

**Ações de pesquisas, objetivando a identificação do agente causal do
Amarelecimento Fatal - AF do dendezeiro.**

01462
1995
FL-PP-01462

D.R. Trindade (Pesquisador do CPATU)

INTRODUÇÃO

A partir de 1984, o Amarelecimento Fatal do dendezeiro passou a causar grande preocupação aos plantadores desta palmácea, em razão de elevado grau de incidência em plantas adultas.

Este fato determinou que a EMBRAPA instalasse um pólo de pesquisa no CPATU para se dedicar exclusivamente a esse problema, iniciando-se a partir daí, os trabalhos para identificar o agente causal dessa doença. Foi então formada uma equipe multidisciplinar, que elaborou um plano de pesquisa, elegendo como prioridade a área da entomologia.

PRIORIDADE PARA ENTOMOLOGIA

A definição pela prioridade dos trabalhos nessa área foi baseada em que a doença seria transmitida através do vento, tendo como principal disseminador um inseto vetor. Esta hipótese foi alicerçada nas observações preliminares, indicando que havia uma forte evidência de que a disseminação do mal seguia a orientação dos ventos dominantes.

Outro fato que concorreu para essa hipótese foi a doença dos coqueirais da Flórida, nos Estados Unidos, que apresenta uma semelhança sintomatológica com o AF, cuja doença conhecida como "Lethal Yellowing" é transmitida por um inseto vetor, tendo como patógeno um fitoplasma.

CONTRIBUIÇÃO DA FITOPATOLOGIA

Embora a fitopatologia tradicional não tenha sido priorizada, foram realizados trabalhos, visando a identificação de um provável patógeno associado às plantas portadoras de AF.

Isolamentos de fungos, bactérias e nematóides

Os trabalhos iniciaram com os isolamentos de microorganismos das amostras coletadas de plantas portadoras de AF e que posteriormente, foram inoculados em plantas de dendezeiro sadias, em condições de campo, na tentativa de transmitir a doença.

Nesses isolamentos, foram obtidos os seguintes fungos, bactérias e nematóides:



FUNGOS

<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	<i>Phythium sp.</i>	<i>Chaetomium sp.</i>
<i>Ciclosphaera olivacea</i>	<i>Fusarium solani</i>	<i>Rhizoctonia sp.</i>
<i>Cucurbitaria pallescens</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Graphium sp.</i>
<i>Trichium sp.</i>	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Mucor racemosus</i>
<i>Dactylaria sp.</i>	<i>Pestalotiopsis sp.</i>	<i>Cucurbitaria hamata</i>
<i>Mycelia sterilia</i>	<i>Thielaviopsis sp.</i>	<i>Phoma sp.</i>
<i>Phytophthora sp.</i>	<i>Phomopsis sp.</i>	<i>Gloeosporium sp.</i>

BACTÉRIAS

<i>Aerobater aerogenes</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Bacillus polymix</i>	<i>P. fluorescens</i>
<i>Erwinia herbicola</i>	<i>P. putida</i>

NEMATÓIDES

<i>Rhadinphelenchus cocophilus</i>	<i>Paratrichodorus sp.</i>
<i>Xiphinema yaporense</i>	<i>Dorylaimellus sp.</i>
<i>Xiphinema brasiliensis</i>	<i>Tylenchus sp.</i>
<i>Hemicicliophora poranga</i>	<i>Basirotyleptus</i>
<i>Tylenchorhynchus crassicaudatus</i>	

Para identificação destes microorganismos, colaboraram o Dr. I. L. Renard, do IRHO, Dr. José Luiz Bezerra, da CEPLAC, e Dr. Charles Robbs, da UFRRJ.

Inoculações

As inoculações foram feitas em plantas de viveiro e adultas, utilizando-se de inóculos de fungos e bactérias isoladamente e em mistura de vários isolados, como tentativa de transmitir a doença.

Outras tentativas de transmissão do AF foram:

- inoculação com suspensão de tecido de flechas e da zona meristemática de plantas doentes;
- inoculação de fungos e bactérias em plantas submetidas a estresses hídricos e físicos;
- enxerto de pedaços de raquis de plantas doentes em outras sadias;
- uso da ferramenta de despalma, primeiro cortando as plantas doentes e depois, as sadias.

Em todas as tentativas de transmissão da AF, os resultados foram negativos.

Organismos tipo vírus ou viróide associados ao AF

Os resultados negativos das inoculações com fungos e bactérias deixaram inscritas remotas possibilidades desses organismos serem os agentes primários do AF. Assim surgiu a hipótese de que organismos de tipo vírus ou viróide poderiam estar associados ao AF, com base em uma doença de coqueiros nas Filipinas conhecida como Cadang-cadang, que seria causada por um viróide.

Para avaliação dessa hipótese, foram empregadas as metodologias de transmissão mecânica, microscópica eletrônica e eletroforese bidirecional, envolvendo pesquisadores de instituições nacionais e estrangeiras.

