

INVESTIGAÇÕES SÔBRE A TRISTEZA DOS *CITRUS*

VI-ALGUNS ESTUDOS FISIOLÓGICOS SÔBRE A MOLÉSTIA

T. J. GRANT, *patologista, Departamento da Agricultura dos Estados Unidos*; A. S. COSTA, *engenheiro agrônomo, Secção de Genética*; H. C. MENDES, *engenheiro agrônomo, Secção de Fisiologia*; J. E. DE PAIVA NETO e RENATO A. CATANI, *engenheiros agrônomos, Secção de Agrogeologia, Instituto Agronômico de Campinas*

1-INTRODUÇÃO

O principal objetivo dos estudos feitos em cooperação entre o Instituto Agronômico de Campinas e o Departamento Federal de Agricultura dos Estados Unidos, é a determinação da reação de uma grande coleção de *Citrus* à tristeza. Esta coleção se compõe de mais de quinhentas variedades ou espécies da família *Rutaceæ*, das quais cêrca de trezentas foram introduzidas dos Estados Unidos. Cada um dos tipos está sendo estudado em sua reação como cavalo para os vários tipos comerciais de *Citrus*, como cavaleiro sôbre laranja azêda (*Citrus aurantium* L.) e também em sua reação de pé franco.

Em aditamento aos estudos acima mencionados, foram efetuadas experiências visando determinar a influência de certos fatores do ambiente sôbre a manifestação da moléstia e, também, sôbre a influência exercida pela moléstia na transpiração da planta e na sua composição química. Alguns dêstes estudos foram feitos nas secções especializadas do Instituto Agronômico, sendo responsáveis pelas partes componentes desta publicação os técnicos cujos nomes são dados no início de cada uma delas.

Os estudos sôbre a tristeza, no Brasil, foram grandemente facilitados pela descoberta do vetor da moléstia (1) e pela possibilidade de reproduzi-la ràpidamente por meio de inoculações artificiais. Plantas novas e vigorosas de laranja doce (*Citrus sinensis* Osb.), enxertadas sôbre cavalo de laranja azêda, mostram os sintomas iniciais de tristeza em cêrca de quatro a dez semanas após a inoculação. Tem sido também observado que os sintomas se manifestam mais cedo nas plantas inoculadas durante os meses mais quentes do ano, quando o crescimento das plantas é mais ràpido, do que nos meses mais frios, quando o crescimento é mais lento.

Em geral, o primeiro sintoma de tristeza nas plantas de laranja doce enxertadas sôbre laranja azêda, é um amarelecimento dos brotos novos que, em muitos casos, é mais intenso ao longo da nervura principal e das nervuras secundárias das fôlhas. Em outros casos, a clorose se manifesta entre as nervuras e se assemelha aos sintomas considerados como devidos à deficiência de zinco. Os sintomas iniciais são seguidos por um declínio geral da planta, que pode manifestar-se como amarelecimento das fôlhas

velhas, queda das fôlhas e morte dos ponteiros. Algumas variações foram notadas na ocorrência e severidade dos sintomas em associações com condições do ambiente, e êstes fatos levaram os autores à execução das experiências adiante relatadas.

2-INFLUÊNCIA DA UMIDADE DO SOLO

T. J. GRANT e A. S. COSTA

A finalidade dêste ensaio foi determinar a influência da umidade do solo sôbre a manifestação dos sintomas de tristeza. Usaram-se, para êsse fim, plantas-teste crescidas em vaso, compostas de copa da variedade Barão e cavalo de laranja azêda. Quarenta plantas bastante uniformes foram escolhidas e separadas em dois grupos de vinte plantas. Um dos grupos foi inoculado com afídeos virulíferos criados em plantas afetadas, sendo os insetos mortos depois de 48 horas. Uma camada delgada de areia foi espalhada em cada um dos vasos e todos êles foram imersos em uma vasilha com água até que não mais se formassem bôlhas de ar, para saturar o solo de maneira uniforme em todos os vasos. Após remoção da água, os vasos foram separados em quatro grupos de dez plantas, sendo cinco inoculadas e cinco não inoculadas e então foram colocados em uma estufa, sôbre bancos de madeira.

