistência do material planta segregante parecia suficientemente adequado para o seu aproveitamento em programas de retrocruzamentos com *Cucurbita maxima* pois o material planta resultante expressava apenas sintomas moderados durante a fase inicial de crescimento. As gerações F₁ e F₂ desse cruzamento mostraram resistência à infecção sistêmica, quando inoculadas com CMV (Greber e Herrington 1980, citados por Kuabara e por Garcia de Salcedo 1984).

O modo de herança e as relações de ligação da resistência ao PRSV-W entre as diversas espécies de *Cucurbita* testadas variam bastante; e as reações de incompatibilidade entre diferentes espécies dificultam a transferência de genes de resistência (Kuabara, 1984).

Em seus estudos de revisão, Garcia de Salcedo (1984) relata que até aquela data, inexistiam trabalhos sobre a herança da resistência ao PRSV-W em *C. maxima*.

Após confirmar, os relatos de Costa (1974), sobre o nível moderado de resistência ao PRSV-W encontrado na cv. Menina Brasileira, Garcia de Salcedo (1984), realizou uma triagem em 19 cultivares de *C. maxima*, quando identificou, avaliando para a reação de resistência ao PRSV-W, quantitativa e qualitativamente, sete cultivares fontes de resistência: Coroa, Jerimum Caboclo, Moranga Bonato, Moranga, Moranga MG, BGH-947, BGH-4104. Esta mesma autora em testes realizados dentro da espécie *C. maxima*, cvs. BGH 947 e BGH 4104, bem como em *C. ecuadorensis* usada como padrão de resistência, verificou 100% e 95% de plantas resistentes, respectivamente. Relatou ainda que o híbrido Tetsukabuto, mostrou-se em duas triagens realizadas, suscetibilidade ao PRSV-W

Maluf, Silva e Moura (1984 e 1985), estudaram a herança da resistência ao PRSV-W na variedade de *Cucurbita maxima* Duch. 'Várzea Alegre' como fonte de resistência e verificaram que o caráter resistência ao PRSV-W, na cultivar Várzea Alegre era controlado por um par de genes recessivos, com ação gênica aditiva.

Maluf et al., (1986) em triagem realizada em busca de fontes de resistência ao PRSV-W, na qual identificaram o maior nível de resistência em *C. ecuadorensis*. Também identificaram bom nível de resistências em *C. maxima*, variedades 'Coroa IAC', 'Exposição', 'Várzea Alegre' em *C. moschata*, variedades 'Jacarezinho AG-1', 'Caravela', 'CMOS-003', 'Menina Brasileira', e resistência denominada 'intermediária' nos híbridos intra-específicos F₁ (Várzea Alegre x Autumn Pride) e F₁ (CMOS-003 x Butterbush). Outras variedades testadas e consideradas susceptíveis foram, *C. maxima* (Autumn Pride, Blue Kuri, Ebiju, Redonda Amarela Gigante, Golden Nugget, Tsurunashi Yakko), *C. moschata* (Butterbush, Chirimen, Seca de Pescoço Gigante, Waltham Butternut), *C. pepo* (Warted Mixture. Agway Mixture, Bicolor Spoon, Caserta Asgrow, Caserta

SH 202, Ranger, Shenot Crown of Thorns, Small Sugar, Table King Bush) e o híbrido interespecífico Tetsukabuto (Maluf et al., 1986)

Em pepino, cultivares resistentes permitem a multiplicação do vírus, sem apresentação de sintomas. A desvantagem reside na possibilidade de recombinação entre as diferentes estirpes virais quando em situações de infecção múltipla e na possibilidade da cultivar servir como reservatório assintomático de inóculo para outras cultivares suscetíveis (Silva e Costa, 1978).

A existência de variabilidade genética; de efeito pouco pronunciado de cada gene e o grande efeito ambiental requerem o desenvolvimento e adequação de métodos estatísticos em auxílio à genética (Mather e Jinks, 1984).

O conhecimento do controle genético da resistência ao vírus do mancha anular do mamoeiro - estirpe melancia (PRSV-W), em *Cucurbita maxima* Duch, cerca-se de importância devido ser o conhecimento básico necessário para que o melhorista da espécie possa trabalhar. Uma das metodologias utilizadas para o estudo do controle genético apresentada na literatura é o uso dos progenitores, da F_1 , F_2 e outras populações segregantes (Mather e Jinks, 1982 e 1984; Ramalho, Santos e Zimmermann, 1993 e Juliatti, 1994). Neste caso, permite-se tanto o emprego de componentes de médias (Mather e Jinks, 1984; Ramalho, Santos e Zimmermann, 1993; Cavalli, 1952 e Rowe e Alexander, 1980 citados por Juliatti, 1994) como de variância (Mather e Jinks, 1984; Vencovsky e Barriga, 1992; Ramalho, Santos, e Zimmermann, 1993 e Warner, 1952, citado por Juliatti 1994

Geralmente a formulação mais simples a ser usada na análise inicial considerada é aquela que inclui os parâmetros representando os efeitos aditivos dos genes e suas propriedades de dominância. Se o ajuste for adequado, não se justifica postular uma situação mais complexa. Caso contrário, pode-se considerar uma formulação mais complexa, incorporando outros parâmetros, como por exemplo, interação entre genes não-alélicos ou ligação (Mather e Jinks, 1984 e Ramalho, Santos e Zimmermann, 1993).

Pelos componentes de médias, admitindo-se herança dissômica, necessita-se para descrever as diferenças na expressão fenotípica de genótipos com relação a qualquer caráter que afetem, a estimação de dois parâmetros: a , medindo o afastamento de cada homocigoto da média e d , medindo o afastamento de cada heterocigoto da média (m), e também elaborar um modelo. Representando os efeitos aditivos e de dominância pode ser usado o procedimento adotado por Cavalli (1952) conhecido por teste de escala conjunto a partir da combinação de todos os testes

num único teste, estimando os parâmetros do modelo a partir das médias de todos os tipos de famílias à disposição, seguido por uma comparação destas médias observadas com os valores esperados derivados das estimativas dos três parâmetros m , $[a]$ e $[d]$ (Mather e Jinks, 1984 e Ramalho, Santos e Zimmermann, 1993).

Os parâmetros genéticos após estimados possibilitam inferir sobre a natureza da ação gênica envolvida na herança dos caracteres permitindo o melhor desempenho no processo do melhoramento de plantas (Robinson e Cockerham (1965), citados por Garcia de Salcedo, 1984; Ramalho, Santos e Zimmermann, 1993).

A expressão genotípica de um indivíduo é o resultado da soma dos efeitos genéticos aditivos - aditivo, aditivo - dominância e epistáticos, sendo o efeito aditivo ou a variância aditiva a que contribui plenamente para a resposta à seleção, independente do método de seleção, considerando-se ausência dos efeitos epistáticos (Vencovsky, 1969; Garcia de Salcedo, 1984 e Ramalho, 1993).

O parâmetro populacional que reflete a correspondência entre o genótipo e o fenótipo para um determinado caráter é representado pela herdabilidade. Desta forma, ela mede a confiabilidade do valor fenotípico como indicador do valor reprodutivo, influenciando nas inúmeras decisões práticas que os melhoristas tomam (Ramalho, Santos e Zimmermann, 1993).

A herdabilidade foi dividida em herdabilidade no sentido amplo (parâmetro populacional de correspondência entre o genótipo e o fenótipo de um caráter herdável), razão entre variância genética e variância total, e herdabilidade no sentido restrito, razão entre a variância herdável (variância genética aditiva) e a variância total.

O coeficiente de herdabilidade é utilizado no melhoramento como orientação sobre a quantidade relativa de variação genética que está presente no melhoramento. Assim, quantifica a facilidade ou dificuldade de obter progresso por seleção em programas de melhoramento em face da magnitude do efeito ambiental (Hanson, 1963 citado por Garcia de Salcedo, 1984). Assim, os caracteres que apresentam baixa herdabilidade seriam difíceis de serem modificados por seleção, devido a magnitude do efeito ambiental.

2.9 Aspecto inoculação

Della Vecchia e Ávila (1985), usaram em seus trabalhos de herança da resistência ao PRSV-W em melão, uma mistura de três isolados do vírus coletados e identificados por Ávila et al., 1984 como PRSV-W. Estes isolados tinham sido mantidos em plantas de *C. pepo* L. (cv. 'Caserta'). Também Maluf (1986), utilizou como inóculo um macerado de folhas infectadas de *C. pepo* (cv. Caserta) na diluição de 1/10 (P/V) em tampão fosfato 0,02 M pH7,0 contendo 0,1% de Na₂SO₃. Foram efetuadas mecanicamente duas inoculações virais em cada planta, utilizando-se carborundum 400 mesh como abrasivo. A primeira inoculação foi realizada nas folhas cotiledonares, 10 dias após a emergência das plântulas e a segunda nas primeiras folhas verdadeiras 4 dias após a primeira inoculação.

A utilização de vetores afideos para se fazer a inoculação parece ser tarefa comum entre os pesquisadores que trabalham com o PRSV-W. Pavan (1985), usou como vetor em seus estudos o *Aphis gossypii*: Após ficar em jejum por 1 hora, esses afideos foram soltos sobre plantas de *C. pepo* cv. Caserta infectadas com o vírus por 10 minutos (tempo para a aquisição do vírus), após essa fase, procedeu -se a infestação das plantas testes.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 LOCAL DO ESTUDO

O presente estudo foi realizado a nível de campo e sob condições de casa de vegetação, em instalações pertencentes aos Departamentos de Fitossanidade (Fitopatologia: casa de vegetação e laboratório de virologia) e Fitotecnia (Setor de Olericultura) da Universidade Federal de Lavras - Lavras - Minas Gerais, Brasil, situada a 21°14'16" de latitude sul, 45°00'00" de longitude oeste de Greenwich e altitude de 910 m. Tem ocorrência de uma precipitação média anual da ordem de 1493 mm (Castro Neto et al., 1980).

