

A transmissão mecânica de “vira-cabeça”, por fricção, com suco

A. S. COSTA

e

R. FORSTER

Do Instituto Agronomico

INTRODUÇÃO

Numa nota preliminar sôbre a moléstia de virus do fumo, *Nicotiana tabacum* L., denominada “Vira-cabeça” (6), relatámos um caso de transmissão da moléstia, por fricção, com suco infetivo, num total de 23 plantas inoculadas. Ensaio posteriores confirmaram êste resultado, tendo sido obtida evidencia que o virus (+) causador de “Vira-cabeça” pode ser facilmente transferido, mecanicamente, por fricção com suco.

Sendo a transferência pelo suco um ponto de grande importância para o estudo de um virus, por permitir a determinação de suas propriedades físicas, facilitar a determinação de seu circulo de hospedeiras, etc. julgamos de algum interesse relatar o resultado de nossas experiências.

A IDENTIDADE DE “VIRA-CABEÇA”

Existem descritas na literatura de moléstias de virus do fumo, cêrca de meia duzia que se assemelham num ou noutro

(+) — Si bem que haja possibilidade de tratar-se de uma moléstia causada por um complexo de virus, todas as nossas observações e experiências parecem indicar tratar-se unicamente de um virus. Isto não exclue a possibilidade de o virus ocorrer, ocasionalmente, em campo em mistura com outros.

aspecto á "Vira cabeça". Dentre elas, o "Kromneck" (7) da Africa do Sul é aquela cuja descrição se aplica quási que totalmente para "Vira-cabeça".

Smith (10:103, 11:296) julga ser "Kromneck" causada por um virus idêntico áquele causador do "Spotted wilt" dos tomateiros na Australia (*Lycopersicum* virus 3). Esta molestia foi cuidadosamente estudada por Samuel *et al* (8) e, mais tarde, foi encontrada em diversos outros países, tais como: Inglaterra (9), Estados Unidos (4,12), Canadá (2) e Nova Zelândia (3).

Na Argentina foi descrita uma molestia de virus do fumo denominada "Corcova" (5) e que na opinião de Wolf (13:187) é o mesmo que "Kromneck".

Azevedo (1) descreveu uma molestia de virus de tomateiros plantados no Jardim Botânico do Rio de Janeiro, cujos sintomas são semelhantes aos causados em certas variedades de tomate pelo virus de "Vira-cabeça".

E', pois, possível que o "Spotted wilt", "Kromneck", "Corcova", "Vira-cabeça" e a molestia dos tomateiros do Rio de Janeiro sejam causadas por virus identicos, ou, pelos menos proxivamente relacionados.

Experiências em andamento para determinação das propriedades físicas do virus de "Vira-cabeça" virão auxiliar a identificação dêste, sendo, no entanto, de se desejar que os virus responsaveis pelas molestias acima enumeradas sejam estudados, comparativamente, debaixo das mesmas condições, afim de se obter evidência decisiva sobre êste ponto.

MATERIAL E MÉTODOS

As plantas usadas nas experiencias eram sempre cultivadas á prova de insetos, em caixas especiais.

Para maior economia de espaço e tempo, trabalhamos de preferencia, com plantas novas, plantadas em vasos de barro de 9 cms. de diametro, cheios com terriço esterilizado.

Quasi todas as experiencias foram feitas com a mesma variedade comercial de fumo — Geudertheimer e também unicamente com uma variedade comercial de tomate — Maule's Earliest of all.

A extração do suco era feita da maneira usual, triturando-se o material, cortado miúdo, em um almofariz esterilizado e espremendo-se, então, a massa de tecidos triturados através de mousselina, obtendo-se assim o suco de concentração normal.

A inoculação era executada por meio de uma pequena "boneca" de algodão, feita na extremidade de um arame grosso, para servir de cabo. É necessário que este seja recurvado na ponta, de modo a formar uma pequena argola para segurar a "boneca" de algodão. A "boneca" era então mergulhada no suco (geralmente normal) e, em seguida, delicadamente friccionada em duas ou três folhas das plantas a serem inoculadas, por toda a sua superfície. Durante a fricção a folha era suportada inferiormente pela mão esquerda. As folhas inoculadas eram comumente assinaladas com etiquetas para observação dos sintomas primários.

