

BRAGANTIA

Boletim Técnico da Divisão de Experimentação e Pesquisas
INSTITUTO AGRONÔMICO

Vol. 13

Campinas, setembro de 1954

N.º 19

MÉTODOS PARA IDENTIFICAÇÃO E CONTRÔLE DA TRISTEZA DOS CITROS (*)

S. MOREIRA, *engenheiro agrônomo, Sub-Divisão de Horticultura e A. S. COSTA, engenheiro agrônomo, Secção de Genética, Instituto Agronômico de Campinas*; T. J. GRANT, *fitopatologista, U.S. Department of Agriculture, E.U.A.*

RESUMO

Algumas regiões citrícolas, especialmente no continente europeu, ainda não foram, ao que parece, atingidas pela moléstia tristeza dos citros. Os conhecimentos adquiridos durante as investigações feitas sobre a moléstia permitem indicar como identificá-la e prevenir suas desastrosas conseqüências nos laranjais.

Os sintomas gerais nas plantas afetadas são semelhantes aos causados pela podridão do pé (gomose), podendo-se distingui-la da tristeza examinando as raízes.

Há combinações cavalo-enxerto tolerantes e não tolerantes ao vírus. É, por isso, muito importante o reconhecimento da espécie cavalo, o que se pode fazer no pomar examinando a sua brotação ou observando o grau de congenialidade entre cavalo e enxerto. O teste colorimétrico feito com a casca da raiz também auxilia o reconhecimento.

Os sintomas chamados "pitting" das limas ácidas e pomelos, permitem identificação da tristeza no pomar.

O teste de Schneider, Wallace & Dimitan combinado com observações de campo, pode substituir, nas regiões onde a moléstia já foi constatada, os testes de transmissibilidade, mais rigorosos porém demorados, feitos no viveiro ou em estufas. A transmissão por enxertia ou por insetos vetores é feita da planta suspeita para plantas sadias de combinações não tolerantes ao vírus (laranjeira doce sobre azêda) ou para pés francos do limoeiro galego.

É de interesse conhecer qual a estirpe do vírus predominante na região, para orientação dos citricultores quanto aos métodos de controle da moléstia.

A identificação da espécie de afídios predominante na região permite prever a velocidade da disseminação da tristeza, porquanto umas são vetores muito eficientes, outras pouco.

O controle da tristeza é obtido por métodos indiretos. Nas novas plantações evitam-se as combinações não tolerantes, empregando-se como variedade-cavalo as laranjeiras doces, as tangerineiras, os limoeiros Cravo (Rangpur) e Rugoso. Às vezes é possível o emprego de pés francos provenientes dos embriões nucelares. Nas plantações já existentes pode-se fazer a substituição total ou parcelada (individual) das plantas, conforme se constate predominância de afídios muito ou pouco eficientes e de estirpes fortes ou fracas do vírus.

A sub-enxertia ("inarching"), a sobre-enxertia ("topworking") e o afrancamento do enxerto são outras tantas modalidades de controle da tristeza, as quais podem ser vantajosamente empregadas em determinadas condições.

Medidas de quarentena podem retardar a invasão das zonas ainda livres da tristeza, sendo de interesse o esclarecimento do público quanto ao perigo representado pela importação de plantas ou suas partes vivas, exceto as sementes.

(*) Recebido para publicação em 24 de maio de 1954.

1 - INTRODUÇÃO

Um grande número de publicações sôbre a moléstia "tristeza dos citros" veio a lume desde que os seus efeitos desastrosos se manifestaram nos laranjais da Argentina e Brasil (2, 3, 4, 5, 6, 7, 11, 12, 14, 16, 17).

Os sintomas apresentados pelas plantas doentes, os prejuízos causados pela moléstia e os processos indicados para evitar, nas novas plantações, a repetição das devastações verificadas, têm sido mencionados nessas publicações.

A tristeza pode ter-se originado na China ou Japão. Em Java e África se observou, desde muito tempo, que não se podia usar a laranjeira azêda (*Citrus aurantium* L.) como cavalo, sendo êste fato atribuído à falta de compatibilidade (9, 15). Segundo hoje sabemos, esta incompatibilidade é causada pela tristeza que existe no sul da África desde antes do desenvolvimento da indústria citrícola naquela região, e passou nas últimas décadas para os continentes sul e norte-americanos disseminando-se por vários países. Entretanto, algumas regiões dêsses continentes, bem como o Europeu, parecem estar ainda livres do vírus causador da tristeza. Nessas regiões, freqüentemente há dúvidas entre técnicos e citricultores, quanto à presença ou não da moléstia em seus laranjais. Isto se deve ao fato de se poder confundir fâcilmente os sintomas gerais apresentados pelas plantas afetadas pela tristeza com os causados por outras moléstias (gomose, xiloporose), ou causas fisiológicas (deficiências de nutrição, excesso de umidade no solo). Nesta publicação se pretende, valendo-se dos conhecimentos adquiridos durante as investigações levadas a efeito sôbre a moléstia, indicar aos menos familiarizados com o mal as várias maneiras pelas quais se pode identificar a tristeza e também prevenir suas desastrosas conseqüências.

2 - MÉTODOS PARA IDENTIFICAÇÃO DA TRISTEZA

A identificação da tristeza dos citros pode ser estabelecida por meio de observações diversas sôbre as plantas doentes no campo, por exames do material em laboratório, ou por testes de transmissão do vírus.

2.1 - OBSERVAÇÕES DIVERSAS SÔBRE AS PLANTAS NO POMAR

Várias indicações podem ser obtidas da observação das plantas suspeitas de estarem afetadas pelo vírus da tristeza (est. 1-A). Como é sabido, são sintomas iniciais da moléstia: morte das radículas; perda do brilho verde-intenso da folhagem; clorose das nervuras, que é mais acentuada nas fôlhas novas; queda das fôlhas normais; formação posterior de folhagem de tamanho reduzido, com vários tipos de clorose semelhantes às causadas por deficiências de nutrição; secamento de ramos finos e decadência geral da planta.

Êste quadro sintomatológico é, no entanto, muito semelhante ao apresentado pelas plantas atacadas pela podridão do pé, moléstia causada por fungos do gênero *Phytophthora*. A distinção entre as duas moléstias é fâcilmente estabelecida pelo exame das raízes. Nas plantas afetadas pela tristeza,

a morte das raízes se manifesta primeiramente nas extremidades, isto é, nas radículas e progride mais ou menos lentamente da periferia para o tronco. Geralmente só se encontram raízes grossas, em processo de apodrecimento, nas fases finais da doença, quando maior parte da copa já está seca. Nas plantas afetadas pela podridão do pé pode-se constatar, pelo exame do tronco junto ao solo e das raízes logo abaixo do colo, o apodrecimento da casca e formação de ferida que é ou não acompanhada da exsudação de goma. A planta só atinge estado de decadência acentuada e geral quando toda a casca em redor do tronco ou das raízes principais é atingida pelo fungo e destruída.

O conhecimento da espécie-cavalo, bem como da espécie-enxerto, permite logo suposição mais ou menos segura quanto à origem da decadência das plantas. Sempre que se tenham copas de laranjeiras doces (*Citrus sinensis* (L.) Osb.), de tangerineiras (*C. reticulata* Blanco), de pomeleiros (*C. paradisi* Macfad.) e de limeiras ácidas (*C. aurantifolia* (Christm.) Swingle) enxertadas sobre espécies-cavalo intolerantes ao vírus da tristeza, como as laranjeiras azêdas ou amargas (*C. aurantium* L.), os limoeiros (*C. limon* (L.) Burm. f.), as toranjeiras (*C. grandis* (L.) Osb.), as limeiras (*C. aurantifolia*), os pomeleiros (*C. paradisi*), etc. deve-se estar prevenido quanto à possibilidade de se tratar de casos de tristeza. Por outro lado, quando aqueles mesmos tipos de copa estiverem enxertados em espécies-cavalo tolerantes à tristeza, como as laranjeiras doces (*C. sinensis*), as tangerineiras (*C. reticulata*), o limoeiro Cravo ou Rosa (*C. reticulata* x *C. aurantifolia*), o limoeiro trifoliado (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.), e o limoeiro Rugoso, (*C. limon* x *C. medica* L.) (?), pode-se concluir que não se trata de casos de tristeza (est. 2).

