

REQUEIMA DAS FOLHAS DA CÂSTANHEIRA DO PARÁ (*Bertholletia excelsa*) CAUSADA POR *Phytophthora heveae*¹

FERNANDO CARNEIRO DE ALBUQUERQUE², MARIA DE LOURDES REIS DUARTE³, GUSTAVO
ROBERTO MANÇO⁴ e HÉRCULES MARTINS E SILVA⁵

SINOPSE. - É relatado o estudo conduzido no Instituto de Pesquisas Agropecuárias do Norte (IPEAN), em Belém, Pará, para identificar o agente patogênico de moléstia observada em viveiros experimentais de mudas, enxertadas de poucos meses, de castanheira do Pará (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) e caracterizada por manchas e queima das folhas e hastes jovens.

Através do estudo das estruturas mais importantes e de ensaios de patogenicidade com as culturas obtidas, foi comprovado que se tratava do fungo *Phytophthora heveae* Thomp. E a primeira vez que esse fomiceto é assinalado na América do Sul. A castanheira do Pará passa a ser novo hospedeiro desse fitopatôgeno. Os maiores prejuízos resultaram do ataque em plantas enxertadas no primeiro ano de desenvolvimento, porque acarretou a morte de cerca de 40% das plantas.

A enfermidade pode ser controlada por aplicações de fungicidas cúpricos (Cuprosan 0,5%) e folcids (Difolatan 80 - 0,5%).

Palavras chaves adicionais para índice: Patogenicidade, *Phytophthora* sistemática, oósporo, oxicleto de cobre, folcid, cacau, batatinha, controle através de fungicidas e condições ambientais.

INTRODUÇÃO

A produção de castanha do Pará (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) é ainda proveniente do extrativismo. São poucos e recentes os trabalhos que visam ao desenvolvimento de culturas racionais desta espécie vegetal. Entre estes trabalhos, destaca-se a multiplicação vegetativa através da enxertia, com o objetivo de selecionar variedades precoces mais produtivas e uniformizar o índice de produtividade econômica por unidade de área (Pineiro 1967).

É freqüente observar que trabalhos que influenciam na uniformização do conteúdo genético das plantas em culturas racionais podem contribuir para o desenvolvimento de enfermidades em caráter epidêmico. Em viveiros de castanheira do Pará instalados no Instituto de Pesquisas Agropecuárias do Norte (IPEAN), em Belém, Pará, onde foram feitos diversos enxertos, inúmeras mudas enxertadas com três a quatro meses de idade exibiram sintomas de uma moléstia caracterizados por manchas e queima das folhas e hastes jovens. A enfermidade tem ocasionado maiores prejuízos em plantas enxertadas com menos de um ano de idade, pois pode acarretar a morte de cerca de 40% dos enxertos. Embora tenha ocorrido em pequena área, poderá constituir obstáculo

ao incremento de cultura da castanheira do Pará na Região Amazônica, desde que as condições ambientes favoreçam o alastramento em caráter epidêmico.

Com o objetivo de identificar o agente patogênico responsável pela moléstia e selecionar medida de controle foi realizado o estudo que é relatado no presente trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

Isolamento do fungo

De lesões recentes de folhas e ramos novos foram cortadas pequenas porções de tecidos das regiões de transição, no interior de placas de Petri. Após o tratamento com hipoclorito de cálcio comercial a 10%, foram implantados em meio de ágar de batatinha glucosado a 2% e em milho de ágar glucosado a 2%. As placas contendo as porções de tecidos infetados, implantados no meio, permaneceram no ambiente de laboratório à temperatura de 25 a 30°C durante 48 horas antes da observação das hifas que se desenvolveram no meio.