3.2 MATERIAL VIRAL (isolado de PRSV-W)

3.2.1 Manutenção

Amostras de folhas de *C. pepo* 'Caserta', com sintomas de mosaico (supostamente o PRSV-W) e deformações foliares foram utilizadas como fonte de inóculo para a transmissão mecânica às diversas indicadoras do vírus.

Os isolados foram mantidos através de inoculações mecânicas periódicas em *Cucurbita pepo* L. cultivar Caserta, e em material planta dessecado conservado a temperatura de $\pm 4^{\circ}\text{C}$.

3.2.2 Testes para caracterização do isolado viral

Indica-se seguidamente 2 testes com suas respectivas técnicas, adotados para a confirmação da caracterização do isolado viral em estudo

Círculo de hospedeiros - As hospedeiras testadas foram inoculadas com extrato foliar de plantas de *C. pepo* 'Caserta', que eram mantidas em casa de vegetação e apresentavam-se com sintomas severos de mosaico e deformação de folhas. O inóculo viral foi extraído através da maceração de folhas jovens de *C. pepo* com sintomas severos da virose por uma solução tampão fosfato 0,01 M, pH 7,0 com adição de 0,1% de sulfito de sódio. Foi usado

uma proporção de 90ml de tampão fosfato para 10 g de tecido foliar fresco (Ávila et al., 1984; Della Vecchia e Ávila, 1985 e Maluf, 1985).

A inoculação foi realizada mecanicamente quando, aspergiu-se o abrasivo carborundum malha 400 mesh sobre a área foliar, da planta, já expandida e, friccionou-se com leve pressão sobre a folha o polegar com a suspensão do inóculo viral

Plantas sadias, da mesma cultivar, foram inoculadas com tampão fosfato e utilizadas como testemunhas. Após, as folhas inoculadas foram lavadas com água corrente retirando-se o abrasivo e mantidas sob condições de casa de vegetação.

As avaliações tiveram início 10 dias após a inoculação, sendo as plantas individualmente observadas quanto a sua reação ao PRSV-W, por um período de 30 dias. Um sistema de classificação da severidade de sintomas preestabelecido foi adotado (adaptado da classificação de Maluf, 1986) como segue:

Escala de notas de 0 a 5:

0= Sem sintomas visíveis e/ou reação de hipersensibilidade;

1= Maioria de folhas sem sintomas; uma folha nova apresentando sintomas brandos e/ou leve clareamento de nervuras;

2= Maioria das folhas com sintomas brandos, leve clareamento de nervuras ou manchas cloróticas esparsas;

3= Maioria de folhas com mosaico; sintomas variando de clareamento de nervuras com pontos cloróticos em menos de 50% da área foliar;

4= Quase todas as folhas com mosaico sistêmico; coalescência de áreas cloróticas, chegando até 50% da área foliar;

5= Quase todas as folhas com mosaico severo; apresentando folhas com mais de 50% de sua área foliar afetada ou com distorções severas.

Abaixo citadas, as variedades de plantas testes indicadoras que foram usadas na identificação do isolado viral de cucurbitáceas estudado

<p><i>Carica papaya</i> <i>Cucurbita maxima</i> 'Buttercup' <i>Cucurbita maxima</i> 'Redland Trailblazer' <i>Cucurbita pepo</i> 'Caserta' <i>Cucumis melo</i> 'Melão eldorado -300' <i>Cucumis sativus</i> 'Chipper' <i>Gomphrena globosa</i> L. <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill 'Kada' <i>Nicotiana glutinosa</i></p>
--

Microscopia eletrônica (leaf dip) Grades de 3mm de diâmetro, de cobre, de malha com 200-300 mesh, cobertas com filme suporte de parlodium/carbono (colódio de nitrocelulose) foram colocados a incubar por 30 minutos sob extrato do tecido infectado a ser testado (Figueira¹, comunicação pessoal, 1995 e Nogueira, 1995). Após, retirou-se o excesso de extrato encostando-se uma tira de papel de filtro de filtração rápida na gradinha. Lavou-se com água bidestilada deionizada por três vezes seguidas retirando-se o excesso a cada lavagem. Após, as preparações foram contrastadas com acetato de uranila 1% por 15 min, retirou-se o excesso (Souza, 1989 e Vega et al., 1995). Finalizando, as preparações foram levadas ao microscópio eletrônico Zeiss EM-10C com aumento de 10.000 a 75.000 e visualizadas (Nogueira, 1995).

Obteve-se o extrato foliar de plantas de *C. pepo* previamente inoculadas que expressavam sintomas de mosaicos e deformações de folhas e frutos, mantidas em casa de vegetação através de sementeiras e retroinoculações periódicas.

3.3 Controle Genético da Resistência ao PRSV-W.

Indica-se a seguir o procedimento adotado na obtenção, preparação, condução e na avaliação das gerações estudadas, bem como a metodologia para as análises dos dados e estimação dos parâmetros genéticos objetivados no presente estudo.

¹Prof^{ta} Antônia dos Reis Figueira, Pós-Doctor de Fitopatologia: Virologia Vegetal do Departamento de Fitossanidade da Universidade Federal de Lavras

3.3.1 MATERIAL VEGETAL

Abaixo descritas, estão as linhagens de *Cucurbita maxima* usadas, a partir das quais obteve-se todas as gerações utilizadas no presente estudo.

'Redlands Trailblazer'
'ABL-10'
'Buttercup'

'Redlands Trailblazer': É uma linhagem de *Cucurbita maxima* do tipo rasteiro, frutos arredondados verde-acinzentados, obtida na Austrália. Tem sua resistência ao PRSV-W derivada a partir da espécie selvagem *Cucurbita ecuadorensis*

'ABL-10': É uma linhagem de *Cucurbita maxima* do tipo moita com frutos arredondados verde-escuros, resistente ao PRSV-W, sendo esta resistência obtida a partir da cultivar 'Coroa, também de *C. maxima*.

'Buttercup': É uma linhagem de *Cucurbita maxima*, de origem americana, hábito de crescimento tipo rasteiro, seus frutos são achatados e verde-escuros, bastante suscetível ao PRSV-W.

Testando-se as três linhagens acima com a inoculação mecânica do PRSV-W, confirmou-se a resistência das linhagens 'ABL-10' e 'Redlands Trailblazer' e a suscetibilidade da linhagem 'Buttercup' (Pereira, dados não publicados, 1994).

As sementes iniciais das linhagens usadas no presente estudo, cedidas pelo Prof. Wilson Roberto Maluf, do Departamento de Agricultura da UFLA - Lavras - MG, foram semeadas e multiplicadas a nível de campo. Conjuntamente, obteve-se as gerações F₁ entre as três linhagens:

F₁(ABL-10 X Buttercup);
F₁(Redlands Trailblazer X Buttercup);
F₁(Redlands Trailblazer X ABL-10);

Em seguida, obteve-se os retrocruzamentos para ambos os parentais e a geração F_2 de cada cruzamento inicial, completando-se as gerações necessárias ao estudo da herança da resistência ao PRSV-W.

3.3.2 Delineamento Experimental

O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados com 6 tratamentos e 4 repetições. As 6 populações: os progenitores (P_1 e P_2), F_1 , os retrocruzamentos (RC_{11} e RC_{21}) e a geração F_2 de cada um dos 3 cruzamentos originais, constituíram os tratamentos. Os ensaios foram realizados a nível de casa de vegetação, na qual os vasos foram dispostos em bancadas. Potes plásticos, volume 0,5 litros, cheios com substrato foram umedecidos e distribuídos em 4 bancadas (blocos) ao acaso. O número de plantas por parcela variou de acordo com a variabilidade esperada para cada geração. Dentro de cada bloco, constantemente os potes (plantas) eram redistribuídos, melhorando a casualização e a exposição a luz.

3.3.3 Técnicas

Indica-se seguidamente o procedimento adotado para obtenção, preparação cultural e inoculação das plantas experimentais, incluindo materiais usados para o seu efeito.

Colheita dos frutos e extração das sementes: Com idade superior a 40 dias e após identificação individual, procedeu-se a colheita dos frutos. Armazenados em prateleiras e/ou grupos separados segundo cruzamento e geração, por aproximadamente 15 dias, visando a melhoria da qualidade e maturação da semente, os frutos foram abertos e retiraram-se as sementes. Após serem lavadas insistentemente para a eliminação e separação da placenta, as sementes foram postas a secar ao ar até que atingissem umidade que permitisse seu bom armazenamento.

-Preparo do substrato: Procedeu-se o preparo do substrato para o primeiro ensaio:

- Misturou-se: -1 parte de plantcell;
- 1 parte de casca de arroz carbonizada;
- 2,5 Kg de 4-14-8 por m^3 .

Os 2 ensaios seguintes foram realizados reaproveitando o substrato dos ensaios anteriores com a adição de:

-1 parte de esterco bovino para cada 3 partes de substrato

-2,5 Kg de 4-14-8 por m³.

O substrato assim confeccionado, antes de ser usado foi tratado por 48 h com brometo de metila (980 g/Kg i.a), após o qual, foi distribuído em potes plásticos de 0,5 l individualmente identificados

Semeadura: Usou-se apenas sementes bem conformadas, retiradas de amostras ao acaso em número 2 vezes maior que o estande final objetivado para cada geração estudada. As sementes tratadas com Iprodione (500g/Kg i.a), foram semeadas, procedendo-se 4 dias após início da germinação um desbaste deixando-se duas plântulas por vaso.

