

# A Identificação das Doenças de Virus Encontradas nos Campos de Multiplicação de Tuberculos – Sementes de Batatinha

K. SILBERSCHMIDT, N. R. NOBREGA e M. KRAMER  
do Instituto Biológico de São Paulo

## *Introdução*

Em fins de 1939 foi organizada, sob os auspícios da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, a Cooperativa dos produtores de tuberculos-sementes de batatinha da Serra da Fartura com séde em S. João da Boa Vista.

Como já foi publicado em artigos anteriores (7 e 8), a finalidade dessa Cooperativa consiste na produção de tuberculos-sementes de batatinhas, sob a orientação de técnicos do Instituto Biológico, orientação essa que se estende desde a escolha cuidadosa dos campos até a adoção de medidas profiláticas nas diferentes fases da cultura.

Tais medidas visam, em primeiro lugar, a eliminação de todos os pés doentes que possam servir como fóco de infecção para doenças de virus e também a aplicação dos tratos culturais mais adequados para o controle dessas e de outras doenças.

Do emprego dessas medidas aos campos de multiplicação, pode-se sempre esperar bons resultados quando se dispõe, para as plantações iniciais, de um estoque de tuberculos-sementes de excelente qualidade e ótimo estado sanitario.

Acreditavamos conseguir sementes que correspondessem a essas exigencias, pela aquisição, por intermedio da Secretaria da Agricultura, de 2.000 caixas de sementes importadas da Ho-

landa das quais 1.800 caixas eram da variedade Eigenheimer e as restantes da variedade Bintje.

Logo, porem, na primeira inspecção feita em alguns campos, 20 dias após a plantação, foi verificada com surpresa, uma elevada porcentagem de plantas atacadas de doenças de virus e com sintomas acentuadamente fortes. Diante dessa ocorrência, visitando os campos restantes, verificamos em minuciosas e rigorosas observações, que cerca de 50% das plantas de todos os campos da variedade Eigenheimer, apresentavam nitidas manifestações de doenças de virus. A escolha dos campos para multiplicação de tuberculos tendo sido feita com bastante cuidado, em areas isoladas de outras culturas e nunca antes cultivadas com batatinhas, quasi que já afastadas a hipotese de terem sido ai adquiridas as doenças que apresentavam os pés dessa batatinha importada. Alem disso, o fáto da distribuição generalizada das doenças em todos os campos e o tipo uniforme com que se manifestaram, não deixaram nenhuma duvida que essas doenças tinham vindo com as sementes já da Holanda. Constatada a extenção das doenças nos campos de multiplicação interessamo-nos sobremaneira em saber de que modo elas se manifestavam, e qual era a sua natureza.

#### SINTOMAS APRESENTADOS PELAS PLANTAS DOENTES NO CAMPO

As plantas doentes no campo apresentavam-se, em geral, em grande contraste com as sadias, pois eram enfezadas, de hastes curtas e finas. As folhas mostravam-se fortemente enrugadas, e aglomerando-se nas hastes curtas davam um aspéto geral de encrespamento á planta toda (Figs. 1 e 2). Alem do encrespamento notava-se nas folhas uma clorose geral ou zonas claras e escuras bastante pronunciadas formando um mosaico muitissimo evidente. Muitas vezes esse mosaico se apresentou na forma de manchas claras, circulares, entre as nervuras secundarias (Fig. 3). Em outros casos observamos um ondulamento nítido das margens das folhas (Fig.4).

Como nos interessassemos em conhecer a natureza das doenças que essas plantas encerravam, coletamos, nos mêses de

Março e Abril, o material que nos pareceu mais adequado para essa finalidade.

## ESTUDOS EXPERIMENTAIS SOBRE A NATURESA DAS DOENÇAS.

### MATERIAL E MÉTODOS

A pura observação dos pés doentes no campo, não podia fornecer, logo, dados suficientes para o estudo da natureza das doenças. Existem varios fatores patogenicos que podem ser responsáveis pelos sintomas observados nas plantas no campo. O material foi, então, trazido do campo para o laboratorio para realizármos as primeiras inoculações. Todo o material colhido proveio de batatas holandesas certificadas, da variedade *Eigenheimer* dos lotes de sementes distribuidos pela Secretaria da Agricultura.

Damos a seguir a relação do material colhido e os sintomas mais característicos que apresentava:

Material 1) Planta de porte reduzido, com folhas mostrando mosaico muito intenso e ondulamento das margens.  
Material colhido em 9 - 4 - 940 no campo de multiplicação do Snr. L. P. S. Dias, em Grama.

Material 2) Planta de tamanho médio com folhas levemente encrespadas e um mosqueado (*mottling*) de placas cloróticas grosseiras; folíolos pouco expandidos e de margens onduladas (Fig. 7).  
Material colhido em 16 - 3 - 940 no campo de multiplicação do Sr. José Rabello Villela, em Aguas da Prata.

Material 3) Planta desenvolvida de folhas expandidas com um mosqueado (*mottling*) intenso do tipo antes descrito. As folhas apresentavam-se sem qualquer encrespamento ou ondulamento (Fig. 8). Material

colhido em 16 - 3 - 940 no Campo do Sr. José Rabello Villela.

Material 4) Planta de pequeno porte, de folhas com forte encrespamento e ligeiras necroses das nervuras. Os folíolos voltavam-se para baixo (Fig. 6). Material do campo de multiplicação do Sr. José Rabello Villela, colhido em 16 - 3 - 940, em Aguas da Prata.

