NECROSE DAS NERVURAS DA MALVA CAUSADA POR VÍRUS DO GRUPO X DA BATATA (¹). A. S. Costa e E. W. KITAJIMA (²). No decorrer de testes de inoculação mecânica com alguns vírus que afetam malváceas, certas plantas de malva (*Malva parviflora* L.), usadas como plantas-teste em estufa, apresentaram necrose sistêmica das nervuras, diferente dos sintomas provocados pelos outros vírus em estudo. Em inoculações subseqüentes, vérificou-se que a necrose das nervuras da malva se reproduzia como moléstia distinta, diferente das conhecidas nas espécies do gênero (³, ⁴, ⁵, ⁶).

A necrose das nervuras da malva não foi encontrada afetando naturalmente nenhuma malvácea de valor comercial, como o algodoeiro (Gossypium hirsutum L.), a malva medicinal (Malva silvestris L.) ou o quiabeiro (Hibiscus esculentus L.). Também não foi possível infetar essas plantas em testes de estufa. Não é, por conseguinte, de nenhuma importância econômica conhecida. Foi, no entanto, julgado de interêsse publicar a presente nota, relatando os resultados dos trabalhos efetuados, que comprovam ser ela causada por um vírus do grupo X da batata (Solanum tuberosum L.).

Sintomatologia — Plantas de Malva parviflora L., inoculadas com o vírus da necrose das nervuras, apresentam lesões locais escuras, arredondadas (estampa 1-A), em 5 a 8 dias. Estas crescem em tamanho, tornando-se circundadas por áreas amareladas, as vêzes com necrose escuras ao longo das nervuras (estampa 1-B). Segue-se a invasão sistêmica da planta com a manifestação dos sintomas de necrose das nervuras do tipo risca ou mancha necrótica aracnóide (estampa 1-C).

Inoculações feitas por fricção em fôlhas de Gomphrena globosa L. com preparações não purificadas provocaram o aparecimento de lesões locais em cêrca de 5 a 7 dias e de tamanho

<sup>(1)</sup> Éste trabalho recebeu subvenções da FAPESP, CNPq e do convênio CAPES/BID/BNDE. Recebido para publicação em 22 de abril de 1970.

<sup>(2)</sup> Bolsistas do CNPq.

<sup>(&</sup>lt;sup>3</sup>) HEIN, ALICE. Beiträge zur Kenntnis der Viruskrankheiten an Unkräutern. I. Das Malva-Virus. Phytopath, Z. 28-205-234, 1956.

<sup>(&</sup>lt;sup>4</sup>) COSTA, A. S & DUFFUS, JAMES E. Occurrence of malva yellow vein mosaic in California. Pl. Dis. Reptr. 41-1006-1008, 1957.

<sup>(&</sup>lt;sup>5</sup>) \_\_\_\_\_; \_\_\_\_ & BARDIN, R. Malva yellows, an aphid-transmitted virus disease. J. Am. Soc. Sug. Beet Technd. 10:371-393, 1959.

<sup>(&</sup>lt;sup>6</sup>) KITAJIMA, E. W.; COSTA, A. S. & CARVALHO, A. M. B. Morfologia do vírus da palidez das nervuras da malva. Bragantia 21:CIII-CVI, 1962. Nota 18.

maior (4-5 mm) do que aquelas causadas por estirpes comuns do vírus X da batata na mesma espécie de planta-teste. As lesões em *Gomphrena* eram de côr pardo-clara no centro, rodeadas de área pardo-avermelhada (estampa 1-D). Manifestaram-se mais cêdo e em maior número em fôlhas já crescidas da planta do que em fôlhas mais novas.

Plantas de *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn. e *C. quinoa* Willd. desenvolveram lesões locais nas fôlhas inoculadas em 5 a 8 dias. Elas mostraram-se cloróticas ou levemente necróticas e apareceram com maior facilidade nas fôlhas maduras do que nas mais novas.

Círculo de hospedeiras: Espécies não identificadas de Malva, obtidas na Alemanha, nos Estados Unidos e coletadas na área de Campinas, possívelmente M. rotundifolia L., mostraram-se também suscetíveis ao vírus da necrose das nervuras, desenvolvendo sintomas semelhantes aos de M. parviflora. Em adição às espécies de Malva e às outras hospedeiras já mencionadas, foram infetados o gergelim (Sesamum indicum L.) e o espinafre de Nova Zelândia (Tetragonia expansa Murr.). Essas duas espécies não foram invadidas sistêmicamente pelo vírus causador. De tódas as plantas hospedeiras assinaladas foi feita recuperação positiva para plantas de Malva parviflora, reproduzindo nesta os sintomas da necrose das nervuras.

Transmissibilidade — O vírus da necrose das nervuras da malva pôde ser transmitido com relativa facilidade pelos métodos usuais de inoculação mecânica, fazendo-se a extração do inóculo dos tecidos infetados em almofaris na presença de tampão de fosfato (1/5) e sulfito de sódio. O tampão foi preparado com pH 7 a 0,02 M, adicionando-se sulfito de sódio para atingir a mesma concentração. Os tecidos triturados no tampão foram espremidos através de mousseline, usando-se o líquido obtido para friccionar as fôlhas das plantas-teste prèviamente polvilhadas com carborundo malha 300 ou outro abrasivo. Fôlhas que apresentavam a necrose das nervuras há muito tempo deram geralmente inóculo de baixa atividade.