Inoculação: A suspensão de inóculo viral já caracterizado e identificado foi obtido e extraído após o tratamento com N₂ líquido e maceração de folhas jovens de *C. pepo* com sintomas severos de mosaico e deformações, por uma solução tampão fosfato 0,01 M, pH 7,0 com adição de 0,1% de sulfito de sódio. Foi usado uma proporção de 90ml de tampão fosfato para 10 g de tecido foliar fresco (Ávila et al., 1984; Della Vecchia e Ávila, 1985 e Maluf, 1985).

Foi realizada mecanicamente apenas uma inoculação. As planta, em estágio de folhas cotiledonares completamente expandidas, receberam por aspersão, o abrasivo carborundum malha 400 e com leve pressão do polegar molhado na suspensão do inóculo viral friccionou-se as folhas inoculando o patógeno.

Como controle, usou-se 8 plantas de abobrinha 'Caserta', sendo 4 inoculadas com a suspensão com o inóculo viral, e 4 somente com o tampão.

As plantas foram regularmente regadas, e o controle fitossanitário de oídio foi realizado utilizando-se o fungicida Afugam (1g p.c./l).

3.3.4 Determinações

Após a inoculação, as reações das plantas ao inóculo viral, foram estudadas individualmente durante um período de 4 semanas. Realizaram-se duas avaliações, ambas, tiveram como base a discriminação em notas de 1 a 5 da severidade de sintomas (mosaico e/ou deformações foliares em folhas verdadeiras) apresentados pelas plantas como respostas a infecção viral.

Avaliaram-se os sintomas aos 14 e 28 dias após a inoculação para os cruzamentos entre 'ABL-10' x 'Buttercup' e 'Redlands Trailblazer' x 'Buttercup' e aos 21 e 28 dias para o Cruzamento 'Redlands Trailblazer' x 'ABL-10'. Considerou-se para efeito deste estudo e para facilitar comparações entre o controle genético da resistência entre os cruzamentos, somente as avaliações aos 28 dias após a inoculação.

Estabeleceu-se um sistema de classificação (Maluf, 1986) ao qual aplicou-se uma escala de notas de 0 até 5, segundo a severidade de sintomas, como segue:

- 0= Sem sintoma visíveis;
- 1= Maioria das folhas sem sintomas; uma ou outra folha nova com sintomas brandos e leve clareamento de nervuras;
- 2= Maioria das folhas com sintomas brandos, leve clareamento de nervuras ou manchas cloróticas esparsas;
- 3= Maioria de folhas com mosaico; sintomas variando de clareamento de nervuras com pontos cloróticos em menos de 50% da área foliar;
- 4= Quase todas as folhas com mosaico sistêmico; coalescência de áreas cloróticas, chegando até 50% da área foliar;
- 5= Quase todas as folhas com mosaico severo; apresentando folhas com mais de 50% de sua área foliar afetada ou com distorções severas.

3.3.4.1 Métodos estatísticos

3.3.4.1.1 Análise de variância

Utilizando-se as notas da severidade de sintomas apresentados pelas plantas, realizou-se para cada um dos cruzamento uma análise de variância (ANAVA). Para as significâncias usou-se o teste de F ou de FISHER. As estimativas das variâncias dentro para cada geração corresponderam a variâncias médias dentro de gerações, ponderadas pelos respectivos graus de liberdade em cada repetição (Tabela 3).

TABELA 1 - Esquema da análise de variância, em blocos casualizados, ao nível de médias, com as respectivas esperanças matemáticas dos quadrados médios $E(QM)$ e os componentes da variância fenotípica ao nível de plantas das gerações $P_1, P_2, F_1, F_2, RC_{11}$ e RC_{21} . UFLA, Lavras - MG, 1995.

F.V.	G.L.	QM	$E(QM)$	F
BLOCOS	r-1	Q_3	$\sigma_c^2 + a \sigma_b^2$	Q_3/Q_1
GERAÇÕES	p-1	Q_2	$\sigma_c^2 + r \sigma_p^2$	Q_2/Q_1
RESÍDUO	(r-1)(p-1)	Q_1	σ_c^2	
POPULAÇÕES	G.L.	$\sigma_F^2=QM$	componentes da variância fenotípica	
DENTRO P_1	n_1-1	Q_4	σ_E^2	
DENTRO P_2	n_2-1	Q_5	σ_E^2	
DENTRO F_1	n_3-1	Q_6	σ_E^2	
DENTRO F_2	n_4-1	Q_7	$\sigma_A^2 + \sigma_D^2 + \sigma_E^2$	
DENTRO RC_{11}	n_5-1	Q_8	$1/2\sigma_A^2 + \sigma_D^2 + 1/2 F + \sigma_E^2$	
DENTRO RC_{211}	n_6-1	Q_9	$1/2\sigma_A^2 + \sigma_D^2 - 1/2 F + \sigma_E^2$	

Onde:

σ_c^2 = Variância do residuo

σ_p^2 = Variância genética entre populações

σ_b^2 = Variância entre blocos

σ_A^2 = Variância aditiva

σ_D^2 = Variância de dominância

σ_E^2 = Variância ambiental.

F = covariância entre o efeito dos locos em homozigose (efeito aditivo) e locos em heterozigose (efeito de dominância).

Quadro 1

Gerações estudadas nos cruzamentos entre 3 linhagens de *C. maxima*

Cruzamento estudado	Gerações	Nº de plantas avaliadas aos 28 dias
'ABL-10' X 'Buttercup'	P ₁	34
	P ₂	57
	F ₁	30
	F ₂	367
	Rc ₁₁	149
	Rc ₂₁	169
'R. Trailblazer' X 'Buttercup'	P ₁	95
	P ₂	28
	F ₁	85
	F ₂	400
	Rc ₁₁	200
	Rc ₂₁	201
'R. Trailblazer' X 'ABL-10'	P ₁	80
	P ₂	43
	F ₁	82
	F ₂	396
	Rc ₁₁	200
	Rc ₂₁	178

3.3.4.1.2 Componentes de variâncias, estimativas de herdabilidades, número de genes, grau médio de dominância e erros de estimativas.

Com base no esquema proposto por Warner em 1952, estimou-se as variâncias aditivas, de dominância, herdabilidades no sentido amplo (h^2_a), no sentido restrito (h^2_r) (Ramalho; Santos e Pinto, 1990) e erros (Vencovsky e Barriga, 1992), pelas seguintes expressões:

$$h^2_a = \frac{\sigma^2_{F2} - \sigma^2_E}{\sigma^2_{F2}} \quad h^2_r = \frac{\sigma^2_A}{\sigma^2_{F2}} = \frac{2\sigma^2_{F2} - \sigma^2_{RC11} - \sigma^2_{RC21}}{\sigma^2_{F2}}$$

$$s(\sigma^2_A) = \left[\frac{4 \times 2 (\sigma^2_{F2})^2}{GL + 2} + \frac{2 (\sigma^2_{RC11})^2}{GL + 2} + \frac{2 (\sigma^2_{RC21})^2}{GL + 2} \right]^{1/2}$$

$$s(\sigma^2_D) = \left\{ \frac{2 (\sigma^2_{RC11})^2}{GL + 2} + \frac{2 (\sigma^2_{RC21})^2}{GL + 2} + \frac{2 (\sigma^2_{F2})^2}{GL + 2} + \left[\frac{2 (\sigma^2_{P1})^2}{GL + 2} + \frac{2 (\sigma^2_{P2})^2}{GL + 2} + \frac{2 (\sigma^2_{F1})^2}{GL + 2} \right] / 9 \right\}^{1/2}$$

$$s(h^2_a) = \left\{ \frac{2}{9} \left[\frac{1}{(\sigma^2_{F2})^2} \left(\frac{(\sigma^2_{P1})^2}{n_1 + 2} + \frac{(\sigma^2_{P2})^2}{n_2 + 2} + \frac{(\sigma^2_{F1})^2}{n_3 + 2} \right) + \frac{1}{n_4 + 2} \right] + \left(\frac{1}{n_4 + 2} \right) (3 - h^2_a)^2 \right\}^{1/2}$$

$$s(h^2_r) = \left\{ \frac{1}{(\sigma^2_{F2})^2} \left[\frac{(\sigma^2_{RC11})^2}{n_5 + 2} + \frac{(\sigma^2_{RC21})^2}{n_6 + 2} \right] + \left(\frac{1}{n_4 + 2} \right) (2 - h^2_r)^2 \right\}^{1/2}$$

onde: $S(h^2_a)$ e $S(h^2_r)$: Erro associado as estimativas da herdabilidade no sentido amplo e restrito, respectivamente, sendo n_1, n_2, n_3, n_4, n_5 e n_6 = número de indivíduos do parental masculino, feminino, F_1, F_2, RC_{11} e RC_{21} , respectivamente.

Para se estimar o número de genes, utilizou-se a expressão de Burton (Ramalho, Santos e Zimmermann (1990)

$$n = \frac{1/4 (3/4 - h + h^2) D^2}{\sigma_{F_2}^2 - \sigma_E^2}; \quad h = \frac{F_1 - P_1}{P_2 - P_1}$$

Onde: n = número de genes ; D = P₂ - P₁ ;

P₁, P₂, F₁ = Médias gerais dos parentais e da geração F₁, respectivamente, para a expressão do caráter.