Material 5) Planta apresentando enfezamento (nanismo), de folhas encrespadas com linhas claras junto às nervuras (Fig. 5). Material do campo de multiplicação do Sr. José Procopio de Oliveira, em Aguas da Prata.

Destes materiais foram preparados os sucos que constituíram respectivamente os inoculos 1, 2, 3, 4 e 5, e que foram utilizados nas experiencias de inoculações artificiais que tiveram inicio dois dias depois da coleta do material nos campos de multiplicação. A inoculação, com cada um dos materiais acima mencionados, se realisou nas seguintes especies de plantas hospedeiras: *Nicotiana tabacum* var. White Burley e Samsun, *N. glutinosa* e *N. silvestris*.

As inoculações foram efetuadas pelo leve friccionamento das folhas com algodão embebido em suco e preso á ponta de uma pinça esterilizada. Maiores detalhes dessa técnica foram dados por nós em trabalhos anteriores. As plantas empregadas nas experiencias tinham crescido em estufas e sido fumigadas periodicamente até a data da inoculação. Uma vez realizadas essas inoculações, as plantas foram conservadas em caixas especiais á prova de insétos.

#### IDENTIFICAÇÃO DO VIRUS DOS DIVERSOS MATERIAIS COLHIDOS NOS CAMPOS DE MULTIPLICAÇÃO.

Na primeira série de nossas experiencias que visavam a identificação dos virus do material em estudo, friccionamos os

cinco inoculos em grupos de 4 plantas das hospedeiras antes mencionadas.

Os resultados desses ensaios estão resumidos na Tabela I. Para melhor compreensão deste quadro, e dos que se seguem, desejamos frizar, que os numeros á esquerda das colunas, se referem aos inoculos provenientes do material descrito, nas paginas 25 e 26, que o sinal ( 0 ) se refere a resultados negativos e que o sinal traço ( - ) é usado nos casos em que não foram realizadas experiencias de inoculações.

Da consulta desta tabela pode-se verificar que os sintomas produzidos pelos inoculos 1, 2 e 3 apresentam entre si uma certa semelhança. Mostram como sintomas principais nas três especies de plantas hospedeiras um esclarecimento das nervuras das folhas novas e a formação de faixas escuras, descontínuas, ao longo das nervuras das folhas mais velhas.

Os outros dois inoculos, 4 e 5, provocaram, por outro lado, sintomas diferentes dos descritos até agora. Esses sintomas, bem mais acentuados que no 1º grupo, consistem principalmente num esclarecimento necrotico das nervuras.

Esses resultados nos levaram a admitir que os nossos cinco inoculos pertenciam a dois grupos diferentes de virus. Tivemos então que estudar se os inoculos continham virus dos grupos "g" e "Y" grupos estes que ocorrem mais frequentemente e que são os principais causadores das doenças de degenerencia das batatinhas. Resolvemos, por isso, friccionar com os citados inoculos, plantas da especie *Datura stramonium*. Essa especie é usada desde o trabalho de K. M. Smith ( 9 ) para diferenciação dos virus dos grupos "X" e "Y", pois a citada especie é suscetível ao virus "X" mas imune ao virus "Y".

As inoculações realizadas com essa especie confirmaram plenamente os resultados de nossa tabela I. Os inoculos 1, 2 e 3 deixaram de produzir sintomas em *Datura stramonium*, enquanto que as folhas de plantas de *Datura* friccionadas com os inoculos 4 e 5 apareceram com faixas escuras ao longo das nervuras ( *veinbanding* ). Alem desses sintomas, o inoculo 5 pro-

vocou nas mesmas folhas aneis e placas clóroticas de centro escuro.

Tornava-se então aceitável, pelo resultado das nossas inoculações, a hipótese que as doenças provocadas pelos três primeiros inoculos eram causadas por um vírus do grupo "Y" e que os 2 últimos inoculos, continham vírus do grupo "X".

Antes que estabelecessemos definitivamente a identificação do vírus dos cinco materiais do campo, realizamos ainda mais uma série de experiências em grupos de plantas de *N. glutinosa* e de *N. tabacum* das variedades White Burley e Samsun. Nesses ensaios partimos de material de plantas artificialmente inoculadas ( tabela I ) que já tinham mostrado sintomas.

Os resultados dessa segunda série de ensaios foram condensados na Tabela II.

Diante da grande semelhança do quadro sintomatológico que as plantas, nessa série de experiências, mostraram em comparação com as referidas na primeira tabela, não precisamos entrar em maiores detalhes a respeito dos sintomas apresentados. Convém, porém, notar que os sintomas característicos apareceram nesta série com maior frequência e se manifestaram com maior nitidez.

Assim, ficou ainda mais acentuada a diferença entre as manifestações patológicas dos inoculos 1, 2 e 3 de um lado e os 4 e 5 do outro lado. Os sintomas em quasi todas as plantas inoculadas eram tão bem definidos que se tornou fácil para nós compara-los com as descrições da literatura, referentes ás doenças causadas pelo vírus "Y" e "X" das batatinhas.

Os sintomas provocados nas três variedades de plantas hospedeiras estudadas, pelos inoculos do primeiro grupo, denotam grande analogia com os sintomas tidos como característicos das doenças do grupo "Y" das batatinhas.

Os sintomas do vírus "Y" das batatinhas provocados nas plantas hospedeiras usadas por nós (*N. tabacum* var. White Burley e Samsun, *N. silvestris* e *N. glutinosa*) foram descritos anteriormente nos trabalhos de K. M. Smith, ( 9 ) K. L. Koch,

(2) E. Köhler (3), T. P. Dykstra (1) e de P. A. Murphy e J. B. Loughnane (5).