Às plantas do primeiro grupo adicionaram-se, diàriamente, 50 cm³ de água por vaso; ao segundo grupo, adicionaram-se 100 cm³; ao terceiro, 200 cm³; os vasos do quarto grupo foram colocados em latas com água, ficando imersos mais ou menos até metade de sua altura.

Sob as condições do presente ensaio, os sintomas de tristeza foram observados em cêrca de oito a dez semanas, primeiramente nas plantas que cresciam em vasos mergulhados na água e naquelas que recebiam diàriamente 200 cm³ de água. Em contraste com a manifestação rápida dos sintomas nas plantas inoculadas e submetidas a êstes tratamentos, as plantas que receberam apenas 50 cm³ de água por dia levaram 28 semanas para mostrar sintomas definidos da moléstia. Houve, portanto, uma diferença de cinco meses na manifestação dos sintomas entre plantas que cresciam em vasos com terra relativamente saturada de água e em vasos com pequeno teor em água. Esta experiência confirma observações feitas por Moreira⁽¹⁾ de que a manifestação dos sintomas de tristeza em pomares naturalmente infetados é mais rápida nas plantas que crescem nas áreas mais baixas do terreno, onde é de se esperar que haja maior umidade no solo.

Os resultados do presente ensaio indicam também que, quando a umidade do solo é suficiente para permitir o crescimento rápido das plantas, como no caso do grupo que recebeu 200 cm³ de água por dia, os sintomas da moléstia se desenvolvem rapidamente.

Embora não se manifestassem sintomas positivos de tristeza nas plantas inoculadas do grupo que recebeu 50 cm³ de água por dia, senão depois de

(1) Comunicação pessoal feita aos autores pelo Eng.º Agr.º Sílvio Moreira, Chefe da Secção de Citricultura, Instituto Agronômico de Campinas.

28 semanas, pôde-se observar antes disso que havia uma diferença entre as plantas inoculadas e os contrôles do mesmo grupo. Cêrca de doze semanas após o início da experiência podia-se notar que, devido à falta de umidade no solo, as plantas sadias murchavam bastante, principalmente durante a parte mais quente do dia. Em contraste, as plantas inoculadas possuíam fôlhas mais coriáceas e rijas, em posição mais vertical, e não apresentavam aspecto murcho. Nenhuma das plantas dêste grupo mostrou crescimento satisfatório, mas as plantas inoculadas pareciam resistir melhor à falta de água que as sadias. Êste fato era sugestivo de que, como um resultado da infecção, as atividades fisiológicas da planta afetada eram alteradas e que, como resultado dessa alteração, esta provávelmente perdia menos água do que as plantas sadias. A fim de verificar êste ponto, foi solicitado à Secção de Fisiologia do Instituto Agrônômico que fizesse a determinação da transpiração de plantas infetadas pela tristeza e de plantas sadias comparáveis.

3-INFLUÊNCIA DA TRISTEZA SÔBRE A TRANSPIRAÇÃO

H. C. MENDES

A finalidade dêste ensaio foi determinar se havia diferença na razão de transpiração entre plantas infetadas pela tristeza e plantas sadias. Usaram-se, para êsse fim, cinco plantas-teste compostas de copa de laranja Barão e cavalo de laranja azêda, infetadas pela moléstia, e cinco plantas comparáveis, sadias, que serviram como testemunhas.

A determinação da transpiração foi feita pelo método direto, colocando-se cada vaso, dentro do qual a planta crescia, no interior de um recipiente metálico, e selando-se êste cuidadosamente, de tal sorte que apenas a parte aérea da planta ficasse exposta. A determinação da perda de umidade por transpiração foi feita por pesagem em balança de torção. Durante quatro dias consecutivos pesaram-se os dez recipientes, de hora em hora, desde as 10 até às 16 horas. Tôdas as plantas foram mantidas sob as mesmas condições de luz, temperatura e umidade.

A determinação da transpiração relativa foi feita determinando-se a área foliar de cada planta. Para êsse fim, após o término da experiência, desenharam-se os contornos de tôdas as fôlhas de cada planta, determinando-se depois a área das figuras delineadas por meio de planímetro. Conhecendo-se a área foliar da planta e a sua transpiração em miligramas, foi calculada a razão de transpiração de cada uma das dez plantas. Os resultados obtidos estão reproduzidos no quadro 1. Êles mostram que, nas condições da presente experiência, as plantas sadias perderam, pela transpiração, cêrca de 2,5 vêzes mais água que as plantas afetadas pela tristeza.