As estimativas das variâncias ambientais (σ_E^2) foram obtidas com base na seguinte expressão

$$\sigma_E^2 = \sqrt[3]{\sigma_{P_1}^2 \times \sigma_{P_2}^2 \times \sigma_{F_1}^2}$$

3.3.4.1.3 Componentes de média

Neste procedimento utilizou-se o teste de Escala Conjunto segundo Rowe e Alexander (1980), com base no modelo aditivo - dominante proposto por Cavalli (1952) e apresentados por Mather e Jinks (1984). As análises foram realizadas segundo o método dos quadrados mínimos ponderados (Mather e Jinks, 1984; Ramalho, Santos e Zimmermann, 1993), para os cruzamentos ABL-10 x Buttercup, Redlands Trailblazer x Buttercup e ABL-10 x Redlands Trailblazer.

Os erros padrões dos coeficientes m , $[a]$ e $[d]$ foram calculados pela raiz quadrada da matriz de informação (Mather e Jinks, 1984)

4 RESULTADOS EXPERIMENTAIS E DISCUSSÕES

Apresentar-se-á seguidamente, sob dois títulos distintos, os resultados e as discussões referentes aos ensaios realizados, simplificando a exposição. O primeiro título, trata-se dos resultados relativos aos testes realizados para a identificação de um isolado viral (PRSV-W?). Segue-se com as estimativas dos parâmetros genéticos que expliquem, pela variação genética, entre e dentro de gerações concernentes aos cruzamentos e retrocruzamentos entre 3 linhagens de *Cucurbita maxima*, o controle genético da resistência ao PRSV-W

4.1 Caracterização e identificação do isolado viral

Procedeu-se dois testes básicos a diferenciação e identificação entre isolados indutores de sintomas de mosaico em cucurbitáceas; o primeiro, baseou-se em hospedeiros diferenciais e como complementação, o segundo teste, discriminando morfológicamente a partícula viral envolvida na patogênese via microscopia eletrônica (técnica leaf-dip).

4.1.1 Círculo de hospedeiro

Procedeu-se individualmente ao estudo da variação de sintomas apresentados pelas plantas testes, sob inoculação do PRSV-W, ao longo de 30 dias. Observou-se pelos resultados obtidos (Tabela 2), que somente as três espécies de cucurbitáceas referidas como suscetíveis foram infectadas sistemicamente.

Os resultados obtidos, em *Cucurbita pepo* cv. Caserta, *Cucurbita maxima* cv. Buttercup, *Cucumis sativus* cv. Chipper, cucurbitáceas consideradas suscetíveis, indicavam que o isolado viral em estudo poderia se tratar do PRSV-W. A não infecção da linhagem de *Cucurbita maxima* Redland Trailblazer, resistente ao PRSV-W, aliada a resistência apresentada pela cultivar de *Cucumis melo* Eldorado 300, assintomática quando inoculada com o isolado, resistente ao PRSV-W e suscetível ao WMV-2, era outro forte indicativo que o isolado em questão se tratava do PRSV-W

A resistência da *Gomphrena globosa* L. ao isolado em estudo, o diferencia do Vírus do Mosaico Amarelo da Abobrinha-de-moita (“ZYMV”) e elimina a possibilidade deste isolado estar misturado ao inóculo inicial, uma vez que pode ocorrer com o ZYMV uma infecção mista, induzindo lesões locais neste hospedeiro (Purcifull et al., 1984, Vega et al., 1995).

TABELA 2 - Sintomatologia apresentada por diferentes espécies inoculadas mecânicamente com o PRSV-W, 30 dias após a inoculação. UFLA, Lavras - MG, 1994.

Espécies testadas	Sintomas Observados*
<i>Carica papaya</i>	-
<i>Cucurbita maxima</i> 'Buttercup'	MS, DF
<i>Cucurbita maxima</i> Redland Trailblazer	-
<i>Cucurbita pepo</i> 'Caserta'	MS, DF
<i>Cucumis melo</i> 'Melão eldorado -300'	-
<i>Cucumis sativus</i> 'Chipper'	MS
<i>Gomphrena globosa</i> L.	-
<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill 'Kada'	-
<i>Nicotiana glutinosa</i>	-

*- Ausência de sintoma; MS- Mosaico Severo; DF- Deformação foliar

Algumas folhas das plantas de mamoeiro inoculadas apresentaram reações de necrosamento logo após a inoculação. Esses sintomas não foram atribuídos ao isolado viral e sim às injúrias provocadas pelo abrasivo utilizado na infecção. Confirmou-se o dano por injúria mecânica, a medida que novas folhas foram surgindo, pois nenhum outro sintoma semelhante ao da virose foi observado.

A aparente imunidade de *Nicotiana glutinosa* e *Carica papaya* à inoculação com o extrato viral do isolado foi mais um indício que este isolado viral em questão se tratava do PRSV-W, ao qual tanto o mamoeiro como a *Nicotiana glutinosa* são resistentes, e também servem de diferencial para não confundí-lo com o WMV-2 ao qual o mamoeiro é suscetível e a *Nicotiana glutinosa* é resistente.

O não aparecimento de sintomas de mosaico característico em *Lycopersicon esculentum* Mill 'Kada', distingue este isolado de um isolado pertencente ao vírus do mosaico do pepino (CMV) ou ao vírus do mosaico da melancia - estirpe-2 (WMV-2), aos quais o tomateiro 'Kada' se mostra suscetível.

4.1.2 Microscopia Eletrônica (Leaf-dip)

Foram observadas partículas virais associadas aos sintomas de mosaicos apresentados pelas plantas suscetíveis indicadoras. Estas partículas, apesar de encontradas em pequena frequência na preparação, foram claramente observadas. Morfologicamente, apresentavam-se como partículas alongadas e flexíveis, tratando-se de uma partícula característica do grupamento Potyvirus: (Gibbs, 1980; Purcifull; Hiebert e Edwardson, 1984 e Mathews, 1992).

4.1.3 Conclusão

Os dados obtidos permitem, em seu conjunto, concluir com segurança que o isolado estudado era constituído pelo vírus da mancha anular do mamoeiro - estirpe melancia.

4.2 Controle Genético da Resistência ao PRSV-W em *Cucurbita máxima* - Análise em plantas individuais

Procedeu-se individualmente ao estudo da reação das plantas a partir da inoculação, ao longo de 28 dias, no que se refere a severidade de sintomas. A partir destes dados, procederam-se as análises de variâncias, as distribuições de frequências, as determinações das variações dentro das geração de cada cruzamento e assim estimar via componentes de variância e componentes de média, os parâmetros genéticos de interesse.

4.2.1 Análises Estatísticas e Genéticas

4.2.1.1 Distribuição de frequências

Através das distribuições de frequências observadas em cada geração de cada um os três cruzamentos, notadamente quanto reação ao PRSV-W (Tabela 3, 4 e 5), estimou-se as grandezas biométricas, as médias, variâncias e assim por diante, os aspectos relevantes a essas distribuições, refletindo de maneira característica, as propriedades do sistema gênico do qual se origina o componente herdável da variação. Considerou-se resistentes as plantas que apresentaram ausência de sintomas ou sintomas brandos de mosaico (notas iguais ou inferior a 2), e susceptíveis as plantas que apresentaram sintomas severos de mosaico e deformações foliares (notas iguais ou superiores a 3), 3 - 4 semanas após a inoculação.

TABELA 3 - Frequências observadas nos cruzamento entre as linhagens de *Cucurbita. maxima* Duch (ABL-10 x Buttercup), quanto a severidade de infecção pelo PRSV-W. UFLA, Lavras- MG, 1995.

Avaliações	Aos. 14 dias após a inoculação						Aos. 28 dias após a inoculação					
	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5
Gerações avaliadas												
ABL-10 (P ₁)	-	26	12	0	0	0	-	15	19	0	0	0
Buttercup (P ₂)	-	2	1	1	20	32	-	1	1	1	21	32
F ₁ (P ₁ x P ₂)	-	7	10	11	1	0	-	5	11	12	2	0
RC ₁₁ (P ₁ x F ₁)	-	44	69	35	0	0	-	34	81	34	0	0
RC ₂₁ (P ₂ x F ₁)	-	29	56	65	26	0	-	23	39	80	23	4
F ₂	-	109	136	70	13	2	-	90	165	83	25	4

TABELA 4 - Frequências observadas nos cruzamentos entre as linhagens de *Cucurbita. maxima* Duch (Redlands Trailblazer x Buttercup), quanto a severidade de infecção pelo PRSV-W. UFLA, Lavras- MG, 1995.

Avaliações	Aos. 14 dias após a inoculação						Aos. 28 dias após a inoculação					
	Gerações avaliadas							0	1	2	3	4
Redlands trailblazer(P ₁)	-	67	26	0	0	0	-	85	9	1	0	0
Buttercup (P ₂)	-	4	6	18	2	0	-	-	1	3	10	14
F ₁ (P ₁ x P ₂)	-	5	63	17	0	0	-	7	25	33	16	4
RC ₁₁ (P ₁ x F ₁)	-	36	148	7	0	0	-	80	113	7	0	0
RC ₂₁ (P ² x F ₁)	-	18	113	65	2	0	-	1	7	63	70	60
F ₂	-	73	291	35	16	4	-	40	154	119	56	31

TABELA 5 - Frequências observadas nos cruzamento entre as linhagens de *Cucurbita. maxima* Duch (Redlands Trailblazer X ABL-10), quanto a severidade de infecção pelo PRSV-W. UFLA, Lavras- MG, 1995.