SINTOMAS DAS PLANTAS DE FUMO INOCULADAS

É um tanto variada a sintomatologia apresentada pelas plantas de fumo inoculadas, mesmo quando elas são da mesma idade e inoculadas com o mesmo suco. Isto parece indicar ser o vírus extremamente sensível às condições do ambiente e da própria planta. Os sintomas abaixo descritos referem-se às nossas experiências de inoculação.

Sintomas primários (Fig. 2) — De 3 a 12 dias após as inoculações pode-se observar, nas folhas inoculadas, áreas cloróticas arredondadas, que, mais tarde, mostram uma disposição em anéis concêntricos ("Ring-spots"). As lesões primárias tornam-se em seguida necróticas, sendo frequente apresentar-se esta necrose sómente na periferia. Placas necróticas e linhas sinuosas têm sido observadas menos frequentemente nas folhas friccionadas.

Já observámos casos em que apenas uma mancha de anéis concentricos foi observada, mas sintomas secundários foram em seguida manifestados pelas plantas. Em uns poucos casos tem sido observada uma tendência do vírus para permanecer localizado, isto é, plantas que mostram os sintomas primários, mas falham em desenvolver os secundários.

Sintomas secundários: — De 4 a 21 dias após as inoculações já são visíveis os sintomas secundários de palidez das nervuras (Fig. 3) ("Clearing of the veins") e pintas cloróticas das folhas novas (podendo, às vezes, aparecer na própria folha inoculada, quando esta era muito nova na ocasião da inoculação). Às vezes, estes sintomas são precedidos, mas quase sempre acompanhados por rugosidade da superfície e arqueamento da folha para baixo, ao longo da nervura principal. Em seguida, curvatura do apice ("Vira-cabeça") ou torção parcial de certas folhas que ficam com a sua face inferior voltada para cima. Coincidindo com o aparecimento destes sintomas, há uma cessação no crescimento e, um pouco mais tarde, um amarelamento generalizado da planta. Diferentes formas de necrose podem então se manifestar nas folhas como anéis simples, concentricos, linhas sinuosas acompanhando as nervuras principais e secundarias simetricamente, uma forma violenta de necrose das nervuras principal e secundarias ("fernleaf pattern") ou ainda como uma necrose parcial das "ilhotas" formadas pelas nervuras terminais ("vein islets"). Diferentemente dos outros tipos de necrose, que geralmente são precedidos por uma clorose no local, este ultimo tipo não o é, apresentando a lesão um aspecto gorduroso como fase intermediaria de necrose. Em certos casos, as lesões necroticas das folhas novas crescem rapidamente e coalescem, formando grandes áreas com aparência queimada ("Scorching"). Isto geralmente conduz a um colapso da ponta de crescimento e morte da planta.

Nas folhas velhas, grandes áreas entre as nervuras secundarias podem tambem se necrosar, formando placas.

Muito raramente, e sómente quando a necrose se manifesta muito violentamente, é que observamos a presença de lesões alongadas na haste.

Sempre que a necrose não se manifeste numa forma violenta, a planta inoculada retoma o seu crescimento depois de algum tempo (1-3) semanas após os sintomas secundarios se manifestarem) mostrando uma tendencia para restabelecimento aparente. Como sintoma intermediario, observa-se a transformação da palidez das nervuras para um tipo de mosaico em que a folha é verde-amarelada, embaçada e apresenta manchas

verde escuras e verde claras; nas folhas em seguida formadas, ha um sub-desenvolvimento pronunciado da nervura principal em relação ao restante do limbo da folha, o que faz com que o ápice fique recurvado, quasi em contacto com o peciolo; a superficie destas folhas, que são de tamanho muito pequeno, é muito ondulada, e as nervuras secundarias quasi sempre apresentam faixas paralelas verde-escuras ("veinbanding"). Como ultimo estágio para o aparecimento de folhas normais, observam-se algumas que apresentam apenas pequenas deformações proximas ao ápice, mas estas já não são mais arqueadas e fazem com a haste um angulo mais ou menos normal. (+)