Exame do fungo isolado

Os exames periódicos, ao microscópio, das culturas purificadas do fungo iniciaram-se dois dias após a implantação de porções de tecido infetado no meio de cultura. De colônias bem desenvolvidas foram montadas várias lâminas, após serem coloridas com eosina a 1% e azul de Amann. Examinaram-se também estruturas do fundo formadas em água de torneira, em volta do substrato constituído de pequenas porções do meio de cultura ou folhas infetadas do hospedeiro. As medidas das estruturas foram obtidas com μ auxílio de lente micrométrica comum. Obtiveram-se microfotografias das principais estruturas necessárias ao reconhecimento de fomicetos. Culturas do fungo foram remetidas para o Common-

¹ Aceito para publicação em 10 de setembro de 1973. Iniciado em 1971 com auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq) através de bolsa concedida ao primeiro autor.

² Pesquisador em Agricultura, Chefe da Seção de Fitopatologia e Virologia do Instituto de Pesquisas Agropecuárias do Norte (IPEAN), Cx. Postal 48, Belém, Pará, Professor da Faculdade de Ciências Agrárias do Pará (FCAP) e Pesquisador, bolsista, do CNPq.

³ Pesquisador em Agricultura da Seção de Fitopatologia e Virologia do IPEAN, Professor da FCAP.

⁴ Pesquisador em Agricultura do Centro de Pesquisas do Cacau.

⁵ Eng.º Agrônomo da Seção de Fitopatologia e Virologia do IPEAN e bolsista do CNPq.

wealth Mycological Institute em Kew, Inglaterra, para identificação específica.

Técnica de inoculação

Porções de cultura, em ágar de batatinha e dextrose, da espécie de *Phytophthora* isolada, foram colocadas em contato direto com o tecido foliar bem jovem. Em outros ensaios, foram feitas suspensões de esporos do fungo em água filtrada que foi logo após espargida sobre folhas jovens em franco desenvolvimento. As suspensões de esporos foram obtidas mediante colocação de pequenas porções da cultura do fungo em milho ágar glucosado, e de folhas infetadas, em água de torneira. Depois de inoculadas, as plantas permaneceram sob campânulas e sacos plásticos saturados de umidade durante 24 a 48 horas.

Folhas jovens de castanheira do Pará, destacadas e mantidas em placas umedecidas, foram inoculadas, na epiderme inferior, com inóculos provenientes de culturas do fungo em ágar de batatinha glucosado.

Inoculações cruzadas

Porções de colônias do fungo em ágar de batatinha glucosado e em milho ágar glucosado foram levadas para frutos de cacau, folhas de pimenta-do-reino e tubérculos de batatinhas, todos destacados e mantidos em ambiente úmido no laboratório. Inóculos do fungo provenientes de culturas purificadas foram introduzidos em fermentos longitudinais praticados no caule herbáceo de mudas de seringueira e pimenta-do-reino.

Aplicações de fungicidas

Foram feitos ensaios preliminares de aplicação de fungicidas, visando o controle da enfermidade. Em quadra de plantas de enxerto nos primeiros estádios de desenvolvimento foram aplicados separadamente, em vinte mudas enxertadas, Difolatan 80 a 0,5% e Cuprosan a 0,5%. O período de pulverização estendeu-se por dois meses, com intervalos de uma semana entre uma aplicação e outra do mesmo fungicida.

RESULTADOS

Cultura do fungo

De algumas das porções implantadas nos meios de cultura desenvolveram-se, dois a três dias após a implantação, hifas típicas de ficomiceto. Porções destas foram transferidas para tubos de ensaio, onde se desenvolveram em ágar de batatinha e dextrose e ágar de milho glucosado. Depois de 15 dias, as colônias apresentavam aspecto cotonoso, micélio ácamado com pequeno número de hifas aéreas. Exames ao microscópio revelaram estruturas típicas do gênero *Phytophthora*.

Identificação da espécie

A espécie de *Phytophthora* isolada foi identificada como *P. heveae*. As culturas isoladas da castanheira do Pará têm apresentado características semelhantes às obtidas da seringueira no hemisfério oriental.