Com referencia aos sintomas apresentados pela especie *N. tabacum*, K. M. Smith (9) foi o primeiro que forneceu uma descrição detalhada do desenvolvimento da doença na variedade White Burley; foi mencionado nesse trabalho como sintoma inicial o esclarecimento das nervuras das folhas novas e um ligeiro enrugamento da superficie das folhas. Como sintoma mais tardio ele observou o aparecimento de listras escuras ao longo das nervuras. A mesma variedade de fumo foi tambem usada com bons resultados por K. L. Koch (2) e por P. A. Murphy e J. B. Loughnane (5). No entanto, E. Köhler (4) preferiu em suas pesquisas sobre doenças do tipo do virus "Y", a variedade Samsun de fumo na qual observou sintomas semelhantes aos encontrados na variedade White Burley, havendo porem uma modificação dos sintomas tardios, que consistiam na variedade Samsun num mosqueado (*mottling*), e não em faixas escuras ao lado das nervuras. A mesma diferença tinha sido verificada por K. L. Koch. (2).

Além dessas duas variedades de fumo, usamos em nossas inoculações a especie *N. silvestris* que fio empregada por Dykstra (1) para a separação de diferentes virus do grupo "Y". Os varios virus pertencentes ao grupo citado, provocaram tambem nessa especie o aparecimento de faixas escuras ao lado das nervuras. Quanto à especie *N. glutinosa*, incluída por Koch numa serie de experiencias de inoculação artificial com virus do grupo "Y", o mencionado autor nota como sintoma principal nessa especie um esclarecimento das nervuras. Desde aquela época parece que se fez pouco uso de *N. glutinosa* em estudos sobre doenças do grupo "Y"; em nossos ensaios, porem, pudemos empregar sempre essa especie com grande vantagem.

Comparando agora os sintomas dos inoculos 1, 2 e 3 de nossa tabela II, com estas indicações da literatura, podemos verificar uma estreita analogia. Como sintomas mais evidentes a nossa tabela mostra na variedade White Burley de fumo, a formação de faixas escuras ao longo das nervuras e na variedade Samsun o aparecimento de um mosqueado (*mottling*) em segui-

da ao esclarecimento das nervuras, quer dizer, os mesmos sintomas descritos por K. M. Smith, K. Koch e E. Köhler.

Quanto aos sintomas apresentados em *N. glutinosa* e *N. silvestris*, as nossas observações são mais detalhadas do que as citadas na literatura sem que isso implique em qualquer diferença fundamental.

A comparação das indicações do nosso quadro com os da bibliografia a respeito, confirma desse modo que os nossos inoculos 1, 2 e 3 devem conter um vírus pertencente ao grupo "Y" das batatinhas.

Falta-nos agora verificar quais os sintomas considerados pelos autores como característicos do vírus "X" para as nossas plantas hospedeiras e comparar essas indicações com as observações obtidas com nosso material.

Desde o trabalho de K. M. Smith ( 9 pag. 259 ), *stramonium* foi usada de preferencia em todos os ensaios com vírus "X", por provocar sintomas bastante característicos desse vírus. Esses sintomas consistem na formação de aneis cloróticos e necróticos concentricos nas folhas medias e um mosqueado (*mottling*) nas folhas formadas algum tempo depois da inoculação.

Os sintomas observados por K. M. Smith nas folhas da variedade White Burley de *N. tabacum* tabem consistem em aneis concentricos do mesmo tipo dos encontrados em *Datura stramonium*. Mais tarde o mesmo autor ( 10, pg. 344 ) observou tambem a formação de aneis em folhas de plantas inoculadas de *N. glutinosa* e recomenda essa especie como planta indicadora do vírus "X".

Volviendo ainda á tabela II, podemos ver que os inoculos 4 e 5 provocaram tanto em *N. tabacum* var. White Burley como em *N. glutinosa* a formação de aneis nas folhas inoculadas e nas folhas mais novas. Esses aneis se mostraram ás vezes cloróticos e outras vezes necróticos. Os sintomas citados correspondem perfeitamente aqueles tidos como característicos do vírus "X" das batatinhas.

Convem frizar, porem, que o inoculo 4 não provocou apenas sintomas anulares, como tambem produziu fortes necroses das nervuras. Esse sintoma já foi obtido por K. M. Smith em

consequencia de uma infecção com um complexo de dois virus, possivelmente dos virus "X" -I- "Y" ( 9, pg. 256 ).

Essa observação chamou-nos a atenção sobre a possibilidade de que algum de nossos inoculos pudesse conter mais do que um virus. Tinhamos então que verificar se os nossos inoculos 1, 2 e 3 continham apenas um virus do grupo "Y" e os inoculos 4 e 5 unicamente virus do grupo "X". Esses estudos tinham a finalidade de separar todos os eventuais componentes incluídos em cada um dos nossos inoculos de virus.

### ESTUDO SOBRE AS QUALIDADES FISICAS DOS VIRUS DAS NOSSAS ORIGENS.

O metodo mais usado em laboratorio para a separação de complexos de virus dos grupos "X" e "Y" consiste em submeter o suco da planta contaminada, à temperaturas que deixam inalterada a atividade do virus "X" mas inativam o virus "Y". Sabemos, a partir dos trabalhos de K. L. Koch ( 2, pg. 332 ) e Köhler ( 4, pg. 28 ) que os virus do grupo "Y" têm o ponto de inativação nas proximidades da temperatura de 55° C, ao passo que os virus do grupo "X" se inativam acima de 65° C.

