

2. VÍRUS DO MOSAICO DAS NERVURAS DA MANDIOCA

MASAYASU NEMOTO (Fitopatologia).

2. VÍRUS DO MOSAICO DAS NERVURAS DA MANDIOCA

Masayasu Nemoto¹
(Fitopatologia)

Introdução

Como integrante da primeira equipe técnica que se instalara no Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC), da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) em 1978, dentro do projeto de cooperação entre a EMBRAPA e a JICA, fui designado para desenvolver trabalhos na área de virologia, dentre as culturas que interessam ao Cerrado. Os problemas iniciais de instalação, a falta de facilidades adequadas no CPAC, e o volume de trabalho administrativo, organizando a lista dos equipamentos adquiridos dentro deste projeto, e a verificação e distribuição dos mesmos quando da chegada, além da organização de projetos consumiram o grosso do nosso tempo. Mesmo assim foi possível fazer algumas inspeções sobre ocorrência de viroses na área do Cerrado, e também em algumas outras regiões do Brasil, às quais tive possibilidades de percorrer.

No Brasil, pesquisas em virologia vegetal se desenvolveram bem no Est. São Paulo, graças aos trabalhos pioneiros de A.S. Costa e K. Silberschmidt, respectivamente no Inst. Agrônomo de Campinas e Inst. Biológico de S. Paulo. Neste estado, os principais problemas de vírus que afetam as culturas econômicas já se acham identificadas e o seu controle bem equacionados. Contudo, no resto do Brasil, somente recentemente é que a virologia está se fortalecen-

do, com a criação de novos núcleos, p. ex., no Rio Grande do Sul (UFRGS, CNPTrigo), Paraná (UFPr e CNPSoja), D. Federal (UnB e UEPAE/Brasília), M. Gerais (UFV), Pernambuco (UFRPe) e Ceará (UFCE).

Tivemos ocasião de constatar que praticamente os mesmos tipos de hortaliças são cultivadas tanto no Japão como no Brasil, mas devido às diferenças climáticas, de área cultivada e dos sistemas de cultivo, os problemas de vírus são nitidamente distintos. Assim, no Japão o mosaico de pepino, mosaico do fumo e vírus X da batata são importantes em solanáceas, enquanto no Brasil, vírus Y da batata, vírus de vira-cabeça ("spotted wilt"), vírus do amarelo (topo ou baixeiro), p.ex. têm causado maiores perdas. Entre cucurbitáceas, no Brasil os prejuízos maiores tem sido causados pelos vírus do mosaico da melancia e mosaico da abóbora, enquanto no Japão a ocorrência do mosaico do pepino e o da melancia predominam. Mesmo no que tange aos vectores, no Japão os afídeos são praticamente os únicos vectores importantes em hortaliças, enquanto no Brasil, outros insetos como coleópteros, tripes, cigarrinha e mosca branca podem ser igualmente importantes.

No CPAC, as principais culturas consideradas são a soja, trigo, café, arroz e mandioca. Os problemas de hortaliças estão

¹ Colaboraram no desenvolvimento da presente pesquisa, bem como na elaboração do relatório os profs. E.W. Kitajima e M.T. Lin, da Univ. Brasília.

à cargo da UEPAE/Brasília e em particular, as viroses estão sendo ativamente estudadas pelo grupo de Fitopatologia da UnB. Dessas culturas, problemas fitossanitários tem sido cuidados por outros centros da EMBRAPA, restando a mandioca. Esta cultura ganhou recentemente notoriedade não só como fonte de amido, mas também como possível alternativa energética, juntamente como a cana-de-açúcar para produção de álcool.