Em adição às plantas mencionadas como suscetíveis nos estudos do círculo de hospedeiras do vírus, inocularam-se mais de 60 espécies de diversas famílias, principalmente malváceas e solanáceas. Bastante atenção foi dada à inoculação de diversas variedades de batata e a *Datura stramonium* L. Nenhuma dessas plantas apresentou sintomas de infecção, nem pôde o vírus ser delas recuperado, mesmo quando a recuperação foi tentada a partir das fôlhas anteriormente inoculadas.

Foram feitas tentativas para transmitir o vírus da necrose das nervuras para outras malváceas, por enxertia. Garfos retirados de plantas afetadas de *Malva parviflora* foram enxertados de tôpo em plantas de *Malvastrum coromandelianum* Oarche, *Sida micrantha* St. Hill. e *S. rhombifolia* L. Embora os enxertos tenham aparentemente pegado, pois permaneceram vivos até serem as plantas descartadas (mais de 40 dias após a enxertia) e terem feito algum crescimento, não houve manifestação de nenhum sintoma nas fôlhas das plantas usadas como cavalos.

Não foram feitos testes extensivos para a descoberta de um possível vector do vírus da necrose das nervuras da malva. Provas preliminares com os afídios *Myzus persicae* Sulz. (20/0) (7), *Aphis gossypii* Glov. (20/0) e com a môsca branca (*Bemisia tabaci* Genn.) (12/0) forneceram resultados negativos.

Morfologia do vírus encontrado em associação com a necrose das nervuras — Exames de preparações rápidas, feitas pelo método do "leaf dip" (8) ao microscópio electrônico, indicaram a presença de partículas alongadas, algo rígidas, de ca 15 mμ em diâmetro (estampa 2), naquelas obtidas a partir de plantas que apresentavam a necrose das nervuras, mas não nas de plantas não infetadas, contrôles. O comprimento normal (9) determinado segundo o histograma de distribuição dos comprimentos das partículas medidas foi de 525 mμ (quadro 1). Numa medição comparativa, usando-se o vírus latente da couve (Brassica oleracea var. acephala) como padrão, obteve-se CN de 521 mμ para as partículas associadas à necrose das nervuras da malva e 643 mμ para as partículas do vírus latente da couve (quadro 1, figura 1). Este último concorda bem com os valores anteriormente determinados (ca. 650 mμ) (10).

Propriedades físicas — Determinações preliminares foram feitas com preparações não purificadas, obtidas por extração do inóculo, da maneira anteriormente descrita, e testadas em fôlhas de Gomphrena globosa em diferentes diluições e depois de aquecidas a diferentes temperaturas durante 10 minutos. Prepara-

<sup>(&</sup>lt;sup>7</sup>) Relação plantas inoculadas/ plantas infetadas.

<sup>(8)</sup> BRANDES, J. Eine elektronenmikroskopische Schnellmethode zum Nachweis fäden- und stäbchenförmiger Viren, insbesondere in Kartoffel dunkelkeimen. NachrBl. dtsch. PflSchDienst, Braunscheig 9:151-152, 1957.

<sup>(9) — &</sup>amp; WETTER, C. Classification of elongated plant viruses on the basis of particle morphology. Virology 8:99-115, 1959.

<sup>(10)</sup> KITAJIMA, E. W.; CAMARGO, I. J. B. & COSTA, A. S. Morfologia e aspectos intracelulares do vírus latente da couve. Bragantia (em preparo)

ções diluídas a 1/625 ainda se mostraram infecciosas, mas não quando diluídas a 1/3.125; aquelas tratadas a 70°C conservaram ainda certa atividade, mas não depois de tratadas a 75°C.

Discussão — A reprodução da necrose das nervuras da malva por inoculação mecânica, com inóculo obtido a partir de malva ou dos tecidos infetados das diferentes hospedeiras, indica que tanto as lesões locais de algumas hospedeiras como os tecidos invadidos sistêmicamente de outras continham o vírus causador da necrose das nervuras da malva. O fato de que partículas de comprimento normal, de cêrca de 525 mµ, foram encontradas constantemente associadas à infecção das diferentes hospedeiras do vírus, mas não nas plantas normais, contrôles, constitui evidência de que o vírus causador da necrose da malva é essa mesma partícula.