A existência desses dois tipos de combinações cavalo-enxerto (tolerantes e não tolerantes), em um mesmo pomar, permite que, pelo confronto do comportamento dos dois grupos, se possa concluir rapidamente pela presença ou não da tristeza (est. 1-B).

O reconhecimento da espécie-cavalo, pelo exame das plantas, nem sempre é fácil. Se há brotação abaixo do ponto da enxertia, o problema fica reduzido ao conhecimento que o observador possua sobre as características vegetativas das diferentes espécies cítricas. Algumas das indicações abaixo podem auxiliar, aos menos familiarizados com o assunto, na identificação das principais espécies-cavalos.

- Laranjeira azêda (*Citrus aurantium*): folhas ovais, afiladas, com margens serreadas, de cheiro característico; pecíolo largamente alado; espinhos ponteagudos, não muito longos (fig. 1-A).
- Laranjeiras doces (*C. sinensis*): folhas oval-oblongas, um pouco mais claras na página inferior, com margens levemente serreadas; pecíolo ligeiramente alado; espinhos longos, às vezes levemente curvados para baixo (fig. 1-B).
- Tangerineiras (*C. reticulata*): folhas longas, estreitas ou ovais, afiladas, levemente marginadas, pecíolo curto não alado; espinhos pequenos, agudos ou ausentes (fig. 1-C).
- Limoeiros (*C. limon*): folhas ovais de ápice agudo, verde-claras, arroxeadas quando bem novas, com margens serreadas, de cheiro típico; pecíolo sem asas; espinhos finos, não muito longos (fig. 1-D).

- Toranjeiras (*C. grandis*): fôlhas grandes, oval-oblongas, pubescentes quando novas, ápice arredondado, margem crenulada; pecíolo amplamente alado; espinhos curtos (fig. 1-E).
- Pomeleiros (*C. paradisi*): fôlhas ovais lisas, crenadas; pecíolo bastante alado; espinhos curtos ponteagudos (fig. 1-F).
- Limoeiro trifoliado (*Poncirus trifoliata*): fôlhas caducas, trifoliadas; pecíolo longo sem asas; espinhos fortes, ponteagudos, retos (fig. 1-G).
- Limoeiro cravo ("Rangpur lime") (*C. reticulata* x *C. aurantifolia*): fôlhas lanceoladas, com pecíolo sem asas, serreadas nas margens, de côr arroxeada quando novas; espinhos curtos e finos (fig. 1-H).

O reconhecimento da espécie-cavalo no pomar pode ainda ser estabelecido pela observação do grau de congenialidade entre cavalo e enxêrto. Em algumas combinações o cavalo se desenvolve mais rãpidamente do que o enxêrto, havendo uma repentina redução no diãmetro do tronco no ponto da enxertia. Êste fenômeno é bem acentuado nas combinações em que o limoeiro trifoliado serve de cavalo e também nas enxertias de laranjeiras doces sôbre pomeleiro e sôbre limoeiro rugoso. Às vêzes verifica-se o inverso, havendo certa redução no diãmetro do tronco abaixo do ponto de enxertia (laranjeira Pera sôbre limoeiro Cravo; limoeiros Eureka e Lisboa sôbre laranjeira Azêda). O conhecimento dessas interações entre cavalo e enxêrto, que Webber (18) estudou detalhadamente, presta bom auxílio na identificação da espécie-cavalo no pomar.

Quando as observações no campo não permitem conclusão definitiva ou quando haja interêsse em confirmã-las, o teste colorimétrico que Halma (8) desenvolveu pode prestar bom auxílio na identificação da espécie-cavalo. No Instituto Agronômico de Campinas, Bacchi (1) confirmou a eficiência dêste método, que permitiu separar os nossos tipos de citros empregados como cavalo em 4 grupos: a) laranjeiras azêdas (*Citrus aurantium*), b) laranjeiras doces (*C. sinensis*), c) limoeiros (*C. limon*) e d) outros citros.

Êstes testes baseiam-se na ação de diversos sais ou ácidos sôbre substâncias encontradas na casca das raízes das plantas cítricas. O material a enviar ao laboratório, para ser submetido ao teste, consta de pequenas placas de casca (10 x 3 cm), retiradas das raízes mais grossas, próximo ao tronco das plantas. Depois de sêco e reduzido a pó, êsse material é tratado com os reagentes químicos que determinam colorações típicas para cada espécie cítrica.

Uma outra possibilidade de identificação da tristeza, por observações no pomar, se verifica quando ali se encontram plantas do grupo do limão Galego (Mexican, West Indian, Key, ou Beledy lime). As plantas dêste grupo são muito sensíveis às injúrias causadas pelo vírus da tristeza e mostram sintomas da moléstia mesmo quando de pé franco (est. 3-A), ou enxertadas em cavalos tolerantes. Além dos sintomas gerais, é freqüente se encontrar, em tais plantas, acentuada palidez das nervuras (est. 3-C) e uma anormalidade na zona do "cambium", a que se deu a designação de "pitting", e que consiste em pequenas ranhuras mais ou menos alongadas, em forma de estrias no lenho (est. 3-B). Levantando-se a casca dos ramos de planta afetada pela tristeza, aparecem muito freqüentemente essas ranhuras e

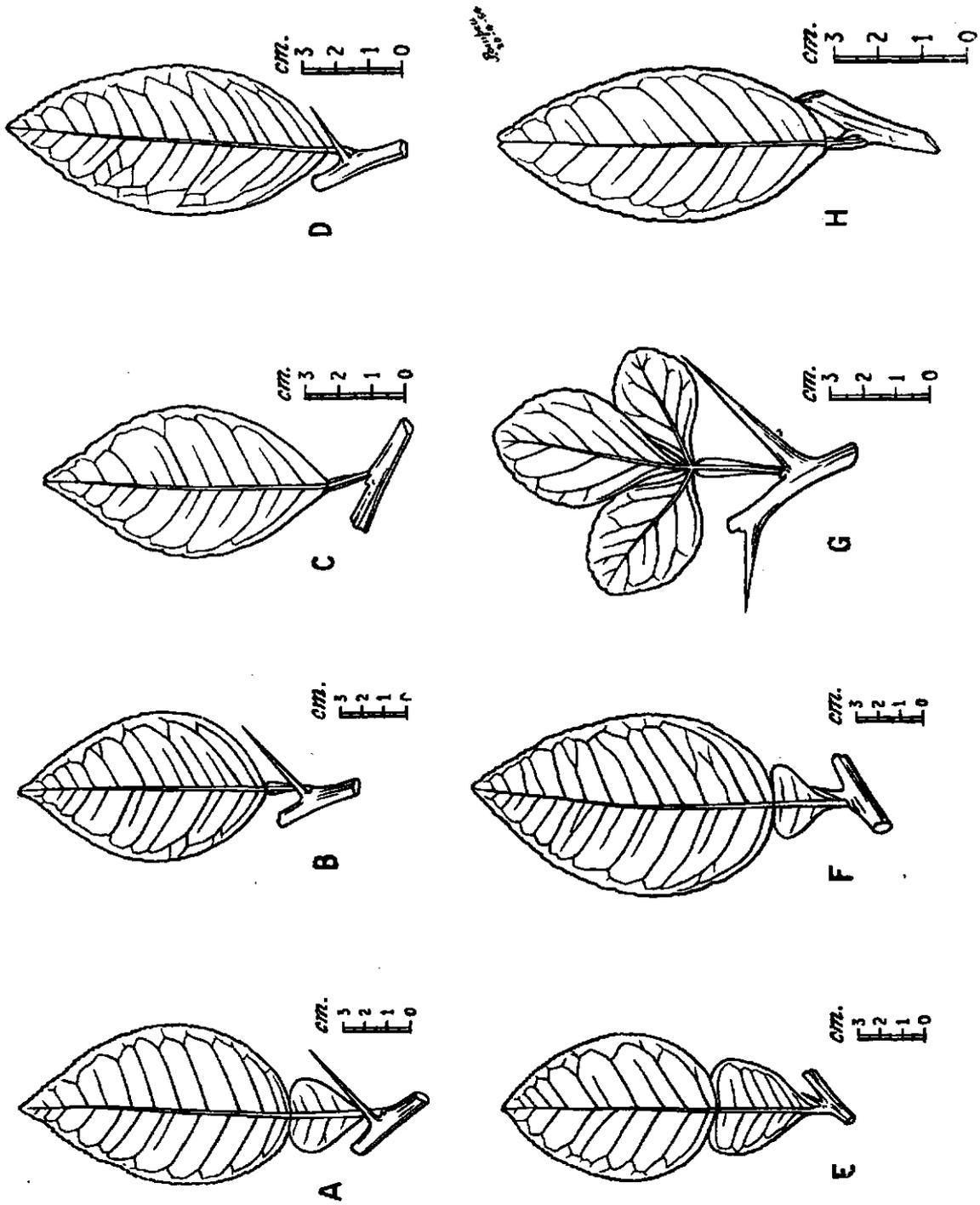


FIGURA 1. — Fôlhas, pecíolos e espinhos das principais espécies cítricas: A — laranja azêda; B — laranja doce; C — tangerina; D — limão; E — toranja; F — pomelo; G — trifoliata; H — limão cravo (Rangpur).

