

AÇÃO DOS QUIMIOTERÁPICOS ANTIVIRAIS NO CONTROLE DO VÍRUS DO MOSAICO DOURADO DO FEIJOEIRO, EM *PHASEOLUS LUNATUS* L.*

J. Caner**, Gilda De Fazio**, M. Amélia Vaz Alexandre***, Massae Kudamatsu**, Marly Vicente**

RESUMO

Quinze quimioterápicos, das mais diversas origens, foram experimentados no controle do vírus do mosaico dourado do feijoeiro (BGMV) em condições de casa-de-vegetação. Soluções aquosas dos produtos foram pulverizadas, uma única vez, sobre a parte aérea de feijoeiros (*Phaseolus lunatus*), antes da inoculação, com exceção do Carbendazim, cuja suspensão foi aplicada duas vezes, em forma de rega. A inoculação foi feita usando-se colônias virulíferas do vetor *Bemisia tabaci* Genn. Pelos resultados, observou-se que foi possível retardar o aparecimento de sintomas do BGMV, até 15 dias após a inoculação, aplicando os seguintes quimioterápicos: Ácido poliacrílico, Acyclovir, Aspirina, Distamicina A, EHNA, Foscarnet e Pirazino-pyrazine. Aos 30 dias após a inoculação, esse efeito diminuiu bastante, tornando-se nulo na maioria dos casos. Acyclovir, Aspirina e EHNA mantiveram o efeito inibidor até 30 dias após a inoculação. Concluiu-se que algumas das substâncias, capazes de atrasar a evolução do BGMV, podem apresentar interesse em fitovirologia, pois o efeito desse vírus é muito mais grave quando atinge plantas jovens.

PALAVRAS-CHAVE: Vírus do mosaico dourado do feijoeiro; quimioterápicos antivirais; *Phaseolus lunatus*.

SUMMARY

Effect of antiviral agents on bean golden mosaic virus in Phaseolus lunatus L.

In the attempt to control bean golden mosaic virus, 15 antiviral agents were tested in *Phaseolus lunatus* plants. Aqueous solutions of different concentrations were sprayed once on the primary leaves of the plants except Carbendazim suspensions which were watered twice on the soil. Virus inoculation was carried out after treatments through the vector *Bemisia tabaci* Genn. using a viruliferous whitefly colony. Results showed that systemic symptoms of the disease were delayed up to 15 days after inoculation by the application of some antiviral substances as follows: Polyacrylic acid, Acyclovir, Aspirin, Distamycin A, EHNA, Foscarnet and a Pyrazino-pyrazine derivative. This effect decreased 30 days after inoculation, disappearing completely in almost all cases. Some drugs like Acyclovir, Aspirin and EHNA maintained their inhibitory effect until 30 days after inoculation. These results lead to the conclusion that the substances which are able to delay bean golden mosaic virus spread within the plant host may be of some interest in phyto-virology specially in the early phase of bean plant development when disease damage is more severe.

KEY-WORDS: Bean golden mosaic virus; chemotherapy; antiviral agents; *Phaseolus lunatus*.

INTRODUÇÃO — O vírus do mosaico dourado do feijoeiro (BGMV), que ocorre no Brasil, é facilmente transmitido pelo vetor *Bemisia tabaci* Genn., inseto Aleyrodideo conhecido como "mosca" branca, porém ainda não pôde ser transmitido mecanicamente (8). Entretanto, estudos realizados com uma doença muito semelhante, que ocorre na América Central, Caribe e Venezuela, indicaram tratar-se de um Ge-

minivírus, que se transmite com facilidade para certas espécies e variedades de *Phaseolus* (10).

Na última década, os danos causados pelo BGMV à produção de feijão chegaram a atingir 100% em certas regiões do Brasil, sem que perspectivas de controle tenham sido alcançadas através dos métodos convencionais (1, 2, 6, 12, 19). Porém, como diversos quimioterápicos têm sido experimentados com sucesso em fitovirolo-

* Projeto subvencionado pelo Convênio-EMBRAPA/SAA-SP/Instituto Biológico. Parte desse trabalho foi apresentado no VII Congresso Paulista de Fitopatologia.

** Pesquisador Científico, Seção de Virologia Fitopatológica e Fisiopatologia (SVFF), Instituto Biológico.

*** Biologista, SVFF, Instituto Biológico.

gia, nos últimos anos (3, 4, 7, 13), o presente trabalho foi realizado com a finalidade de tentar encontrar uma substância eficiente no controle do BGMV. Para isso, foram realizados diversos ensaios, em condições de casa-de-vegetação, com uma série de quimioterápicos antivirais, que já se mostraram eficientes no controle de outras viroses, tanto de vegetais como de animais, sendo alguns deles de largo espectro de ação (4, 13, 15).