QUADRO 1.-Transpiração relativa, por minuto e por decímetro quadrado, de 10 plantas de laranja doce enxertada sôbre azêda, sendo 5 afetadas e 5 não afetadas pela tristeza

Plantas sadias		Plantas afetadas	
N.º da planta	Transpiração	N.º da planta	Transpiração
	<i>mg</i>		<i>mg</i>
1	2,59	6	0,66
2	1,60	7	0,85
3	3,95	8	0,82
4	2,78	9	1,18
5	2,68	10	1,80
Média.....	2,72	Média.....	1,06

4-INFLUÊNCIA DA LUZ SÔBRE A MANIFESTAÇÃO DOS SINTOMAS

T. J. GRANT e A. S. COSTA

Embora não se dispusesse de compartimentos com luz controlada, procurou-se estudar a influência da luz sôbre a manifestação da tristeza, reduzindo-se as horas de exposição à luz natural de grupos de plantas, por meio de cobertura com caixa revestida de pano preto bem fechado.

Cada grupo era composto de dez plantas inoculadas e quatro plantas comparáveis, sadias. Efetuaram-se os seguintes tratamentos:

Grupo 1 — Plantas expostas sob as condições normais de luz em estufa, isto é, durante cerca de 14 horas diárias.

Grupo 2 — Plantas expostas sob as condições normais de luz em estufa somente durante 10 horas (das 7 às 17 horas).

Grupo 3 — Idem, com período de exposição de 6 horas (das 7 às 13 horas).

Grupo 4 — Plantas colocadas em um alpendre, sob condições de meia luz.

Tôdas as plantas da experiência, afetadas e sadias, foram medidas em diferentes ocasiões, classificando-se também os sintomas de tristeza em graus de 1 a 5. O grau 1 corresponde aos sintomas iniciais de amarelecimento do brôto novo e o grau 5 aos sintomas avançados da moléstia, isto é, amarelecimento intenso das fôlhas acompanhado de queda destas.

A influência da luz sôbre o crescimento das plantas inoculadas e sadias é dada no quadro 2, onde são reproduzidas as médias da altura das plantas de cada um dos grupos durante três meses.

QUADRO 2.-Crescimento ⁽¹⁾, após a inoculação, de plantas de laranja doce enxertadas sôbre azêda, infetadas ou não pela tristeza, sob várias condições de exposição à luz

Exposição à luz	Primeiro mês		Segundo mês		Terceiro mês		Total	
	Sadia	Infetada	Sadia	Infetada	Sadia	Infetada	Sadia	Infetada
	<i>cm</i>	<i>cm</i>	<i>cm</i>	<i>cm</i>	<i>cm</i>	<i>cm</i>	<i>cm</i>	<i>cm</i>
Dia completo (cêrca de 14 horas)	5	10	12	2	16	1	33	13
10 horas	5	6	9	0	8	1	22	7
6 horas	4	5	5	2	7	2	16	9
Meia sombra	1	1	0	0	1	1	2	2

(¹) Média baseada nas mensurações feitas em quatro plantas sadias e dez plantas infetadas, em cada tratamento.

No fim de três meses, as plantas sadias cresceram 33 cm sob condições normais de exposição à luz, 22 cm quando expostas por 10 horas, 16 cm quando expostas por 6 horas e apenas 2 cm sob condições de meia luz. As plantas inoculadas cresceram, respectivamente, 13, 7, 9 e 2 cm sob essas mesmas condições.

É evidente que em todos os casos, exceto sob condições de meia luz, as plantas inoculadas cresceram menos que as sadias. As determinações mensais feitas mostram que, no primeiro mês após a inoculação, as plantas expostas às condições usuais de luz cresceram 10 cm, em média, ao passo que as plantas não inoculadas cresceram apenas 5 cm, em média. Ligeira vantagem, no crescimento das plantas inoculadas no primeiro mês, também foi verificada no caso das plantas expostas à luz por 10 e 6 horas. Os dados sôbre o crescimento das plantas inoculadas no fim do segundo e do terceiro mês, após inoculação, mostram que o crescimento tinha quase que cessado ou era apenas de um a dois centímetros por mês. Isto estava em distinto contraste com o crescimento das plantas sadias expostas à luz pelos mesmos períodos. Sob condições de meia luz, o crescimento, tanto das plantas sadias como infetadas, foi muito pequeno, não ultrapassando dois centímetros, durante o período de duração da experiência.

