

O nematóide das raízes das plantas cítricas - Tylenchulus semipenetrans Cobb - e sua possível relação com a doença «Podridão das radículas»

Prof. RUBEN DE SOUSA CARVALHO

Catedrático da Escola Superior de Agricultura
«Luz de Queiroz»

«There can be no doubt that *Tylenchulus semipenetrans* is an injurious parasite. There is conclusive evidence that it kills the feeding roots of Citrus trees. The roots die either as a direct result of the attack of this parasite or of the attack of other organisms following in its wake; in other words, the nematode is a primary cause of the death of the feeding roots. «N. A. Cobb, 1914. (3)

«By growing nursery trees in pots under controlled conditions it has been definitely proven that the root development and the growth of the top may be greatly retarded by the nematode. In a number of instances the trees were killed, while in other cases a portion of the top was killed, and the remainder stunted». E. E. Thomas, 1923. (12)

INTRODUÇÃO

A nova doença das laranjeiras conhecida por «Podridão das radículas», Doença do vale do Paraíba ou ainda «Tristeza», notada pela primeira vez na região da «Central do Brasil» ha cerca de 6 anos atrás (10), já constitue hoje, infelizmente, pelos enormes danos causados, uma verdadeira calamidade para os citricultores patricios. Centenas de milhares de plantas já foram atingidas pela doença e pomares inteiros estão sendo aniquilados, uns após outros, nas principais zo-

nas citrícolas do Estado. Medidas de controle (sub-enxertia com espécies resistentes) foram aconselhadas pelo Serviço de Citricultura e Departamento do Fomento da Secretaria da Agricultura com o louvável propósito de salvar o que resta do patrimônio citrícola de São Paulo. A causa da doença permanece todavia, desconhecida, não obstante as persistentes investigações levadas a efeito na Argentina, onde ocorre um mal semelhante ao de São Paulo. A publicação dos trabalhos de Drummond e Aranha (4) marca o início de tais estudos, entre nós.

Em uma "nota" publicada simultaneamente na "Folha da Manhã" e na "Revista de Agricultura" (2), relatamos a presença do *Tylenchulus semipenetrans* Cobb no sistema radicular das laranjeiras afetadas pela nova doença. Atribuímos ainda, no referido artigo, a possibilidade desse nematóide desempenhar o papel de agente primário na etiologia do mal que está dizimando os laranjais paulistas.

Posto que, só o prosseguimento dos estudos é que esclarecerá em definitivo o assunto, até a presente data não encontramos razões para modificar ou muito menos para abandonar o nosso primitivo ponto de vista. Muito ao contrário, a associação constante dessa espécie de nematóide, observada em um número elevado de plantas exibindo sintomas inconfundíveis de "Podridão das radículas", o fato de se tratar de um organismo de parasitismo comprovado, o qual determina nas plantas *muito* infestadas uma doença cujos sintomas muito se assemelham ao mal dos laranjais de São Paulo, são, a nosso ver, razões conducentes a apoiar aquela hipótese. A maior divergência está em que a doença aqui se apresenta muito mais severa do que a observada na Califórnia e em outras regiões em que ocorre o nematóide em questão. Isso não invalida, todavia, a hipótese aventada, posto que vários fatores podem influir no grau de virulência ou infestação dos diversos agentes de doenças e pragas, principalmente as condições de clima e solo, ação agravante de organismos secundários, existência ou não de espécies predadoras, etc.

A identificação feita por nós do verme em estudo, estava, como foi dito (2), dependente de confirmação por um espe-

cialista no assunto. Para darmos uma solução pronta e decisiva a essa parte fundamental ao prosseguimento de nossas pesquisas, recorreremos a uma autoridade de larga projeção mundial, o Dr. G. Steiner, chefe da Divisão de Nematologia do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, que gentilmente fez tal verificação, confirmando no material que lhe enviamos, a presença do *Tylenchulus semipenetrans* conforme o seguinte tópico de sua carta: "Indeed these citrus roots are infected with the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans* Cobb. The symptoms you described (aqueles notados na "Podridão das radículas") are also those known to occur in citrus plants when attacked by this species of nematode".