Foi escolhida a espécie *Phaseolus lunatus* L. como hospedeira do BGMV, pois, nessa espécie, os sintomas do vírus são muito nítidos e aparecem num tempo relativamente curto, entre quatro e sete dias após a inoculação.

MATERIAL E MÉTODOS — Foram experimentados 15 quimioterápicos das mais diversas origens, a saber: Ácido Poliacrílico (PA), Acyclovir (Acy), Arildone, Aspirina (AAS), Bromo-vinil deoxiuridina (BVDU), Carbendazim (DPX)*, Di-hidroxi-propil adenina (DHPA), Distamicina-A, Eritro-9-(2-hidróxi-3-nonil) adenina (EHNA), Foscarnet, 3'-orto-metil adenosina (3'-ADO), Pirazino-Pyrazine (derivado Bromo), Sinefugin, Tiazofurin (TR), Virazole (Vz). A procedência dos produtos e as concentrações usadas constam da tabela 1.

Para verificar um possível efeito sinérgico, algumas associações de dois quimioterápicos foram também testadas, tais como: Acyclovir + Foscarnet e DHPA + Virazole.

De maneira geral, os tratamentos constaram de uma única pulverização antes da inoculação, com soluções aquosas das diversas drogas, em diversas concentrações. A pulverização foi feita sobre a parte aérea de plantas de feijão, *Phaseolus lunatus* L., na fase de folha primária.

Os controles foram pulverizados com água. Em todos os casos, o adesivo Tween 20 foi adicionado às soluções, na proporção de 1 gota para 100ml de solução. O intervalo entre o tratamento e a inoculação variou de acordo com o produto utilizado e consta da tabela 1.

O Carbendazim foi aplicado na forma de rega, duas vezes antes da inoculação. Neste caso, os vasos foram colocados sobre placas de Petri, para que a suspensão regada não se escoasse. A quantidade de suspensão aplicada foi suficiente para percolar o solo do vaso e encher as placas de Petri. Os controles foram regados com igual quantidade de água.

Foram usadas, no mínimo, 10 plantas por tratamento, inclusive nos controles.

A inoculação processou-se colocando-se as plantas em viveiros contendo uma colônia de

vetores virulíferos, durante 24 a 48 horas. Após esse período, as "moscas" foram retiradas e as plantas mantidas em casa-de-vegetação, durante um mês. As observações foram feitas diariamente, durante esse período, e as plantas foram pulverizadas semanalmente com inseticida adequado.

RESULTADOS — Os resultados dos experimentos com uma única droga foram condensados na tabela 1. Verifica-se que, até 15 dias após a inoculação, alguns dos quimioterápicos (Ác.poliacrílico, Acyclovir, Aspirina, Distamicina A, EHNA, Foscarnet e Pirazino-Pyrazine) provocaram um atraso no aparecimento dos sintomas sistêmicos. Porém, aos 30 dias após a inoculação, esse efeito diminuiu bastante, tornando-se nulo, na maioria dos casos. Os produtos que mantiveram o seu efeito inibidor, até 30 dias após a inoculação, foram: Acyclovir, Aspirina e EHNA, induzindo uma porcentagem de inibição de 20%, 35% e 37%, respectivamente.

Nas plantas regadas com DPX, entretanto, os resultados mostraram que o número de plantas com sintomas de BGMV foi maior nas tratadas do que nos controles. Além disso, nas plantas tratadas com DPX, em qualquer dosagem, os sintomas de BGMV foram mais intensos do que nos controles, efeito que se tornou bem visível 14 dias após a inoculação (Fig. 1).

Os resultados dos experimentos feitos com a associação de duas drogas estão na tabela 2. Verifica-se que a associação Acyclovir + Foscarnet, aplicada 12 e 24 horas antes da inoculação, induziu uma porcentagem de inibição de 60%, 15 dias após a inoculação. Porém, esse efeito tornou-se nulo aos 30 dias. O mesmo aconteceu com a associação DHPA + Virazole, que apesar de induzir 60% de inibição até 15 dias, perdeu a atividade gradativamente e, aos 30 dias, todas as plantas apresentaram sintomas sistêmicos.