Deixando então o suco prensado de uma planta, durante 10 minutos numa temperatura de 60° C., elimina-se a possibilidade desse suco conter ainda virus do grupo "Y" numa forma ativa.

Se as inoculações realizadas com suco aquecido produzem sintomas atenuados e bem diferentes dos causados pelo suco normal da mesma fonte, pode-se admitir que a fonte original contem um complexo de dois grupos de virus.

Essa comparação dos sintômas provocados pelo suco normal e pelo suco aquecido, constitue o método mais usual para estudar, se o virus contido num material, se acha acompanhado por virus de outra natureza.

Em nossos estudos somente empregamos esse processo com os inoculos 4 e 5, pois eles eram os únicos que continham o virus "X" e que ao mesmo tempo suspeitavamos ainda conter virus de outros grupos. Usamos como plantas experimentais as especies *N. glutinosa*, *N. tabacum* var. White Burley e *N. rus-*

*tica*. De cada uma dessas especies inoculamos 3 plantas com suco aquecido a 60° C. e outras tantas com suco não aquecido.

Apresentamos os resultados desse ensaio em nossa Tabela III.

Enquanto que o tipo geral dos sintomas provocados pelo inoculo 5 não foi alterado em consequencia do aquecimento do suco a 60° C., o inoculo 4 produziu sem aquecimento sintomas muito mais acentuados do que quando aquecido. Como exemplo podemos citar aqui o efeito que o friccionalamento do inoculo 4 produziu em plantas de *Nicotiana glutinosa*. O suco aquecido provocou nessas plantas apenas a formação de faixas escuras ao longo das nervuras nas folhas novas; o suco normal, porem, alem disso, produziu aneis cloroticos e necroticos na folha inoculada, esclarecimento das nervuras e aneis cloroticos nas folhas novas.

Parece então que o inoculo 5 contem, de fáto, apenas o virus "X" ao passo que o inoculo 4 contem provavelmente alem desse virus um virus do grupo "Y".

Tendo desta maneira estudado o gráo de contaminação em que o virus "X" se encontra nos inoculos 4 e 5, quizemos realizar ensaios semelhantes com inoculos que encerram o virus "Y". Sendo o ponto termal de inativação desse virus relativamente baixo, esse virus não pode ser separado de virus contaminantes por meio da exposição do suco à temperaturas elevadas.

Empregamos então outro método para verificar se o virus "Y" nos nossos inoculos se encontrava acompanhado de virus de outra natureza. Como já foi explicado antes, a especie *Datura stramonium* é resistente aos virus do grupo "Y" mas suscetivel ao virus "X" e a virus de outros grupos. A especie *N. glutinosa*, por outro lado, é suscetivel para os tipos de virus em questão, embora com quadros sintomatologicos diferentes. Para estudar, se um inoculo contem apenas um virus do grupo "Y" ou tambem um virus de outro grupo devemos friccionalar primeiro com suco do mesmo inoculo plantas de *D. stramonium* e de *N. glutinosa*. Passando agora esse inoculo vindo de um lado de *Datura*, de outro lado de *N. glutinosa*, a dois grupos de plantas de uma especie suscetivel ( p. ex. *N. tabacum* var. White Burley ), conse-

TABELA I

RESULTADOS DAS PRIMEIRAS INOCULAÇÕES ARTIFICIAIS COM O MATERIAL COLHIDO NOS CAMPOS

	<i>Nicotiana glutinosa</i>		<i>Nicotiana sylvestris</i>		<i>Nicotiana tabacum</i> var White Burley		<i>Nicotiana tabacum</i> var Samsun	
	Sint. 1.os	Sintomas 2.os	Sint. 1.os	Sintomas 2.os	Sint. 1.os	Sintomas 2.os	Sint. 1.os	Sintomas 2.os
INOCULO 1	—	—	0	Esclarecimento das nervuras ( <i>clearing</i> ) Mosqueada ( <i>Mottling</i> ) difuso	0	Faixas escuras, finas, junto às nervuras ( <i>veinbanding</i> ). Esclarecimento das nervuras ( <i>clearing</i> ) das folhas novas.	—	—
INOCULO 2	0	Enrugamento das folhas novas. Manchas claras e escuras acompanhando as nervuras. Esclarecimento das nervuras ( <i>clearing</i> )	0	0	—	—	0	Mosqueado ( <i>Mottling</i> ). Faixas escuras ao longo das nervuras ( <i>veinbanding</i> ). (Sintomas pouco conspicuos).
INOCULO 3	0	0	—	—	—	—	0	Faixas escuras pouco evidentes junto às nervuras ( <i>veinbanding</i> ).
INOCULO 4	0	Esclarecimento necrótico das nervuras. Faixas escuras, largas ao longo das nervuras ( <i>veinbanding</i> ).	0	0	0	Esclarecimento necrótico das nervuras. Mosqueado ( <i>Mottling</i> ) leve.	—	—
INOCULO 5	0	Esclarecimento necrótico das nervuras. Aneis necróticos de centro escuro. Faixas escuras ao longo das nervuras ( <i>veinbanding-Mottling</i> ).	0	0	—	—	0	—