Micélio com hifas quase uniformes, na maioria não ultrapassando a 5 micra de largura; ausência de clamidósporos; zoosporangióforos 3-5 micra de largura, apresentando dilatações, ramificadas irregularmente; zoospo-

rângios (Fig. 1d e 2) com muitas variações na forma e tamanho, elípticos ou tendendo para obpiriformes, frequentemente assimétricos 12-32 x 16-52 micra, em ágar; 28-40 x 36-52 micra, em água; muitas vezes com pedicelo excêntrico, base arredondada, papilados, raramente com duas papilas, ou alongados com constrição na parte central, decíduos, pedicelo até 10 micra; zoósporos abundantes em água, em presença de luz quando ocorre variação de temperatura; órgãos sexuais abundantes em ágar (Fig. 1a, b, c); oogônios esféricos na parte superior mas frequentemente afilando para o pedicelo parede delgada (Fig. 1b), 24-28 micra de diâmetro; anterídios esféricos ou ligeiramente elípticos, 9-11 micra de diâmetro, paráginos (Fig. 1a, c) ou anfigenos (Fig. 1b); oósporos livres no oogônio, 20-22 micra de diâmetro, parede com 3 micra (Fig. 1a, b, c).

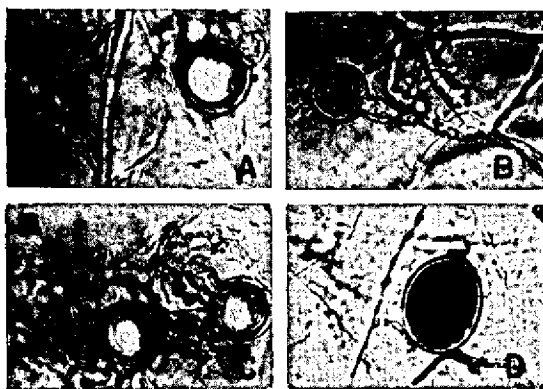


FIG. 1. *Phytophthora heveae*. (a e c) oósporos com anterídios paráginos; b) oósporos com anterídios anfigenos; d) zoosporângios.

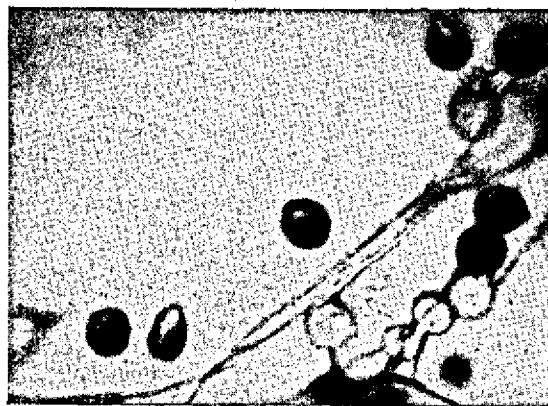


FIG. 2. Zoosporângios de *P. heveae* formados em água; alguns em fase de liberação de zoósporos.

Patogenicidade

Em folhas jovens inoculadas diretamente na face inferior com porções da cultura do fungo em ágar de batatinha glucosado, o desenvolvimento da infecção foi muito raro, mesmo em plantas mantidas em ambiente úmido.

Quando foram empregadas, como inóculos, porções de folhas infetadas que permaneceram em água por 30 a 48 horas e em seguida foram levadas ao contato com a epiderme inferior de folhas tenras, a infecção manifestou-se em todas as áreas inoculadas. Em volta destas, após cinco a dez dias, desenvolveram-se lesões de tonalidade escura. Nos tecidos mais tenros surgiram lesões necróticas que ao atingirem as nervuras provocaram distorções do limbo (Fig. 3).

Pulverizações de suspensão de zoósporos em água sobre brotações novas em início de crescimento reproduziram alguns sintomas típicos da enfermidade. Cinco a oito dias depois da aspersão de esporos, surgiram manchas nas porções mediana e apical do limbo. Quando a infecção se iniciou nas folhas ainda involutas acarretou a queima e queda prematura. Nas folhas destacadas em câmara úmida, nas áreas correspondentes a um pequeno número dos inóculos aplicados, lesões escuras começaram a desenvolver-se 48 horas depois da inoculação (Fig. 4). As folhas das plantas testemunhas, nas quais não foram aplicadas estruturas do fungo patogênico, desenvolveram-se normalmente sem exibir sintomas da moléstia.