Avaliações	Aos. 21 dias após a inoculação						Aos. 28 dias após a inoculação					
	Gerações avaliadas							0	1	2	3	4
Redlands Trailblazer(P ₁)	22	56	2	0	0	0	9	63	7	0	0	0
ABL-10 (P ₂)	2	8	19	14	0	0	2	14	21	3	0	0
F ₁ (P ₁ x P ₂)	0	11	53	18	0	0	2	51	26	0	0	0
RC ₁₁ (P ₁ x F ₁)	9	159	29	3	0	0	25	155	20	0	0	0
RC ₂₁ (P ² x F ₁)	2	32	91	50	3	0	2	65	91	19	1	0
F ₂	3	106	186	95	6	0	30	213	132	19	1	0

As gerações referentes ao cruzamento entre as linhagens ABL-10 e Buttercup, apresentaram uma distribuição de frequência contínua. Ao comparar e analisar os resultados das distribuições de frequências dos parentais, referentes às gerações F₁ e F₂ (Tabela - 3), verifica-se uma provável dominância parcial para o controle da resistência na linhagem ABL-10. (Vencovsky e Barriga, 1992 e Ramalho, Santos e Zimmermann, 1993). Notou-se também neste cruzamento, ao se comparar a severidade de sintomas aos 14 dias e aos 28 dias após a inoculação, um ligeiro aumento na média de severidade de sintomas.

As distribuições de frequências observadas no cruzamento entre as linhagens Redlands Trailblazer e Buttercup também se mostraram contínua. Verificou-se pelas distribuições nas gerações F₁ e F₂ (Tabela 4) desse cruzamento, uma provável ausência de dominância do paternal resistente. Nota-se também a maior resistência apresentada pela geração Rc₁₁ (F₁ x Redlands Trailblazer). Em algumas plantas oriundas do cruzamento entre Redlands Trailblazer e Buttercup, verificou-se a ocorrência de uma leve clorose foliar, que mais tarde induzia a reações

que se expressavam por pontuações necróticas, sugerindo a ação de algum mecanismo genético que induzia a reação de hipersensibilidade em certos pontos, aliado a resistência a disseminação e/ou multiplicação do vírus dentro da planta, como é relatado por Russel (1978) confirmado por Garcia de Salcedo (1984). Notou-se também, a medida que as plantas emitiam novas folhas, que os sintomas acima citados tornavam-se menos severos, concordando com Greber e Herrington (1980) citados por Garcia de Salcedo (1984), que assinalaram a maior suscetibilidade dos híbridos entre *Cucurbita maxima* e *C. ecuadorensis*, os quais apresentavam sintomas moderados, que acometiam as plantas na fase inicial de crescimento, em relação ao progenitor resistente (*C. ecuadorensis*).

No cruzamento entre as linhagens ABL-10 e Redlands Trailblazer, onde ambos os progenitores são considerados resistentes, verificou-se uma baixa severidade de sintomas (Tabela - 5). Considerando-se o progenitor ABL-10, a ocorrência de uma pequena severidade de sintomas com notas iguais ou inferiores a 3, média 2,045, confirmando as observações realizadas por Garcia de Salcedo (1984) e Maluf² (comunicação pessoal, 1993) nas quais acreditavam eles, ser a resistência ao PRSV-W em *Cucurbita maxima* do tipo tolerância. Confirmou-se também nesse cruzamento, a alta resistência ao PRSV-W do progenitor Redlands Trailblazer, notas iguais ou inferiores a 2 e média de severidade de sintomas igual a 0,755. Outra tendência importante que pôde ser observada (Tabela - 5) relacionou-se a atuação conjunta das duas fontes de resistência no sentido de uma ligeira redução na severidade de sintomas nas gerações descendentes. Essa redução foi verificada tanto inicialmente pela menor severidade de sintomas quanto tardiamente, na sintomatologia que as plantas apresentavam a medida que envelheciam. Na combinação dos dois paternos, notou-se uma ligeira tendência da distribuição de frequências no sentido do paternal ABL-10, isto é, no sentido do paternal menos resistente. Nas gerações segregantes (F_2 e Rc_1) ocorreu plantas suscetíveis (segregação transgênica), indicando o não alelismo dos genes de resistência.

²Prof. Wilson da Roberto Maluf, PhD em Melhoramento e Produção de sementes de Hortaliças do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras.

4.2.1.2 Avaliação do tipo de via retroinoculação em *Cucurbita pepo*. cv. Clarita

Extratos de tecido foliar de todas as populações testadas, e de todos os níveis de severidade de sintomas analisados, até mesmo folhas de plantas assintomáticas (plantas consideradas como resistentes, sem sintomas aparentes), foram retroinoculados em *C. pepo* cv. Caserta, para se verificar a presença do PRSV-W e também para se determinar quais os tipos de resistência envolvidos.

A recuperação do agente etiológico viral foi conseguido a partir de todos os níveis de severidade de sintomas nas populações estudadas, inclusive em plantas sem sintomas aparentes. A presença do vírus foi verificada, pela sintomatologia expressada, induzida pelo agente viral como, mosaicos e deformações foliares, nas plantas indicadoras. Baseando-se nas reações e no tempo entre a inoculação e o aparecimento dos sintomas característicos da enfermidade pôde-se inferir em dois tipos de resistência ao PRSV-W. O primeiro, do tipo tolerância, ocorrendo na linha ABL-10, foi atribuído pela expressão de sintomas em plantas testes de *Cucurbita pepo* cv. Caserta, inoculadas com extrato de folhas da linha ABL-10, na mesma época do aparecimento de sintomas na testemunha (inoculada com extrato de caserta com o PRSV-W) e o segundo tipo denominado de resistência a multiplicação viral ocorrendo na linha Redlands Trailblazer, atribuído devido a expressão de sintomas tardiamente nas plantas testes inoculadas com extrato proveniente de folhas da linhagem Redlands Trailblazer, quando comparado com a testemunha e com a linhagem ABL-10, segundo a classificação de Russel (1978) e de Garcia de Salcedo (1984).

4.2.2 Componentes de Variância

Os resultados da análise de variância para a reação de resistência ao PRSV-W referentes aos ensaios de gerações (paternais, F_1 , F_2 e retrocruzamentos para ambos os paternais) oriundas do cruzamento entre as linhagens de *Cucurbita maxima*, ABL-10, Redlands Trailblazer e Buttercup, estão apresentados na Tabela 6. Observou-se pelo teste de F , o efeito significativo ($P \leq 0,01$) de geração em todos os cruzamentos, indicando a existência da variação genética para a reação de resistência ao PRSV-W entre as linhagens estudadas.

Os baixos valores dos coeficientes de variações experimentais expostos na Tabela 6, indicam a boa precisão dos dados obtidos para o caráter estudado (Pimentel Gomes, 1990)

4.2.2.1 Estimativas de Parâmetros Genéticos

As estimativas das variâncias genéticas, ambientais, herdabilidade, grau médio de dominância e número provável de genes, obtidas a partir dos quadrados médios para a reação de resistência ao PRSV-W, estão apresentados na Tabela 6 e 7.

TABELA 6 - ANAVA da severidade de sintomas, para efeito de gerações após inoculação do PRSV-W, provenientes, dos cruzamentos entre as linhagens ABL-10 e Buttercup; ABL-10 e Redlands Trailblazer e Buttercup e Redlands Trailblazer - UFLA - Lavras - MG.

CRUZAMENTOS									
ABL-10 (P ₁) x Buttercup (P ₂) ¹ ABL-10(P ₂)xR.Trailblazer(P ₁) ² Buttercup(P ₂)xR.trailblazer(P ₁) ³									
F.V	GL	QM	F	GL	QM	F	GL	QM	F
Gerações	5	3,8935	35,265*	5	1,2804	20,955**	5	6,4946	115,69**
			*						
Blocos	3	0,232	0,7004 ^{ns}	3	0,0477	0,7807 ^{na}	3	0,0361	0,6425 ^{ns}
Erro	15	0,1104		15	0,0611		15	0,0561	
Dentro(p ₁)	30	0,2129		76	0,0909		91	0,1486	
Dentro(p ₂)	53	0,7848		39	0,3580		24	0,7226	
Dentro(F ₁)	26	0,6054		78	0,2465		81	0,9910	
Dentro(RC ₁₁)	145	0,4542		196	0,1687		196	0,2896	
Dentro(RC ₂₁)	165	0,9133		174	0,3436		197	0,7729	
Dentro(F ₂)	363	0,8313		392	0,4915		396	1,1269	
C.V (%)	13,14			15,073			8,544		

1,3 = Dados referentes à avaliação 28 dias após inoculação.

2 = Dados referentes à avaliação 21 dias após inoculação.

** = Nível de Significância ($P \leq 0,01$) pelo teste de *F*.

ns = Não significância

Observa-se inicialmente, as diferenças entre os três cruzamentos estudados quanto a variância genética aditiva e entre os dois progenitores resistentes quanto seu comportamento diferenciado nas diversas estimativas (Tabela 7). Nota-se também a presença de bom nível de variação nas gerações segregantes (F₂ e R_{c.1}), quando comparado com os controles (P₁, P₂ e F₁) nos três cruzamentos estudados (Tabela 6).

Ao nível de plantas individuais e ao nível médio das gerações referentes aos três cruzamentos realizados, observou-se herdabilidades, sentido amplo e restrito, com altas magnitudes (tabela 7).

Pelos resultados apresentados na Tabela 7, verifica-se que a herdabilidade no sentido amplo e restrito para a resistência ao PRSV-W no cruzamento ABL-10 x Buttercup foram respectivamente, de 43,95% e 35,5% com erros associado de 16,43% e 18,36%. Estimou-se também para este cruzamento, o número de genes envolvidos na resistência da linhagem ABL-10 em aproximadamente 3 genes, os quais apresentavam locus com dominância no sentido de aumentar a resistência da linhagem ao PRSV-W. O grau médio de dominância, na linhagem ABL-10, estimado em 0,69, indica dominância parcial para o caráter.

