

Uma podridão nova em frutos de *Citrus* ⁽¹⁾

por

BRANQUINHO D'OLIVEIRA

Professor do Instituto Superior de Agronomia

No inverno de 1932 encontrámos frequentemente, no mercado de Lisboa, limões com uma podridão de tipo estilar, idêntica à causada pela *Alternaria citri*.

Os limões, quando colocados em câmara húmida cobriram-se rapidamente de um micélio oliváceo escuro, microscòpicamente semelhante ao da *Alternaria*, mas quando expostos ao ar, no laboratório, mostravam na margem da podridão, em linhas mais ou menos concêntricas, pequenas pontuações pretas ou castanhas escuras, ou mesmo rosadas que, observadas ao microscópio, foram identificadas como picnídios do género *Phoma*, e que externamente estavam cobertas de cadeias, mais ou menos longas, de esporos do tipo *Alternaria*.

Tendo-se admitido, em princípio, que as frutificações correspondiam a dois organismos ocasionalmente associados, e interessando saber qual deles era o verdadeiro agente da podridão, procedemos ao isolamento de esporos únicos dos dois tipos, para agar Dox e outros meios gelosados. Em todos os casos, quer as culturas fossem obtidas a partir de um quer de outro tipo de esporos, dentro de dois a quatro dias começavam a desenvolver-se pequenas formações picnídicas que, nos meios gelosados ricos em glucose, feitos com diversos extractos de frutas, casca de laranja esterilizada, etc., se cobriam passados 10 a 12 dias de frutificações que, primeiro recordavam um *Macrosporium* e depois tomavam o aspecto das cadeias de esporos do tipo *Alternaria*.

(¹) Comunicação à 7.ª Secção — Fitopatologia — do I Congresso Nacional de Ciências Agrárias, Lisboa, 1943.

Inoculações feitas por ferida da casca em limões, laranjas, toranjas e tangerinas, com inóculo de culturas puras, deram em todos os casos, dentro de 15 dias, à temperatura do laboratório, infecções que reproduziam, sob todos os aspectos, uma podridão idêntica à dos frutos de que se tinham feito os isolamentos (Fig. 1).

Posteriores experiências mostraram que o fungo só era capaz de originar infecções quando inoculado por ferida ou quando depositado na cicatriz peduncular e os frutos conservados em câmara húmida. Em nenhum caso se obtiveram inoculações positivas pela simples deposição dos esporos ou do micélio sobre a casca, sem estar maculada.

Destes resultados preliminares concluiu-se que se tratava de uma podridão de ferida cujo agente, embora com a esporulação dos tipos *Alternaria* e *Phoma*, não se podia identificar com nenhuma espécie destes géneros já descrita como agente de podridão em frutos de *Citrus*.

No verão ou outono do mesmo ano, Matilde Bensaúde, segundo nos informou mais tarde, isolou também o mesmo fungo, não estamos certos se de laranjas, se de limões, obtidos na mesma origem.

Entretanto, Marjorie Swift (Abril de 1932) publicava em *Mycologia* um pequeno estudo sobre um fungo que isolou, no Jardim Botânico de New York, de folhas secas colhidas em ramos doentes de buxo, e que classificou como *Phoma conidiogena* Schnegg (1915), já descrito anos antes, o qual o seu autor havia encontrado com frequência, em líquidos das fábricas de cerveja na Alemanha e com o qual também era inteiramente identificável o material que possuíamos.

Numa revisão da bibliografia sobre esta espécie, depressa verificámos que ela também já fora isolada em Inglaterra de tomates podres, por Brooks e Searle (1921), que a denominaram *Phoma alternariaceum*, que possivelmente já havia sido observada em França por Planchon (1900) em diversas soluções inorgânicas, e que nos Estados Unidos da América, também tinha sido isolada do ar em Columbia, por Rhoda Benham (1931), durante as suas investigações sobre a asma, em Illinois por Harris (1933) da casca de ulmeiros e, segundo me informou este investigador, também por Alexopoulos de uvas (¹).