DISCUSSÃO — A quimioterapia antifitoviral tem sido usada com o objetivo de selecionar substâncias químicas capazes de controlar, de modo eficiente, a replicação viral ou de induzir um aumento na resistência natural da hospedeira (9, 13). Por esse motivo, neste trabalho, foram experimentados, no controle do BGMV — vírus de DNA com cadeia simples — compostos das mais diversas origens, inclusive alguns que têm apresentado certa especificidade no controle de vírus de animais. Com essa mesma finalidade, DAWSON (4) estudou recentemente o efeito de 27 produtos antivirais no controle do vírus do mosaico do fumo (TMV) e do "cowpea

* DPX-965-75 — Produto experimental contendo 75% de metil-benzimidazol carbamato como ingrediente ativo.

TABELA 1 — Testes com quimioterápicos em *P. lunatus* infectados com BGMV.

Nome da droga	Procedência	Conc.	T	Aplicação	PI			
					Dias após a inoculação			
					10	12	15	30
Ácido Poliacrílico (PA)	Allied Colloids (Inglaterra)	20 mg/ml	72	P	70%	50%	0	0
		40 mg/ml	72	P	70%	70%	10%	0
Acyclovir (Acy)	Wellcome (Inglaterra)	100 mg/l	24	P	—	—	20%	0
		200 mg/l	24	P	—	—	60%	20%
		400 mg/l	96	P	—	—	0	0
Arildone	Sterling Winthrop (Estados Unidos)	100 mg/l	24	P	—	—	0	0
Aspirina (AAS)	Bayer (Brasil)	500 mg/l	24	P	—	—	0	0
			72	P	50%	20%	0	0
		1000 mg/l	24	P	—	—	35%	35%
Bromo-vinil-deoxi-uridina (BVDU)	Dr. De Clercq (Bélgica)	50 mg/l	2	P	0	0	0	0
		500 mg/l	2	P	0	0	0	0
Carbendazim (DPX)	Du Pont (Brasil)	5 g/l	72	R (2x)	0	0	0	0
		10 g/l	72	R "	0	0	0	0
		20 g/l	72	R "	0	0	0	0
Di-hidroxi-propil adenina (DHPA)	Dr. Holy (Checoslováquia)	400 mg/l	1	P	0	0	0	0
Distamicina-A	Carlo Erba (Itália)	100 mg/l	2	P	—	—	0	0
		200 mg/l	2	P	—	—	10%	0
		400 mg/l	2	P	—	—	0	0
Eritro-9-(2-hidróxi-3-nonil)-adenina (EHNA)	Wellcome (Estados Unidos)	250 mg/l	2	P	—	50%	37%	37%
Foscarnet	Astra-Lakemedel (Suécia)	250 µM	24	P	—	—	40%	0
3' orto-metil adenosina	Dr. M.J. Robins (Canadá)	100 µM	72	P	0	0	0	0
Pirazino-pyrazine	Carlo Erba (Itália)	100 mg/l	2	P	—	—	0	0
		200 mg/l	2	P	—	—	30%	0
		400 mg/l	2	P	—	—	0	0
Sinefungin	Lilly (Estados Unidos)	10 µM	24	P	—	—	0	0
Tiazofurin (TR)	Dr. R. K. Robins (Estados Unidos)	100 mg/l	24	P	—	—	0	0
		200 mg/l	24	P	—	—	0	0
		400 mg/l	24	P	—	—	0	0
		800 mg/l	24	P	—	—	0	0
Virazole (Vz)	ICN (Brasil)	500 mg/l	24	P	—	—	0	0

P = Pulverização; Conc. = Concentração utilizada; R = Rega; PI = Porcentagem de inibição = $(1-A/B) \times 100$, onde: A = Número de plantas tratadas, com sintomas; B = Número de plantas controle, com sintomas; T = Tempo decorrido entre o tratamento e a inoculação, em horas.

chlorotic mottle virus" (CCMV), ambos de RNA, verificando que alguns compostos, que são seletivos para vírus de DNA em sistemas animais, puderam inibir vírus de RNA em plantas. Outras drogas, que não foram efetivas no controle de vírus de RNA, em animais, foram capazes de inibir a replicação do TMV e do CCMV, o que demonstra que o mecanismo de ação dessas drogas varia de acordo com o siste-

ma estudado. Além disso, sabe-se que substâncias quimicamente muito diferentes podem desencadear nas plantas um mecanismo de defesa, através da síntese de proteínas novas, responsáveis pela resistência, denominadas proteínas "b", ou proteínas associadas à resistência (RAPs) ou fatores antivirais (AVFs) (11, 14), que provavelmente funcionam de maneira semelhante ao sistema interferon, em animais.