Além das diferenças no crescimento das plantas sadias e infetadas, quando expostas à luz por diferentes períodos diários, notou-se, também, que a luz influenciava a severidade dos sintomas da moléstia. No fim de três meses, o grau médio de tristeza das plantas inoculadas, submetidas às várias exposições de luz, foi de: exposição normal — 3,6; 10 horas de exposição — 2,1; 6 horas de exposição — 0,5. Sob condições de meia luz não se notou nenhum sintoma de tristeza, embora as plantas não se tivessem desenvolvido.

Em resumo, pode-se dizer que, sob condições de meia luz, as plantas-teste sadias e inoculadas praticamente não cresceram e estas não mostraram sintomas da moléstia. O crescimento das plantas sadias aumentou com a maior exposição à luz, enquanto que as plantas infetadas cresceram bem apenas durante o primeiro mês, tendo posteriormente cessado o desenvolvimento. A severidade dos sintomas de tristeza apresentada pelas plantas infetadas cresceu com o aumento no período de exposição à luz.

O resultado dêste ensaio, assim como aquêles relativos à influência da umidade do solo, mostram que os sintomas de tristeza estão relacionados com a razão de crescimento das plantas infetadas, e que a paralisação do crescimento das plantas é um dos principais sintomas da moléstia. Êstes resultados sugerem que, suplementando-se a exposição à luz das plantas inoculadas por meio de iluminação artificial, se poderá diminuir o período necessário para obtenção de sintomas de tristeza.

5-TENTATIVAS PARA INATIVAR O VÍRUS DA TRISTEZA "IN VIVO"

A. S. COSTA e T. J. GRANT

Nos testes efetuados até o presente, ainda não foi conseguida a transmissão do vírus da tristeza por métodos mecânicos. Êste fato e o insucesso obtido nas tentativas feitas para alimentar o afídeo vetor da tristeza por meios artificiais, têm impossibilitado a determinação das propriedades do vírus da tristeza *in vitro*.

Diante da impossibilidade acima apontada, tentou-se determinar a temperatura de inativação do vírus da tristeza e a sua resistência a substâncias químicas *in vivo*, aproveitando-se para isso o vírus presente nas estacas das quais se tiram as borbulhas para enxertia.

Um método que permitisse a inativação do vírus da tristeza em estacas sem injuriar os tecidos das borbulhas seria de grande vantagem. Do ponto de vista prático, permitiria a obtenção de borbulhas isentas de vírus para uso em regiões não invadidas pela tristeza. Também iria auxiliar na investigação comparativa de clones sadios e infetados sôbre os diferentes cavalos, visto que se torna impossível obter material sadio de certas variedades em áreas completamente invadidas pela moléstia. Embora se possam obter clones isentos de tristeza a partir de embriões nucelares das variedades que se desejam, a determinação das mudas provenientes de embriões nucelares é muitas vêzes difícil e, além disso, mesmo quando provenientes de embriões nucelares, as mudinhas podem diferir da planta-mãe em certos aspectos.

5.1-INATIVAÇÃO PELO CALOR

Estacas uniformes de plantas de laranjeira Barão, portadoras do vírus da tristeza, foram tratadas a várias temperaturas e por diferentes períodos de imersão em banho-maria de temperatura constante. Depois do tratamento, as estacas foram mergulhadas em água fria e em seguida as borbulhas destas foram enxertadas em cavalos de laranja azêda. Pela obser-

vação do crescimento feito pela borbulha, sôbre o cavalo não tolerante, foi possível determinar se tinha havido inativação do vírus ou se êste tinha sido modificado. Os resultados obtidos nestes ensaios estão reproduzidos no quadro 3.