(¹) Goidànich (1946) em trabalho publicado depois de apresentada esta comunicação, descreve, o que aparentemente é a mesma espécie, com a sinonímia de *Peyronellaea veronensis* G. Goid, sobre a maçã.

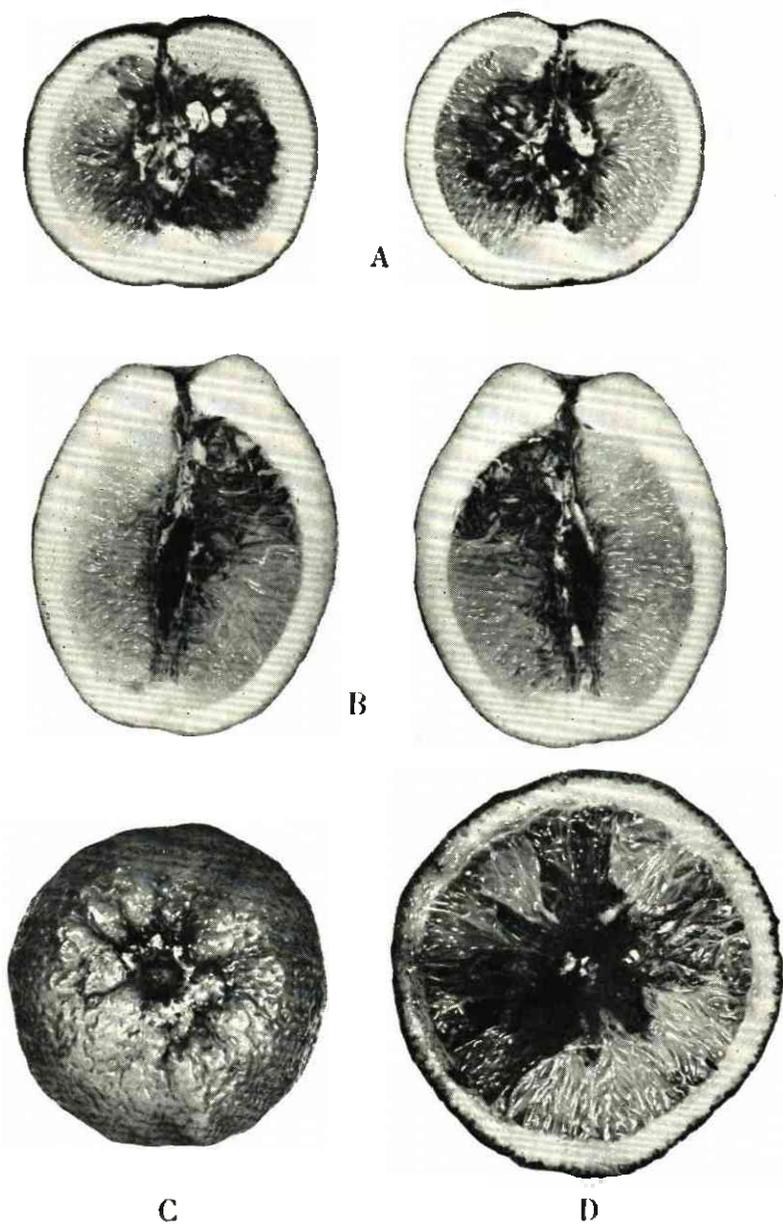


Fig. 1

Aspecto da podridão causada em laranjas pelo *Phoma conidiogena* Schnegg, cerca de 20 dias após a inoculação peduncular; corte longitudinal (A e B) e transversal (D) de frutos inoculados por ferida; (C) aspecto exterior da podridão de uma laranja obtida pela deposição do inóculo na escara peduncular

Durante o meu primeiro estágio em Cambridge, em 1933 e 1934, obtive as culturas de Books e Searle, Swift, Benham e Harris directamente destes investigadores e as de Schnegg por intermédio do Centraalbureau voor Schimmelcultures de Baarn, iniciando então um estudo comparativo de todas as estirpes, às quais pude juntar outra cultura, então isolada de folhas de macieira em decomposição, colhidas na University Farm.