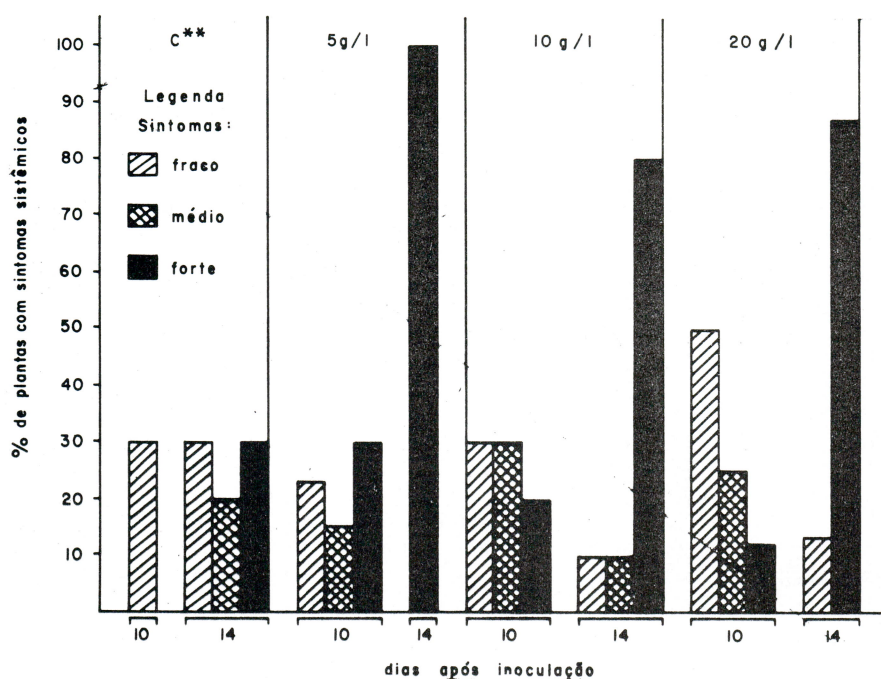


FIGURA 1 – Efeito do DPX 965-75 em plantas de *P. lunatus*. *

* As plantas que não apresentaram sintomas não estão representadas na figura.

** Controle.

TABELA 2 – Testes com misturas de quimioterápicos, em *P. lunatus* infectados com o vírus do mosaico dourado do feijoeiro (BGMV).

Nome da Droga	Concentração	T	PI	
			15 dias	30 dias
Acyclovir + Foscarnet	100 mg/l + 250 µM	24	60	0
Acyclovir + Foscarnet	200 mg/l + 250 µM	12	60	0
DHPA + Virazole	400 mg/l + 200 mg/l	1	60	0
DHPA + Virazole	400 mg/l + 400 mg/l	1	60	0

T = tempo decorrido entre o tratamento e a inoculação, em horas.

PI = Porcentagem de inibição = $(1-A/B) \times 100$, onde

A = Número de plantas tratadas, com sintomas

B = Número de plantas controle, com sintomas.

Pelos resultados obtidos, verificou-se que, nas condições do experimento, dos compostos testados, nenhum pôde controlar o BGMV, porém alguns deles tiveram um certo efeito sobre o aparecimento dos sintomas do mosaico dourado. Entre esses compostos, deve-se salientar que o Acyclovir, a Aspirina e o EHNA foram capazes de inibir o BGMV, até 1 mês após a inoculação. O mecanismo de ação dessas drogas ainda não está esclarecido em plantas, ou só foi estudado em sistemas animais.

O Carben-dazim, conhecido fungicida sistêmico, favoreceu o aparecimento de maior número de plantas com sintomas fortes do BGMV, apesar de ter apresentado um certo efeito antiviral em relação a outros vírus (16, 18). Como o Carben-dazim tem uma atividade semelhante à das citocininas (17) e o próprio BGMV também induz, nas plantas infectadas, um aumento no conteúdo desse regulador de crescimento (5), acredita-se que o efeito estimulante do Carben-dazim, sobre os sintomas do BGMV, possa ser atribuído à sua influência sobre o conteúdo endógeno de citocininas, acelerando e exacerbando os sintomas.