TABELA 7 - Estimativas das variâncias aditivas (σ^2_A), dominância (σ^2_D), ambiental (σ^2_E), herdabilidades no sentido amplo (h^2_a) e restrito (h^2_r), grau médio de dominância (gmd) e número provável de genes (n). UFLA, Lavras - MG, 1995

Cruzamentos	σ^2_A ¹	$+\sigma^2_D$ ²	$+\sigma^2_E$ ³	h^2_a ⁴ (%)	h^2_r ⁵ (%)	gmd ⁶	n ⁷
ABL-10 X Buttercup	0,2951 ± 0,1683	0,0703 ± 0,1504	0,4659	43,95 ± 16,43	35,5 ± 18,36	0,69	2,8281 (≈ 3,00)
Buttercup X Redlands Trailblazer	1,1913 ± 0,1799	0,0 ± 0,1307	0,4739	57,95 ± 14,18	57,95 ± 10,34	0,0 ^b	1,8630 (≈ 2,00)
ABL-10 X Redlands Trailblazer	0,4707 ± 0,08084	0,0 ± 0,06118	0,2002	59,27 ± 13,56	59,27 ± 10,85	0,0 ^a	1,1052 (≈ 1,00)

(a) Estimativa negativa (-0,1794), para a qual foi assumido o valor zero

(b) Estimativa negativa (-0,5383), para a qual foi assumido o valor zero

As estimativas das herdabilidades, sentido amplo e restrito, referentes as gerações vindas do cruzamento entre o paternal resistente Redlands Trailblazer e o paternal suscetível Buttercup, foram respectivamente, 57,95% e 57,95% e seus respectivos erros estimados associados foram de 14,18% e 10,34%. Sugeriu-se que a ação gênica envolvida na redução da doença (ou no aumento da resistência) nesse cruzamento, foi predominantemente aditiva. A estimativa do grau médio de dominância foi aproximadamente 0 (zero), assumido devido ao efeito do somatório de todos os locus em heterozigose ser negativo, da ordem de (-0,5383). O número de genes estimados para o controle da resistência foi aproximadamente 2, revelando assim, similaridades aos resultados obtidos por Maluf, Silva e Moura (1985), com a cv. resistente 'Várzea Alegre.' Para o cruzamento ABL-10 x Redlands Trailblazer, estimou-se as herdabilidades nos sentidos amplo e restrito, respectivamente em 59,27% e 59,27% com respectivos erros associados às estimativas de 13,56% e 10,85%. Estimou-se também para esse cruzamento, que os dois progenitores resistentes se diferenciam quanto ao controle genético da resistência em apenas 1 gene. Devido a ocorrência de segregação transgênica (Tabela 5), postula-se na existência de um 4^o gene favorável para o controle da resistência ao PRSV-W quando se considera os dois paternos resistentes

4.2.3 Componentes de médias

O modelo testado nos cruzamentos, não apresentou valores significativos de qui - quadrado (Tabelas 8 e 9), indicando que o modelo aditivo-dominante se ajustava perfeitamente a distribuição dos dados obtidos nos cruzamentos estudados. E que as interações epistáticas não contribuíram significativamente para as diferenças entre as médias das gerações avaliadas. Podendo-se portanto, interpretar os dados com base em termos dos componentes aditivos e de dominância apenas.

4.2.3.1 Cruzamento ABL-10 x Buttercup

Neste cruzamento, os efeitos de dominância parcial [d] contribuíram no sentido de reduzir a suscetibilidade ou aumentar a resistência ao PRSV-W (Tabela 8 e 9). O grau médio de dominância [d/a] calculado pelos componentes de média para o cruzamento ABL-10 x Buttercup, nas gerações estudadas, foi estimado em -0,75 indicando uma dominância parcial no sentido da redução da enfermidade, ou aumentar a resistência nos heterozigotos, o que é muito

importante, pois possibilita o uso do progenitor ABL-10 na obtenção de híbridos com progenitores resistentes e/ou suscetíveis. Comparando-se os dados obtidos por componentes de média com os dados obtidos por componentes de variância, verifica-se a similaridade existente entre ambos, indicando que os alelos que fenotipicamente diminuíram a severidade de sintomas ou seja, que aumentaram a resistência ao PRSV-W nas gerações em heterozigose presentes, tem que ser mais frequentemente dominantes.

TABELA 8 - Componentes de médias observadas para os cruzamentos ABL-10 x Buttercup, Redlands Trailblazer x Buttercup, Redlands Trailblazer x ABL-10. UFLA, Lavras-MG, 1995.

componentes do modelo	Cruzamentos		
	ABL-10 x Buttercup	Redlands Trailblazer x buttercup	Redlands Trailblazer x ABL-10
	valores	valores	valores
m	2.7297 ± 0.06337	2.9425 ± 0.01311	1.5447 ± 0.05687
a	1.0777 ± 0.0555	1.91565 ± 0.01202	0.8410 ± 0.05215
d	-0.810 ± 0.1283	-0.3891 ± 0.02401	0.4574 ± 0.1041
x²	0.2297	0,1594	0,09045
Grau médio de Dominância	-0,75	-0,20	0,54

onde:

m= Valor médio entre todas as linhagens;

a= Somatório dos desvios dos homozigotos;

d= Somatório dos desvios dos heterozigotos;

4.2.3.2 Cruzamento Redlands Trailblazer x Buttercup

Para este cruzamento, verificou-se pelo teste de médias um pequeno efeito de dominância (Tabela 8 e 9). O grau médio de dominância [d/a] calculado pelos componentes de média (-0,20), indicaram que a ação gênica predominantemente aditiva foi a que mais contribuiu para aumento da resistência ao PRSV-W. Estes dados concordam com os dados obtidos por Maluf, Silva e Moura (1985) em seus trabalhos de herança da resistência em *C.maxima* 'Várzea Alegre'. Quando se compara esses dados com os dados estimados via componentes de variância, constata-se suas proximidades, reforçando os indícios que a resistência ao PRSV-W oriunda do paternal Redlands Trailblazer não possui um índice apreciável de dominância, ou seja a resistência nesse paternal é conferida por alelos frequentemente de ação aditiva.

TABELA 9 - Teste de escala conjunto de cruzamentos entre 3 linhagens de *Cucurbita maxima* UFLA, Lavras-MG, 1995.

Gerações	Número de plantas	σ^2	Médias	
			Obsevasdas	Esperadas
ABL-10 (P ₁)*	34	0.2129	1.5586	1.6520
Buttercup (P ₂)	57	0.7848	4.3180	3.8074
F ₁	30	0.6054	2.3670	1.9197
F ₂	367	0.8313	2.1417	2.3247
Rc ₁₁	149	0.4542	2.0000	1.7859
Rc ₂₁	169	0.9133	2.6810	2.8639
R. Trailblazer(P ₁)*	95	0.1486	1.1159	1.0269
Buttercup (P ₂)	28	0.7226	4.3100	4.8582
F ₁	85	0.9910	2.9646	2.5534
F ₂	400	1.1269	2.7100	2.7479
Rc ₁₁	200	0.2896	1.6350	1.7901
Rc ₂₁	201	0.7729	3.8950	3.7058
R. Trailblazer(P ₁)**	80	0.0909	0.755	0.6738
ABL-10 (P ₂)	43	0.3580	2.045	2.355
F ₁	82	0.2465	2.075	1.972
F ₂	396	0.4915	1.985	1.7434
Rc ₁₁	200	0.1687	1.120	1.1310
Rc ₂₁	178	0.3436	2.120	2.1639

* - Valores referentes a avaliação aos 28 dias após inoculação

** - Valores referentes a avaliação aos 21 dias após inoculação

4.2.3.3 Cruzamento Redlands Trailblazer x ABL-10

No cruzamento entre as duas linhagens parentais resistentes, onde um deles (ABL-10) apresenta nível de resistência ligeiramente inferior ao parental Redlands Trailblazer, o grau médio de dominância [d/a], calculado pelos componentes de médias nas gerações estudadas deste cruzamento foi estimado em 0,5439, indicando uma dominância parcial no sentido do paternal ABL-10, de menor grau de resistência. Apesar de se verificar via componentes de média a diminuição da resistência do paternal Redlands Trailblazer, quando hibridizado com o paternal ABL-10, constata-se via componentes de variância o melhoramento deste último paternal pela combinação da resistência dos dois paternais ($GMD = -0.1794$).

4.2.3 Considerações finais

Não tendo havido desvios do modelo aditivo-dominante (Tabela 8), não há evidências de ação gênica epistática. Os dados permitem admitir a existência de dois controles genéticos distintos da resistência, existentes nas linhas ABL-10 e Redlands Trailblazer, respectivamente. Em ambos os casos, as resistências parecem ser oligogênicas. Pelo menos alguns dos locus envolvidos nas resistências de ABL-10 e Redlands Trailblazer não são comuns a ambas indicando que diferentes introduções de *Cucurbita maxima* podem ter diferentes mecanismos de controle da resistência ao PRSV-W.

As estimativas dos coeficientes de herdabilidade no sentido restrito ao nível de plantas individuais nas gerações, indicam portanto, que a variação genética aditiva contribui com uma boa parte da variação fenotípica total o caráter resistência ao PRSV-W em *Cucurbita maxima*. O fato da resistência ao PRSV-W da linhagem ABL-10 ser conferido por genes com ação de dominância parcial no sentido da redução da enfermidade, possibilita seu uso em cruzamento para a resistência dominante/recessiva confeccionando híbridos. Se a estes fatos, aliar-se características agrônômicas de interesse (tais como: tipo e cor de fruto, hábito de crescimento "semi-moita", produtividade), a linhagem ABL-10, torna-se ainda mais promissora ao melhoramento para várias características de interesse.

