

# BRAGANTIA

Boletim Científico do Instituto Agrônomo do Estado de S. Paulo

Vol. 28

Campinas, julho de 1969

N.º 19

## DETERMINAÇÃO DO VÍRUS DO ENROLAMENTO POR ENXERTIA COM TECIDO INFETADO DE TUBÉRCULO DE BATATA (1)

F. P. CUPERTINO e A. S. COSTA, *engenheiros-agrônomos, Seção de Virologia, Instituto Agrônomo*

### SINOPSE

Pedaços de tecidos de tubérculo de batata infetado com o vírus do enrolamento inseridos em plantas-teste adequadas induzem a manifestação de sintomas e oferecem assim um bom teste. Os resultados obtidos com diferentes espécies de planta-teste indicaram que *Datura stramonium* foi a que mostrou sintomas mais nítidos de infecção em tempo mais curto.

O lugar de onde foi retirado o pedaço de tecido usado como inóculo teve influência sobre o pegamento. Quando retirado da região vascular da extremidade da gema, o pegamento foi de 67,8%; da região vascular da extremidade do estolão, 56,3%, e da região interna, não vascular do tubérculo, 60,0%.

A passagem do vírus dos tecidos infetados para as plantas-teste se verificou em 100% dos casos em que houve pegamento, ao se testarem as regiões vasculares da gema e do estolão, e em 8,0% apenas, ao se testar a região interna, não vascular. O tipo de infecção do tubérculo (se enrolamento primário ou secundário) não teve influência na eficiência de transmissão.

O teste de enxertia com tecidos do tubérculo pode ser considerado como praticável para fins de determinação da ocorrência do vírus do enrolamento em lotes de batata-semente. Pode também ser aplicado em amostras retiradas antes da colheita.

### 1 — INTRODUÇÃO

Um método para determinar a ocorrência do vírus do enrolamento das folhas na batata-semente, com base em testes de

(1) Trabalho apresentado na VII Reunião Anual da Sociedade de Olericultura do Brasil, Universidade Rural do Estado do Rio de Janeiro, em julho de 1967. Recebido para publicação em 28 de novembro de 1968.

enxertia com hastes velhas do batatal em planta-teste apropriada foi relatado (1). Em prosseguimento a essa linha de investigação, procurou-se determinar se a presença do vírus na batata-semente recém-colhida não poderia também ser determinada por enxertia de tecidos dos tubérculos em planta-teste adequada.

Estimativas feitas com base nas amostras da batata-semente colhida representam o melhor julgamento sobre o estado de sanidade dos tubérculos, uma vez que o teste empregado apresenta sensibilidade adequada. As amostras de tubérculos fornecem a prova final do que ocorreu no batatal, oferecendo a vantagem de mais fácil conservação do que as amostras de hastes, desde a coleta até sua utilização no laboratório.

Os ensaios relatados a seguir indicam que pedaços de tecidos de tubérculo infetados, inseridos em planta-teste adequada, induzem a manifestação de sintomas e oferecem assim um bom teste para o vírus do enrolamento da fôlha. Se as amostras forem examinadas logo após a colheita ou retiradas pouco antes dela, os resultados poderão ser obtidos com tempo suficiente para decidir se a batata-semente deverá ser usada como tal ou destinada a consumo.

## 2 — MATERIAL E MÉTODO

Como plantas-teste empregaram-se diversas espécies de *Datura*, como *Datura stramonium* L., *D. meteloides* DC., *D. ferox* L., e o tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) variedade Santa Cruz, mantidos em vaso, dentro de uma estufa. Compararam-se tubérculos sadios e infetados com o vírus do enrolamento da fôlha, apresentando infecção primária e secundária. Os pedaços de tecidos para enxertia foram retirados de tubérculos recém-colhidos ou brotados, das regiões vasculares (gema e estolão) e da zona medular.

O método de enxertia usado consistiu na inserção de cunhas de tecidos do tubérculo em cortes praticados na haste da planta-teste. Essas cunhas de tecido mediam geralmente 5 mm × 5 mm de comprimento e largura, com a espessura, na parte maior, de 1 mm aproximadamente. A região de enxertia foi protegida com fita plástica mantida até a leitura final, ocasião em que a observação do pedaço de tecido inserido permitia avaliar se tinha ou não havido pegamento.