Com os quimioterápicos utilizados, verificou-se que, aos 30 dias após a inoculação, o efeito inibidor diminuiu bastante ou tornou-se nulo, provavelmente devido à rápida metabolização das drogas no interior das células. Apesar disso, os produtos que conseguiram retardar o aparecimento dos sintomas podem vir a apresentar um certo interesse em fitovirologia, ampliando a relação dos quimioterápicos, que têm se mostrado promissores no controle de viroses de interesse econômico, principalmente no presente caso, em que a doença é muito mais grave quando a infecção se dá no início do ciclo vital da planta.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Dra. VICTÓRIA ROSETTI a leitura crítica do texto e também agradecem aos laboratórios que forneceram os produtos antivirais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, L.D.; ALVES PEREIRA, J.C.; RONZELLI Jr., P.; COSTA, A.S. Avaliação de perdas causadas pelo mosaico dourado do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em condições de campo. *Fitopatol. Bras.*, 9: 213-9, 1984.
2. CANER, J.; KUDAMATSU, M.; BARRADAS, M. M.; DE FAZIO, G.; NORONHA, A.; VICENTE, M.; ISSA, E. Avaliação dos danos causados pelo vírus do mosaico dourado do feijoeiro (VMDF) em três regiões do Estado de São Paulo. *Biológico*, 47: 37-46, 1981.
3. CANER, J.; ALEXANDRE, M.A.V.; VICENTE, M. Effect of tiazofurin on tomato spotted wilt virus. *Antiviral Research*, 4: 325-31, 1984.
4. DAWSON, W.O. Effects of animal antiviral chemicals on plant viruses. *Phytopathology*, 72 (2): 211-3, 1984.
5. DE FAZIO, G. Cytokinin levels in healthy and bean golden mosaic virus (BGMV) infected bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revta. Brasil. Bot.*, 4: 57-61, 1981.
6. DE FAZIO, G. O mosaico dourado do feijoeiro no Brasil. *Fitopatol. Bras.*, 10: 41-8, 1985.
7. DE FAZIO, G.; CANER, J.; VICENTE, M. Effect of Virazole (Ribavirin) on tomato spotted wilt virus in two systemic hosts, tomato and tobacco. *Archives of Virology*, 63: 305-9, 1980.
8. FIGUEIRA, A.R. Estudos realizados com o vírus do mosaico dourado do feijoeiro no Brasil, visando sua transmissão por métodos mecânicos. Campinas, 60 p. (Dissertação de Mestrado apresentada a UNICAMP), 1980.
9. GIANINAZZI, S. Antiviral agents and inducers of virus resistance: analogies with interferon. In: Wood, R.K.S., Ed. *Active defense mechanisms in plants*. Plenum Press, p. 275-98, 1982.
10. GOODMAN, R.M. Geminiviruses. *J. gen. Virol.*, 54: 9-21, 1981.
11. KASSANIS, B. Has the plant a resistance system based on interferon-like proteins? *Phytopathol. Z.*, 108(2): 185-90, 1983.
12. MENTEN, J.O.M.; TULMANN NETO, A.; ANDO, A. Avaliação de danos causados pelo vírus do mosaico dourado do feijoeiro (VMDF). *Turrialba*, 30: 173-6, 1980.
13. PENNAZIO, S. & MARTELLI, G. La chemioterapia delle virosi delle piante. *La difesa delle piante*, 5: 291-320, 1983.
14. SELA, I. Plant-virus interactions related to resistance and localization of viral infections. *Advances Virus Research*, 26: 201-37, 1981.
15. SMITH, R.A.; KIRKPATRICK, W. Ribavirin-A broad spectrum antiviral agent. Academic Press, N. York. 237p., 1980.
16. THOMAS, J. & JOHN, V.T. Suppression of symptoms of rice tungro disease by Carbendazim. *Plant Dis.*, 64: 402-3, 1980.
17. THOMAS, T.H. Investigations into the cytokinin-like properties of benzimidazole-derived fungicides. *Ann. Appl. Biol.*, 76: 237-41, 1974.
18. TOMLINSON, J.A.; FAITHFULL, E.M.; WARD, C.M. Chemical suppression of symptoms of two virus diseases. *Ann. Appl. Biol.*, 84: 31-41, 1976.
19. VICENTE, M.; KUDAMATSU, M.; DE FAZIO, G.; ALEXANDRE, M.A.V.; CHAGAS, C.M. Incidência do mosaico dourado do feijoeiro em três municípios do Estado de São Paulo zoneados para o plantio do "feijão da seca". *Biológico*, São Paulo, 51(6): 147-55, 1985.

Recebido para publicação em 26/03/1985.