Ficou assim positivada a ocorrência desse nematóide nos pomares cítricos de São Paulo e, conseqüentemente, da doença por ele determinada. Poder-se-ia então perguntar, se não estaríamos diante de duas doenças de sintomas muito semelhantes e de agentes causais distintos. Somos pela negativa. Acreditamos que se trata de uma única doença, cujo responsável primário é o nematóide e que, entre nós, o mal tem sido agravado pela intercorrência de outros fatores, principalmente pelos de ordem ecológica.

RESUMO HISTÓRICO

Em 1912 J. R. Hodges, inspetor de horticultura de um dos distritos da California, relatou a presença de um nematóide nas raízes de laranjeiras afetadas pela "mottled-leaf". O assunto suscitou interesse invulgar e foi estudado na Universidade da California, publicando Thomas em 1913 (12), uma nota preliminar sobre a distribuição do nematóide naquele estado, bem como sobre a sua possível relação com a mencionada doença. Em 1913 e em 1914 N. A. Cobb (3), do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos deu à publicidade os seus estudos sobre o minúsculo verme, dando-

lhe o nome de *Tylenchulus semipenetrans* e fazendo uma descrição pormenorizada sobre a sua distribuição geográfica, morfologia, ciclo vital, etc. Em 1917 Byars (1) constatou-o nos Estados Unidos em mudas provenientes do Brasil. Em 1923 Thomas (12) publicou um segundo trabalho dando conta do resultado de uma série de experiências de inoculação conduzidas na Califórnia, nas quais foram usadas 1.240 plantas, demonstrando assim e de modo cabal, o parasitismo do nematóide. Lounsbury em 1925 (9) constatou-o em vários distritos da África do Sul.

Não sabemos se no Brasil, foi feita alguma menção ou estudo sobre o mencionado parasita. Rahm (11) em 1929 descreveu várias espécies de nematóides nas raízes de plantas cítricas em São Paulo, mas nenhuma referência foi feita ao *Tylenchulus semipenetrans*.

DISTRIBUIÇÃO

No Estado de São Paulo verificamos até agora a ocorrência do parasita nos municípios de Piracicaba, Limeira, Jacareí, Caçapava, Campinas e Sorocaba. Constatamo-lo também, em material proveniente do Rio de Janeiro (*), onde a doença "Podridão das radículas", acaba de ser verificada.

PLANTAS AFETADAS

Ao contrário de muitas outras espécies de nematóides, o *Tylenchulus semipenetrans* tem seu parasitismo confinado aos membros do grupo cítrico.

Infelizmente ainda não nos foi possível proceder à verificação, em nosso estado, das diversas espécies de Citrus susceptíveis ao nematóide. Até agora pudemos constata-lo nos "cavalos" de laranjeira azeda (*Citrus aurantium*). Cobb (3)

(*) Gentileza do Dr. Henrique C. Moreira do Ministério da Agricultura.

relatou o parasita nas seguintes espécies: *Citrus aurantium*, *Citrus sinensis*, *Citrus grandis* e *Poncirus trifoliata*. Segundo se depreende das experiências de inoculação realizadas por Thomas (12) outros Citrus são atacados, embora esse autor nada fale sobre o grau de suscetibilidade dessas espécies. Temos razões para recomendar que, neste particular, novas experiências devem ser feitas visando o esclarecimento desse fato, bem como, da suscetibilidade das várias combinações entre “cavalos” e “enxertos”.

SINTOMAS

Evidentemente não nos é possível descrever os sintomas da doença determinada pelo *Tylenchulus semipenetrans*, como fruto de observação pessoal, uma vez que não é possível estabelecer distinção com os da “Podridão das radículas”. Por essa razão, preferimos nos reportar às descrições feitas por outros investigadores, em outras regiões, servindo isso de base para um estudo comparativo preliminar.

Diz Thomas (12) que a parte aérea das plantas pode ou não mostrar os efeitos do ataque do nematóide, dependendo isso da maior ou menor infestação. Assim plantas muito pouco infestadas tinham a aparência de normais. Entretanto, “among the hundreds of trees examined, every heavily infested trees showed evidence of injure”. As árvores fortemente infestadas revelavam sintomas de sub-nutrição, com as suas folhas pequenas, amarelo-pálidas ou cloróticas; os frutos eram pequenos e toda a planta revelava sinais de definhamento e deterioração. Esse fato foi constatado muitas vezes em árvores que anteriormente se apresentavam sãs, vigorosas e produtivas.