Nos frutos de cacau, na haste de seringueira e nos tubérculos manifestou-se podridão ativa depois do 15.º dia a contar da inoculação. No caule da seringueira apenas os tecidos em volta dos ferimentos praticados apresentaram tonalidade escura; os tecidos intactos, mais internos, não foram atingidos. As folhas e os ramos de pimenta-do-reino inoculados não foram infetados.



FIG. 4. Porções da colônias de *P. heveae* em ágar de batatinha glucosado sobre a face inferior da folha. A seta indica o inóculo que provocou a infecção.



FIG. 3. Folha de castanheira do Pará inoculada, exibindo lesões e distorções do limbo.

Fungicidas aplicados

Tanto as pulverizações de Difolatan-80 a 0,5% como de Cuprosan a 0,5% foram eficientes para o controle da enfermidade. Após a quarta aplicação não surgiram mais lesões novas enquanto que nas plantas testemunhas o processo da infecção continuou acarretando queima e queda prematura das folhas e morte dos enxertos.

DISCUSSÃO

Sintomas

São observados em enxertos novos e em folhas e ramos de plantas mais desenvolvidas. Nos enxertos novos, se a moléstia afeta o broto guia no início de desenvolvimento, causa rápida queima e morte dos tecidos (Fig. 5b). Muitas vezes as folhas primárias morrem no estágio ainda involuto (Fig. 5b). Nas folhas jovens já abertas, a infecção manifesta-se por lesões escuras, oleosas, arredondadas ou irregulares. Podem surgir em diferentes partes do limbo: próximo à base (Fig. 5c), na porção mediana limitada pela nervura principal e atingindo a margem (Fig. 5d) ou no ápice (Fig. 5e). Por vezes estas lesões evoluem e terminam por provocar a queima e queda prematura das folhas. Se algum fator do ambiente ou intrínseco à planta impede o avanço da infecção, a parte central da lesão torna-se necrosada, adquirindo coloração esbranquiçada, enquanto os tecidos da

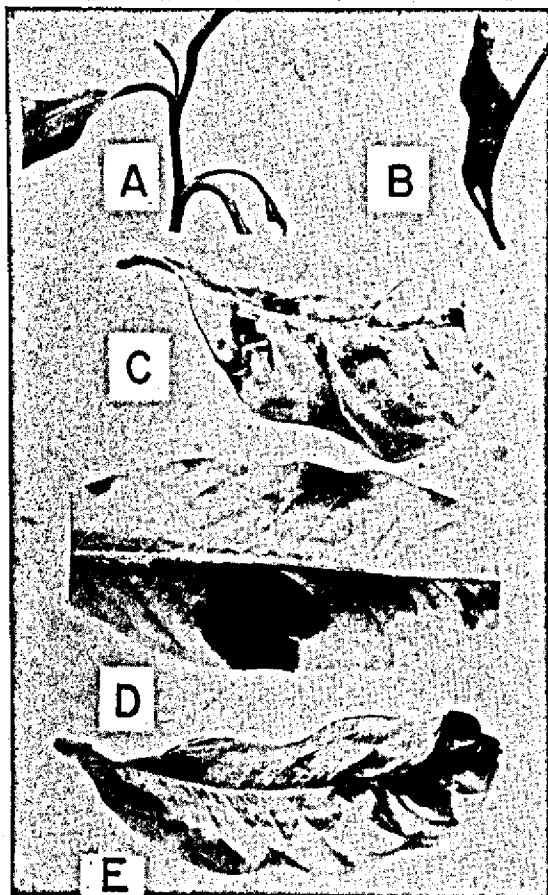


FIG. 5. Requeima das folhas da castanheira do Pará: a) brotação sadia; b) brotação severamente afetada; c) lesões na parte basal do limbo; d) na parte mediana e e) no ápice.

periferia continuam com coloração pardo-escura. Algumas vezes, nas folhas afetadas que não caem, ocorre a distorção do limbo. Nos ramos verdes atingidos podem surgir lesões alongadas escuras ou queima intensa dos tecidos, a qual causa a morte rápida da extremidade das hastes.