correspondentes saliências na parte interna da casca. Outras formas cítricas podem também mostrar êsse sintoma, mas é no grupo do limão Galego e no dos pomelos que o "pitting" é mais comum.

2.2 - TESTES DE LABORATÓRIO COM MATERIAL OBTIDO NO POMAR

Schneider, Wallace e Dimitan (14) desenvolveram uma tecnica para exame de material, proveniente de planta suspeita de estar invadida pelo vírus da tristeza, a qual permite concluir ràpidamente pela afirmativa ou negativa. Trata-se do exame microscópico de lâminas preparadas com material proveniente da casca (floema) da região do enxerto. O material a ser encaminhado ao laboratório consta de pequenas placas de casca (10 x 3 cm), retirada na região da enxertia, de maneira a abranger parte proveniente do cavalo e parte do enxerto. Pela maneira de degeneração dos vasos condutores da seiva, abaixo e acima do ponto de enxertia, pode-se concluir ràpida, e quase seguramente, se a planta está ou não afetada pela tristeza. O resultado dêste teste, combinado com outros sintomas observados na planta, constitui um método eficiente que pode substituir os testes de transmissibilidade por enxertia ou por insetos vetores, nas regiões onde a existência da tristeza já foi comprovada.

2.3 - TESTES DE TRANSMISSIBILIDADE NO CAMPO OU EM ESTUFA

Quando não há urgência e se exige absoluta segurança na determinação da causa da decadência da planta que se supõe afetada pela tristeza, pode-se identificar a moléstia por meio de testes de transmissão, de uma planta para outra, por meio de união de tecidos (enxertia) ou por meio de insetos vetores. Êstes dois processos, únicos considerados eficientes na transmissão da tristeza, poderão ser executados em viveiro ou em estufa. Sem dúvida, os resultados do trabalho feito em estufa são de maior segurança do que os do campo, onde as plantas estão sempre mais fàcilmente sujeitas à infecção natural. Entretanto, se o objetivo é apenas provar a presença do vírus da tristeza, o teste realizado em plantas de viveiro permite obter a informação desejada.

Tanto para um como outro processo de transmissão, são necessárias plantas para cavalo e plantas para enxerto livres do vírus da tristeza, para o que se empregam aquelas provenientes de sementes ("seedlings") criadas em ambiente tanto quanto possível livre de infecção natural. Podem ser usadas, como espécie-cavalo, a laranjeira azêda (teste da azêda) ou outra espécie cujos tecidos sejam intolerantes ao vírus (toranjeira, pomeleiro). A espécie-enxerto deve ter tecidos em que o vírus possa multiplicar-se ràpidamente, atingindo elevadas concentrações (laranjeiras doces).

Para maior rapidez na obtenção dos sintomas da tristeza, tem sido usado também o "teste do limão galego" (est. 3), baseado na grande sensibilidade dos tecidos das plantas dêste grupo que, quando infectadas pelo vírus, mostram sintomas (palidez das nervuras e "pitting") mesmo em pés francos ("seedlings").

2.3.1 - TRANSMISSÃO POR INSETOS VETÔRES

Tem sido abundantemente comprovado (2, 11, 16) que insetos do gênero *Aphis* (pulgões) podem transmitir a tristeza da planta infectada para planta sadia. Algumas espécies de afídios (*Aphis citricidus* Kirk) são bem eficientes vetôres do vírus enquanto outras são muito pouco eficientes (*Aphis gossypii* Glover). No Brasil, Argentina e sul da África, predominam espécies eficientes; são pouco eficientes as espécies encontradas na Califórnia e Flórida (U.S.A.). Nas regiões onde êsses pulgões são encontrados, especialmente *A. citricidus*, pode-se lançar mão dêles para transmissão do vírus da planta suspeita para as combinações cavalo-enxêrto intolerantes.

Para se proceder a êsse teste, plantas de laranja azêda e de laranja doce são retiradas da sementeira quando ainda bem novas (5-6 cm de altura), enxertadas por encostia e logo a seguir plantadas em vasos. Dentro de 12-15 dias, verificada a soldadura das partes justapostas, eliminam-se gradualmente a parte inferior da laranjeira doce e a superior da laranjeira azêda, de maneira a restar uma só planta (doce sôbre azêda). Logo a seguir se transferem pulgões encontrados nas plantas suspeitas, sugando os ramos tenros, para as plantas enxertadas. Isto se consegue fâcilmente colocando sôbre estas os brotos com afídios. Geralmente são suficientes colônias de 40-50 pulgões para cada planta. Depois de 24 horas os pulgões serão eliminados com pulverizações de nicotina ou qualquer outro afidocida.

Quando não se encontram pulgões nas plantas suspeitas, pode-se lançar mão dos existentes em outras plantas, os quais devem ser alimentados durante 24-48 horas em brotos novos das primeiras; a seguir são êles transferidos para as plantas testes.

Se as plantas suspeitas estiverem afetadas pela tristeza, a maior parte das plantas inoculadas mostrará, dentro de 2 meses, os sintomas típicos da moléstia (clorose das nervuras, paralização de crescimento). Para maior segurança nas conclusões é recomendavel que se mantenham algumas das plantas enxertadas sem ser infectadas (testemunhas), o que permite confronto entre os dois grupos (est. 4-A).

No "teste do limão galego" (est. 3) empregam-se plantas de pé franco com mais de 10 cm, que são infectadas por pulgões transferidos das plantas suspeitas. Como no teste precedente, dentro de 2 meses as plantas mostrarão os sintomas, quando se tratar de tristeza. Nestas plantas, além da paralização do crescimento e da clorose das nervuras, podem-se constatar também os sintomas no lenho e em baixo da casca ("pitting").

2.3.2 - TRANSMISSÃO POR ENXERTIA

Tem sido demonstrado (2, 17) que a enxertia de planta sadia, com borbulha ou garfo de planta afetada, é meio seguro de transmissão e pode-se lançar mão dêste processo para identificação da tristeza em plantas suspeitas. Nas regiões em que se não encontram as espécies de afídios mais eficientes na transmissão do vírus da tristeza (Califórnia, Flórida), a enxertia tem sido mais empregada, tanto no "teste da azêda" como no "do limão galego."

As plantas provenientes de sementes de laranja azêda ou de limão galego são conservadas em ambiente livre de infecção natural e, quando seu porte permite realizar a enxertia, esta é feita com borbulha ou garfo das plantas doentes. Empregando-se cavalos de azêda, há necessidade de se provocar a brotação da borbulha, cujo primeiro crescimento é geralmente normal. Cerca de três meses mais tarde é que vão aparecer sintomas da tristeza no enxêrto (est. 4-B). Quando o cavalo é do grupo do limão galego, basta que a borbulha ou garfo "pegue", com soldadura dos tecidos; os sintomas da tristeza aparecerão na própria copa do cavalo, independentemente da brotação do enxêrto (est. 3-A).

Em qualquer dêstes dois testes deve-se preparar plantas para servir de testemunhas, isto é, enxertadas com borbulhas sadias da mesma variedade, no teste da azêda, e conservar plantas não inoculadas, quando se usar o limão galego.