QUADRO 3.-Resultados do ensaio para determinação da temperatura de inativação do vírus da tristeza em estacas de enxertia

Temperatura em graus centígrados	Duração do tratamento	Borbulhas ensaiadas	Borbulhas pegadas	Borbulhas que deram brotos com sintomas de tristeza
	<i>Minutos</i>	<i>Número</i>	<i>Número</i>	<i>Número</i>
40	30	15	13	13
	120	15	11	11
	270	15	9	9
45	30	15	13	13
	120	15	10	10
	270	15	0
50	2	5	5	5
	5	5	5	5
	10	5	4	4
	15	5	3	3
	30	15	0
55	2	5	3	3
	5	5	0
	10	5	0
Testemunhas não tratadas	30	30	30

Vê-se, pelos dados do quadro 3, que o vírus da tristeza não foi inativado em nenhuma das temperaturas e períodos de tratamento ensaiados que permitiram a sobrevivência da borbulha. Também nenhuma diferença foi observada nos sintomas mostrados pelas borbulhas tratadas e pelas testemunhas. Êstes fatos sugerem que a temperatura de inativação do vírus da tristeza é, provàvelmente, mais elevada que a das células vivas da borbulha e que, portanto, a inativação do vírus pelo calor em tecidos vivos da laranjeira não parece ser método viável.

5.2-INATIVAÇÃO POR SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS

Os ensaios de inativação química do vírus da tristeza em estacas para enxertia foram feitos com galhos de ano, de plantas da variedade Barão, portadoras do vírus da tristeza. Dos galhos escolhidos, cortaram-se as fôlhas basais, deixando-se apenas cinco ou seis na parte superior. A extre-

midade inferior de cada galho foi, então, imersa na solução a ser ensaiada, dentro de um tubo de ensaio, tendo-se o cuidado de manter o nível da solução durante o período de três dias que durou o tratamento. Depois disso, as borbulhas das estacas tratadas foram usadas para enxertia sôbre cavalos de laranja azêda.

Ensaíram-se quatro diluições, 1:100, 1:1.000, 1:10.000 e 1:100.000, de cada uma das seguintes substâncias: sulfanilamida, sulfapiridina, sulfadiazina, sulfatiazol, sulfaguanidina, sulfamerizina, difeniltiocarbazone, dietil ditiocarbamato de sódio e hiperclorato de sódio. As testemunhas foram tratadas com água.

Entre as substâncias ensaiadas, dietil ditiocarbamato de sódio foi a única que se mostrou tóxica às borbulhas, reduzindo consideravelmente o pegamento em tôdas as diluições, exceto a 1:100.000. No caso dos outros tratamentos, o pegamento das borbulhas foi muito bom.

A observação do crescimento feito pelas borbulhas tratadas e pelas testemunhas mostrou que nenhum dos tratamentos químicos empregados teve ação inibidora sôbre o vírus da tristeza presente nas borbulhas, não tendo havido também variação nos sintomas presentes nos galhos resultantes das borbulhas tratadas em comparação com as não tratadas.

6-SINTOMAS DE DEFICIÊNCIA

T. J. GRANT e A. S. COSTA

Tem sido notado que plantas cítricas, em viveiros de enxertia na Estação Experimental Central em Campinas, mostram, frequentemente, sintomas de deficiência. Estes são mais visíveis nas épocas sêcas do ano. Como os sintomas iniciais de tristeza, em muitos casos, se assemelham àqueles causados por deficiência de certos elementos, procurou-se verificar qual a influência da moléstia na manifestação dos sintomas de deficiência, e a possibilidade de reduzir a severidade dêstes sintomas nas plantas infetadas, pela aplicação de certos elementos.

Em ensaios preliminares efetuados com plantas do campo, aplicaram-se várias soluções sôbre as fôlhas com sintomas de deficiência, para determinar, pela reação das plantas ao tratamento, qual o elemento cuja falta estava induzindo os sintomas da deficiência. Utilizaram-se soluções a 1% dos seguintes sais: fosfato de ferro, sulfato de manganês, ácido bórico, sulfato de zinco, sulfato de magnésio e nitrato de cálcio. Os resultados dêstes ensaios preliminares mostraram que as plantas com sintomas de deficiência reagiam principalmente às aplicações de sulfato de zinco.

