

PRESENÇA DO VÍRUS DA NECROSE DO FUMO, EM S. PAULO(\*). A. S. COSTA e ANA MARIA B. CARVALHO. Os vírus do grupo denominado necrose do fumo (*Marmor lethale H.*) ocorrem em diversas partes do mundo (1,2,3,4,5) em culturas e climas os mais variados. A sua presença é mais comum nas raízes das plantas susceptíveis e só mais raramente afeta as partes aéreas. É um vírus mais freqüentemente encontrado infetando as raízes de plantas em estufa.

A fim de verificar se vírus desse grupo estavam presentes em São Paulo, procedeu-se preliminarmente ao teste de inóculo obtido das raízes de numerosas espécies cultivadas em vasos, em estufas situadas na Est. Exp. Central do Instituto Agrônômico em Campinas.

**Material e métodos.** As raízes de plantas a serem submetidas à prova foram coletadas, bem lavadas em água, e em seguida esmagadas num almofariz em presença de búfer de fosfato 0,02 M e pH 7, ao qual se misturou sulfito de sódio para alcançar a concentração 0,02 M. O inóculo das diferentes espécies assim preparado foi aplicado às folhas de plantas-teste adequadas, tais como o fumo (*Nicotiana tabacum L.*), o feijoeiro Manteiga (*Phaseolus vulgaris L.*), o *Chenopodium quinoa Willd.* Três isolados do vírus foram comparados por inoculação em uma série de hospedeiras apropriadas e as suas propriedades físicas *in vitro* foram determinadas. Êsses isolados, numerados de 1 a 3, foram obtidos de raízes de fumo, morangueiro e fumo, respectivamente.

---

(\*) Recebida para publicação em 17 de março de 1960.

- (1) SMITH, K. M. & BALD, J. G. A necrotic virus disease affecting tobacco and other plants. *Parasitology* 27:231-245. 1935.
- (2) BAWDEN, F. C. & VAN DER WANT, J. P. H. Bean stipple streak caused by a tobacco necrosis virus. *Tijdschr. Pfl. ziekte* 55:142-150. 1949.
- (3) FULTON, R. W. Variants of the tobacco necrosis virus in Wisconsin. *Phytopathology* 40:298-305. 1950.
- (4) PRICE, W. C., McWHORTER, P. & STERAHKA, BETTY H. Natural occurrence of tobacco necrosis viruses in Primrose. *Phytopathology* 40:391-392. 1950.
- (5) QUANTZ, L. Eine für Deutschland neue Viruskrankheit der Gartenbohne durch ein Tabaknekrose-Virus. *Nach. bl. dt. sch. Pfl. schutzdienst* 8:7-8. 1956.

**Resultados. Sintomas.** Os isolados do vírus da necrose do fumo causaram lesões geralmente necróticas em tôdas hospedeiras em que se multiplicaram. Em plantas de fumo as lesões locais apareceram cêrca



FIGURA 1. — Fôlha de fumo var. Turkish, mostrando as lesões causadas pelo vírus da necrose do fumo.

de dois dias após a inoculação, como pontuações ou pequenas manchas necróticas de côr clara (fig. 1) dispersas nas fôlhas ou ocorrendo muitas vêzes em círculos concêntricos. Não houve nenhuma diferença no tipo de sintoma causado pelos vírus dos três isolados que foram comparados. Em algumas provas notou-se que o isolado IFI ocorria aparentemente em menor concentração nas plantas infectadas.

**Espécies das quais o vírus foi recuperado.** Em inoculações feitas sôbre plantas-teste adequadas, verificou-se a ocorrência do vírus da necrose do fumo nas raízes das espécies seguintes, crescendo em vasos na estufa: picão (*Bidens pilosa* L.), couve (*Brassica oleracea* L.), mamoeiro (*Carica papaya* L.), morangueiro selvagem (*Fragaria vesca* L.), girassol (*Helianthus annuus* L.), tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.), mandioca (*Manihot utilisima* Pohl), *Nicotiana clevelandii* Gray e fumo (*Nicotiana tabacum* L.).

**Tentativas de recuperação do vírus a partir de raízes de plantas do campo.** Em um número reduzido de testes tentou-se recuperar o vírus das raízes de plantas do campo. Foram feitas inoculações com raízes de caruru (*Amaranthus* sp.), picão (*Bidens pilosa* L.), couve (*Brassica oleracea* L.), fedegoso (*Cassia occidentalis* L.), erva-de-Sta.-Maria (*Chenopodium ambrosioides* L.), *Erigeron bonariensis* L., batata-doce (*Ipomoea batatas* Poir), e mucuna (*Stizolobium* sp.). De nenhuma dessas plantas foi o vírus recuperado.

**Espécies que desenvolveram lesões locais nas folhas quando inoculadas mecânicamente com o vírus da necrose do fumo.** O vírus da necrose do fumo, isolado em Campinas, vem sendo inoculado em numerosas espécies de plantas a fim de se estudar o seu círculo de hospedeiras. Lesões necróticas locais já foram observadas nas seguintes espécies: *Acanthospermum hispidum* DC, *Beta vulgaris* L., *B. vulgaris* var. *cycla*, *Brassica oleracea* var. *petsai*, *Chenopodium album* L., *C. amaranticolor* Coste of Reyn., *C. murale* L., *C. quinoa* Willd., *Cyphomandra betaceae* Sendt., *Datura stramonium* L., *Gossypium hirsutum* L., *Helianthus annuus* L., *Hibiscus esculentus* L., *Lycopersicon esculentum* Mill., *Malva parviflora* L., *Nicandra physaloides* Gaerth., *Nicotiana glutinosa* L., *Phaseolus vulgaris* L., *Portulaca oleracea* L., *Solanum nigrum* L., *Vigna sinensis* Endl., *Tetragonia expansa* Murr.