Os sintomas observados na parte subterrânea podem ser assim resumidos: 1 — o maior dano é notado nas radículas (apodrecimento). 2 — conquanto não seja uma indicação infalível, o fato de partículas terrosas aderirem às radículas infestadas formando um envólucro terroso à volta da raiz, constitue um meio de se localizar as “ninhadas” do parasita.

(Fig. 1-A). Isso é devido a uma substância gelatinosa excretada pela fêmea quando se dá a postura dos ovos. 3 — um sintoma notável conseqüente do ataque do nematóide e observado quando se procede ao arrancamento das raízes, é a separação da casca da porção branca correspondente ao cilindro central. Isso é devido, segundo Cobb (3), à destruição das células do parênquima cortical pelo parasita, formando assim espaços irregulares (lacunas) junto ao cilindro central. Em raízes sãs tal separação só se realiza com muita dificuldade. Geralmente vários fungos e bactérias, quasi sempre espécies de *Fusarium* são encontradas nas raízes afetadas, em associação com o nematóide. 4 — Outra indicação digna de nota, observada nas plantas muito atacadas, é a incapacidade do sistema radicular de formar novas e abundantes radicelas, em substituição às destruídas pelo parasita.

Podemos acrescentar de nossa parte que, conquanto os sintomas determinados pelo *Tylenchulus semipenetrans*, na parte aérea, sejam muito semelhantes aos da doença "Podridão das radicelas", eles não são específicos, pois são comuns às outras doenças que afetam o sistema radicular. Todavia, o mesmo não se pode dizer em relação aos sintomas da parte subterrânea que são, ao nosso ver, inconfundíveis. As descrições, neste particular, dadas por Cobb (3), Thomas (12) e Fawcett (5) em relação ao *Tylenchulus semipenetrans*, correspondem exatamente aos sintomas exibidos pela nova doença dos laranjais de São Paulo.

TÉCNICA DE EXAME DO PARASITA

O material deve ser colhido com cuidado, escolhendo-se as radicelas que se apresentarem um tanto engrossadas ou que tiverem um envólucro terroso aderente à sua superfície. As radicelas em franca desintegração, em geral, não apresentam mais o parasita. O material colhido pode sofrer uma dessecção mais ou menos rápida, dificultando o seu exame ulterior. Para obviar êsse inconveniente, é de bom alvitre colocar as raízes escolhidas em vidros com uma mistura de al-

cool-glicerina (alcool a 70% e 3-5% de glicerina). O material assim tratado, conserva-se indefinidamente. .

Antes de se fazer o exame microscópico, é de toda conveniência lavar as radículas em água com o auxílio de um pincel de pêlo fino, a fim de liberta-las da maior parte da terra aderente. Tanto as fêmeas como os machos são de tamanho diminuto e praticamente invisíveis à vista desarmada. Com um microscópio estereoscópico usando as lentes de maior aumento, pode-se com relativa facilidade observar na superfície das raízes, a parte posterior do corpo das fêmeas (a anterior está sempre embutida nos tecidos corticais), ou então as suas "ninhadas" no interior de uma substância mucilaginosa. Para evitar o dessecação durante o exame, deve-se colocar as radículas em um vidro de relógio, ou melhor, em uma tampa de caixa de Petri com um pouco de água.

Outro método que vimos usando com sucesso, consiste em se fazer raspagens com uma agulha ou escalpelo na superfície dos órgãos a examinar. O auxílio de um "binocular" facilitará grandemente a operação. O produto dessa raspagem é posto em uma lâmina preferivelmente com uma gota de um corante diluído (azul láctico, etc.) e examinando ao microscópio. Estamos ensaiando também o método de Steiner, modificado por Godfrey (6) para a observação *in situ* da parte anterior da fêmea nos tecidos corticais da raiz.

Cortes à mão livre ou com o microtomo podem ser feitos pela técnica usual, *mutatis mutandis*.

MORFOLOGIA DO PARASITA (*descrição sucinta*)

Na sua fase larval inicial, a fêmea é vermiforme, e à medida que caminha para o estado adulto, a parte posterior do seu corpo vai se dilatando progressivamente. A parte anterior, embutida nos tecidos da casca, apresenta-se com diâmetro irregular, algo dilatada, e frequentemente com uma constrição mais ou menos acentuada correspondente à perfuração da primeira camada celular exterior. A porção do corpo da fêmea que penetrou nas camadas subjacentes, sofre aí,

um maior engrossamento devido à menor resistência desses elementos celulares (Fig. 1-B). Isso redundava no aprisionamento do parasita que não pode mais retrair o seu corpo, obrigando-o para o resto da vida, a uma existência estacionária.