TABELA II

INOCULAÇÕES ARTIFICIAIS EFETUADAS COM O MATERIAL PROVENIENTE DAS PRIMEIRAS INOCULAÇÕES

	<i>Nicotiana glutinosa</i>		<i>Nicotiana tabacum</i> var White Burley		<i>Nicotiana tabacum</i> var Samsun	
	Sint. 1.os	Sintomas 2.os	Sint. 1.os	Sintomas 2 os	Sint. 1.os	Sintomas 2.os
INOCULO 1	0	Esclarecimento das nervuras ( <i>clearing</i> ) e ondulamento das folhas. Faixas claras e ilhotas de verde mais escuro ao lado das nervuras	0	Faixas estreitas, escuras, descontínuas, ao longo das nervuras com ilhotas de verde mais escuro ( <i>veinbanding</i> ). Placas clóroticas.	0	Esclarecimento das nervuras ( <i>clearing</i> ). Mosqueado ( <i>Mottling</i> ) fraco.
INOCULO 2	0	Esclarecimento das nervuras ( <i>clearing</i> ) e ondulamento das folhas.	0	Faixas estreitas, escuras, descontínuas, ao longo das nervuras com ilhotas de verde mais escuro ( <i>veinbanding</i> ). Esclarecimento das nervuras ( <i>clearing</i> )	0	Mosqueado ( <i>Mottling</i> ). Faixas escuras ao longo das nervuras ( <i>veinbanding</i> )
INOCULO 3	0	Esclarecimento das nervuras ( <i>clearing</i> ) e ondulamento das folhas. Faixas claras e escuras, irregulares ao lado das nervuras.	0	Faixas estreitas, escuras, descontínuas, ao longo das nervuras ( <i>veinbanding</i> ).	0	Esclarecimento das nervuras ( <i>clearing</i> ). Mosqueado <i>Mottling</i> fraco. Faixas escuras pouco conspícuas ao longo das nervuras ( <i>veinbanding</i> ).
INOCULO 4	Anéis cloróticos às vezes com ponto necrótico no centro	Esclarecimento das nervuras ( <i>clearing</i> ). Anéis cloróticos de centro escuro. Faixas escuras, regulares, ao longo das nervuras ( <i>Veinbanding</i> ). Enfezamento ( <i>stunting</i> )	Anéis cloróticos às vezes com centro necrótico	Esclarecimento necrótico das nervuras. Anéis cloróticos e necróticos. Linhas e pontos necróticos. Faixas escuras, regulares ao longo das nervuras ( <i>veinbanding</i> )	0	Esclarecimento necrótico das nervuras. Mosqueado ( <i>Mottling</i> ) leve
INOCULO 5	Anéis necróticos e cloróticos	Anéis necróticos de centro necrótico. Faixas escuras, regulares, ao longo das nervuras ( <i>Veinbanding</i> )	Anéis necróticos e cloróticos	Poucos anéis necróticos. Faixas escuras, regulares ao longo das nervuras ( <i>Veinbanding</i> ) entremeada de anéis cloróticos de centro escuro	—	—

— TABELA III —

RESULTADO DE INOCULAÇÕES ARTIFICIAES EFETUADAS COMPARATIVAMENTE COM SUCO NORMAL E AQUECIDO A 60.º DOS INOCULOS 4 e 5.

		<i>Nicotiana glutinosa</i>				<i>Nicotiana rustica</i>				
		Suco normal		Suco a 60o C.		Suco normal		Suco a 60o C.		
Sint. 1.os	Sintomas 2.os	Sint. 1.os	Sintomas 2.os	Sint. 1.os	Sintomas 2.os	Sint. 1.os	Sintomas 2.os	Sint. 1.os	Sintomas 2.os	
INO- CULO 4	Esclarecimento das nervuras. Anéis cloróticos de centro escuro. Faixas escuras ao longo das nervuras ( <i>Veinbanding</i> ). Planta Enlezada	0	Faixas escuras, ao longo das nervuras ( <i>Veinbanding</i> )	Esclarecimento necrotico das nervuras. Anéis e placas necróticas. Faixas escuras ao longo das nervuras ( <i>Veinbanding</i> ) ( <i>Motting</i> )	Anéis cloróticos e pontos necróticos	Anéis necróticos, Faixas escuras ao longo das nervuras ( <i>Veinbanding</i> ). ( <i>Motting</i> )	Anéis cloróticos	Esclarecimento necrotico das nervuras. Mosqueado ( <i>Motting</i> ).	Anéis necróticos.	Mosqueado ( <i>Motting</i> )
INO- CULO 5	Anéis cloróticos e necróticos	0	Anéis necróticos Faixas escuras ao longo das nervuras ( <i>Veinbanding</i> ) Mosqueado ( <i>Motting</i> ).	Faixas escuras ao longo das nervuras ( <i>Veinbanding</i> ) generalizado.	Anéis cloróticos e necróticos.	Faixas escuras ao longo das nervuras ( <i>Veinbanding</i> ) generalizado)	Anéis cloróticos	Faixas escuras ao longo das nervuras ( <i>Veinbanding</i> ).	Anéis cloróticos e necróticos.	Anéis necróticos. Faixas escuras ao longo das nervuras ( <i>Veinbanding</i> ) Mosqueado ( <i>Motting</i> ).