SINTOMAS DOS TOMATEIROS INOCULADOS

Sintomas primarios não são bem definidos para o caso do tomateiro, tendo, em alguns casos, sido obtidos aneis concentricos ("ring-spots"), mas, em outros casos, não têm sido observados. Geralmente, a moléstia se manifesta primeiramente pela palidez das nervuras das folhas novas, cêrca de 6-21 dias após as inoculações, seguido, por arqueamento destas para baixo, ao longo da nervura principal, cessação de crescimento e amarelimento generalizado das folhas novas; bronzeamento aparece sob a fórmula de aneis concentricos, linhas sinuosas ou manchas indefinidas na epiderme superior da folha e manchas alongadas na parte superior da haste (Fig. 13). Enrolamento dos folíolos para cima, ao longo da nervura média é comum. Anéis concentricos e linhas sinuosas tornam-se necróticas e necrose também pode aparecer nas folhas novas sob a forma de placas rodeadas de uma zona amarela; isto quasi sempre conduz a uma forma de acronecrose. Brotos axilares, quando desenvolvidos, apresentam folhas menores com mosaico e encespamento.

A PERDA DA HABILIDADE DO VIRUS EM SER TRANSFERIDO, PELO SUCO, DE PLANTA HÁ LONGO TEMPO INFETADA

Este facto tem sido observado, seguidamente, e nos tem obrigado a transferencias continuas para conservação dos diferentes "strains" do virus. Verificámos, porém, que a habilidade

(+) — Ocasionalmente, temos observado que plantas aparentemente restabelecidas podem apresentar novamente os sintomas depois de terem desenvolvido muitas folhas.

em ser transferido pelo suco pode ser restaurada, lançando-se mão de enxertia para transferencia do virus que permaneceu por longo tempo na planta, para um novo suscetivel, preferivelmente um tomateiro novo, podendo, então, ser o virus transmittido pelo suco do tomateiro recém-infetado.

Resultados:

Ensaio n.º 51-A. -- Transmissão de Vira-cabeça de fumo para fumo, por fricção :

Hospedeira	Idade	Inocul.	N.º pls. inocul.	N.º pls. infet.	Sintomas secund. dias	Observações
<i>Nicotiana tabacum</i> , var. com. Geudertheimer	60	Suco infet. normal	6	6	10	Infecção observada com atraso
„	60	Suco não infet. normal	2	0	—	

O inóculo infetivo constava de uma mistura de folhas de diversas plantas afetadas da var. Virginia, colhidas no campo. Para a testemunha foi utilizado o suco de folhas de plantas sãs :

Ensaio n.º 52 — Transmissão de Vira-cabeça de fumo para tomate, por fricção :

Hospedeira	Idade	Inocul.	N.º pls. inocul.	N.º pls. infet.	Sintomas secund. dias	Observações
<i>Lycopersicum esculentum</i> , var. com. Maule's Earliest of all	36	Suco infet. normal	6	6	13	Mesmo inóculo usado no ensaio no. 51-A.
„	36	Suco não infet. normal	2	0	—	Idem.

Ensaio n.ºs 61 e 62 — Transmissão de Vira-cabeça de fumo para fumo, por fricção:

Hospedeira	Idade	Inocul.	N.º pts. inocul.	N.º pts. infet.	Sintomas secund. dias	Observações
<i>Nicotiana tabacum</i> , var. com. Geudertheimer	50	Suco infet. normal	30	0	—	Suco infetivo obtido de maneira identica áquela do ensaio n.º 51-A
"	50	Suco não infet. normal	10	0	—	
"	75	Suco infet. normal	8	0	—	
"	75	Suco não infet. normal	4	0	—	

Ensaio n.ºs 66 e 67 — Retro-transmissão comparativa de Vira-cabeça de tomateiros inoculados por fricção e por enxertia, para fumo.