A porção posterior da fêmea adulta se apresenta caracteristicamente saculiforme (Fig. 1-C), com a cauda cônica e romba voltada frequentemente para a parte ventral do seu corpo. A cutícula é tipicamente grossa e distinta. A cabeça se apresenta cônica-convexa e contínua, isto é, sem contração que a separe do corpo. O estilete é notavelmente desenvolvido. A vulva acha-se localizada na parte posterior do corpo pouco antes do começo de curvatura da cauda. O poro excretor de lábios salientes, situa-se próximo à vulva. O ovário único se apresenta com várias voltas, havendo no útero quase sempre um ovo, raramente dois.

Os ovos são relativamente grandes (62-64 u x 30-34 u), com paredes finas, e são depositados juntamente com uma massa gelatinosa que os protege.

O macho, que é menor que a fêmea, apresenta-se sempre vermiforme (Fig. 1-D), com a cabeça contínua em relação ao pescoço. O estilete é pouco desenvolvido com tendência a se degenerar com a idade, o que explica a incapacidade do macho de atacar as radículas sãs. Sua cauda é afilada com extremidade obtusa. No intestino é encontrado grande número de glóbulos de substância gordurosa. Espículas em par e muito distintas.

As larvas são um pouco maiores do que o macho adulto. Seu corpo é vermiforme e não apresenta outros característicos dignos de menção.

* Com relação às dimensões, Goodey (8), citando Cobb, dá além da fórmula, o tamanho do parasita nas suas três fases: larva 0,438 mm., macho 0,400 mm., fêmea 0,500 mm. Queremos frisar aqui que as mensurações das larvas, dos machos e das fêmeas, não estavam condizentes com as dimensões dadas por Cobb. Assim os tamanhos por nós registrados, principalmente das larvas e dos machos, eram sensivelmente menores do que os dados por aquele autor..

O ciclo vital do parasita é em resumo o seguinte: a fêmea, possuidora de estilete poderoso, perfura os tecidos externos da casca das radículas alimentando-se dos seus elementos celulares. Uma vez fecundada, a porção livre do seu corpo sofre uma dilatação progressiva, dando início então à postura dos ovos que formam massas aderentes à superfície da raiz. Dos ovos saem larvas quasi transparentes, com movimentos pouco perceptíveis. As larvas-fêmeas depois de um certo estágio atacam as radículas. Supõe-se que os machos sejam incapazes de tal, penetrando quando muito nos órgãos já rompidos pelas fêmeas. O ciclo completo do parasita se processa, segundo Cobb, dentre 6 a 8 semanas. O movimento do nematóide, em qualquer das fases, é muito vagaroso e fraco. A sua capacidade de migração é, por consequência, muito restrita ou mesmo nula, sendo a disseminação, entretanto, facilitada por vários agentes, como sejam, habitantes do solo, água de enxurradas, operações culturais, etc. As mudas de Citrus constituem, sem dúvida, o veículo principal da difusão do parasita nas várias regiões.

CONTROLE

As tentativas de combate por meios físicos e químicos, levados a efeito na California (12), visando a erradicação do *Tylenchulus semipenetrans* das plantas infestadas, foram totalmente inúteis. Apesar desses resultados desanimadores, estamos tentando vários tratamentos com agentes químicos diversos. O nosso fito é esclarecer a etiologia da doença "Podridão das radículas", pois temos quasi certeza que, mesmo no caso de um desses tratamentos se revelar eficiente, ele seria economicamente impraticável.

O tratamento do sistema radicular das mudas de Citrus pela água quente (1) (12), com o propósito de destruir o parasita nas suas várias formas, posto que de resultado um pouco mais animador, é ainda insatisfatório na prática. Seja como for, para o caso da doença "Podridão das radículas" o tratamento de mudas teria, quando muito, uma ação efêmera,

sendo muito mais aconselhável o emprego de porta-enxertos resistentes àquela doença.