No Brasil, Costa *et al.* (1970) menciona a existência de 2 viroses e 1, enfermidade associada a organismos do tipo micoplasma, além de um possível vírus latente. A mandioca é originária da América do Sul, mas tem sido também cultivada na África, aonde são assinaladas algumas outras viroses, ainda desconhecidas no Novo Mundo, tais como o mosaico africano, transmitido por mosca branca, e o "brown streak" (Smith, 1972). Bock (dados não publicados) menciona também um geminivirus latente na África. Na África o mosaico é uma moléstia séria, causando sérias perdas, mas no Brasil, até o momento, as viroses tem sido encontradas esporadicamente, sem causar prejuízos. Apenas o superbrotamento, de possível etiologia micoplasmática, chegou a causar algumas preocupações, mas atualmente é de importância negligível. Essas enfermidades aparentemente não têm, ou têm um vector relativamente pouco eficiente, e assim, fazendo-se "uso de manivas de plantas sadias, elas são controladas facilmente. Mesmo assim representam sempre um perigo em potencial, pois o plantio indiscriminado de uma variedade susceptível, e o súbito aparecimento de vectores eficientes, poderá causar sérios danos.

Todas as enfermidades de vírus ou micoplasmas de mandioca são conhecidas relativamente há muito tempo no Brasil. Suas ocorrências foram assinaladas por volta de 1940.

O mosaico da mandioca (Costa, 1940, Costa & Kitajima, 1972) é um vírus do grupo potex (Kitajima *et al.*, 1965), transmite-se mecanicamente a diversas plantas, não se conhece o vector. Já foi purificado e também um antissoro específico contra este vírus foi produzido (Silva *et al.*, 1963). Intracelularmente as partículas virais produzem agregados prominentes no citoplasma (Kitajima & Costa, 1966^b; Tascon *et al.*, 1957). Acha-se registrada sua ocorrência no Peru e na Colômbia (Lozano & Booth, 1974).

O mosaico das nervuras é um vírus isométrico, provavelmente um caulimovirus. Têm ca. 50nm em diâmetro, e pode ser detectado intracelularmente, no citoplasma, ocasionamento associada a viroplasmas (Kitajima & Costa, 1966^a). Transmite-se por enxertia, e com dificuldade por vias mecânicas, de mandioca (Costa, 1940). Não se conhece o vector.

O superbrotamento ou envassouramento da mandioca (Normanha *et al.*, 1946) teve sua etiologia associada a micoplasma por Kitajima & Costa (1970). Suspeita-se que seja transmitido por cigarrinhas, mas não há evidências experimentais. Kitajima *et al.* (1972) registram sua ocorrência no México.

Um possível rhabdovirus, latente, foi observado em secções de tecidos foliares de mandioca aparentemente sadios, mas não há informações adicionais sobre o mesmo (Kitajima & Costa, 1979).

Das viroses que ocorrem no Brasil, o mosaico das nervuras é o que tem ainda relativamente poucas informações. Sua possível inclusão entre os caulimovirus é sugerida pela morfologia de suas partículas e aspectos citopatológicos (Kitajima & Costa, 1966^a). Recentemente Lin & Kitajima (1980) lograram sua purificação, e detecção de DNA, além de produzir anti-soro específico, e dados preliminares (Lin, comunica-

ção pessoal) indicam existência de relações serológicas entre o vírus do mosaico da couve flor e o VMNM.

Um dos entraves no desenvolvimento de estudos sobre este vírus é a dificuldade na transmissão mecânica e a falta de hospedeiras alternativas. Aparentemente **Datura stramonium** poderia ser infectada (Costa, comunicação pessoal). Os trabalhos foram então direcionados no sentido de detectar outras plantas testes para o VMNM, visando facilitar os testes biológicos, bem como os de purificação e também verificar a transmissibilidade do VMNM por afídeos, como os demais caulimovirus.

2. Material e métodos

Vírus: Foi utilizado o isolado do VMNM originariamente obtido por Costa (1940) no Rio de Janeiro, e infectando mandioca cv. Vassourinha e mantido na casa-de-vegetação da UnB.