Hospedeira	Idade	Inocul.	N.º pts. inocul.	N.º pts. infet.	Sintomas secund. dias	Observações
<i>N. tabacum</i> , var. com. Geudertheimer	55	Suco infet. normal	5	4	6	Suco extraido de tomateiros inoculados por fricção.
"	55	Suco infet. normal	5	4	6	Idem, de tomateiros inoculados por enxertia.
"	55	Suco não infet. normal	6	0	—	

Ensaios n.ºs 68 e 69 — Transmissão comparativa de Vira-cabeça de tomateiros inoculados por fricção e por enxertia, novamente para tomateiros :

Hospedeira	Idade	Inocul	N.º pts. inocul	N.º pts. infet.	Sintomas secund. dias	Observações
<i>Lycopersicum esculentum</i> , var. com. Maule's Earliest of all.	35	Suco infet. normal	5	5	6-8	Suco extraído de tomateiros inoculados por fricção.
"	35	Suco infet. normal	5	5	6-8	Idem, de tomateiros inoculados por enxertia.
"	35	Suco não infet. normal	6	0	—	

Ensaios n.ºs 79 e 80 — Retro-transmissão de Vira-cabeça de tomateiros inoculados por fricção, para fumo, comparando com inóculo proveniente de fumo :

Hospedeira	Idade	Inocul.	N.º pts. inocul.	N.º pts. infet.	Sintomas secundários dias	Observações
<i>N. tabacum</i> , var. com. Geudertheimer	62	Suco infet. normal	12	12	5-10	Suco de tomateiros inoculados por fricção.
"	62	Suco infet. normal	9	9	4-11	Suco de fumo inoculado por fricção.
"	62	Suco não infet. normal	4	0	—	Idem, de planta de fumo sã.

Ensaio n.º 82 — Comparação do inóculo proveniente de folhas novas de plantas afetadas, com palidez das nervuras e de folhas adultas basais, sem sintomas :

Hospedeiras	Idade	Inocul.	N.º pls. inocul.	N.º pls. infet.	Sintomas secundários dias	Observações
<i>N. tabacum</i> , var. com. Geudertheimer	63	Suco fls. novas normal	2	2	9	
<i>Lycopersicum esculentum</i> , var. com. Maule's Earliest of all	30	"	1	1	11	
<i>N. tabacum</i> , var. com. Geudertheimer	63	Suco fls. basais normal	2	0	—	
<i>Lycopersicum esculentum</i> , var. com. Maule's Earliest of all	30	"	1	0	—	

Ensaio n.ºs 92, 98, 99, 100, 101 e 102. — Transmissão comparativa de "strains" de Vira-cabeça, de proveniências diversas, de fumo para fumo, por fricção.

Hospedeira	Idade	Inocul.	N.º pls. inocul.	N.º pls. infet.	Sintomas secund. dias	Observações
<i>N. tabacum</i> , var. com. Geudertheimer	46	St. 5 (F) (Te-Fi)	2	2	5	
"	46	St. P. 347	2	1	—	Os sintomas primários não foram observados. Idem
"	46	St. 6 (F) (Fi)	2	2	—	
"	46	St. 4 (F) (Fi)	2	2	5	
"	47	St. 10 (F)	3	0	—	
"	47	St. 11 (F)	3	0	—	
"	47	St. 8 (F)	5	0	—	
"	47	St. 9 (F)	5	5	5	
"	47	St. P. 425	5	5	5	

A abreviação St. quer dizer strain; a primeira letra entre parenteses é a inicial da planta que forneceu o inóculo original; no segundo parenteses são indicadas as transferencias sucessivas, sendo a letra maiuscula a inicial da planta e a minuscula o método de transmissão. Assim St. 5 (F) (Te-Fi) quer dizer que o inóculo original foi tomado de fumo, depois transferido por enxertia para tomate e em seguida deste para fumo, por inseto (*Frankliniella*, sp.)