Na Califórnia (5), muitos pomares infestados têm sido mantidos em boas condições de sanidade e produtividade só com o emprego de práticas culturais, como sejam, adubação racional abundante, irrigação, tratos culturais, etc. Diz ainda Fawcett (5) em relação a êsse ponto: "Their excessive multiplication (dos nematóides) in certain cases, with bad effects on the tree, followed by periods of apparent diminution and partial or total recovery of the trees under good treatment, is probably due to unknown factors, possibly parasites influencing or controlling the number or severity of the nematodes or the resistance of the Citrus host".

Em material (raizes de Citrus) provenientes do Rio de Janeiro, observamos um verme com os característicos do *Mononchus papillatus* Bast., espécie predadora de vários nematóides menores, especialmente do *Tylenchulus semipenetrans*. E' grande o interesse que tem suscitado ultimamente o possível controle de certas espécies parasíticas de nematóides por esse e por outros inimigos naturais. Godfrey (7) diz que observou um único indivíduo da espécie *Mononchus papillatus* devorar ou matar um grupo de vinte larvas de *Heterodera*, em uma só noite.

O método biológico de controle se nos afigura digno de investigação porque poderia possibilitar, talvez, o combate mais econômico e prático do *Tylenchulus semipenetrans*.

ABSTRACT

Title: The Citrus root nematode — *Tylenchulus semipenetrans* Cobb and its possible relation with the disease "Podridão das radículas" (Rootlets'rot).

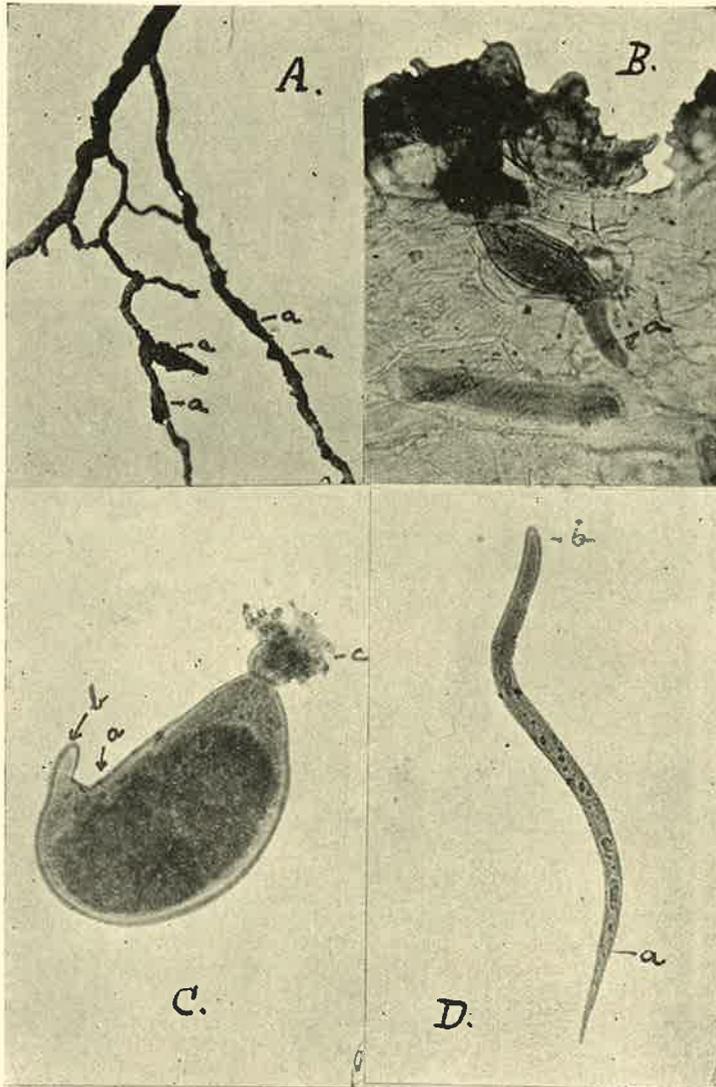
The occurrence of *Tylenchulus semipenetrans* in constant association with the "new disease" of Citrus (Podridão das radículas) in the State of São Paulo, Brasil, is discussed