As culturas que recebemos apresentavam características um tanto diferentes, quer no tipo do desenvolvimento micelial e sua coloração, quer na intensidade de esporulação. Todavia, todas as estirpes, quando inoculadas por ferida em limões, laranjas doces e azedas e toranjas produziram o mesmo tipo de podridão. Reisolamentos feitos destes frutos deram colónias de caracteres mais semelhantes entre si do que as sub-culturas que tinham servido à inoculação. Após sucessivas passagens por agar Dox com 1 % de glucose, em placas de Petri, foi possível estabelecer de todas as estirpes culturas de precoce desenvolvimento picnídico que, com a idade se tornavam escuras e se cobriam de abundantes frutificações do tipo *Alternaria*, e de esporos de dimensões muito próximas. Desta forma era possível estabelecer a identidade de todas as estirpes com a descrição de Swift (1932) e identificar com toda a segurança os nossos isolamentos com o *Phoma conidiogena* Schnegg = *Phoma alternariaceum* Brooks e Searle.

Tendo-se verificado durante o estudo cultural que todas as estirpes davam origem a frequente produção de sectores, procedemos ao seu isolamento, quer pelo processo do esporo único, quando se tratava de saltantes férteis, quer por hifas únicas, quando estes resultavam estéreis. Em 1936, quando parámos com este trabalho, possuíamos mais de 60 saltantes, que diferiam entre si no grau de fertilidade, tipo de esporulação, rapidez de crescimento, coloração e grossura das hifas, etc., muitos dos quais eram idênticos aos já descritos por Chodat (1926), para a estirpe de Brooks e Searle, mas muitos outros inteiramente diferentes.

Noutro lugar e em ocasião oportuna descreveremos os resultados a que então chegámos. Agora apenas desejamos apresentar alguns desses sectores e chamar a atenção para alguns dos casos ainda não descritos, e que nos parecem muito interessantes.

Em três saltantes, bastante semelhantes. isolados da nossa estirpe de limão e das de Brooks e Searle e de Swift, as frutificações do tipo *Alternaria*, hipnocistos de Chodat, originavam internamente microconídios, transformando-se a pouco e pouco em picnídios rudimentares

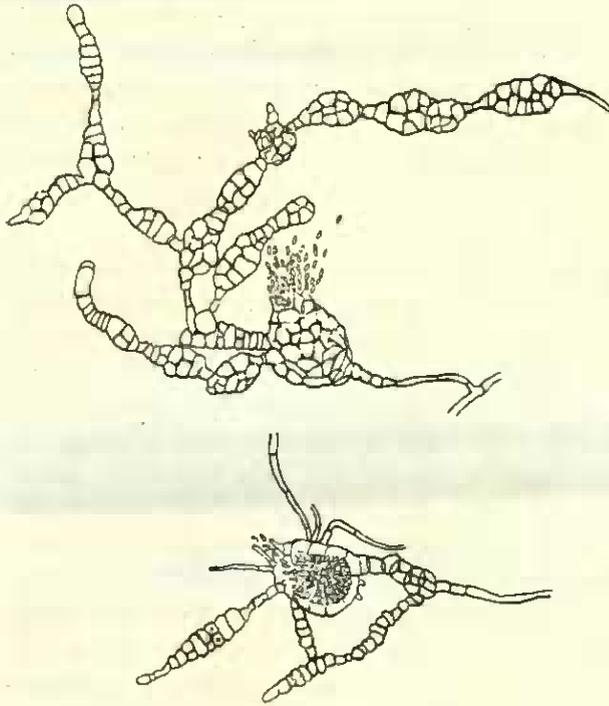


Fig. 2

Aspecto exterior e interior
de picnídios rudimentares
formados a partir de hipno-
cistos