Resumindo o total dos ensaios de transmissão por fricção com suco até agora efetuados, obtivemos o seguinte quadro:

Hospedeira	Idade	Plantas infet,	o/o infecção	Sintomas (dias)	
				Primários	Secundários
<i>Nicotiana tabacum</i> , var. com. Geudertheimer	408	136	33	3-12	4-21
<i>Lycopersicum esculentum</i> , var. com. Maulle's Earliest of all.	57	40	70	?	6-21

A porcentagem de 33 % obtida até agora é muito baixa, mas, atualmente, obtemos com facilidade 100 %, desde que inóculo apropriado, isto é, de planta recém-infetada seja utilizado.

* * *

DISCUSSÃO

Os resultados das experiências acima referidos mostram que o vírus causador da moléstia "Vira-cabeça" pode ser transferido mecânicamente pelo suco.

A variação na porcentagem de infecção, que é praticamente de 100 % nalguns casos e 0 % noutros, é explicada pela diferença na habilidade do vírus em ser transferido quando obtido de inóculo representativo de diferentes fases da moléstia.

Os resultados do ensaio n.º 82 indicam que as folhas basais, sem sintomas de uma planta recém-afetada não encerram,

ou pelo menos não contém o vírus numa forma capaz de passar pelo suco, ao passo que êste está presente e passa pelo suco das folhas novas com palidez das nervuras. Observações adicionais têm corroborado este facto, de que o inóculo preferível é o obtido de folhas de plantas recém-infetadas e que mostrem os sintomas secundários.

Os ensaios n.ºs 52, 66-67, 68-69 e 79-80 mostram que o vírus de Vira cabeça pode ser transferido pelo suco para tomate e voltado novamente para fumo sem apresentar modificação e que o inóculo de tomateiros inoculados por enxertia ou por fricção não apresenta diferença.

* * *

RESUMO

1 — A transferência do vírus causador de Vira-cabeça, pelo suco, já anteriormente relatada, é confirmada.

2 — Para o fumo, os sintomas primários levam de 3-12 dias para se manifestarem e os secundários, de 4-21 dias. Em tomateiros, sintomas secundários aparecem de 6-21 dias após as inoculações.

3 — E' apontado o facto de que, possivelmente, "Spotted Wilt", "Kromneck", "Corcova" e "Vira-cabeça" possam ser idênticas, sendo causadas por vírus idênticos ou proximamente relacionados.

4) — São descritos os sintomas apresentados por plantas inoculadas por fricção (Fumo e Tomate), bem como a técnica empregada.

5 — Resultados experimentais e observações parecem indicar que o melhor inóculo para transmissão é aquele obtido das folhas novas de planta recentemente afetada e que mostre os sintomas secundários.

6 — O vírus não é alterado pela passagem por tomateiro.

SUMMARY

1 — The sap transmission of "Vira-cabeça", a virus disease of tobacco, recorded before in a single instance out of 23 inoculated plants is confirmed.

2 — Primary symptoms appear from 3 to 12 days after inoculation and secondary symptoms after 4 to 21 days.

3 — The disease could be given by this method to tobacco and tomato plants.

4 — It is pointed out that "Spotted wilt", "Kromneck", "Corcova" and "Vira-cabeça" may be identical diseases and caused by the same or closely related virus.

5 — A description is given of the symptoms presented by tobacco and tomato plants under the conditions of the experiment as a brief outline of the technique employed.

6 — The results seem to indicate that the best inoculum is gathered from young leaves with secondary symptoms, of recently affected plants.

7 — The virus is not changed by passage through tomato plants.

* * *

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem ao Snr. C. A. Krug e Benedicto Cavalcanti pela revisão do manuscrito.

* * *

BIBLIOGRAFIA

1 — Azevedo Nearch. — Observações sôbre uma doença de virus do tomateiro. — Separata de Rodriguésia 6:209-212. Pl. 1-8. 1936.

2 — Berkeley, G. H. — Occurrence of spotted wilt on tomatoes in Ontario. — Sci. Agric. 15:387-392. 1935.