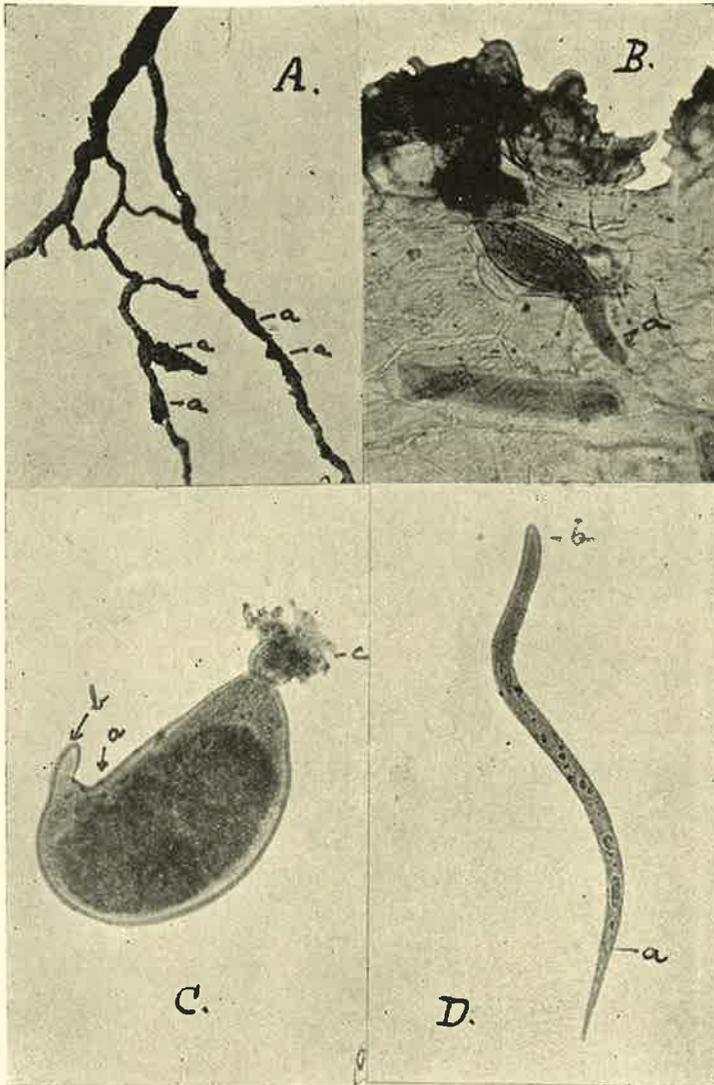
by the author, as well as the possibility of this nematode to be its primary causal agent.

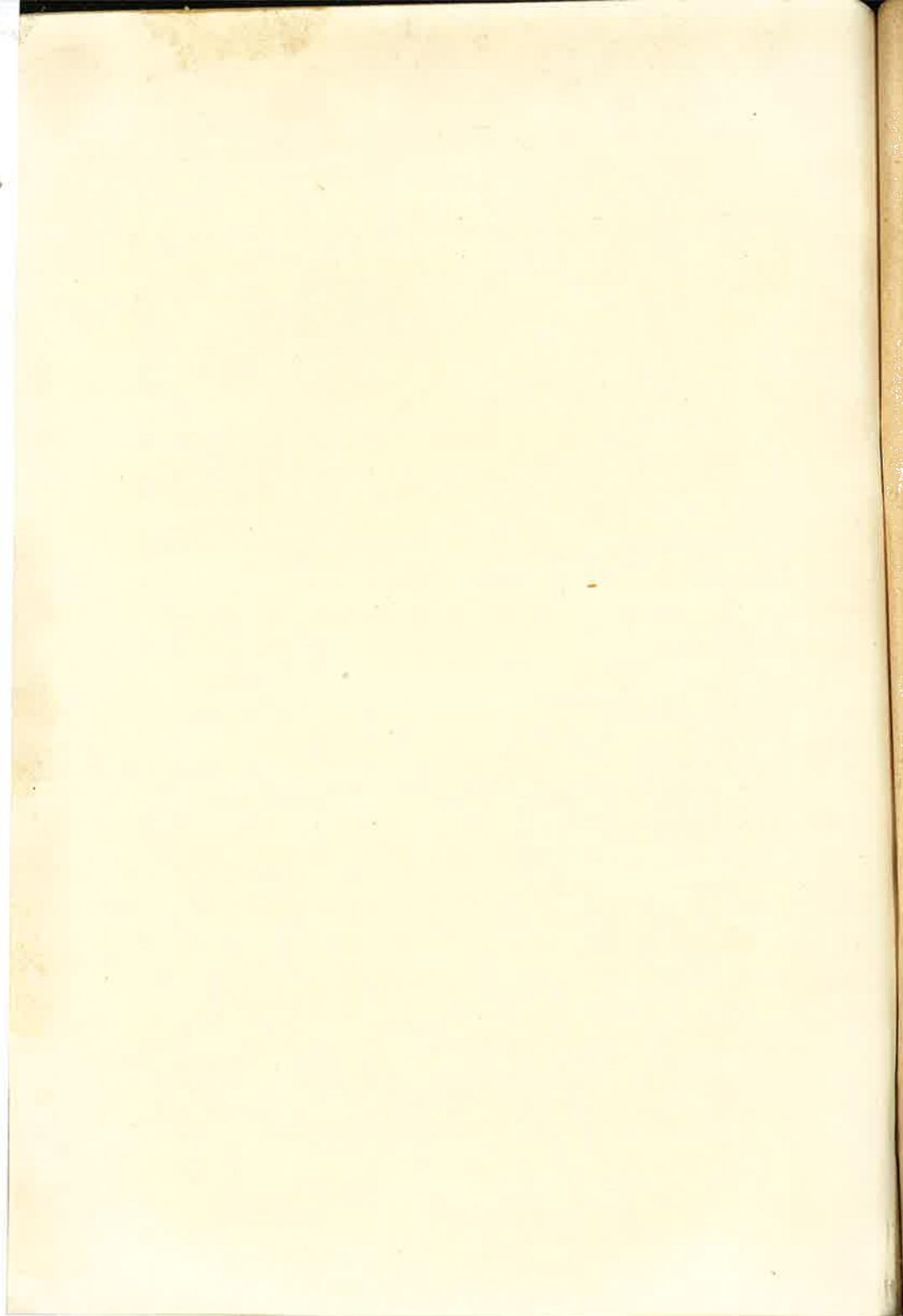
A general account of the distribution, comparative symptoms concernig to the "new disease", and a brief discuss of the morphology and methods of control of the parasite, is also given.