2.4 - ISOLAMENTO DE ESTIRPES DO VÍRUS DA TRISTEZA

Logo após a determinação da origem virológica da moléstia tristeza (II), verificou-se a existência de diferentes estirpes do vírus (7). Sabe-se hoje que, em algumas regiões, predominam estirpes fracas (Flórida), enquanto em outras são mais comuns estirpes fortes (São Paulo) do vírus da tristeza. A própria reação das plantas, a essas diferentes estirpes do vírus, dá idéia sôbre quais as predominantes em cada região. As plantas invadidas pelas estirpes fracas, mesmo quando a combinação cavalo-enxêrto é intolerante, mostram sintomas atenuados da moléstia, ao passo que as afetadas por estirpe forte são muito mais gravemente injuriadas.

Como as plantas infectadas por estirpe fraca parecem imunes à invasão por estirpe forte, é de interesse estabelecer quais as estirpes predominantes em determinada região. Para isso se fazem testes de inoculação por enxertia ou por afídios, transportando-se o vírus de plantas que mostraram diferentes graus de injúria por infecção natural, para plantas de uma combinação intolerante (laranjeira doce sôbre azêda), ainda não invadida pelo vírus.

Preparam-se as plantas como foi indicado para os testes de transmissibilidade, as quais são separadas em grupos de cinco, inoculando-se cada grupo com vírus de uma única planta. De acôrdo com a gravidade dos sintomas manifestados posteriormente em cada grupo, poder-se-á concluir sôbre a existência de uma ou mais estirpes do vírus.

O conhecimento da predominância de estirpes fracas ou fortes, em determinada região, indicará ao citricultor qual a marcha provável da moléstia e quais as providências a adotar para salvaguarda de sua economia. Quando predomina o vírus forte, a decadência e destruição do pomar será rápida e violenta, ao passo que predominando o vírus fraco, pode-se esperar decadência lenta, permitindo medidas de recuperação às vêzes ainda possíveis. Tem-se conseguido recuperar plantas depois de mostrarem os primeiros sintomas da tristeza, por meio da sub-enxertia ("inarching") e da sôbre-enxertia ("top-working") (est. 5-C e D).

2.5 - IMPORTÂNCIA DA DETERMINAÇÃO DOS AFÍDIOS VETÔRES DA TRISTEZA

Sabe-se hoje que várias espécies de pulgões são capazes de veicular o vírus da tristeza de uma planta para outra. Algumas dessas espécies são muito eficientes na transmissão da moléstia, bastando às vezes um único inseto para efetuar a inoculação (*Aphis citricidus*); outras, (*A. gossypii*, *A. spiræcola*) têm eficiência muito reduzida, sendo necessário grande número de insetos para se obter o mesmo resultado (13).

Como conseqüência dessas diferenças é de importância verificar-se, em cada região citrícola, qual a espécie existente ou predominante pois, segundo a sua eficiência, dar-se-á mais rápida ou lentamente a disseminação da moléstia. Da velocidade da disseminação decorre a gravidade e importância do mal. Assim é que, enquanto em São Paulo a tristeza invadiu em poucos anos todos os pomares, destruindo tôdas as plantas enxertadas em cavalos intolerantes, na Flórida, onde ela se encontra talvez há mais tempo, existem numerosos laranjais em que ainda não foi constatada ou se encontram apenas umas poucas plantas afetadas. Uma das razões desta diferença provem da predominância de afídios muito eficientes em São Paulo (*A. citricidus*) e de espécies pouco eficientes na Flórida (*A. gossypii* e *A. spiræcola*.)

Decorre das considerações acima que, mesmo antes da moléstia aparecer em determinada região é possível, sabendo-se qual ou quais as espécies de afídios que nela ocorrem, pre-estabelecer o grau de importância da tristeza, se for ali mais tarde introduzida.

A identificação das espécies de afídios que podem transmitir a tristeza não é fácil, havendo, mesmo entre os entomologistas, dúvidas a respeito da designação empregada por vários autores. Já foram mencionados, como capazes de veicular a tristeza, pulgões sob as seguintes designações: *Aphis tavaresi* Del Guercio, *A. citricidus* Kirk., *A. gossypii* Glov., *A. spiræcola* Patch, *Paratoxoptera argentinensis* Blanchard. Algumas dessas designações referem-se evidentemente a uma mesma espécie e, conforme afirmam Costa e Grant (5), parecem necessários estudos taxonômicos mais completos para se decidir quanto ao melhor nome para os afídios mencionados em várias regiões como *A. citricidus*, *A. tavaresi*, *A. citrícola* e *Paratoxoptera argentinensis*.

3 - MÉTODOS DE CONTRÔLE DA TRISTEZA

Tratando-se de moléstia causada por vírus, cuja inativação não foi conseguida nos tecidos vivos, os métodos de contrôle são de natureza preventiva ou indiretos, a sua escolha dependendo das condições particulares de cada caso.

3.1 - CONTRÔLE EM NOVAS PLANTAÇÕES

Sabe-se hoje que a tristeza, e outras moléstias com diferentes nomes e a mesma sintomatologia (podridão das radículas, "quick decline", "lime disease") somente causam grave injúria às plantas cítricas de determinadas combinações cavalo-enxerto (est. 2). Nas regiões invadidas pelo vírus,

tornou-se impossível formar plantas sadias quando se enxertavam as laranjeiras doces (*Citrus sinensis*), as tangerineiras (*C. reticulata*), os pomeleiros (*C. paradisi*), as limeiras ácidas (*C. aurantifolia*) em cavalos de laranja azêda (*C. aurantium*), de toranjas (*C. grandis*), de pomelos (*C. paradisi*). Algumas combinações menos usuais na citricultura são também inviáveis em presença da moléstia. O primeiro cuidado do citricultor previdente será, portanto, evitar a plantação de mudas dessas combinações.

Por outro lado está provado que as laranjeiras doces e as tangerineiras se desenvolvem sem aparentar prejuízos causados pela tristeza, quando enxertadas em cavalos de laranjas doces, tangerinas, limão rugoso, limão cravo ou rosa (Rangpur lime), limão trifoliado e outras formas cítricas, usualmente menos empregadas. Os pomeleiros e as limeiras ácidas podem ser prejudicados, mesmo quando enxertados em cavalos tolerantes, o que constitui problema ainda dependendo de melhores investigações.

Decorre desses conhecimentos que a formação de novos pomares, em zona invadida pela tristeza, tornou-se perfeitamente viável, desde que se tenha o cuidado preventivo de empregar apenas plantas das combinações que não são injuriadas pela moléstia. Tais plantas podem ser invadidas pelo vírus, tornando-se portadoras, mas devido à tolerância dos tecidos, tanto do cavalo como do enxerto, se desenvolvem e produzem regularmente. Há ainda o caso dos limoeiros verdadeiros (Eureka, Siciliano, Lisboa) que, mesmo enxertados em cavalos intolerantes (laranjeira azêda), não são afetados pela moléstia porque são resistentes à infecção e além disso o vírus parece não atingir concentração prejudicial em seus tecidos.

Muitos citricultores têm manifestado dúvidas quanto ao sucesso de novas plantações feitas no mesmo local onde outro pomar foi destruído pela tristeza. Uma vez que a gravidade dos prejuízos causados pela moléstia depende principalmente da tolerância das plantas e da estirpe do vírus presente, não há motivo para qualquer dúvida a tal respeito.

Em regiões onde outras formas cítricas são vantajosamente empregadas como cavalo, ou onde haja conveniência de introduzir novos tipos para cavalo, será acertado obter previamente informações seguras sobre o comportamento dessas formas em presença da tristeza. No Instituto Agrônomo de Campinas está sendo realizado um grande teste, compreendendo cerca de 1.500 combinações cavalo-enxerto, onde mais de 400 formas cítricas são empregadas como cavalo para várias espécies de enxerto.

Uma outra maneira de se prevenir contra os prejuízos causados pela tristeza seria plantar mudas de pé franco ("seedlings"), aproveitando-se da particularidade, comum em maior parte das espécies cítricas, da formação de embriões apogâmicos (nucelares). Devido a este fenômeno podem-se obter plantas de sementes que são reproduções fiéis da árvore mãe, as quais, formadas sem enxertar, estarão naturalmente livres das injúrias causadas pela tristeza. As sementes de laranjas e de tangerinas têm, geralmente, elevada percentagem de embriões nucelares, os quais dão formação a plantas de porte e aspecto geral muito uniformes. Eliminando-se no viveiro as plantas de características diferentes, geralmente raquílicas, as demais poderão, quando atingirem porte conveniente, ser transplantadas para o pomar.