**TABELA IV**  
**INOCULAÇÕES COMPARATIVAS DOS 5 INOCULOS PARTINDO DE NICOTINA GLUTINOSA E DATURA STRAMONIUM**

	<i>Nicotiana</i>		<i>Glutinosa</i>		<i>Nicotiana tabacum</i> var White Burley			
	A partir de <i>Nicotiana glutinosa</i>		A partir de <i>D. stramonium</i>		A partir de <i>Nicotiana glutinosa</i>		A partir de <i>D. stramonium</i>	
	Sint. 1.os	Sintomas 2.os	Sint. 1.os	Sintomas 2.os	Sint. 1.os	Sintomas 2.os	Sint. 1.os	Sintomas 2.os
<b>INOCULO 1</b>	0	Esclarecimento das nervuras ( <i>clearing</i> ). Mosqueado ( <i>Mottling</i> ).	0	0	0	Esclarecimento das nervuras ( <i>clearing</i> ). Faixas escuras, descontinuas, estreitas junto às nervuras. ( <i>Veinbanding</i> ) com ilhotas de verde escuro.	0	0
<b>INOCULO 2</b>	0	0	0	0	0	Esclarecimento das nervuras ( <i>clearing</i> ). Faixas escuras, descontinuas, estreitas junto às nervuras ( <i>Veinbanding</i> ) com ilhotas de verde escuro.	0	0
<b>INOCULO 3</b>	0	0	0	0	0	Esclarecimento das nervuras ( <i>clearing</i> ). Faixas escuras, descontinuas, estreitas junto às nervuras ( <i>Veinbanding</i> ) com ilhotas de verde escuro.	0	0
<b>INOCULO 4</b>	—	—	—	—	Aneis cloróticos e necróticos	Esclarecimento necrótico das nervuras. Aneis e placas necróticas. Faixas escuras, regulares, ao longo das nervuras ( <i>Veinbanding</i> ) Mosqueado ( <i>Mottling</i> ).	Pontos brancos necróticos	Esclarecimento necrótico das nervuras. Aneis cloróticos com centro escuro. Faixas escuras, regulares ao longo das nervuras ( <i>Veinbanding</i> ).
<b>INOCULO 5</b>	—	—	—	—	Aneis necróticos	Aneis e placas cloróticas de centro escuro. Faixas escuras, regulares ao longo das nervuras. ( <i>Veinbanding</i> ).	Aneis cloróticos (Pontos)	Aneis cloróticos de centro escuro. Faixas escuras, ao longo das nervuras. ( <i>Veinbanding</i> ). Parcial.

guiremos resultados que permitem uma conclusão sobre o estado de pureza do virus estudado.

No caso que o inoculo contenha só virus do grupo "Y", as plantas inoculadas com suco de *Datura* continuarão sadias contrastando assim com o grupo de plantas inoculadas com suco de *N. glutinosa*.

Se o inoculo estudado encerrasse um complexo, as plantas inoculadas com suco de *Datura* também poderiam apresentar sintomas.

Usamos o método descrito, não só para os nossos três inoculos que provavelmente contêm o virus "Y" mas também para aquelas onde a ocorrência do virus "X" foi verificada. Os resultados dessa experiência podem ser consultados na Tabela IV.

Examinando o quadro acima, podemos verificar que as observações referentes aos inoculos 1, 2 e 3 confirmam plenamente os resultados anteriores. Passando esses inoculos em *Datura stramonium* e, fazendo a partir dessa espécie, outras inoculações artificiais em *N. glutinosa* e *N. tabacum* var. White Burley, não se consegue resultados positivos em tais inoculações. Esse resultado é facilmente explicado pela suposição de que os três inoculos continham unicamente virus do grupo "Y", virus esse que não é capaz de infeccionar a espécie *Datura stramonium*. Entende-se nessas condições, que também plantas de espécies suscetíveis inoculadas com suco de *Datura*, não podem apresentar sintomas.

Bem diferentes são os resultados obtidos com os inoculos 4 e 5. Esses dois inoculos contêm o virus "X", quer dizer um virus, para o qual ambas as espécies usadas nessa experiência (*N. glutinosa* e *D. stramonium*) são suscetíveis. Era de se esperar que os inoculos 4 e 5 provocassem sintomas positivos depois de sua passagem em cada uma das espécies suscetíveis, o que realmente foi constatado. Coincide também com os nossos resultados anteriores o fato que o quadro sintomatológico do inoculo 5 não foi essencialmente modificado pela passagem em *Datura stramonium*. Isso indica que o virus "X" não foi contaminado nesse inoculo por virus do grupo "Y".

Com referencia ao inoculo 4, esperavamos encontrar diferenças nitidas entre as inoculações a partir de *Datura stramonium* e *N. glutinosa*. É porque tínhamos das experiencias anteriores chegado a conclusão que nesse inoculo o virus "X" se achava acompanhado de outro virus. Com referencia a esse virus contaminante supuzemos tratar-se do virus "Y" porque o seu ponto termal de inativação estava abaixo de 60° C.

Os resultados do quadro IV, porem, não confirmaram de todo essa hipotese. É verdade que inoculações realizadas a partir de *Datura stramonium* provocaram sintomas primarios um pouco mais brandos do que as inoculações a partir de *N. glutinosa*, mas o tipo geral dos sintomas nos dois casos, se conservou praticamente igual. Mesmo as inoculações feitas a partir de *Datura stramonium* provocaram um esclarecimento necrótico das nervuras, sintoma esse considerado por muitos antores como tipico do complexo "X" -l- "Y".

Devemos então concluir dessas experiencias que esse sintoma forte deve ter sido produzido pelo proprio virus "X". Essa conclusão torna-se razoavel uma vez que tambem foram descritas por Salaman, variedades (*strains*) muito fortes do virus "X" ( 6 ).