Sintomas semelhantes aos de deficiência de zinco têm sido observados tanto em plantas de pé franco como em plantas enxertadas nas épocas sêcas do ano e, no caso de plantas afetadas pela tristeza, julgou-se que isso poderia resultar da destruição das raízes induzida pela moléstia. Parecia também desejável experimentar se as aplicações de zinco em plantas inoculadas com tristeza iriam retardar ou reduzir a severidade dos sintomas da moléstia. Em vista destas possibilidades e de que as aplicações de zinco

poderiam ter efeito sôbre as atividades enzimáticas da planta, efetuou-se o seguinte ensaio :

Usaram-se quarenta plantas de laranja doce da Flórida, enxertadas em cavalo de laranja azêda. Trinta destas plantas foram inoculadas com tristeza por meio de afídeos virulíferos, que foram mortos após se alimentarem sôbre estas por 48 horas. Dez das plantas inoculadas foram então pulverizadas com uma solução de sulfato de zinco a 1% cada quinze dias ; dez outras plantas inoculadas receberam o mesmo tratamento com intervalo de um mês, e as outras dez plantas inoculadas não receberam nenhuma aplicação de sulfato de zinco. As dez plantas não inoculadas receberam o tratamento aplicado às plantas inoculadas do primeiro grupo, isto é, aplicações de sulfato de zinco a 1% cada quinze dias.

Mensurações do crescimento e observações dos sintomas mostrados pelas plantas da experiência foram feitas em intervalos mensais. No terceiro mês após a inoculação, 29 das 30 plantas inoculadas mostravam sintomas severos de tristeza, ao passo que as dez plantas não inoculadas e uma das inoculadas, que tinha aparentemente escapado à infecção, mostravam crescimento vigoroso. Nenhuma das plantas inoculadas ou testemunhas mostrou efeito benéfico do tratamento com zinco, parecendo que êste elemento não exerceu nenhum papel em retardar a manifestação dos sintomas de tristeza. Na verdade, as plantas infetadas que receberam aplicações de sulfato de zinco, cada 15 dias, mostravam sintomas ligeiramente mais severos (grau médio 4,7) do que as plantas infetadas não tratadas (grau médio 4,2).

Os resultados dêste ensaio e aquêles obtidos em ensaios de anelagem, no qual plantas sadias aneladas mostravam sintomas de deficiência na copa, sugerem que os sintomas de deficiência não são efeitos primários, mas estão associados com efeitos secundários da tristeza. Como o vírus da tristeza afeta os tecidos do floema e induz distúrbios na translocação dos alimentos na planta, parece lógico imaginar que a sua ação poderia também induzir a manifestação precoce dos sintomas de deficiência. Nas áreas recentemente invadidas pela tristeza, a ocorrência anormal de sintomas de deficiência ou a severidade dêstes poderiam ser consideradas como provável indicação da presença e distribuição do vírus. Êstes sintomas poderiam servir, pelo menos, para indicar quais as plantas que deveriam ser posteriormente ensaiadas para verificação da presença da moléstia.

7-COMPOSIÇÃO QUÍMICA MINERAL DE PLANTAS SADIAS E AFETADAS PELA TRISTEZA

J. E. DE PAIVA NETO e RENATO A. CATANI

Na suposição de que plantas afetadas pela tristeza pudessem sofrer modificações importantes na sua composição química mineral, efetuou-se a análise de cinco plantas afetadas e de cinco plantas sadias comparáveis, com cêrca de doze meses de idade. As plantas usadas eram compostas de copa de laranja doce enxertada sôbre cavalo de laranja azêda e tinham sido inoculadas quatro meses antes de serem analisadas. Na ocasião em

que se colheu o material para análise, as plantas inoculadas mostravam sintomas severos da moléstia.

Na execução das análises do material para determinações do teor em K_2O , CaO , MgO , P_2O_5 , Na_2O , MnO e SiO_2 , usaram-se os seguintes métodos: para o potássio, o método do cobaltinitrito; cálcio, pelo método permanganométrico; magnésio, pelo método da 8-hidroxiquinolina; fósforo, pelo método colorimétrico; sódio, pelo método fotométrico de chama; silício, pelo método gravimétrico, e manganês, pelo método colorimétrico.

Os teores médios dos elementos encontrados nas folhas, na haste e nas raízes das cinco plantas afetadas e das cinco plantas sadias, estão reproduzidos no quadro 4.