Para maior segurança na escolha das plantas provenientes dos embriões nucelares pode-se fecundar as flores da árvore matriz com pólen de *Poncirus trifoliata* e depois aproveitar da sementeira apenas as plantas não trifoliadas, que não são híbridas.

A plantação de mudas de pé franco apresenta algumas desvantagens que contra-indicam êste processo na maioria dos casos. Há retardamento no início da produção em relação ao das plantas enxertadas ; é muito abundante a formação de espinhos ; as copas se desenvolvem demais em altura ; e, conforme a espécie, pode o pé franco ser mais suscetível a certas moléstias do que o enxertado (gomose).

3.2 - CONTRÔLE EM PLANTAÇÕES JÁ EXISTENTES

Nos pomares já estabelecidos em região que a tristeza invadiu ou está na iminência de invadir, pode-se optar por uma das seguintes providências visando solucionar o problema : a) substituição total da plantação ; b) substituição individual das plantas afetadas ; c) substituição apenas do cavalo, sem perda da árvore (sub-enxertia) ; d) afrancamento do enxerto ; e) substituição apenas da copa (sobre-enxertia).

A substituição total da plantação é a mais indicada quando se trata de pomar já em franca produção, geralmente com mais de oito anos, em região invadida por estirpes fortes do vírus e infestada por insetos vetôres muito eficientes. Nessas condições, deve-se esperar que a disseminação da tristeza e a decadência das plantas sejam rápidas, como aconteceu nos pomares da Argentina e de São Paulo.

Geralmente não é econômico arrancar o pomar e depois fazer a nova plantação, porque há sempre possibilidade de se aproveitar uma ou mais colheitas das plantas, umas já atingidas e outras ainda livres da moléstia. A substituição total pode ser feita intercalando-se um novo pomar entre as linhas do existente (est. 5-A), cujas plantas serão eliminadas posteriormente, à medida que sua produção se torne anti-econômica.

A substituição individual das plantas afetadas deve ser preferida quando na região predominarem estirpes fracas do vírus, ou quando o inseto vetor predominante for pouco eficiente, como acontece na Califórnia e Flórida. Nêsse caso a substituição será feita aos poucos, à proporção que a produção das plantas existentes vá se tornando de nenhum valor, de maneira a que a nova plantação ocupe o mesmo local das plantas eliminadas.

Em regiões de clima árido e semi-árido, a replantação de um novo pomar, no mesmo terreno ocupado durante muitos anos por plantas da mesma espécie ou gênero, tem apresentado certas dificuldades (10). Não só vários tipos de microrganismos que infestam êsse terreno são geralmente desfavoráveis ao normal desenvolvimento das plantas da mesma espécie, como também parece haver acúmulo, no solo, de substâncias que tornam o meio desfavorável à vida dessas plantas. Nessas condições tem sido aconselhada uma das seguintes alternativas : a) não plantar citros no mesmo terreno já ocupado por citros ; b) deixar o terreno em alqueive, ou cultivado alguns anos com plantas de ciclo curto (cereais, leguminosas), para depois renovar a

cultura cítrica ; c) fazer a fumigação das covas com o preparado conhecido no comércio pela designação "DD", pelo menos 3 meses antes da plantação.

A sub-enxertia, pela qual se faz a substituição do cavalo de espécie intolerante por outro tolerante ao vírus da tristeza, pode ser feita com sucesso nas plantações novas, até 5-6 anos (est. 5-C). Em plantas mais idosas este método de controle não apresenta vantagem, porque a diferença de diâmetro das hastes das plantas torna muito demorado o processo de recuperação. Quando o diâmetro do tronco das plantas é favorável, este processo trás a vantagem de não se perder a copa da planta existente, nem ser necessária despesa com a aquisição de mudas e nova plantação.

Mencionou-se também o afrancamento, que consiste em se provocar, por meio de incisões horizontais no tronco e amontoa de terra até cobrir essas incisões, a formação de raízes no enxerto, acima do ponto de enxertia (est. 5-B). É também processo de controle somente aplicável em casos particulares, pois o sucesso depende de vários fatores, tais como : enxertia baixa, certo grau de umidade permanente no solo, resistência à gomose e facilidade de enraizamento da espécie-enxerto, etc.

Nas regiões favoráveis à cultura dos limões verdadeiros (Eureka, Siciliano, Lisboa) também se pode evitar a destruição do pomar afetado pela tristeza fazendo-se a sobre-enxertia, ou substituição da copa das árvores de laranja doce, tangerina ou pomelo, por outra de limão. Para isso enxertam-se nos 3-4 galhos principais da árvore, próximo do tronco, borbulhas de limoeiro ; depois de pegadas, cortam-se esses galhos alguns centímetros acima e eliminam-se todos os brotos que se formarem, menos os provenientes das borbulhas enxertadas (est. 5-D). Se a enxertia for feita logo depois da colheita, haverá falha de uma safra apenas. Também aqui os melhores resultados são obtidos em pomares novos, vigorosos e não afetados por outras moléstias. Nas plantações comerciais, antes de se fazer a sobre-enxertia com limão deve-se estudar as possibilidades de colocação da produção.

3.3 - MEDIDAS DE QUARENTENA

Naquelas regiões citrícolas que ainda hoje parecem livres da tristeza (Espanha, Itália), é do maior interesse evitar ou pelo menos retardar a entrada do vírus, o que pode ser conseguido por meio de medidas de quarentena. Devido ao intenso tráfego aéreo entre os vários continentes, atualmente tornou-se difícil um isolamento sanitário bastante eficiente. No caso da tristeza, seria suficiente que alguns áfidios infectados com o vírus, transportados ocasionalmente, atingissem laranjeiras nas regiões ainda livres, para que a moléstia ali se disseminasse. Quarentena quanto a este tipo de disseminação, por insetos vetores, é das mais difíceis, pois exigiria o expurgo das aeronaves provenientes das regiões afetadas, que estão hoje espalhadas por todos os continentes, excepto Europa.

A disseminação da tristeza a grandes distâncias, de um continente para outro, tem sido feita muito provavelmente apenas por meio do transporte de plantas (mudas) ou borbulhas infectadas. Com relação a esse transporte os serviços de quarentena podem ter certa eficiência. Os governos das regiões

interessadas deveriam tomar medidas no sentido de exercer rigorosa vigilância para impedir a introdução de plantas ou parte de plantas vivas não somente do gênero *Citrus* como de outros gêneros afins (*Fortunella*, *Severinea*, *Microcitrus*, etc.). Além disso, poderia também ser feito um permanente trabalho de esclarecimento do público quanto ao perigo existente na introdução desse material, pois é bastante comum o transporte de borbulhas, de uma região para outra, na bagagem pessoal dos viajantes. Esse material escapa muito facilmente a qualquer vigilância.

No caso da tristeza, como as plantas podem ser portadoras do vírus, sem mostrar os sintomas gerais da moléstia, a quarentena deve ser exercida no sentido de destruir o material apreendido. De outro lado, como o vírus não se transmite pela semente, qualquer introdução de espécies ou variedades desejadas poderá ser feita, sem perigo, por meio deste material de multiplicação.

METHODS OF IDENTIFICATION AND CONTROL OF TRISTEZA DISEASE OF CITRUS

SUMMARY

The tristeza disease of citrus has not yet been reported from European countries nor from various other citrus growing areas of the world. Investigations on the disease have been carried out in various countries, such as Argentina, Australia, Brazil, South Africa, and United States. Knowledge obtained from these investigations enables citrus experts from areas not invaded by tristeza to recognize its presence in the orchards and to prevent disastrous losses for the industry.

General decline symptoms of tristeza resemble those caused by foot rot, but root examination permits the differentiation of the two diseases. Presence of pitting symptoms in trees of West Indian limes or of grapefruits permits easy diagnosis of tristeza in the orchards.