Mesmo na suposição que os inoculos 4 e 5 conttenham variedades (*strains*) diferentes do virus "X", acreditamos ainda que o nosso inoculo 4 não encerra apenas esse virus. É provavel que nesse inoculo o virus "X" se ache associado a um outro virus fraco ou pelo menos mais sensivel á temperatura de inativação. Trata-se, talvez, de um virus de um grupo para o qual a especie *Datura stramonium* é tambem suscetivel. Em todo o caso o que podemos concluir desta parte de nossos ensaios é que o inoculo 5 contem o virus "X" provavelmente sob forma relativamente pura e que o inoculo 4 parece estar misturado com virus de outro grupo.

Quanto aos inoculos 1, 2 e 3 não ha razões para duvidar que conttenham um virus do grupo "Y" livre de contaminações com outros virus.

#### CONCLUSÕES PRATICAS

Os resultados das nossas inoculações artificiais realizadas

no laboratorio vêm assim confirmar as nossas observações nos campos de multiplicação de tuberculos-sementes.

De cinco inoculos colhidos ao acaso de 3 diferentes campos de multiplicação conseguimos isolar virus de grupos diversos: foram justamente os virus "X" e "Y" das batatinhas, os encontrados por nós e aos quais se atribue uma grande importancia nas doenças de degenerescencia das batatinhas.

Releva notar que essas doenças em campos de multiplicação de outras variedades tratados e fiscalizados com o mesmo criterio ou não se manifestaram ou só infeccionaram um reduzido numero de plantas. É impossivel acreditar que somente os campos da variedade Eigenheimer de importação recente tivessem se contaminado aqui em nosso Estado de um modo tão generalizado e uniforme e ainda em lugares nunca antes cultivados com batatinhas e completamente isolados entre si.

Assim, devemos tirar das nossas observações e experiencias a conclusão que os lotes de batatinha da variedade Eigenheimer importadas da Holanda e requisitadas pela Secretaria da Agricultura com a finalidade de fornecer um estoque para a produção de tuberculos-sementes no país, continham um numero excessivamente alto de tuberculos contaminados de virus dos grupos "X" e "Y".

É superfluo mencionar que o nosso país sofreu consideraveis prejuizos em consequencia do estado sanitario pouco satisfatorio dos lotes em questão. Por isso, é nosso dever sugerir medidas que possam evitar a repetição de tais fatos.

Parece facil á primeira vista evitar a entrada de partidas de batatas infeccionadas com doenças de virus da parte dos serviços de defesa sanitaria dos portos. Na realidade, porem, os técnicos desses serviços se vêm a braços com dificuldades, justamente porque a maioria das doenças de virus não altera de nenhum modo o aspéto dos tuberculos a ponto de não poder distinguir tuberculos sadios dos contaminados. Dessa maneira os órgãos de defesa sanitaria dos portos têm de confiar apenas nos certificados de sanidade fornecidos pelos países de origem.

Ha entretanto casos em que o estado sanitario das batatinhas não corresponde ao que é garantido por esses certificados. Essa má qualidade das sementes importadas só se mani-

festa nas plantas novas formadas dessas sementes, e portanto já nos campos de cultura. Ha então um periodo relativamente longo entre a entrada dos tuberculos no porto e a manifestação dos sintomas das doenças de virus. A respeito do reconhecimento dessas doenças de virus, existem desse modo para a defesa sanitaria dificuldades muito maiores do que as causadas por fungos e bacterias, que não raro são reconheciveis nos proprios tuberculos.

A legislação atual não fornece aos órgãos de defesa sanitaria vegetal elementos que permitam, depois da entrega aos lavradores, uma intervenção eficaz, que possa sem prejuizo do agricultor, eliminar partidas grandemente infeccionadas. É nesse ponto que achamos necessario ampliar as disposições do regulamento em vigor.

Essa ampliação consistiria no direito que se devia reservar ao Estado de permitir, sempre sob condição, a livre saída da fiscalisação fitosanitaria dos portos, de partidas de tuberculos sementes de batatinhas. A livre saída definitiva e com isso o direito ao pagamento total das sementes importadas, só poderia se dar depois da primeira fiscalisação das plantas cultivadas das referidas sementes. Achamos necessaria essa fiscalisação porque só por meio dela é possivel verificar se de fato o estado sanitario das sementes corresponde ás declarações do certificado.

Quanto a realizção prática das medidas por nós sugeridas poder-se-ia pensar no pagamento das sementes importadas em quotas. Os exportadores receberiam  $\frac{3}{4}$  partes do valor dos lotes quando da saída das sementes do porto e o restante somente depois do resultado satisfatorio da inspecção das culturas. Entende-se que os inspetores deverão levar em consideração as condições que podem influir numa alteração no estado sanitario originario.

Dessa maneira a legislação vigente poderia ser adaptada sem grande dificuldade a casos de doenças de virus, tipo de doença esse que antigamente não era levado em conta, mas que hoje em dia, é considerado como fator muito prejudicial aos productos vegetais.

## RESUMO

1) — Nos campos de multiplicação de batatinhas, organizados com sementes da variedade Eigenheimer importadas da Holanda, foi verificado um numero muito elevado de plantas apresentando doenças de virus.

2) — Cinco plantas doentes destes campos, escolhidas ao acaso foram levadas ao laboratorio afim de fornecer material para inoculações artificiais.

3) — Para estas inoculações artificiais usaram-se plantas de *Nicotina tabacum* var. White Burley e Samsun, *N. silvestris*, *N. glutinosa* e *Datura stramonium*.