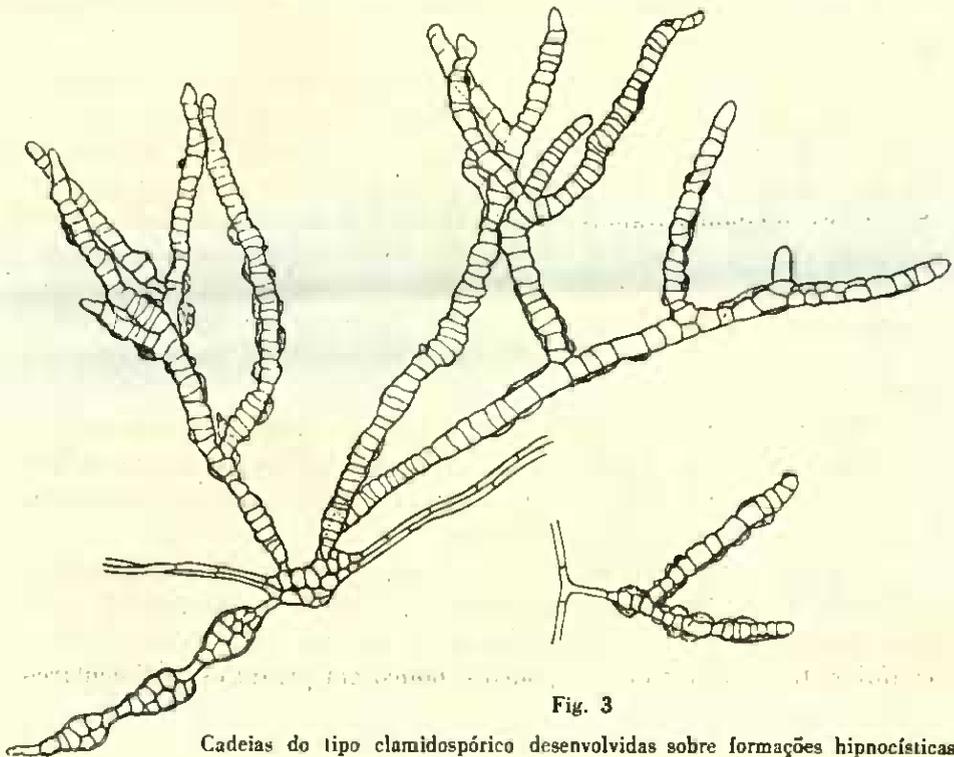


Fig. 3

Cadeias do tipo clamidospórico desenvolvidas sobre formações hipnocísticas

(Fig. 2). Em culturas velhas das estirpes de Schnegg, Brooks e Searle e da isolada de folhas de macieira, quando cultivadas em casca de laranja em tubos de Roux, observamos a produção, a partir de formações hipnocísticas, de pseudo-formações de cadeias clamidospóricas, de células mais ou menos irregulares, frequentemente com excrescências laterais, irregularmente distribuídas (Fig. 3). Em sub-culturas deste material para agar Dox glucosado, apareceram sectores onde não foi pos-