Fig 1



Fig. 2

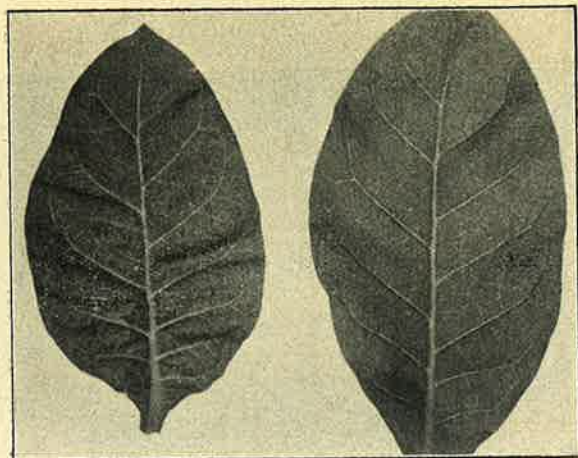


Fig. 3

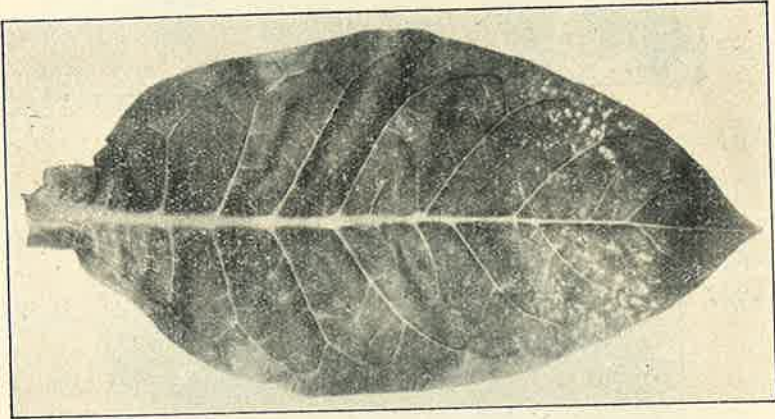


Fig. 4



Fig. 5

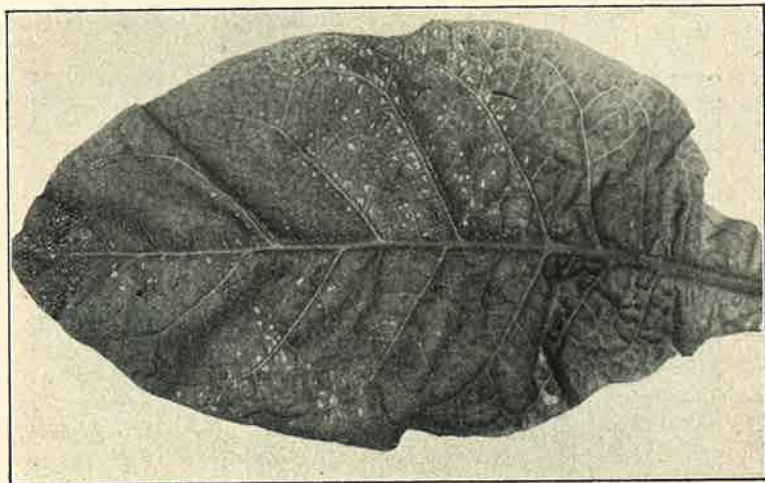


Fig. 6

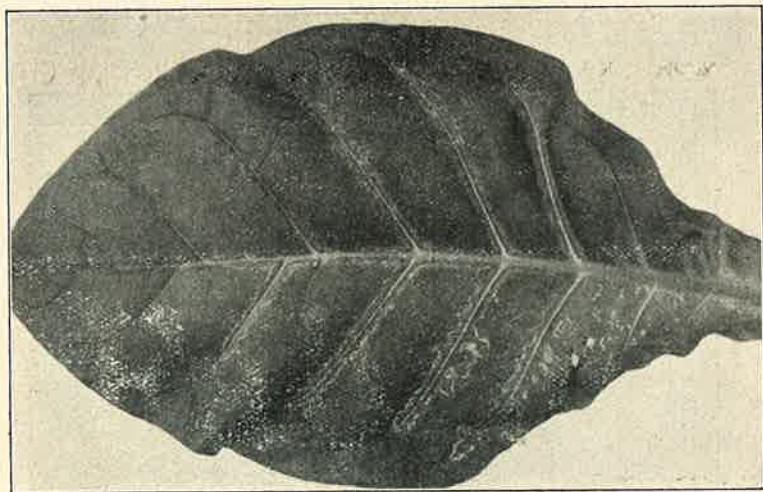


Fig. 7

FIG. 8

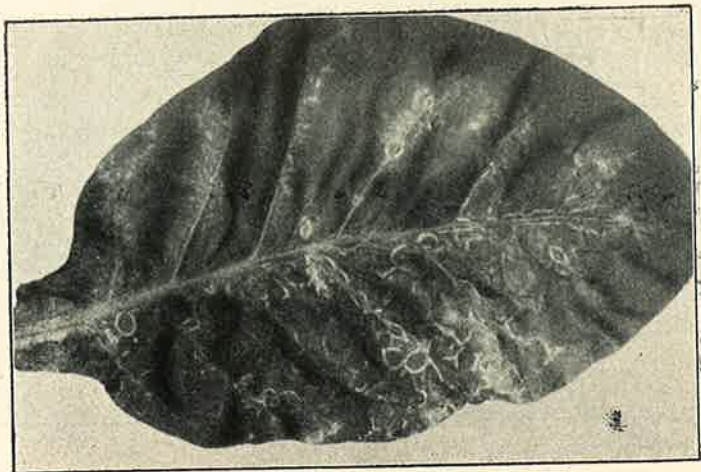


FIG. 9

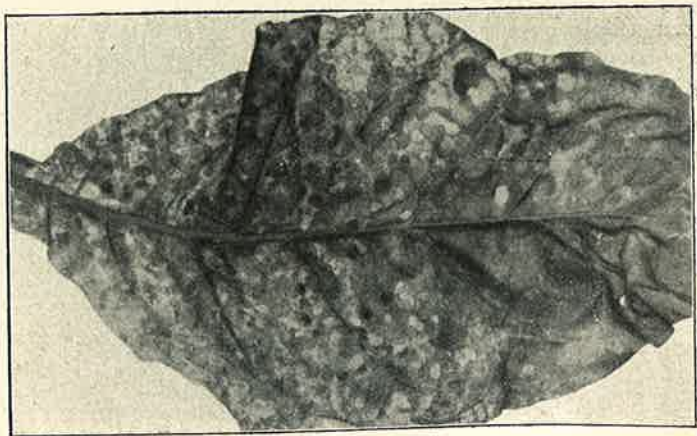




Fig. 10



Fig. 11

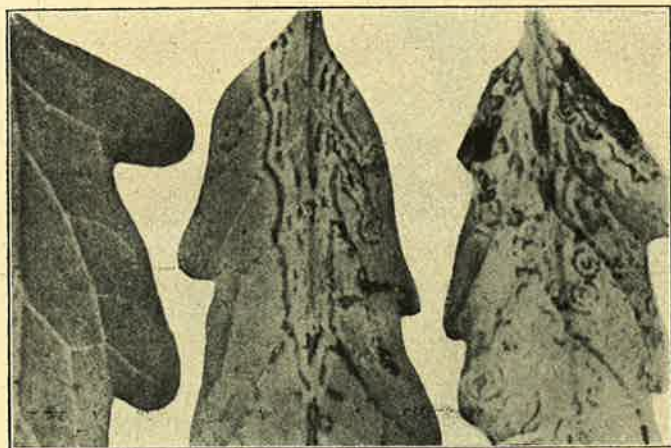


Fig. 12

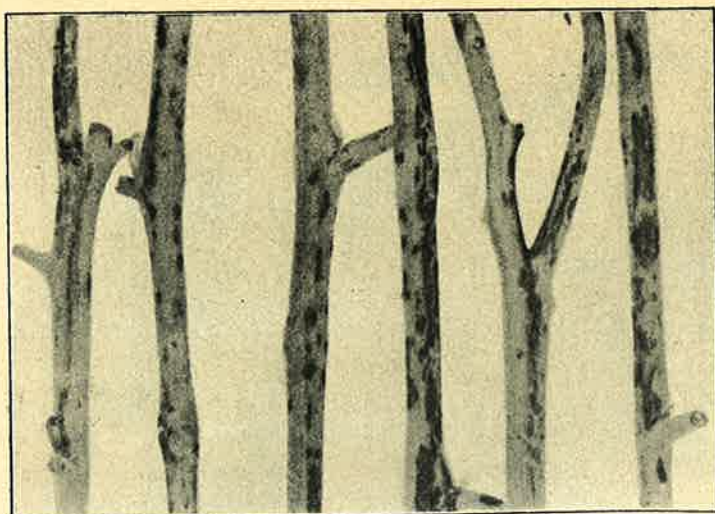


Fig. 13

- 3 — Chamberlain, E. E. and Taylor, G. G. — The occurrence of spotted wilt on tomatoes in New Zealand. *N. Z. Journ. Agric.* 52:9-77. 1936.
- 4 — Doolittle, S. P. and Summer, C. B. — The occurrence of Australian Spotted wilt of tomatoes in Wisconsin. (Abst.) *Phytopath* 21:106. 1931.
- 5 — Fawcett, G. L. — Notas preliminares sobre una enfermedad del tobacco. — *Rev. Indust. y Agric. de Tucuman.* 12:5 17. 1921
- 6 — Forster, R. e Costa, A. S. — Nota preliminar sobre a moléstia "Vira-cabeça", do fumo. — *Inst. Agron. Estado, Campinas. Bol. Técn.* 38:1-12. Fig. 1 8. 1938.