Stock-scion combinations may be tolerant or intolerant to tristeza. Thus, it becomes important to determine the rootstock in case of plants showing decline symptoms. This fact can be established by direct examination of sprouts from the rootstock or by observing the degree of congeniality of rootstock and scion. The colorimetric tests made with bark of the rootstock may help to determine it.

Field observation of symptoms complemented by Schneider's histological tests may replace the transmission tests for field surveys of the disease in areas where tristeza is already known to be present. Transmission tests are usually carried out by methods of tissue union or by means of the vectors. Young plants of non-tolerant combinations (such as sweet orange on sour orange rootstock) or seedlings of West Indian limes may be used as test plants in these tests.

A knowledge of the predominance of the various strains of the tristeza virus complex in the invaded areas is very important in regard to the application of control measures. Also the determination of the aphid vector or vectors in the areas concerned will permit forecasting the rate of spread of tristeza because efficiency varies considerably according to the vector species.

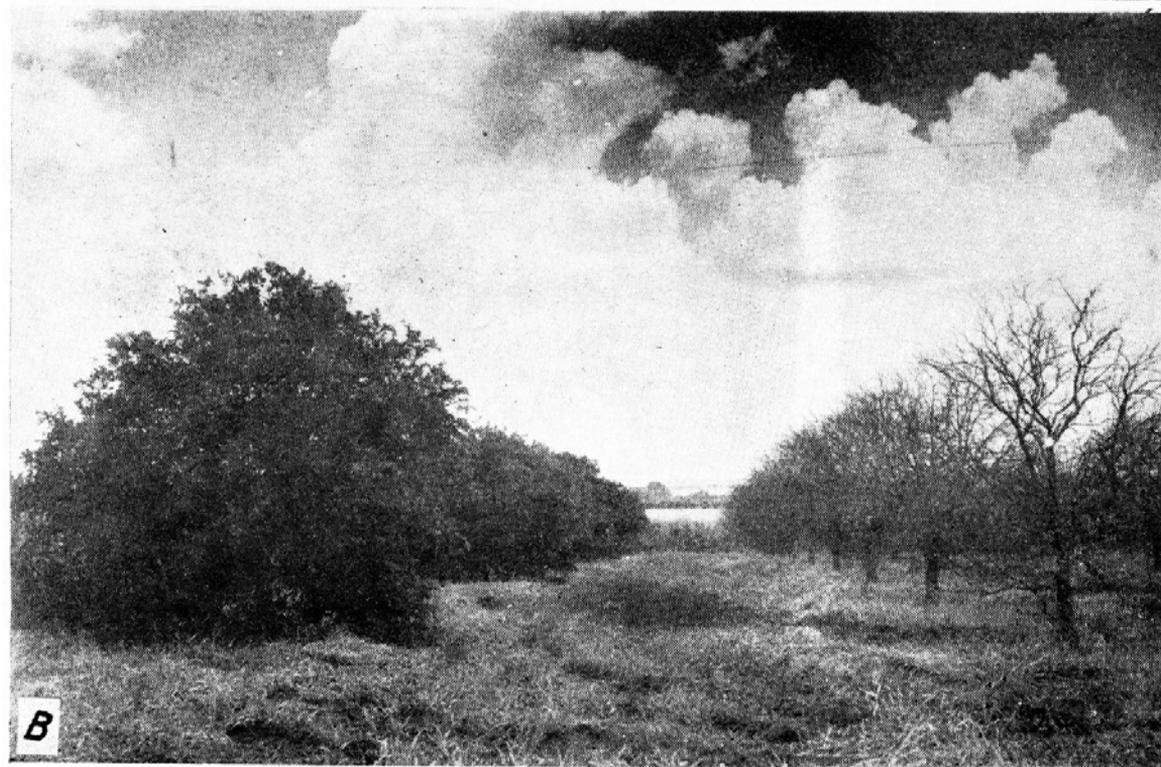
Control of tristeza in citrus orchards is obtained by indirect methods. In new plantings made in invaded areas, non-tolerant stock-scion combinations should be avoided. Only tolerant rootstocks such as sweet oranges, mandarins, rangpur lime, and rough lemons should be used for most commercial tops. In some instances it may be possible to use unbudded trees originated from nucellar embryos. In established orchards, where a non-tolerant rootstock was employed, individual affected trees may be replaced or the whole planting may be interplanted with trees of a tolerant stock-scion combination. The first method is used in areas where the disease is disseminated by a poor vector, whereas the second method is more advisable in areas where spread of the disease is very rapid.

Inarching or rooting the scion (by mounding the soil around its base) are used to control tristeza under some conditions. Top working with lemon may also be used.

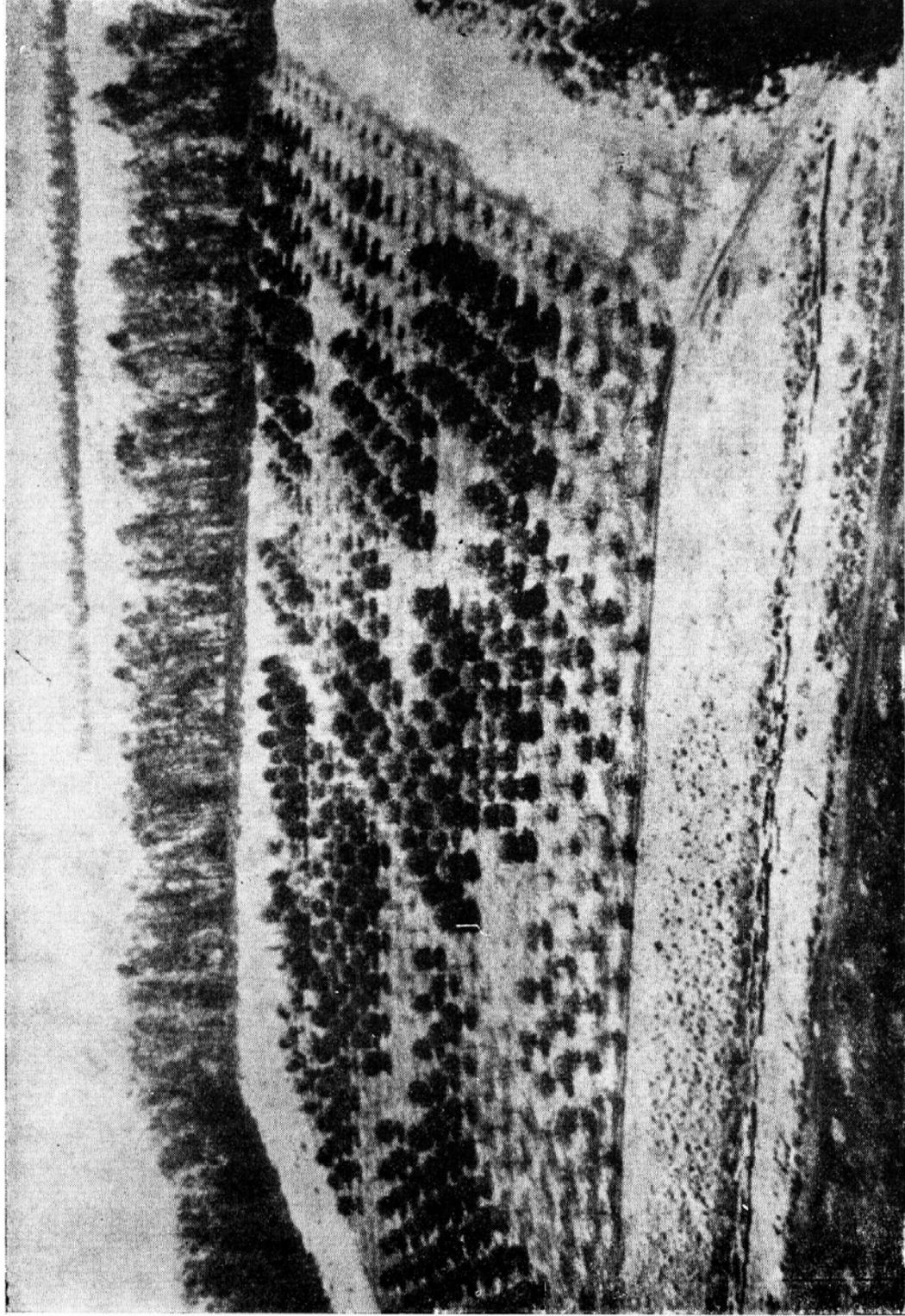
Quarantine barriers may prevent the introduction of tristeza in uninvaded areas. It is highly desirable to inform travellers about the risk represented by the introduction of citrus budwood material or cuttings from areas where the disease is known to be present.