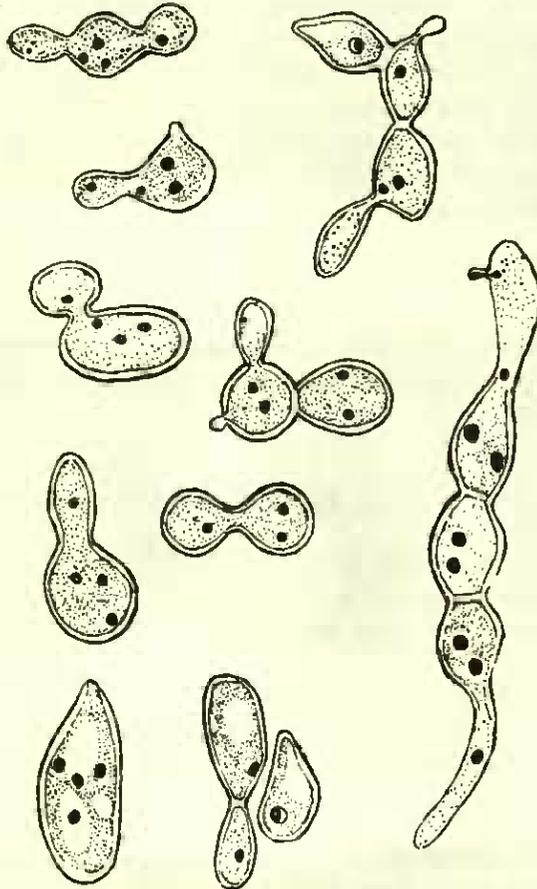


Fig. 4

Células leveduróides, obtidas em cultura líquida, fixadas com Fleming médio e coradas com hematoxilina-alúmen férrico

sível observar a formação do tipo *Alternaria* de cadeias clamidospóricas deste tipo. Isolamentos destes sectores deram culturas que mantiveram as características. Culturas de todas as estirpes, quando cultivadas em líquido Dox glucosado, e repicadas sucessivamente para o mesmo meio, a uma temperatura inferior a 20°C., acabaram por perder a faculdade de formar longas hifas miceliais, adquirindo formas leveduróides (Fig. 4). Estas células, quando transportadas para gelose, originavam

a princípio só colónias do mesmo tipo que, quando o agar secava, davam origem apenas a clamidosporos escuros, mas que quando a gelose se mantinha com grande humidade, davam origem a delicadas hifas, quase incolores, não passando nunca as colónias a ser férteis.

Todos os saltantes, que mantiveram constância de caracteres nas sucessivas sub-culturas, em meios de comparação, foram inoculados em laranjas para observar se mantinham o tipo de podridão. Em todos os casos, menos para dois saltantes albinos, a podridão resultou do mesmo tipo. Nos dois casos excepcionais, porém, além do interior da laranja não tomar a cor escura habitual, a podridão foi extremamente lenta.

Reisolamentos dos frutos inoculados com as diversas estirpes, deram em geral culturas do tipo inóculo, obtendo-se, porém, nalguns casos, a regressão imediata às colónias do tipo inicial ou então a culturas de novo tipo.

Nenhuma das culturas originais ou dos seus sectores provou ser patogénica para o tomateiro ou tomates verdes em crescimento, ou laranjeiras ou limoeiros. Muitas das próprias sementes, de laranjas, de limões e de toranjas apodrecidas, germinaram normalmente, e deram plantas que não mostraram nenhuns sintomas de doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENHAM, R. W., 1931 — *Phoma conidiogena*, an excitant of asthma: some observations on the development and cultural characteristics. *Bull. of the Torrey Bot. Club*, **58**: 203-214.

BROOKS, F. T. & SEARLE, G. O., 1921 — An investigation of some tomato diseases. *Trans. Brit. Myc. Soc.* **7**: 173-197.

CHODAT, F., 1926 — Recherches expérimentales sur la mutation chez les champignons. *Bull. Soc. Bot. Genève*, II, **18**: 41-144.

GOIDANICH, G., 1946 — Un interessante tipo di buteteratura parassitaria delle mele. *R. C. Acc. Lincei*, Ser. 8, **1**: 654-659.

HARRIS, H. A., 1933 — Initial studies of American Elm diseases in Illinois. *Bull. Illinois Dept. Reg. & Educ. Div. Nat. Hist. Survey* **20**: 70.

PLANCHON, E., 1900 — Influences des divers milieux chimiques sur quelques champignons du groupe des *Dematiées*. *An. des Scienc. Nat.*, Ser. **9,8**: 1-65.

SCHNEGG, H., 1915 — Zur Entwicklungsgeschichte und Biologie der *Pycniden*, sowie der Schlingenmycelien und Hyphenknäuel. *Centralbl. Bakt., Parasit. Infekt.*, **43**: 326-364.

SWIFT, M. E., 1932 — *Phoma conidiogena* on Box. *Mycologia*, **24**: 199-206.