**Propriedades físicas.** Os testes para determinação das propriedades físicas dos vírus da necrose do fumo foram feitos com inóculo obtido de folhas de fumo. Como planta-teste usaram-se plantas de fumo com várias folhas já bem desenvolvidas que, na ocasião da inoculação, foram reduzidas a três bem uniformes. Em alguns casos usaram-se também mudas de *Datura stramonium* nesses testes.

**Resistência à diluição.** Os resultados das provas feitas com os três isolados do vírus estão no quadro 1. Mostram que todos êles foram bastante resistentes à diluição e que alguma atividade ainda estava presente em inóculo diluído a  $10^{-6}$ .

QUADRO 1. — Resistência à diluição, do vírus da necrose do fumo de três proveniências(\*)

Diluição do inóculo	Número total de lesões locais obtidas em três folhas de fumo Turkish com o inóculo da proveniência indicada		
	I	II	III
$10^{-2}$ -----	5 500*	5 000*	700*
$10^{-3}$ -----	680*	1 050*	128
$10^{-4}$ -----	151	126	4
$10^{-5}$ -----	17	25	1
$10^{-6}$ -----	2	1	0

(\*) Os números marcados com \* são estimativas.

**Resistência termal.** Os resultados do quadro 2 mostram que o inóculo de dois dos isolados do vírus da necrose do fumo ainda encerrava alguma atividade depois de aquecido a  $90^{\circ}\text{C}$  durante 10 minutos.

QUADRO 2. — Resistência termal do vírus da necrose do fumo de três proveniências(\*)

Temperatura °C	Número total de lesões necróticas em três folhas de fumo Turkish friccionadas com inóculo da proveniência indicada		
	I	II	III
Não aquecido -----	7 000*	6 500*	4 500*
75 -----	2 700*	3 000*	840*
80 -----	194	1 160*	208
85 -----	11	26	1
90 -----	6	3	0

(\*) Os números marcados com \* são estimativas.

**Resistência ao envelhecimento *in vitro*.** Inóculo dos três isolados do vírus da necrose do fumo extraídos em água e em uma mistura de búfer de fosfato com sulfito de sódio ainda encerravam alguma atividade depois de 81 dias *in vitro*. Com um dos inóculos essa atividade ainda era bem grande. Períodos mais longos não foram experimentados. Os resultados dos ensaios estão no quadro 3.

QUADRO 3. — Resistência ao envelhecimento *in vitro*, do vírus da necrose do fumo de três proveniências(\*)

Período de envelhecimento	Número total de lesões necróticas em três folhas de fumo Turkish friccionadas com inóculo envelhecido pelo período indicado											
	I				II				III			
	A		B		A		B		A		B	
	Ag	Bs	Ag	Bs	Ag	Bs	Ag	Bs	Ag	Bs	Ag	Bs
dias												
1.....	617	220	7 000*	1 130*	940*	193	12 000*	950*	680*	595	7 000*	3 300*
3.....	294	31	5 900*	100	778	12	5 400*	140	353	19	4 200*	465
9.....	375	199	600*	38	389	328	7 500*	46	234	95	600*	16
27.....	28	620*	104	397	283	680*	1 300*	1 600*	94	473	540*	9
81.....	---	---	3	---	---	---	5	2	---	---	800	11

(\*) Os números marcados com \* são estimativas.

Ag — Extração em água.

Bs — Extração em búfer de fosfato + sulfito de sódio.

Foi notado em alguns ensaios que a mistura de búfer de fosfato com sulfito de sódio reduziu a atividade das preparações temporariamente, isto é, nas provas que foram efetuadas ao terceiro e ao nono dia. Posteriormente parece ter havido certa recuperação na atividade das prepa-

rações. Esse efeito da mistura de búfer de fosfato e sulfito de sódio sobre a atividade do inóculo não é ainda bem compreendido, mas estão sendo planejadas experiências visando esclarecer esse problema.

**Discussão.** Os ensaios efetuados com os três isolados do vírus estudado no presente trabalho mostram que eles pouco se diferenciaram entre si; tanto os sintomas causados em uma série de hospedeiras como as suas propriedades físicas foram bastante próximos. Os resultados obtidos indicam também que eles pertencem ao grupo do vírus da necrose do fumo.

Parece que em Campinas, como em outros lugares onde os vírus desse grupo têm sido estudados, é mais fácil encontrá-los nas raízes de plantas de estufa do que naquelas de plantas do campo.

Nenhum efeito aparente sobre as plantas infetadas pôde ser notado devido à presença do vírus nas raízes. É interessante apontar que, recentemente, um efeito estimulante sobre a planta foi relatado no caso de alguns isolados de vírus desse grupo<sup>(\*)</sup>. SEÇÃO DE VIROLOGIA, INSTITUTO AGRONÔMICO DO ESTADO.

#### OCCURRENCE OF TOBACCO NECROSIS VIRUS IN S. PAULO

##### SUMMARY

Three virus isolates from the roots of healthy looking greenhouse plants were obtained. A study of the symptomatology induced by these isolates on a number of host plants and of their properties *in vitro* indicated that they were very similar and belonged to the tobacco necrosis virus group.

(\*) YARWOOD, C. E. Tobacco necrosis virus in cleome. P. D. R. 43:399-393. 1959.