## 3 — RESULTADOS

## 3.1 — PLANTA-TESTE MAIS ADEQUADA

Os resultados obtidos com diferentes espécies de planta-teste estão reproduzidos no quadro 1. Eles indicam que *Datura stramonium* foi a que mostrou sintomas mais nítidos de infecção

QUADRO 1. — Tempo gasto para manifestação de sintomas, conforme a espécie e idade da planta-teste usada para enxertia do pedaço de tecido do tubérculo de batata infetado com o vírus do enrolamento

| Planta-teste                  |                 | Plantas enxertadas |                          |                                                                       |     |     |
|-------------------------------|-----------------|--------------------|--------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| Espécie                       | Idade<br>(dias) | Número<br>total    | Com<br>enxertos<br>pegos | Percentagens de plantas<br>com sintomas no período<br>indicado (dias) |     |     |
|                               |                 |                    |                          | 35                                                                    | 45  | 55  |
| <i>D. stramonium</i> L. ....  | 30 .....        | 131                | 94                       | 87                                                                    | 100 | --- |
| Idem .....                    | 40 .....        | 115                | 76                       | 59                                                                    | 100 | --- |
| Idem .....                    | 50 .....        | 73                 | 28                       | 0                                                                     | 43  | 100 |
| <i>D. ferox</i> .....         | 30 .....        | 78                 | 15                       | 0                                                                     | 47  | 100 |
| <i>D. meteloides</i> DC. ...  | 30 .....        | 20                 | 5                        | 0                                                                     | 40  | 100 |
| <i>L. esculentum</i> Mill. .. | 30 .....        | 30                 | 10                       | 0                                                                     | 60  | 100 |

em tempo mais curto. O pegamento dos enxertos nessa mesma espécie foi bastante satisfatório, tendo alcançado 71,7% em plantas enxertadas com a idade de 30 dias. Os dados finais podem ser obtidos 45 dias após a enxertia, nos casos favoráveis. As outras espécies de *Datura* experimentadas aos 30 dias de idade apresentaram baixa percentagem de pegamento, demandando 55 dias para manifestação de sintomas, ainda que pouco nítidos. Os resultados obtidos com o tomateiro Santa Cruz de 30 dias de idade foram menos satisfatórios do que os obtidos com *D. stramonium* da mesma idade.

A idade da planta-teste foi de grande influência na obtenção de resultados mais rápidos. Assim, *Datura stramonium*, enxertada com 30 dias de idade, mostrou sintomas em 87% das plantas em que houve pegamento do enxerto 35 dias após a enxertia. Aos 45 dias, houve aparecimento de sintomas em 100% dos casos. Plantas-teste de mais idade requereram maior período de tempo para apresentação de sintomas e deram menor percentagem de pegamento.

### 3.2 — INFLUÊNCIA DAS CARACTERÍSTICAS DO INÓCULO SOBRE A TRANSMISSÃO

Com o fim de determinar as condições mais satisfatórias para os testes, procurou-se comparar determinadas características dos tubérculos fornecedores do inóculo. Os resultados de alguns desses testes estão no quadro 2. Eles mostram que o tipo de infecção do tubérculo do qual se retirou o inóculo não teve influência nas percentagens de transmissão, dando 60,1 por cento no caso de infecção primária e 63,6 por cento quando com infecção secundária. A localização do pedaço de tecido usado como inóculo, se retirado da região vascular ou não, teve influência decisiva. A maior percentagem de recuperação se obteve da região da gema (67,8%), vindo após a do estolão (56,3%) e finalmente a do interior do tubérculo (8,0%). Isso provavelmente resulta de ser o vírus do enrolamento de localização nos tecidos do floema.

Em outros testes procurou-se verificar a influência do estado de brotação dos tubérculos sobre o pegamento do enxerto de tecido. Compararam-se tecidos de tubérculos infetados recém-colhidos com outros de tubérculos já brotados mas em estado satisfatório. A percentagem de pegamento dos enxertos foi de 56,0% para tecidos de tubérculos recém-colhidos e 57,2% para os de tubérculos brotados.

## 4 — DISCUSSÃO

Tecidos retirados de tubérculos de batata infetados com o vírus do enrolamento da folha transmitem-no com relativa facilidade às plantas-teste de *Datura stramonium*. A passagem do vírus deu-se sempre que houve pegamento do enxerto, exceto quando se utilizou tecido da medula do tubérculo. Sendo o vírus