Plantas testes: Plantas de mandioca, obtidas a partir de manivas de plantas sadias, foram preparadas nos telados do CPAC e da UnB. Também plântulas de diversas outras espécies de plantas, produzidas a partir de sementes trazidas do Japão, ou fornecidas pelo grupo de fitopatologia da UnB, ou ainda adquirida de firmas comerciais foram utilizadas, tomando-se o cuidado de preparar sementeiras com solos esterilizados, e replantadas em vasos de alumínio.

Testes de transmissão: (a) **Transmissão mecânica:** o inóculo foi preparado a partir de folhas de mandioca infectada pelo VMNM, mostrando sintomas típicos da enfermidade, maceradas em um almorfariz, na presença de tampão fosfato 0.01M com 0.1% de sulfato de sódio.

(b) **Transmissão por enxertia:** ramos de plantas infectadas foram enxertadas, por garfagem, em plantas sadias:

(c) **Transmissão com afídeos:** utilizaram-se pulgões **Myzus persicae** de uma colônia mantida na UnB. Separam-se pulgões que ficam em jejum numa placa de Petri, durante 1 hora, e depois postas a alimentar-se numa folha isolada de mandioca infectada pelo VMNM, aonde ficaram durante uma noite. Depois, em grupos de 5 pulgões, foram transferidas a 5 plantas sadias.

(d) **Transmissão por picadas de agulha:** Numa variante de transmissão mecânica, tentou-se inocular o VMNM em plantas sadias de mandioca, através de picadas de agulha. O inóculo, contendo 0.2% de nicotina, foi pingado sobre a folha ou o ramo, picando-se o tecido, na parte molhada, com um instrumento perfurante.

3. Resultados

a. **Desenvolvimento de sintomas:** Procurou-se observar a seqüência do aparecimento dos sintomas em estacas de plantas infetadas, plantadas em um vaso. As brotações novas iniciaram o aparecimento em 5-7 dias, porém sem sintomas. Cerca de 1 mês depois, a planta já tinha 5-6 folhas, quando estão as folhas mais velhas começaram a manifestar os sintomas, formando faixas amareladas nas margens da principal. Posteriormente as nervuras secundárias também exibiam essas faixas, que se iniciam como áreas cloróticas, que coalescem. As folhas tornam-se enrugadas. O interessante é que, ao contrário da maioria dos vírus, a sintomologia aparece inicialmente em folhas mais velhas, e são menos aparentes nas folhas jovens. Observações similares são notadas quando se faz a transmissão por enxertia, mas neste caso a observação fica prejudicada pois as folhas mais velhas do cavalo acabam caindo.

b. **Testes de transmissão mecânica:** Durante o desenrolar dos experimentos não se con-

seguiu em nenhum caso transmissão mecânica do VMNM de mandioca para mandioca (em 30 mudas inoculadas). Em uma série de experimentos adicionou-se nicotina 0.2%, e noutra usou-se inóculo preparada com água somente.

c. **Inoculação com agulha:** Também em nenhuma das 10 mudas de mandioca inoculadas, não se observou a transmissão.

d. **Transmissão por enxertia:** Das 5 plantas de mandioca enxertadas, 3 exibiram sinto-

mas cerca de 1 mês após o enxerto.

e. **Transmissão por afídeos:** Nenhuma das 6 mudas alimentadas por *Myzus persicae* que teve acesso às plantas infetadas manifestaram sintomas.

f. **Testes de transmissão a outras espécies de plantas:** Pelo menos 3 plantas de cada espécie foram inoculadas, em algumas vezes repetindo-se a experiência 3 vezes. Os resultados estão abaixo:

Planta teste	Sintoma	Observação
A. Solanácea		
1. Lycopersicon esculentum (tomate)	—	
2. Nicotiana tabacum (fumo)	—	Um caso duvidoso, com aparecimento de lesões foi devido a contaminação com TMV.
3. N. glutinosa	—	
4. N. rustica (fumo malva)	—	
5. Datura stramonium convulvulo	+	lesão local necrótico em 1 semana
6. D. tatula convulvulo	—	
7. D. metel convulvulo	—	
8. Petunia hybrida (Petunia)	—	
9. Capsicum frutescens (pimenta)	—	
10. Physalis floridana	—	
11. Nicandra physaloides	—	
B. Euphorbiaceae		
12. Manihot utilissima (Mandioca)	—	
13. Euphorbia prunifolia (amendoim bravo)	—	
14. Euphorbia sp.	—	
15. Ricinus comunis (mamona)	—	
C. Leguminosae		
16. Glycine max (soja)	—	
17. Phaseolus vulgaris (feijão)	—	
18. Vigna sinensis (caupi)	—	
19. Trifolium repens (trevo branco)	—	
20. T. pratense (trevo vermelho)	—	
D. Cucurbitáceae		

21. Cucumis melo (melão)	
22. C. sativus (pepino)	—
23. Cucurbita moschata (abóbora japonesa)	—
24. C. maxima (abóbora)	—
E. Chenopodiaceae	
25. Chenopodium murale	+ clorose e clareamento das nervuras em 1 semana.
26. C. amaranticolor	+ pequenas lesões necróticas em 1 semana.
27. C. quinoa	—
28. Beta vulgaris (beterraba)	—
Outras famílias	
29. Tetragonia expansa (espinafre-da-Nova Zelândia) - Aizoaceae	—
30. Sesamum indicum (sasamo)	—
31. Gomphrena globosa (perpétua)	—

4. Discussão

Os resultados de uma maneira geral confirmam os dados já publicados por Costa em 1940. **D. stramonium** exibiu lesões locais em 1 semana, o que confirmaria as observações feitas em caráter pessoal por Costa. Se confirmados os dados, as hospedeiras **C. murale** e **C. amaranticolor** parecem representar outras indicadoras adequadas para o VMNM. Esses testes são importantes, pois só é possível que o VMNM tenha maior ocorrência, mas devido a sintomatologia similar aos causados pelos ácaros, possam estar sendo erroneamente diagnosticados. Embora inicialmente projetado, não tivemos tempo de desenvolver testes para avaliar a curva de concentração do VMNM na planta infetada, pois aparentemente não haveria correlação entre a manifestação de sintomas e título de vírus.

É possível também, além do problema da concentração do VMNM no inóculo, existam outros fatores, como presença de inibidor na folha da mandioca, principal-

mente considerando o latex, no suco. Diluição do suco, adição de anti-inibidores, clarificação, etc. são métodos que devem ser considerados. Outro ponto a analisar é a exploração de mais espécies de euforbiáceas, pois para os presentes trabalhos só foi possível testar 4 espécies, incluindo a mandioca. No Brasil existem grande número de euforbiáceas silvestres e cultivadas que deveriam ser testadas, tanto por inoculação mecânica como por enxertia.

5. Detecção de vírus em cucurbitáceas no Est. S. Paulo

No 1º semestre de 1980, teve o autor deste relatório, a oportunidade de percorrer a região da alta Sorocabana, no Est. S. Paulo. Em uma das lavouras visitantes, constatou a ocorrência de mosaico em melancia, abóbora, melão e maxixe. Amostras dessas plantas com suspeita de virose foram trazidas à Brasília e entregues ao prof. M.T. Lin e E.W. Kitajima, para constatar a presença de vírus. Os testes serológicos, de micros-

copia eletrônica e de transmissão, confirmaram a infecção das amostras pelos vírus do mosaico da melancia e mosaico do pepino muitas vezes simultaneamente. A infecção do melão por esses vírus não havia ainda sido registrado no Est. S. Paulo. Uma nota relatando o fato foi apresentado pelo prof. M.T. Lin, durante o 21º Congresso da Soc. Olericultura do Brasil (anexo).

6. Agradecimentos

Não poderia deixar de aqui registrar nossos agradecimentos ao grupo de Fitopatologia da UnB, que ofereceu todas as suas facilidades de pesquisa para o nosso grupo da JICA. Uma boa parte desses trabalhos incluídos no presente relatório foram executados na casa-de-vegetação e telados da UnB, à cuja administração manifestamos nossa gratidão pela compreensão e boa vontade.