O fungo patogênico

A espécie *Phytophthora heveae* descrita por Thompson (1929) foi isolada pela primeira vez da seringueira na Malásia. Leonian (1934) encontrou características semelhantes entre espécie, *P. cactorum* e mais seis outras espécies do gênero. A validade da *P. heveae* foi mantida por Waterhouse (1963). É um fomiceto predominantemente saprófita. No entanto, em condições adequadas do meio ambiente, pode parasitar algumas espécies vegetais. Além da seringueira, já foi constatado em cacau (Turner 1968) na Malásia, em manga e goiaba na Índia (Holiday 1972). Investigações recentes concluíram que este fungo não possui patogenicidade à seringueira, constituindo-se em um invasor de tecidos previamente afetados (Chee 1970). No hemisfério ocidental foi constatado somente no estágio saprofítico, ten-

do sido isolado diretamente do solo nos Estados Unidos (Campbell & Gallegly, 1965). Até o ano de 1965, a *P. heveae* só havia sido relatada na Malásia. No Japão ocorre um cancro do caule do castanheiro europeu que é provocado por uma espécie de *Phytophthora* muito semelhante ao patógeno em estudo (Chee 1970). A castanheira do Pará constitui um novo hospedeiro do fungo *P. heveae*. É provável que se trate da primeira vez que esta espécie é relatada no Continente Sul Americano (Frezzi 1950, Viégas 1961). Difere de *Phytophthora palmivora*, principalmente, por se tratar de espécie homotética e pelo formato dos zoosporângios. Em meios de cultura solidificados formam abundantes oósporos (Fig. 1a, b, c). Os anterídios na maioria são anfigenos (Fig. 1b) podendo ser paráginos (Fig. 1a, d). Em água, o micélio que cresce de porções de tecidos infetados forma grande quantidade de zoosporângios que liberam zoósporos com facilidade (Fig. 2). Nesta condição não produz oósporos. Não foram observados clamidósporos quer seja em água, quer em meios de cultura comumente utilizados em laboratório. Em ágar de batatinha glucosado, depois de algumas transferências (quatro a seis), diminui a capacidade de produzir oósporos, enquanto em milho ágar glucosado a característica de formar esporo sexual mantém-se por tempo muito mais prolongado.

Incidência na Região Amazônica

A enfermidade foi constatada apenas em uma parcela experimental localizada no IPEAN, em Belém, Pará. Não existem dados nem suposições a respeito de plantios de castanheira do Pará atacados de moléstia com sintomas semelhantes aos descritos, em outra localidade da região Amazônica.

Importância econômica

A moléstia, encontrando-se ainda restrita a pequena área, constitui mais um perigo em potencial que poderá dificultar o desenvolvimento da cultura racional da Castanheira do Pará na Região Amazônica, principalmente quando a prática de enxertia começar a ser difundida em índice mais elevado.

Epifitologia

A umidade do ar é a condição do meio ambiente mais favorável ao desenvolvimento e disseminação da moléstia. Os zoósporos do fungo, responsáveis pelo aparecimento das primeiras lesões, formam-se no solo, com o advento da estação de chuvas prolongadas. Os salpicos levam partículas de solo infestado ao contato do tecido jovem da folha ou caule mais próximo. Em consequência da infecção, surgem diversas lesões onde se formam estruturas do fungo que vão ser responsáveis pelo alastramento mais rápido do patógeno dentro do plantio.

Nos ensaios de inoculação observou-se que os tecidos só são infetados quando o ar atmosférico se encontra saturado com mais de 85% de umidade em faixa de temperatura variando de 20 a 30°C.

Controle

Para o controle eficaz da moléstia tornam-se necessárias a escolha da época adequada à enxertia, em condições em que a enfermidade não se encontre em fase de disseminação intensa, e aplicação de fungicidas eficientes.