- 7 — Moore, E. S. — The Kromneck or Kat River Disease of Tobacco and Tomato in the East Province (South Africa). *Union of South Africa, Dept. of Agric. Sc. Bul.* 123:1-28, Pl.1-8. 1933.
- 8 — Samuel, Geoffrey, Bald, J. G., and Pittman, H. A. — Investigations on spotted with of tomatoes. — *Council for Scientific and Industrial Research. Bul.* 44:1-61. fig. 1-35. 1930.
- 9 — Smith, Kenneth M. — Studies on plant viruses. XI. Further experiments with a ring spot virus ; its identification whit spotted wilt of the tomato. — *Ann. Appl Biol.* 19:305-330. 1932.
- 10 — ————— — Recent advances in the study of Plant Viruses 1933.
- 11 — ————— — Textbook of Plant Virus Diseases. 1937.
- 12 — Tompkins, C. M. and Garner, M. W. — "Spotted wilt" of Head Lettuce. — *Abst. in Phytopath.* 24:1135-1136. 1934.
- 13 — Wolf, Frederich A. — —Tobacco diseases and decays. — 1935:186-187. 1935.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

(Todas as fotografias de fumo se referem a *Nicotiana tabacum*, var. comercial Geudertheimer).

Fig. 1 — Plantas inoculadas por fricção e uma planta normal (á direita). Fotografia cêrca de 20-25 dias após as inoculações.

Fig. 2 — Lesões primárias, 10 dias após as inoculações.

Fig. 3 -- Palidez das nervuras das folhas novas (folha á esquerda), em comparação com uma folha normal.

Figs. 4, 5, 6, 7 e 8 — Diversas fórmãs de necrose que podem fazer parte do quadro sintomatológico.

Fig. 9 — Uma folha com um mosaico formado por áreas verde-escuras num fundo verde amarelado e também por áreas amareladas. Estas, ás vezes, apresentam-se dispostas em aneis concentricos.

Fig. 10 — Plantas aparentemente restabelecidas.

Fig. 11 — Tomateiro afetado (direita) ao lado de uma planta normal.

Fig. 12 — Marcas bronzeadas presentes nas folhas de planta afetada.

Fig. 13 — Marcas bronzeadas presentes na parte superior da haste.