REFERÊNCIAS

- 1 — BYARS, L. P. — *Notes on the citrus-root nematode, Tylenchulus semipenetrans* Cobb. *Phytopathology* 11: 90 - 94. 1921.
- 2 — CARVALMO, R. DE SOUSA — *Sobre a ocorrência de um nematoide nas raízes das plantas cítricas*. *Revista de Agricultura* 17: 347 - 352. 1942.
- 3 — COBB, N. A. — *Citrus root nematode*. *Journ. Agr. Res.* 2: 217 - 230. 1914.
- 4 — DRUMMOND-GONÇALVES, R. — *A doença dos Citrus no vale do Paraíba*. *O Biológico* 8: 199 - 207. 1942.
- 5 — FAWCETT, H. S. *Citrus diseases and their control*. New York. 1936.
- 6 — GODFREY, G. H. *The demonstration of plant parasitic nematodes in host tissues*. *Phytopathology* 25: 1026 - 1030. 1935.
- 7 — *The pineapple root system as affected by the rootknot nematode*. *Phytopathology* 26: 408 - 428. 1936.
- 8 — GOODEY, T. *Plant parasitic nematodes*. New York. 1933.
- 9 — LOUNSBURY, C. P. *Report n. 5 — Entomology. Jour. Depart. Agr. So. Afr.* 11: 577 - 586. 1925.







- 10 — MOREIRA, SILVIO. Observações sobre a "Tristeza" dos Citrus, ou "Podridão das radículas". O Biológico 8: 269 - 272. 1942.
- 11 — RAHM, GILBERT. Nematodes parasitas e semi-parasitas de diversas plantas culturais do Brasil. Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo 2: 67 - 136. 1929.
- 12 — THOMAS, E. E. The Citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*. Agr. Exp. Sta., Univers. of California, Techn. paper n.º 2. 1923.

EXPLICAÇÃO DA FIGURA 1

- A — Radículas de *Citrus aurantium* infestadas pelo *Tylenchulus semipenetrans* Cobb. a — partículas terrosas, indício da presença de uma "ninhada". Aproximadamente 2,5 x.
- B — Parte anterior do corpo de uma fêmea nos tecidos do parênquima cortical. a — cabeça.
- C — Parte posterior do corpo de uma fêmea. a — vulva. b — cauda. c — parte dilacerada. Aproximadamente 300 x.
- D — Macho. a — espículas. Aproximadamente 200 x.

(Foto.. R. Sousa Carvalho).