QUADRO 4.- Resultados da análise química de plantas de laranja doce enxertadas sobre laranja azêda, sadias e afetadas pela tristeza. Média de cinco plantas

Determinações	Fólias		Haste		Raízes	
	Sadia	Afetada	Sadia	Afetada	Sadia	Afetada
	%	%	%	%	%	%
Água	58,19	61,18	49,10	48,03	65,80	64,31
Matéria seca	41,81	38,82	50,90	51,97	34,20	35,29
Cinza bruta	7,94	7,38	4,31	4,17	5,34	4,98
K_2O — na matéria seca ...	1,74	2,93	1,38	1,53	1,69	1,43
CaO — Idem	2,99	1,55	1,31	0,73	1,21	1,04
P_2O_5 — Idem	0,34	0,27	0,23	0,30	0,28	0,24
MgO — Idem	0,43	0,42	0,12	0,12	0,29	0,32
Na_2O — Idem	0,06	0,11	0,06	0,11	0,11	0,10
SiO_2 — Idem	0,17	0,21	0,45	0,25
MnO — Idem	0,0039	0,0018	tr.	tr.	0,0054	0,0019

Os dados reproduzidos no quadro 4 indicam que há uma diferença no teor de CaO e Na_2O entre folhas e hastes de plantas afetadas e sadias. Os dados também indicam que as diferenças entre os elementos minerais contidos nas raízes são comparativamente pequenas e que, em todos os casos, exceto para MgO , foram maiores nas raízes de plantas sadias do que nas das plantas afetadas.

SUMMARY

The present paper reports the results of general studies undertaken to determine the relative importance of soil moisture and light on symptom expression of the tristeza disease. It also includes data on the effects of the disease on transpiration and chemical composition of infected plants and records the results of attempts to inactivate the tristeza virus in budwood by means of hot water and chemical treatments.

In the present tests, using potted plants, tristeza disease symptoms were observed to occur eight to ten weeks after inoculation on plants maintained in standing water and on those having a daily application of 200cc of water. In contrast to this relatively rapid and positive symptom expression, it required 28 weeks before definite advanced tristeza disease symptoms were recognized on the inoculated plants given only 50cc of water daily.

Under continuous heavy shade conditions the healthy and inoculated plants showed practically no growth and no tristeza disease symptoms. The growth of the healthy plants increased with the increase in periods (6, 10, and 14 hrs) of exposure to daylight while the inoculated plants grew as well as the healthy plants for the first month they subsequently practically ceased growth. The results of the tests on the influence of light and soil moisture show that conditions favorable for rapid plant growth also favor early symptom expression of the disease and that stunting of the plant is one the principal characteristics of the tristeza disease.

The data obtained from the transpiration studies show that under the controlled test conditions the transpiration of the healthy plants was two and a half times greater than that of the tristeza diseased plants.

The study of chemical composition of the plants indicated that there were some differences in the percentages of CaO and Na₂O in the leaves and stems of diseased and healthy plants. The data also indicate that, although the differences in the amount of chemicals present in the root systems of diseased and healthy plants were comparatively small, in all cases except for MgO the quantities were larger in the healthy than in the diseased roots.

Under field conditions, nutritional deficiency symptoms have been associated with initial tristeza disease symptoms following plant inoculations. Early tests with applications of minor elements indicated some beneficial effects from applications of zinc sulphate. Under controlled conditions in the greenhouse, however, no beneficial effects were obtained from spray applications of zinc sulphate on inoculated plants.

Attempts to inactivate the tristeza virus in budwood sticks that were immersed in hot water were ineffective at the four different temperatures and fourteen exposure periods tested. The results obtained suggest that the thermal-death-point of the virus is probably higher than that of the living cells of the budwood, and that treatment by hot water does not appear to be a feasible method for inactivation of the virus in living budwood.

Chemical inactivation of the tristeza virus was tried using nine different chemicals at four dilutions for each. Under the conditions of the tests none of the chemicals employed appeared to have any inhibiting effect on the tristeza virus.

LITERATURA CITADA

1. Meneghini, M. Sôbre a natureza e transmissibilidade da doença "tristeza" dos *Citrus*. O Biológico 12: 285-287. 1946.

ERRATA

Página 53 — linha 8, a partir de baixo, onde se lê : Além rodas difeenças n, leia-se : Além das diferenças no.