LITERATURA CITADA

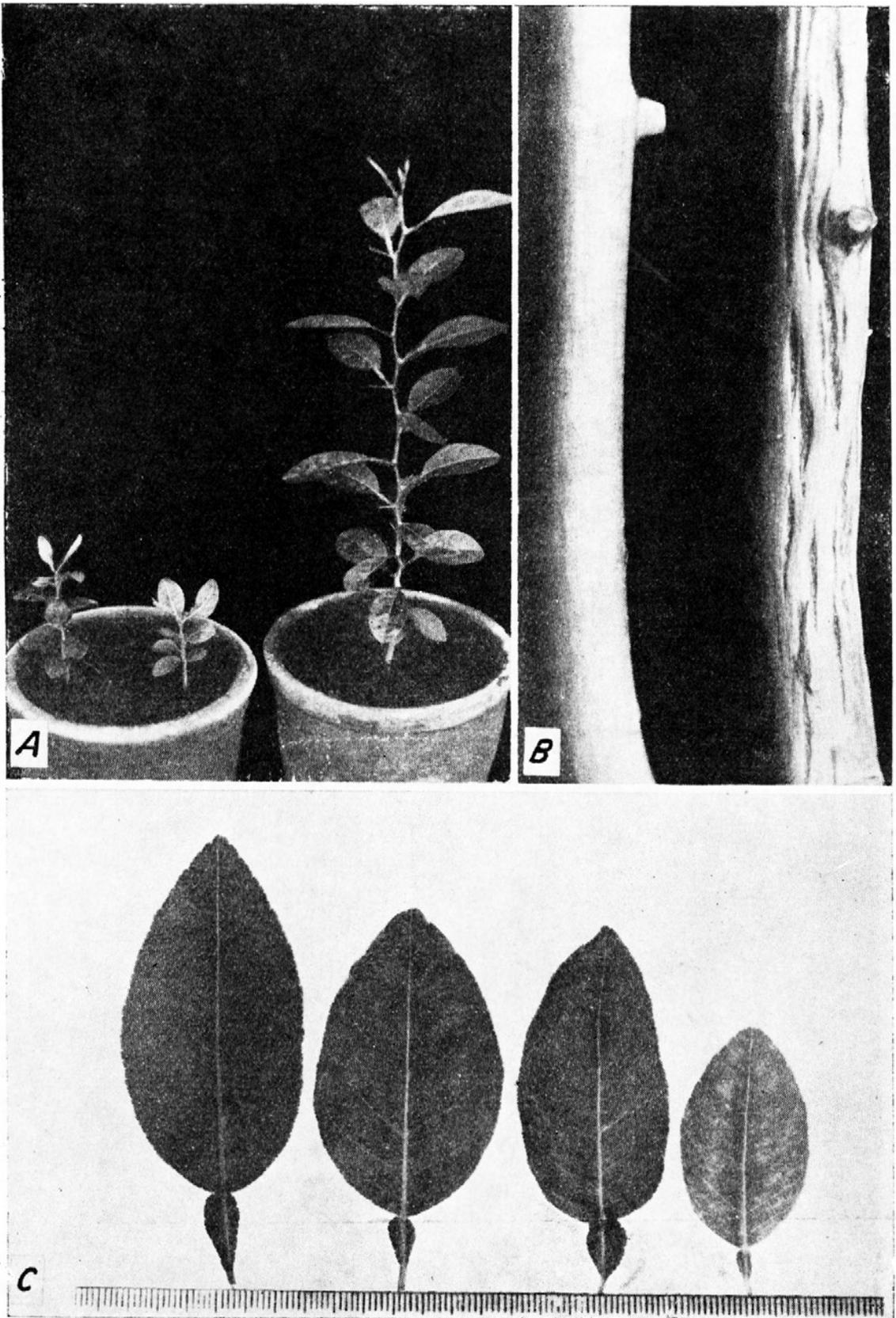
1. BACCHI, O. Identificação colorimétrica em *Citrus*:. *Bragantia* 3:[179]-191. 1943.
2. BENNETT, C. W. & COSTA, A. S. Tristeza disease of citrus. *J. agric. Res.* 78:207-237. 1949.
3. BITANCOURT, A. A.. A doença dos citrus no vale do Paraíba. *Biológico* 6:268-269. 1940.
4. CAMP, A. F. The tristeza disease of citrus in Argentina. *Proc. Fla. hort. Soc.* 61:15-19. 1949.
5. COSTA, A. S. & GRANT, T. J. Studies on transmission of the tristeza virus by the vector, *Aphis citricidus*. *Phytopathology* 41:105-113. 1951.
6. ———— & MOREIRA, S. Investigações sôbre a tristeza dos *Citrus*. *Bragantia* 9:[59]-80. 1949.
7. GRANT, T. J. & COSTA, A. S. A mild strain of tristeza virus of citrus. *Phytopathology* 41:114-122. 1951.
8. HALMA, F. F. & HAAS, A. R. C. Citrus rootstock identification. *Calif. Citrogr.* 14:162. 1929.
9. MARLOTH, R. H. The citrus rootstock problem : citrus tree propagation. *Fmg in S. Afr.* 13:226-231. 1938.
10. MARTIN, J. P. & BATCHELOR, L. D. The difficulties of replanting lands to same species of orchard trees. *In Annual Rio Grande Valley Horticultural Institute, 6th, 1952. Proceedings.* p. 1-10. [Reimpressão]
11. MENEGHINI, M. Sôbre a natureza e transmissibilidade da doença "tristeza" dos citrus. *Biológico* 12:282-287. 1946.
12. MOREIRA, S. Observações sôbre a "tristeza" dos citrus ou podridão das radículas. *Biológico* 8:269-276. 1942.
13. NORMAN, P. A. & GRANT, T. J. Preliminary studies of aphid transmission of tristeza virus in Florida. [No prelo]
14. SCHNEIDER, H., WALLACE, J. M. & DIMITAN, J. E. The pathological anatomy of bud union tissues of orange trees and its value in diagnose of quick decline. *Phytopathology* 40:24. 1950.
15. TOXOPEUS, H. G. Stock-scion incompatibility in citrus and its cause. *J. Pomol.* 14:360-364. 1937.
16. VALIELA, M. V. F. Informe preliminar acerca de la etiologia de la "podredumbre de las raicillas" de naranjo agrio injertado. *Rev. Invest. agric., B. Aires* 2:139-149. 1948.
17. WALLACE, J. M. & FAWCETT, H. S. Quick decline of orange trees — a virus disease. *Science* 105:315-316. 1947.
18. WEBBER, H. J. Production of the crop. Berkeley and Los Angeles, Univ. Calif. Press, 1948. p. 69-137 (The citrus industry, v. 2).