7. Literatura citada

Referências bibliográficas complementares de viroses de mandioca

Costa, A.S. Observações sobre o mosaico comum e mosaico das nervuras da mandioca. *J. Agronomia, Piracicaba* 3:329-248. 1940.

Costa, A.S. & Kitajima, E.W. Cassava common mosaic virus. CMI/AAB Description of Plant Viruses nº 90, 1972.

Costa, A.S. & Kitajima, E.W., Pereira, A.Sa., Silva, J.R. & Carvalho Dias, C.A. Moléstias de vírus e de micoplasma da mandioca no Est. S. Paulo. Dept. Orient. Técn., Coord. Assist. Tecn. Int., Sec. Agric. Est. S. Paulo, mimeog., 18p. 1970.

Kitajima, E.W. & Costa, A.S. Partículas esféricas associadas ao vírus do mosaico

das nervuras da mandioca. *Bragantina* 25:211-222. 1966^a.

Kitajima, E.W. & Costa, A.S. Microscopia eletrônica de tecidos foliares da mandioca infetada pelo vírus do mosaico comum da mandioca. *Bragantina* 25: SSIII-XXVIII. 1966^b.

Kitajima, E.W. & Costa, A.S. Micoplasma, possível agente etiológico de certas moléstias de planta. *Ciê. Cult.* 22: 351-363. 1970.

Kitajima, E.W. & Costa, A.S. Rhabdovirus like particles in tissues of five different plant species. *Fitopatologia Brasileira* 4:55-62. 1979.

Kitajima, E.W. & Costa, A.S. Microorganismos do tipo micoplasma associadas a moléstias do tipo amarelo em algumas plantas cultivadas e ornamentais no Est. S. Paulo e no D. Federal. *Fitopatologia Brasileira* 4:317-327. 1979.

Kitajima, E.W., Normanha, E.S. & Costa, A.S. Corpúsculos do tipo micoplasma associadas a uma forma de superbrotamento da mandioca na região de Tapachula Chiapas, México. *Cien. Cult.* 24:852-854. 1972.

Kitajima, E.W., Wetter, C., Silva, D.M., Oliveira, A.R. & Costa, A.S. Morfologia do vírus do mosaico comum da mandioca. *Bragantina* 24:247-260. 1965.

Lin, M.T. & Kitajima, E.W. Purificação e serologia do vírus do mosaico das nervuras da mandioca. *Res. 13º Cong. Soc. Bras. Fitopat.* p. 56, 1980.

Normanha, E.S., Book, O., Castro, J.B. Descrição de campo, como contribuição ao estudo do superbrotamento ou envassouramento da mandioca. *Rev. Agri., Piracicaba*, 21, 271-302. 1946.

Silva, D.M., Oliveira, A.R. & Kitajima, E.W. Obtenção do vírus do mosaico comum da mandioca. *Ciê. Cult.* 15:304

(Abst.). 1963.

Tascon, A., Kitajima, E.W. & Costa, A.S.
Microscopia eletrônica do vírus do

mosaico comum da mandioca nos tecidos foliares de diferentes plantas hospedeiras. *Bragantia* 34: V-X. 1975.

XX CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA

Infecção de melão e maxixe por vírus do mosaico da melancia-1 e vírus do mosaico do pepino em Presidente Wenceslau, SP.