No cruzamento entre os dois progenitores resistentes, Redlands Trailblazer e ABL-10, houve em F_2 e em Rc_{11} plantas suscetíveis (segregação transgressiva) indicando o não alelismo dos genes de resistência.

A resistência conferida por Redlands Trailblazer, embora de nível mais elevado do que a de ABL-10 quando em homozigose, parece ser de nível menos elevado do que a desta última quando em heterozigose, em virtude de uma virtual ausência de dominância, ou seja, grau médio de dominância próximo de zero (Tabela 7 e 8). Essas diferenças, aliadas a significância dos componentes de média no cruzamento entre ABL-10 e Redlands Trailblazer, e a variabilidade genética observada em populações segregantes desse cruzamento, reforçam a hipótese de que pelo menos um dos genes de resistência em ABL-10 não seja alélico ao(s) de Redlands Trailblazer.

Em todos os casos estudados a magnitude das herdabilidades encontradas variou de média a alta, indicando uma relativa facilidade para a seleção de plantas resistentes ao PRSV-W em *C. maxima*, conclusão que também chegaram Maluf, Silva e Moura (1985).

De fato, a origem das resistências nestes progenitores é diferente: Em ABL-10, os gens que controlam a resistência provém de outra *C. maxima*, enquanto a resistência em Redlands Trailblazer provém de *C. ecuadoerensis*, sendo pelo menos em parte distintos. Pode-se portanto, pensar num programa de melhoramento "piramidizar" estes alelos numa única linhagem, contribuindo talvez para uma maior estabilidade da resistência face a possíveis novas estirpes do vírus.

5 SUMÁRIO E CONCLUSÕES

Procedeu-se inicialmente o estudo de um isolado viral suspeito de ser o vírus indutor da mancha anular do mamoeiro, estirpe melancia (PRSV-W). Seguidamente, efetuou-se à investigação da resistência em 3 linhagens de *Cucurbita maxima*, e o estudo da herança da resistência ao PRSV-W em 6 gerações (Progenitores, F₁, F₂, Rc₁₁, Rc₂₁) derivadas de cada intercruzamentos entre as 3 linhagens investigadas. Utilizou-se de hospedeiros diferenciais e microscopia eletrônica (técnica leaf dip) para a identificação do isolado viral. A herança da resistência foi investigada avaliando-se plantas individuais, entre a 2^a e a 4^a semana após a inoculação com o PRSV-W, quanto a severidade de sintomas, gerando variação suficiente para estimar alguns parâmetros de interesse para o estudo do caráter. Estimou-se, os componentes de variâncias e de médias, herdabilidades sentido amplo e restrito, graus médios de dominância e o número provável de genes responsável pela resistência nos paternais.

As principais conclusões obtidas são as seguintes:

1 - O isolado viral estudado, foi identificado como o potyvirus causador da mancha anular do mamoeiro, estirpe melancia (PRSV-W).

2 - As linhagens de *Cucurbita maxima*, ABL -10 e Redlands Trailblazer mostraram - se resistentes ao PRSV-W, constituindo-se em boas fontes de resistência. O mecanismo de resistência da linhagem ABL-10 é do tipo tolerância, enquanto que a linhagem Redlands Trailblazer apresenta um tipo de resistência denominado resistência à multiplicação viral. Em ambos os casos, as resistências parecem ser oligogênicas. Pelo menos alguns dos locus envolvidos nas resistências de ABL-10 e Redlands Trailblazer não são comuns a ambas

3 - A linhagem resistente Redlands Trailblazer não apresentou nenhum grau apreciável de dominância. Postulou-se com base nas análises de variância, a ação de aproximadamente 2 genes com ação predominantemente aditiva. Já a linhagem ABL-10 também resistente ao PRSV-W, tem sua resistência controlada pela ação de aproximadamente três genes com dominância parcial

4 - No cruzamento entre os dois progenitores resistentes, Redlands Trailblazer e ABL-10, houve em F₂ e em Rc₁ plantas suscetíveis (segregação transgressiva) indicando o não alelismo dos genes de resistência.

5 - Em todos os casos estudados a magnitude das herdabilidades encontradas variaram de média a alta, indicando uma relativa facilidade para a seleção de plantas resistentes ao PRSV-W em *C. maxima*.

6 - Finalmente, discutem-se alguns aspectos e fazem-se sugestões relativas à utilização das informações mais relevantes. O fato da resistência ao PRSV-W da linhagem ABL-10 ser conferido por genes com ação de dominância parcial no sentido da redução da enfermidade possibilitando o uso do progenitor para a resistência dominante/recessiva na confecção de híbridos, aliado a outra fonte de resistência da linhagem Redlands Trailblazer , possibilita em um programa de melhoramento “piramidizar” estes alelos numa única linhagem, contribuindo talvez para uma maior estabilidade da resistência face a possíveis novas estirpes do vírus. Aponta-se também a necessidade de se prosseguir nesses estudos, abrangendo outras enfermidades bem como outras características agronômicas (fases vegetativa, reprodutiva) e nutricionais em *Cucurbita máxima*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, F. C; IKEDA, H; COSTA, A. S. Ocorrência do vírus do mosaico da melancia (*Citrullus vulgaris* Schrad.) em plantações de melão (*Cucumis melo* L.) na região de Belém-PA. **Revista de Olericultura**, Campinas, v.12, n.94, 1972.
- AMARAL JÚNIOR, A. T. **Análise multivariada e isozimática da divergência genética genética entre acessos de moranga (*Cucurbita maxima* DuRoi).** Viçosa: UFV. Imprensa. Universitária, 1994. 95p. (Tese - doutorado em Genética e melhoramento de Plantas).
- ÁVILA, A.C. Víruses de Cucurbitáceas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.8, n.85, p.52-54, 1982.
- ÁVILA, A.C. ; DE LA VECCHIA, P. T.; LIN, M. T.; D'OLIVEIRA, L. O. B.; ARAÚJO, J. P. Identificação do vírus (*Cucumis melo* e *Citrullus lanatus*) na região do submédio São Francisco. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.9, p.113-117, fev. 1984.
- 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, 1982.
- BATESON, N.; DALE, J. The nucleotide sequence of the coat protein gene and 3' untranslated region of papaya ringspot virus type W. **Biological Abstracts**, Philadelphia, v.94, Iss. 1, Ref 4389, 1992
- BEDENDO, I.P. Vírus. In: BERGAMIN, F.; KIMATI, H; AMORIM, L.. **Manual de fitopatologia: Princípios e conceitos**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, 919p.
- BITTAR, P. M. **Isolamento e Identificação do Vírus da Mancha Anelar do Mamoeiro, Estirpe da Melancia (PRSV-W), de Abobrinha em Uberlândia - Minas Gerais.** Uberlândia, 1990. 23p. (monografia).
- CASALI, V.W.D.; SATURNINO, H.M.; PEDROSA, J.F. Botânica e origem das Cucurbitáceas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.8, n.85, p.22-23, Jan. 1982.
- CANER, J.; GALLETI, S. R. ; LOTZ, I. P. M.; OLIVEIRA, J. M. **Natural infection of Cucumber (*Cucumis sativus*) by Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZYMV) in Santa Catarina, Brazil.** In: Encontro Nacional de Virologia, 6, São Lourenço, 1992.
- CASTRO NETO, P.; SEDIYAMA, G.C.; VILELA, E. de A. Probabilidade de períodos secos em Lavras, MG. **Ciência e prática**, Lavras, v.4, n.1, p.46-55, jan./jun. 1980.
- CHAGAS, C.M. Mosaico da abóbora em pepino. **O Biológico**, São Paulo, v.36, n.326, 1970.
- COSTA, A.S. Escolhas de nomes para moléstias de plantas. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v.1, p.125-131, 1975.

- COSTA, C. P. Obtenção de abobrinha Menina Brasileira (*Cucurbita moschata*) com hábito de crescimento tipo moita e com tolerância ao mosaico da melancia. **Relatório Científico de Genética**, ESALQ/USP. Piracicaba, S.P. v.8, p.61-62, 1974
- COSTA, A.S; KITAJIMA, E.W; NAGAI, H. Alguns vírus que afetam o pepino (*Cucumis sativus* L.) em São Paulo. **Revista de Olericultura**, Campinas, v.12, n.100-101, 1972.
- CUPERTINO, F.P; KITAJIMA, E.W; FONSECA, M.E.N; MEYER, M.C. Viroses em plantas olerícolas no Estado de Goiás. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.13, p.101, 1988.
- DELLA VECCHIA, P.T; ÁVILA, A.C. Herança da resistência ao vírus do mosaico da melancia-1 em melão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.10, p.467-474, 1985.
- DOS ANJOS, J.R.N. Análise molecular da expressão genômica dos potyvirus. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.17, p.143, ago. 1992.
- GALLO, D. Pragas das plantas cultivadas e seu controle (cucurbitáceas) In: **Manual de entomologia agrícola**. 2. ed., São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1988. p.516 - 518.
- GARCIA DE SALCEDO, M.J. Resistência ao mosaico da melancia raça-1 e sua herança em moranga *Cucurbita maxima* Duch. Piracicaba: ESALQ, 1984. 76p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- GIBBS, A.J.; HARRISON, B.D. Serological methods. In: **Plant Virology - The principles**. London: Arnold, 1980. Cap.8, p.95-128.
- JULIATTI, F.C. **Reação hospedeira, infectividade e controle genético da resistência a tospovirus em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill)**. Lavras: ESAL, 1994. 155p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia).
- KIMATI, H.; BERGAMIN FILHO, A. História da Fitopatologia. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p. 692-709.
- KITAJIMA, E.W.; COSTA, A.S. Alterações no complexo de Golgi associada a infecção de tecido foliar de plantas infectadas por uma estirpe do vírus do vira-cabeça. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.5, p.180-181, 1972.
- KITAJIMA, E.W.; RIBEIRO, R. de L.D; LIN, M.T; RIBEIRO, M.I.S.D; KIMURA, O; COSTA, C.L; PIMENTEL, J.P. Listada comentada de vírus e organismos do tipo micoplasma em plantas cultivadas e silvestres do Estado do Rio de Janeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.9, n.3, p.607, 1984.
- KUABARA, M.Y. **Reação da abobrinha (*Cucurbita moschata* Duch) ao Vírus do Mosaico da Melancia raça-1 (WMV-1)**. Piracicaba: ESALQ, 1984. 69p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