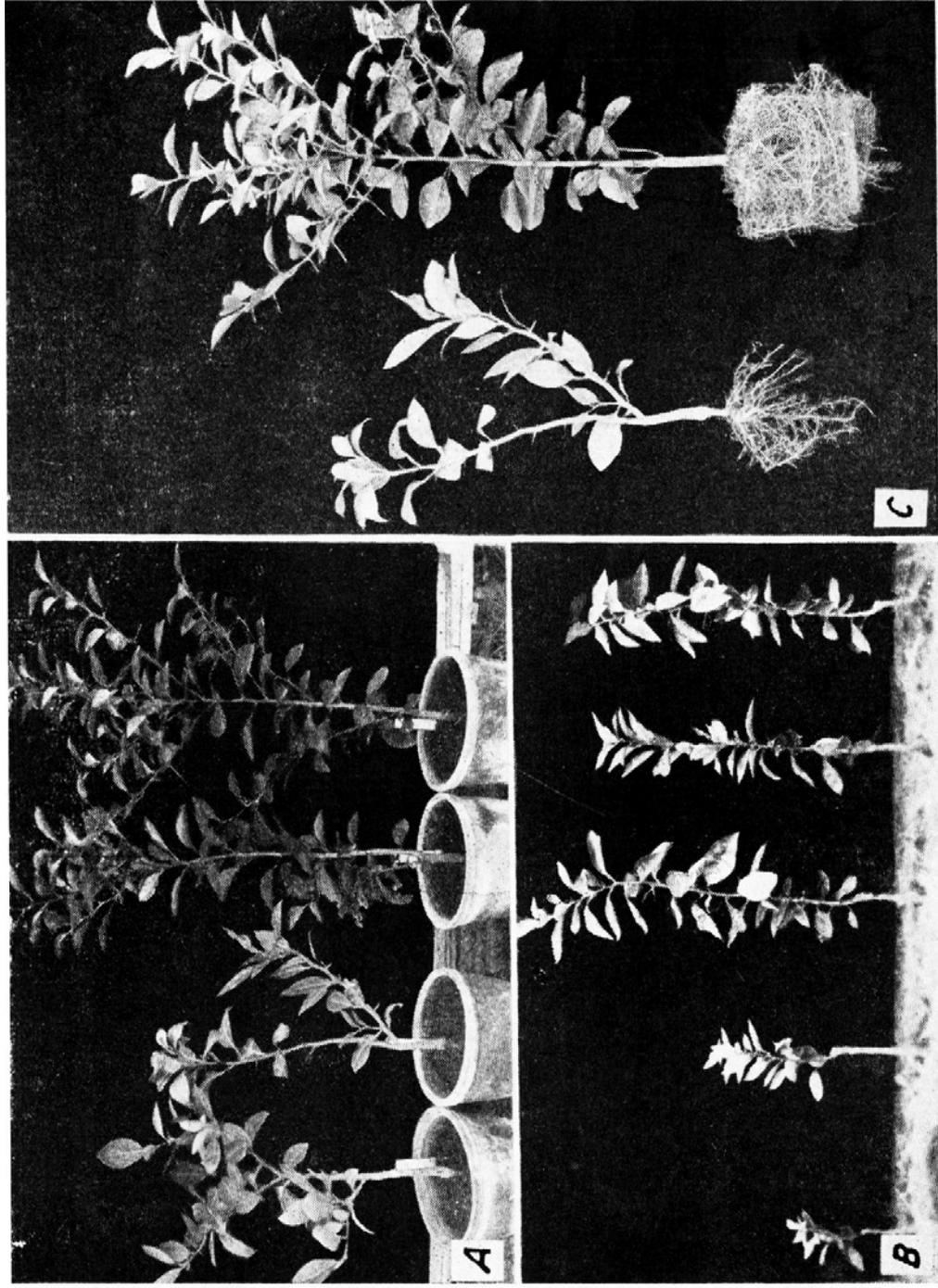
A tristeza nos laranjais. *A* — Uma planta doente entre outras sadias pode indicar a presença da tristeza no pomar. *B* — Onde há plantas enxertadas em cavalos tolerantes e intolerantes, somente estas são afetadas: laranja Bahia sobre laranja azêda (direita).



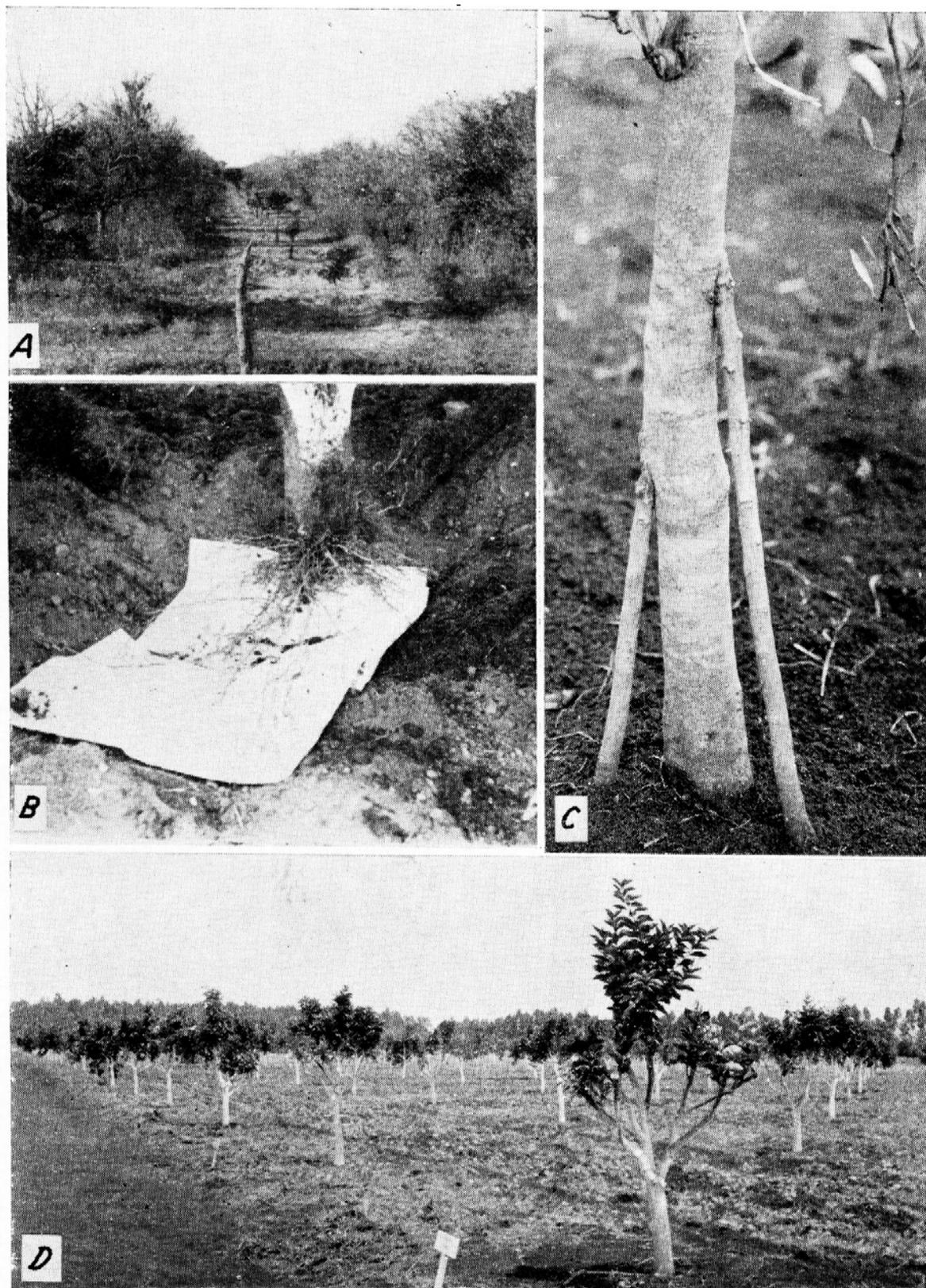
Vista aérea dos experimentos de cavalos na Estação Experimental de Limeira. Podem-se distinguir as combinações tolerantes e não tolerantes ao vírus da tristeza.



Teste do limão galego. *A* — Plantas de pé franco da mesma idade inoculadas por afídios virulíferos (esquerda) e testemunha. *B* — Galhos descascados de planta sadia (esquerda) e de planta com tristeza mostrando "pitting" no lenho. *C* — Fôlhas de planta com tristeza mostrando palidez das nervuras e de planta sadia (à esquerda).



Teste da laranja azéda. Mudras de lar. doce enxertadas em lar. azéda. *A* — Inoculadas em estufa por afídios (à esquerda) e testemunhas. *B* — Inoculadas em viveiro com borbulhas de planta doente (à esquerda) e testemunhas. *C* — Os sintomas nas fôlhas das plantas afetadas pela tristeza são, em parte, consequência da morte das raízes



Processos de controle da tristeza. *A* — Interplantação do pomar afetado com mudas enxertadas em cavalo tolerante. *B* — Afrancamento do enxerto. Raízes formadas no tronco acima do ponto de enxertia. *C* — Sub-enxertia: dois novos cavalos de laranja doce para substituir o de laranja azêda foram plantados ao lado dêste e enxertados no tronco acima do ponto de enxertia. *D* — Sôbre-enxertia: nas copas das plantas afetadas podem ser enxertadas borbulhas de limão Siciliano, Eureka, Lisboa. Em dois anos há produção novamente.