QUADRO 2. — Influência de algumas características do pedaço de tecido do tubérculo usado como inóculo para transmissão do vírus do enrolamento da folha de batata por enxertia em *Datura stramonium* de diversas idades

| Planta-teste                   |              | Número de plantas enxertadas e que apresentaram sintomas* quando os tecidos usados como enxertos tinham as características assinaladas abaixo |      |      |      |         |                                    |         |      |            |           |            |           |
|--------------------------------|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|------|------|---------|------------------------------------|---------|------|------------|-----------|------------|-----------|
| Espécie                        | Idade (dias) | Tubérculos com infecção primária                                                                                                              |      |      |      |         | Tubérculos com infecção secundária |         |      |            |           | Totais     |           |
|                                |              | Estolão                                                                                                                                       |      | Gema |      | Estolão | Gema                               | Estolão | Gema | Enxertadas | Intetadas | Enxertadas | Intetadas |
|                                |              | Enx.                                                                                                                                          | Inf. | Enx. | Inf. |         |                                    |         |      |            |           |            |           |
| <i>D. stramonium</i> .....     | 30 .....     | 29                                                                                                                                            | 19   | 24   | 18   | 33      | 21                                 | 45      | 36   | 131        | 94        |            |           |
| Idem .....                     | 40 .....     | 37                                                                                                                                            | 22   | 23   | 14   | 27      | 18                                 | 28      | 22   | 115        | 76        |            |           |
| Idem .....                     | 50 .....     | 18                                                                                                                                            | 6    | 12   | 7    | 21      | 7                                  | 22      | 8    | 73         | 28        |            |           |
| Percentagens de infecção ..... |              | 55,9                                                                                                                                          | 66,1 | 56,8 | 69,5 | 62,1    | 63,6                               |         |      |            |           |            |           |

\* Toda vez que houve pegamento do enxerto, apareceram sintomas de infecção na planta-teste.

do enrolamento considerado como um que é restrito aos tecidos do floema, o fato de passar dos tecidos dos tubérculos para a planta de *D. stramonium* indica que houve formação de conexões vasculares entre o enxerto e o porta-enxerto.

Constitui evidência a favor da localização do vírus do enrolamento nos tecidos do floema o fato de enxertos com pedaços de tecidos retirados da zona medular terem dado transmissão muito mais baixa que aqueles retirados da região vascular.

O emprêgo do método de enxertia de tecidos de tubérculo em *Datura stramonium* requer de 35 a 45 dias para obtenção dos resultados finais. Isso quer dizer que a retirada de amostras para exame deverá ser feita preferivelmente antes da colheita, a fim de que se tenha tempo suficiente para avaliar o estado de sanidade da batata-semente produzida e decidir sôbre seu emprêgo como tal ou na venda para consumo.

Comparando-se o método de determinação da ocorrência do vírus do enrolamento em lotes de batata-semente, baseado no enxerto de tecidos dos tubérculos da amostra, com o descrito anteriormente (1), verifica-se que apresenta certas vantagens, mas também algumas desvantagens.

A coleta das amostras de tubérculos para exame, seja feita no campo antes da colheita ou logo após ela, é mais fácil que a das hastes; também representa material mais fácil de acondicionar, conservar e remeter para exame. Quanto ao pegamento, tanto os enxertos de tecidos de tubérculos como os de hastes das plantas, fornecem percentagem aproximadamente igual de sucesso sob condições normais. Também a sensibilidade do teste é igual com os tipos de inóculo.

Quando as amostras de tubérculos são retiradas da plantação antes da colheita, os resultados finais dos testes com os tecidos deles podem ser obtidos em tempo aproximadamente igual ao dos testes com hastes. Entretanto, se as amostras de tubérculos são retiradas após a colheita poderá haver dificuldades na obtenção de resultados finais com tempo para que o lote de batata possa ser vendido para consumo, se condenado.

**DETERMINATION OF THE LEAF ROLL VIRUS IN NEWLY HARVESTED  
SEED POTATO BY TISSUE GRAFTS****SUMMARY**

Tissue pieces from recently harvested potato tubers infected with the leaf roll virus when grafted on adequate test plants induce symptoms within 30-45 days. From several species used in comparative tests, *Datura stramonium* proved best.

Scion tissues from tubers infected with primary or secondary leaf roll gave the same transmission results. Tissues from the vascular apical end of the tubers gave a slightly higher take (67.8%) than comparable tissues from stolon end (56.3%), but transmission was always positive when tissue union took place. Scion tissues taken from the non-vascular inner part of the tubers gave a low transmission (8.0%) even when the scion remained alive for a long time and apparently took (60.0%).

The test is considered as of practical value for the determination of late spread of potato leaf roll virus in seed potato fields and can be carried out with tuber samples collected before harvest.

**LITERATURA CITADA**

1. CUPERTINO, F. P. & COSTA, A. S. Determinação do vírus do enrolamento em hastes velhas de batatal para sementes. *Bragantia* 26:181-186, 1967.