M.T. Lin, M. Nemoto & E.W. Kitajima (1º e 3º autores — Univ. de Brasília, 2º autor — CPAC/EMBRAPA)

Em maio de 1980, o segundo autor inspecionou uma plantação de melão (100 ha) e outra de abóbora (20 ha) em Presidente Wenceslau e uma de melancia (20 ha) em Bastos, estado de São Paulo, atendendo solicitação de agricultores japoneses e constatou que a maioria das plantas de melão e algumas de abóbora e melancia estavam com sintomas de viroses. Foram coletadas 5 amostras de melão, 2 de abóbora e 2 de melancia para identificação de vírus. Duas plantas de maxixe com sintomas de viroses no campo de melão também foram coletadas. Para identificação de vírus, cada amostra foi dividida em 3 partes, sendo uma para microscopia eletrônica, uma para serologia e outra para inoculação mecânica em *Chenopodium quinos*, *Nicotiana tabacum* 'TNN', *Datura stramonium*, *Vigna unguiculata*, 'Serido', *Cucumis matuliferus* P1 219190, abóbora 'Menina' e 'Tetsukabu-

to'. Para serologia, cada amostra foi testada através de imunodifusão dupla em agar gel contra os anti-soros para os seguintes vírus de Cucurbitaceae: "squash mosaic virus", "cucumber mosaic virus" (CMV) (vírus do mosaico do pepino), "tobacco necrosis virus", "cucumber necrosis virus", "cucumber green mottle mosaic virus", "tobacco mosaic virus", "watermelon mosaic virus-1" (WMV-1) (—vírus do mosaico da melancia-1) e "bean yellow mosaic virus". Testes com os primeiros 6 anti-soros foram feitos em agar gel comum enquanto os 2 últimos em agar gel contendo 0,5% SDS. Os resultados mostraram que todas as amostras de melão e abóbora, uma de melancia e uma maxixe estavam infetadas por WMV-1. Entre essas amostras, 3 de melão e aquela de maxixe estavam infetadas duplamente por CMV. Outra planta de maxixe estava infetada somente por CMV. Os resultados de inoculação confirmaram esses resultados. Portanto, a microscopia eletrônica detectou somente 2 amostras (uma de melão e outra de maxixe) com partículas de vírus. Trabalho está em andamento para caracterizar esses vírus e determinar seus efeitos em plantas de Cucurbitaceae.

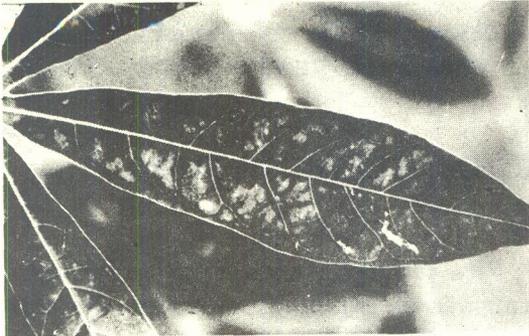


Fig. 1. Cassava common mosaic virus

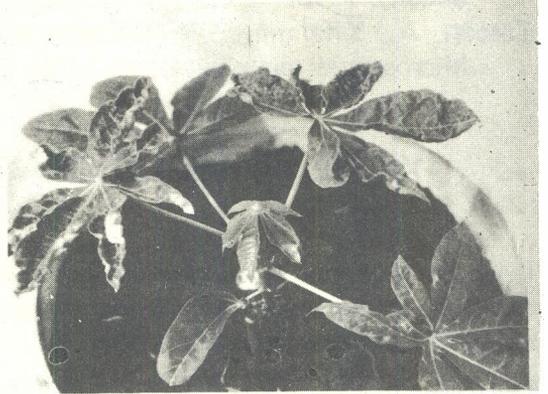


Fig. 4.



Fig. 2. Cassava vein mosaic virus



Fig. 5.

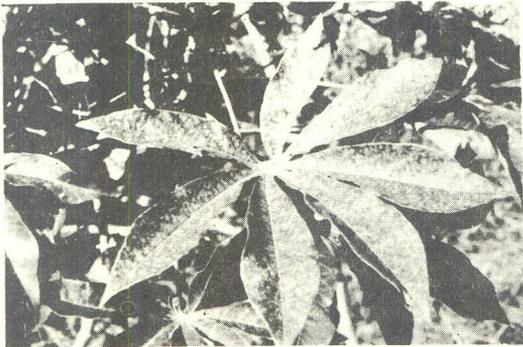


Fig. 3. Cassava vein mosaic virus



Fig. 6.