4) — Três dos 5 inoculos que deixaram de produzir sintomas na especie *Datura stramonium*, provocaram entretanto a formação de listras escuras acompanhando as nervuras na variedade White Burley de *N. tabacum* e nas especies *N. glutinosa* e *N. silvestris*. Pudemos, destas experiencias, tirar a conclusão que os referidos inoculos contêm um virus do grupo "Y" das batatinhas.

5) — Os dois inoculos restantes provocaram o aparecimento de aneis cloróticos ou necróticos nas folhas de *Datura stramonium*, *N. glutinosa* e *N. tabacum* var. White Burley. Estas observações dos sintomas e estudos complementares sobre as qualidades físicas do suco revelaram a presença, nestes inoculos, de um virus do grupo "X" das batatinhas.

6) — Alguns ensaios serviram para verificar, se se encontravam nos inoculos em questão, mais do que um virus. Concluímos destas experiencias que no inoculo 4 o virus se acha acompanhado de um virus de um outro grupo, e que os outros inoculos contêm apenas virus de um grupo.

7) — As referidas experiencias provaram que virus dos grupos "X" e "Y" foram frequentemente encontrados nos campos de multiplicação de batatinha da variedade Eigenheimer de importação recente.

8) — A alta porcentagem de plantas doentes justamente nas culturas desta variedade e a distribuição generalizada das plantas doentes nos campos não deixam a menor duvida a respeito da origem das doenças: elas vieram com as próprias sementes.

9) — Na parte de conclusões praticas fizemos sugestões sobre os meios apropriados com os quais, no futuro, os agricultores poder-se-ão proteger contra a importação de tuberculosas de batatinha cujo estado sanitario não corresponda ao garantido nos certificados de sanidade fornecidos pelos serviços oficiais dos paizes de origem.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1 — DYKSTRA, T. P. A study of viruses infecting European and American varieties of the potato, *Solanum tuberosum*.  
Phytopathology 29:140-66, 1939.
- 2 — KOCH, K. L. The nature of potato rugose mosaic.  
Phytopathology 23:1319-342, 1933
- 3 — KÖHLER, E. Untersuchungen über die Viruskrankheiten der Kartoffel. I  
Phytopath. Zsch., V, 567-591, 1933
- 4 — ————— Ueber ein "Veinbanding Virus" der Kartoffel.  
Phytopath. Zsch., X, 17-29, 1937
- 5 — MURPHY, P. A. & LOUGHNANE, J. B. A comparison of some Dutch and Irish potato mosaic viruses.  
Sci. Proc. Roy. Dublin Soc. 21:419-430  
1 1936.
- 6 — SALAMAN, R. N. The potato "X": its strains and reac-

- tions. Philocophical transactions of the Royal Society of London. London, 1938, Series B, Vol, 229 N°. 559 pags. 137-217.
- 7 — SILBERSCHMIDT, K. A pratica da produção de tuberculos-sementes no paiz. O Biologico, V, 279-284. 1939.
- 8 — \_\_\_\_\_ Progressos e projéto em torno da produção de tuberculos-sementes de batatinha em S. Paulo. O Biologico, VI, 173-179, 1940.
- 9 — SMITH, K. M. On the composite nature of certain potato virus diseases of the mosaic group as revealed by the use of plant indicators and selective methods of transmission. Proc. Roy. Soc. B, 109, 251-267, 1931
- 10 — \_\_\_\_\_ A Textbook of plant virus diseases. London, I. and A. Churchill Ltd., 615 pg., 1937.

#### EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Fig. 1 — Planta sadia de batatinha (*Solanum tuberosum* L.) ladeada de duas plantas doentes, enfezadas, de folhas encrespadas, num campo de multiplicação de tuberculos-sementes da variedade Eigenheimer. (Fot. em 16/3/940).

Fig. 2 — Planta doente de batatinha da mesma variedade, com folhas reduzidas e encrespadas, contrastando com as folhas grandes e lisas de uma planta sadia (Fot. em 16/3/940).

Fig. 3 — Folha de uma planta doente com manchas claras, redondas, entre as nervuras formando mosaico. (Infecção natural; fot. em 5/3/940).

Fig. 4 — Folha de batatinha com sintomas de mosqueado (*mottling*) e ondulamento das margens. (Inf. natural; fot. em 5/3/940).

Fig. 5 — Expressão de sintomas no apice de uma planta: sintomas de nanismo, encrespamento e linhas claras nas nervuras. (Inf. natural; fot. em 5/3/940).

Fig. 6 — Folha doente de batatinha Eigenheimer, com forte encrespamento, deformação dos folíolos e linhas claras das nervuras. (Inf. natural; fot. em 18/3/940).

Fig. 7 — Folha de planta doente, mostrando ondulamento das margens do limbo e mosqueado de placas cloróticas grosseiras. (Inf. natural; fot. em 18/3/940).

Fig. 8 — Folha de planta doente, com folíolos expandidos apresentando um mosqueado nitido de placas cloróticas entre as nervuras secundárias. (Inf. natural; fot. em 18/3/940).

## Demarcação e Divisão de Terras

### O Methodo de Latitudes e Longitudes

(Coordenadas rectangulares)

— Applicado á medição e divisão de terras —

Por

**Bento Ferraz de A. Pinto**

Engenheiro-Agronomo

Preço 9\$000, inclusive o porte. Pedidos ao autor. Caixa Postal, 101. Lins — E. F. Noroeste.