QUADRO 1. — Resultado das determinações do comprimento normal (CN) das partículas do vírus da necrose das nervuras da malva (VNNM), individualmente ou em condições comparativas com o vírus latente da couve (VLC), em preparações "leaf dip"

| Planta hospedeira  | Número<br>das<br>partículas<br>medidas | CN ( <sup>1</sup> )<br>em mµ    |
|--|--|---------------------------------|
| Determinação individual do CN do VNNM                          |  |                                 |
| 1. Malva parviflora  | 118                                    | 525,0                           |
| 2. Malva parviflora  | 254                                    | 524,5                           |
| 3. Gomphrena globosa   | 164                                    | 524,5                           |
| Determinação do CN do VNNM em condições comparativas com o VLC |  |                                 |
| 1. VNNM Malva parviflora                                       | 98                                     | 521,0                           |
| 2. VLC — couve (Brassica oleracea var. acephala)               | 56                                     | 6 <b>43</b> ,0 ( <sup>2</sup> ) |

<sup>(1)</sup> CN determinado considerando-se as partículas compreendidas entre as classes de 450 e 600 mµ inclusives; (2) idem, entre as classes 575 e 725 mµ.

A morfologia da partícula do vírus, o seu comprimento normal, a sintomatologia provocada em *Gomphrena globosa*, a facilidade de sua transmissão mecânica são características que sugerem ser o vírus causador da necrose das nervuras da malva pertencente ao grupo do vírus X da batata, embora tenha círculo de hospedeiras restrito e não tenha infetado nem a batata nem *Datura stramonium*, que são bastante suscetíveis ao vírus X. As relações entre êsse vírus e representantes do grupo, como o causador do mosaico comum da mandioca e outros, não foram ainda estudadas. SEÇÃO DE VIROLOGIA, INSTITUTO AGRONÔMICO DO ESTADO.

VEINAL NECROSIS, A MALVA DISEASE CAUSED BY A VIRUS OF THE POTATO X GRUP

## **SUMMARY**

A type of veinal necrosis of Malva parviflora and other species of the genus was found associated with infection by an elongated, somewhat rigid virus, the particles of which measured 15 mµ in diameter and 525 mµ in length. Other host plants were Gomphrena globosa, Chenopodium amaranticolor, C. quinoa, sesame (Sesamum indicum), and New Zealand spinach (Tetragonia expansa) that permitted only local increase of the virus.

The malva veinal necrosis virus was easily transmitted mechanically, but not by Myzus persicae, Aphis gossypii, or Bemisia tabaci. Crude virus preparations were still infective when diluted 1:625 or when heated for 10° at 70°C. The malva veinal necrosis virus is considered as belonging to the potato X virus group, but its relationship to other members of the group were not established.

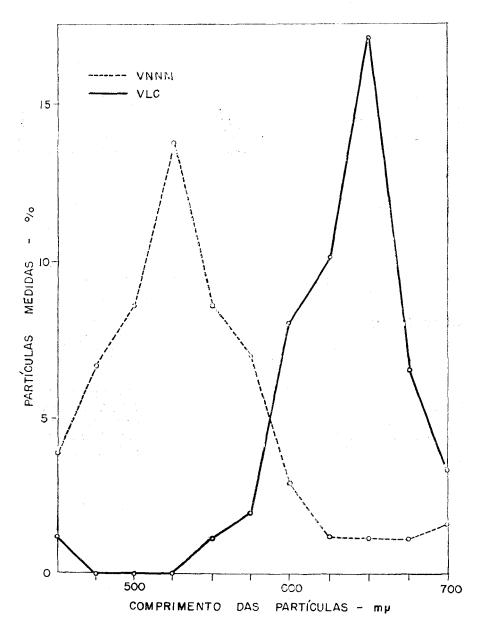
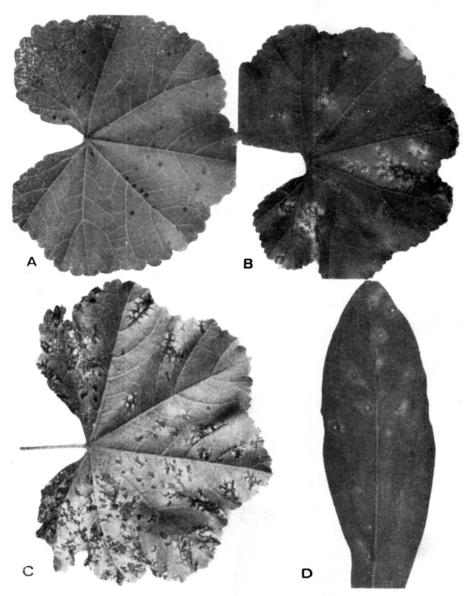


Figura 1. — Curva de distribuição dos comprimentos das partículas dos vírus da necrose das nervuras da malva (VNNM) e do vírus latente da couve (VLC), em preparações "leaf dip", examinadas sob condições comparativas.



Sintomas induzidos pele vírus da necrose das nervuras da malva: A — Leiões locais novas, de conformação arredondada, em fôlhas de Malva parviflora; B — Lesões locais mais velhas, com áreas amarelas ao redor; C — Sintomas sistêmicos de necrose das nervuras. D — Fôlha de Gomphrena globosa com resões locais.



Fotomicrografia electrônica de partículas alongadas do vírus da necrose das nervuras da malva, em uma preparação "leaf dip", de fôlhas de malva infetadas, metalizadas com cromo.