A enxertia em mudas em sacos plásticos deve ser feita na época seca, nos dois últimos meses que antecedem o início das chuvas; em porta-enxertos formados no campo, no início da estação chuvosa, assim que a casca esteja soltando. Logo após o pegamento dos enxertos, as pulverizações, semanais ou quinzenais, com fungicidas, devem ser iniciadas e continuadas durante todo o período chuvoso. No caso de ataque severo, as pulverizações devem ser repetidas no ano seguinte. Depois disso, os enxertos já se encontram bem vigorosos e não morrem mais quando atacados por essa enfermidade. Como já foi relatado, fungicidas cúpricos (oxicloreto de cobre ou óxido cuproso a 0,5% do produto comercial e Difolatan 80 a 0,5%) debelam o ataque da enfermidade após três ou quatro aplicações consecutivas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Dr. D.J. Stamps, do Commonwealth Mycological Institute, Kew, Inglaterra, pelo exame e identificação de cultura do fungo patogênico, e ao Dr. Paul Holliday, da referida Instituição, por ter remetido referências sobre literatura e plantas hospedeiras do fitopatógeno, as quais foram muito valiosas no estudo da enfermidade.

REFERÊNCIAS

- Campbell, V.A. & Gallegly, M.E. 1965. *Phytophthora heveae* from eastern Tennessee and western North Carolina. Pl. Dis. Repr. 48:233-234.
- Chee, K.H. 1970. *Phytophthora heveae* and *Pythium vexans* of Heveae. J.Rubb.Res.Inst. Malaya 23:13-14.
- Frezzi, J.M. 1950. Las especies de *Phytophthora* en la Argentina. Revta Investones Agrícolas, B.Aires, 4:47-134.
- Holiday, P. 1972. Comunicação pessoal.
- Leonian, L.H. 1934. Identification of *Phytophthora* species. Bull. W.Va Univ.agric. Exp.Stn 262. 36 p.
- Pinheiro, E. 1967. Propagação vegetativa da castanheira (*Bertholletia excelsa* H.B.K.), observações preliminares. Publ. avulsa, Inst.Pesq.Agropec. Norte, Belém. 10 p. (Mimeo.)
- Thompson, A. 1929. *Phytophthora* species, in Malaya. Malay. Agric. J. 17:53-100.
- Turner, P.D. 1968. Pod rot of cocoa in Malaysia caused by *Phytophthora heveae*. Pl.Prot. Bull., FAO, 16:33.
- Viêgas, A.P. 1961. Índice de fungos da América do Sul. Inst. Agron. Campinas, S. Paulo. 921 p.
- Waterhouse, G.M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. Kew Mycol. Pap., Commonw. Mycol. Inst. 92. 22 p.

ABSTRACT.- Albuquerque, F.C.de; Duarte, M.de L.R.; Manço, G.R.; Silva, H.M.e [Leaf blight of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) caused by *Phytophthora heveae*]. Requeima das folhas da castanheira do Pará (*Bertholletia excelsa*) causada por *Phytophthora heveae*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Série Agronomia (1974) 9, 101-105 [Pt, en] IPEAN, Cx. Postal 48, Belém, PA, Brazil.

A study was conducted at the Instituto de Pesquisas Agropecuárias do Norte (IPEAN), at Belém, Pará state, in order to identify the pathogenic agent of a disease observed in young plants of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) a few months after grafting. The disease is characterized by spots and blight of young stems and leaves.

Through anatomical studies and pathogenic assays of the cultures obtained from diseased tissues, it was proved that the fungus *Phytophthora heveae* Thomp. causes the disease.

The present work represents the first report of this phycomycete in South America. The Brazil nut now is considered a new host of phytopathogen. The most important damages resulted from the attack on plants grafted in the first year of growth, among which the mortality rate was approximately 40%.

The disease can be controlled through application of Cuprosan 0,5% and folcid (Difolatan 80 - 0,5%).

Additional index words: Pathogenicity, *Phytophthora* systematic, oospore, copper oxychloride, folcid, cocoa, potato, fungicid and environmental conditions control.