- LIMA NETO, V.C; LIMA, M.L.R.Z.C; SOUZA, V.B.V; HAMERSHMIDT, I; GLOOR, S. Incidência de virose em plantações de olerícolas na região metropolitana de Curitiba. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.9, n.403. 1984.
- LIN, M.T; ÁVILA, A.C; KITAJIMA, E.W; VAN DER PAHLEN, A. Identificação e ocorrência do vírus do mosaico da abóbora no Distrito Federal e no Estado do Amazonas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.2, p.86-87, 1977.
- LIN, M.T; KITAJIMA, E.W; MUNHOZ, J.O. Isolamento e propriedade do vírus da necrose da abóbora, um possível membro do grupo "Tobacco Necrosis Virus". **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.8, n.622, 1983.
- LOTZ, I. M. P.; COLARICCIO, A.; COSTA, C. P.; EIRAS, M. Efeito da infecção mista pelo "Zucchini Yelow Mosaic Virus" (ZYMV) em duas cultivares e um híbrido de abobrinha (*Cucurbita sp.*) In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 34, 1994. **Resumos...** Águas de São Pedro: SBO, 1994. p.111.
- LOVISOLO, O. Virus and viroid diseases of cucurbits. **Acta Horticultura**, Wageningen, v.88, p.33-71, 1981.
- MALUF, W.R.; MOURA, W. de M.; SILVA, I.S.; CASTELO-BRANCO, M. Screening of *Cucurbita* spp. accessions for resistance to Watermelon mosaic virus-1. **Revista Brasileira de Genética**, Brasília, v.9, n.1, p.161-167, 1986. (Short communication).
- MALUF, W.R.; SILVA, I.S.; MOURA, W.M. Herança da resistência ao vírus do mosaico da melancia-1 (WMV-1) em moranga *Cucurbita maxima* Duch. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 24, Jaboticabal, 1984. **Resumos ...** Jaboticabal: SOB, 1984. p.103.
- MALUF, W.R.; SILVA, I.S.; MOURA, W.M. Inheritance of Watermelon Mosaic Virus (WMV-1) Resistance in Squash (*Cucurbita maxima* Duch.). **Revista Brasileira de Genética**, Brasília, v.8, n.1, p.175-182, 1985. (Short communication).
- MALUF, W.R.; SOUZA, E.L.S. Resistência ao vírus do Mosaico da Melancia-1 (WMV-1) em morangas *Cucurbita maxima* Duch. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.2, p.22-25, 1984.
- MATHER, K.; JINKS, J.L. **Biometrical genetics: the study of continuous variation**. 3.ed. London: Chapman and Hall, 1982. 396p.
- MATHER, K.; JINKS, J.L. **Introdução a genética biométrica**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1984. 242p.
- MATHEWS, R.E.F. The Potyvirus group. in: Replication of Viroses with ss-Positive Sense RNA Genomes. In: MATHEWS, R.E.F. **Fundamentals of Plant Virology**. New York: Academic Press, 1992. Cap. 7, p.125-129.

- MILNE, K.S.; GROGAN, R. G. Characterization of watermelon mosaic virus strains by serology and others properties. **Phytopathology**, St. Paul, v.59, p.809 - 818, 1969.
- NAGAI, H. Obtenção do híbrido entre *Cucurbita pepo* melopepo e *C. moschata* por meio de cultura de embrião. **Revista de Olericultura**, Campinas, v.13, n.25, 1973.
- NOGUEIRA, N. de L. **Curso de Microscopia eletrônica**. Lavras: UFLA, 1995. 34p. (Apostila)
- PAVAM, M.A. **Vírus do Mosaico da Melancia: Purificação, variabilidade e distribuição nas principais regiões produtoras de pepino e abobrinha de Minas Gerais**. Viçosa: UFV, 1985. 69p. (Dissertação - Mestrado em Fitopatologia).
- PEDROSA, J.F.; CASALI, V.W.D. Melhoramento genético do gênero cucurbita (Abóboras, abobrinhas e morangas). **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.8, n.85, p.57-64, jan. 1982.
- PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 13. ed. Piracicaba: Nobel, 1990. 468p.
- PROVVIDENTI, R.; ROBINSON, R.W.; MUNGER, H.M. Resistance in feral species to six viruses infecting *Cucurbita*. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.62, n.9, p.744-748, 1978.
- PROVVIDENT, R.; SCHROEDER, C.W.T. Epiphytic of watermelon mosaic among cucurbitaceae in Central New York in 1969. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v.54, n.9, p-744-748, 1970.
- PURCIFULL, D.E. Papaya ringspot virus. In: GIBBS, A.J.; HARRISON, B.D.; MURANT, A.F. **CMI/AAB Descriptions of plants viruses**. n.84. 1972.
- PURCIFULL, D. E.; HIEBERT, E. Serological distinction of watermelon mosaic virus isolates. **Phytopathology**, St. Paul, v.69, n.2., p.112-116, 1979.
- PURCIFULL, D. E.; HIEBERT, E; EDWARDSON, J. Watermelon mosaic virus 2. **CMI/AAB Descriptions of plant viruses**. Ferry Lane, 1984. 8p.
- PURCIFULL, D. E.; HIEBERT, E; EDWARDSON, J.; GONSALVES, D. Papaya Ringspot. **CMI/AAB Descriptions of plant viruses**. Ferry Lane, 1984. 8p.
- RAMALHO, M. A. P. **Melhoramento genético de espécies alógamas**. Lavras: ESAL, 1993. 72p.
- RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; PINTO, C. B. **Genética na Agropecuária**, São Paulo: Globo, 1990. 359p.

- RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; ZIMMERMANN, M. J. O. **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia: UFG, 1993. 271p.
- REZENDE, J.A.M. Mosaico ou mancha anular do mamoeiro: Qual a melhor designação no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.9, p.455-465, out. 1984.
- REZENDE, J.A.M; YUKI, V.A; VEGA, J.; SCAGLIUSI, SANDRA M. M; BORBA, L. F; COSTA, A.S. Isolado fracos do Potyvirus causador do mosaico da abobrinha presentes em bolhas atual na premunização. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.19, n.1, p.55-61, mar. 1994.
- SÁ, P.B. de; KITAJIMA, E.W. Characterization of an isolate of watermelon mosaic virus 2 (WMV-2) from Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.16, p.217-223, 1991.
- SÁ, P. B. de; KITAJIMA, E. W. Sintomatologia em infecções mistas pelos vírus do mosaico da melancia-1 ("Papaya Ringspot Vírus Type W") e da abóbora ("Squash Mosaic Vírus"). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.12, n.2, p.146, 1987.
- SATURNINO, H.M.; PAIVA B. M.; GONTIJO, V. P. M.; FERNANDES, D. P. L.; VIEIRA, G. S.; Cucurbitáceas: aspectos estatísticos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.8, n.85, p.3-7, jan. 1982.
- SILVA, N. da. **Herança da resistência ao mosaico da melancia (WMV-1) em pepino (*Cucumis sativus* L.)**. Piracicaba: ESALQ, 1977. 82p. (Tese - Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- SILVA, N. da; COSTA, C. P. da. Triagem de cultivares e híbridos de pepino (*Cucumis sativus* L) para a resistência a WMV-1 (Watermelon Mosaic Vírus-1). **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.4, p.71-75, 1978.
- SOUZA, de W. **Manual sobre técnicas básicas em microscopia eletrônica**. Piracicaba: EDUSP, 1989. v.1, 105p.
- VEGA, J.; REZENDE, J. A. M.; YUKI, V.A. Detecção do vírus do mosaico amarelo da abobrinha-de-moita no Brasil: Caracterização parcial de um isolado encontrado em São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.20, n.1, mar. 1995.
- VEGA, J.; REZENDE, J. A. M.; YUKI, V.A.; NAGAI, H. Constatação do vírus do mosaico amarelo da abobrinha-de-moita ("Zucchini yellow mosaic virus") no Brasil, através de MEIAD e ELISA. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.17, n.118, 1992.
- VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Revista Brasileira de Genética, 496p. 1992.

WHITAKER, T.W.; DAVIS, G. N. **Cucurbits word crops books**. Londres: Leonard Hill, 1962. 250p.

YUKI, V.A. **Epidemiologia e controle do mosaico (PRSV-W) em abobrinha-de-moita**. Piracicaba: ESALQ, 1990. 84p. (Tese - Doutorado em Fitopatologia).

ZABALA, S.; RAMALLO, J.C. El Mosaico de las Cucurbitáceas. **Revista Agronômica del Nordeste Argentino**, Tucuman, v.6, n.3-4, p.197-208, 1968.