Transmissão mecânica - os testes foram realizados em duas condições: uma como tentativa de simular a transmissão através de ferramentas cortantes, admitindo que durante a colheita e a despalma o patógeno estivesse sendo transmitido. Para esse caso, utilizou-se bisturi e estilete que foram introduzidos nas raízes, estipe e raquis de plantas com sintomas de AF, e imediatamente introduzidos em plantas supostamente saudáveis. Esses testes foram realizados em condições de campo. A outra condição foi extrair suco das raízes, estipe e raquis de plantas portadoras de AF e inocular por esfregaço em uma coleção de plantas indicadoras utilizadas para reproduzir sintomas causados por vírus ou viróides. Estas inoculações foram realizadas em condição de telado, no qual as plantas indicadoras foram mantidas desde a sementeira, para evitar serem visitadas por insetos. Em ambas as condições não ocorreu transmissão.

Microscopia eletrônica - As análises em microscópio eletrônico foram realizadas na Universidade de Brasília. Para esse trabalho, foram coletadas amostras de raízes, folhas e flechas de plantas saudáveis e de plantas portadoras de AF. Em nenhuma amostra foi encontrado algum suspeito. Certamente os resultados indicam que são remotas as possibilidades de que organismos do tipo micoplasma, espiroplasma, rickettsia, fitomonas, vírus alongados, rhabdovírus, tospovírus e vírus isométricos de alta concentração estejam envolvidos com essa doença; em razão de que esses patógenos são detectados com relativa facilidade. Contudo, não se pode excluir vírus isométricos de baixa concentração e viróides, por serem mais difíceis de ser notados. Esses resultados confirmaram exames anteriores, realizados na UnB.

Eletroforese - As análises de eletroforese foram realizadas no CHPH e CENARGEN. Para esse trabalho, as amostras foram coletadas em plantas doentes e saudáveis nas áreas de foco da doença e como padrão de controle foram utilizadas amostras coletadas na área do rio Urubu, Amazonas, onde não ocorre a doença. Foram testados oito métodos de extração de ácidos nucleicos. Os resultados mostram a presença de ácido nucleico do tipo viróide em amostras de plantas doentes e saudáveis coletadas em área de foco e plantas saudáveis, de áreas onde o AF não ocorre ainda, não havendo explicação para o fato.

Os trabalhos até aqui relatados fizeram parte da parceria entre a EMBRAPA e APRODEN - Associação dos Produtores de Dendê do Pará e Amapá. Houve também a participação do IRHO, da França.

Trabalhos realizados pela DENPASA.

A DENPASA, através de seu departamento de pesquisa, realizou alguns trabalhos complementares em condições de campo, tais como:

- Aplicação de antibióticos como oxitetraciclina, streptomina e formalina em plantas doentes e sadias, visando um possível agente patógeno do tipo micoplasma ou fitoplasma ou outro tipo de bactéria.
- Aplicação de fungicidas sistêmicos como benomil, ridomil, alliette e vitavax, na expectativa de que o agente do AF fosse um fungo.
- Aplicação do Becemil, um produto usado para tratamento animal, com efeito fungicida, bactericida e viricida.

Os resultados foram negativos.

Além desses trabalhos, a DENPASA contratou especificamente alguns serviços visando a identificação do agente causal do AF.

Assim, remeteu amostras de plantas portadoras do AF para os seguintes pesquisadores:

- Prof. F. Nienhaus, em Bonn, Alemanha, para análises de eletroforese e organismo tipo micoplasma.
- Prof. Riesner, Universidade de Dusseldorf, Alemanha, para análise de vírus ou viróide.
- M Schuiling, Tanzânia.—
- Kastelein e De Leeuw, Holanda, para estudos histopatológicos do floema e xilema. (*Wageningen Universiteit*)
- M.T. Lin, na Bioplanta no Brasil para estudos serológicos.
- E.W. Kitagima, no Brasil; para análise no microscópio eletrônico. (*CPATU*)

Nenhum desses trabalhos oferecem indicação conclusiva quanto à identidade do agente patogênico do AF. Alguns deles apresentaram suas opiniões, como Kastelein, que acha pouco provável qualquer tipo de fungo ou bactéria ser o agente primário do AF; da mesma forma, o Dr. Riesner descarta a possibilidade de um organismo tipo viróide, e o Prof. Kitagima descarta qualquer possibilidade de organismos do tipo micoplasma ou fitoplasma ou alguns tipos de vírus serem a causa do AF.

Recentemente, recebemos no CPATU a visita do Prof. Armando Bergamin Filho, da ESALQ-USP, especialista em epidemiologia, que esteve prestando consultoria, e analisou os dados fornecidos pela DENPASA. Sua conclusão é que o AF não é uma doença de caráter infeccioso.

Ações de pesquisas, ...

1995

FL-PP-01462



CPATU- 5506-1