

ASPECTOS DA OCORRÊNCIA DE *Phytophthora* spp. EM POMARES
CÍTRICOS EM REGIÕES DE CERRADO DO ESTADO DE GOIÁS*

Yvo de Carvalho
Victoria Rosseti**

1. INTRODUÇÃO

Os cerrados constituem o tipo de vegetação característica de, aproximadamente, 68% do território goiano, sendo a formação edáfica mais freqüente na região centro-oeste brasileira. A predominância da topografia plana, boa estrutura e textura, não obstante a reação ácida e baixa fertilidade, fazem das zonas de cerrado as regiões preferidas para culturas extensivas e altamente mecanizáveis. A fruticultura, em especial a citricultura, vem sendo implantada gradativamente nas regiões de cerrado, com condições mesológicas diferentes das baixadas e regiões litorâneas, o que possibilita o aparecimento de novos problemas, principalmente na parte fitossanitária. Dentre as doenças criptogâmicas dos citros, a Podridão do Pé, causada por espécies do gênero *Phytophthora*, destaca-se como uma das mais freqüentes e importantes nos pomares cítricos nas regiões de cerrado, provocando a degeneração e morte de inúmeras árvores cítricas. Trata-se de uma enfermidade que acarreta diminuição da produção e deprecia os frutos produzidos. No presente trabalho objetivou-se estudar a sobrevivência de *Phytophthora* spp. em solos de pomares cítricos em região de cerrado, e relacionar essa ocorrência com pH, fertilidade e característica física do solo, e com as condições climáticas no decorrer do período chuvoso e período seco do ano.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A Podridão do Pé dos citros provoca diminuição do conteúdo de açúcares redutores e não redutores, e do teor de ácido ascórbico, aumentando a concentração de etanol, metanol e ácidos orgânicos na casca (3). O coeficiente de respiração é maior

* Realizado com recursos do Conselho Nacional de Pesquisas.

Aceito para publicação em 19-04-1975.

** Respectivamente, Professor Titular da Universidade Federal de Goiás e Pesquisadora-Conferencista do Conselho Nacional de Pesquisas.

nos frutos infetados do que em frutos sadios, alcançando a razão máxima (51-69 mg CO_2/Kg por hora) 2 dias após o aparecimento inicial das lesões (4). O solo representa importante fonte de inóculo para infecção dos tecidos do caule (1). KLOTZ *et alii*, em 1965, conseguiram isolar *Phytophthora* spp. a partir de amostras de solo retiradas das proximidades da base das plantas cítricas com Podridão do Pé, tendo observado que, de 18 amostras retiradas dos 15 centímetros superficiais, 9 evidenciaram a presença desse fungo, e de 36 amostras retiradas entre 15 e 61 cm, 33 deram *Phytophthora* (?). CAMERON, em 1962, encontrou que, para *Phytophthora citrophthora* e *P. parasitica*, em meio líquido, o pH ótimo para desenvolvimento foi de 5,25 a 5,50 e 4,50, respectivamente (2). STOLZY *et alii*, em 1965, sugeriram que o apodrecimento de raízes fibrosas de citros em solos argilosos e úmidos seja consequência da ação de *Phytophthora parasitica* e *P. citrophthora* em combinação com o crescimento lento dessas raízes em ambiente pobre em oxigênio (11). KLOTZ *et alii*, em 1971, observaram que os fungos *Phytophthora parasitica* e *P. citrophthora* provocaram declínio de raízes, diminuição na formação de novas raízes, no crescimento em altura e na absorção de água pela planta. A redução da aeração provocou os mesmos efeitos, exceto declínio das raízes já formadas. A ação desses fungos foi mais notável quando houve aeração deficiente no sistema radicular das plantas (6). SCHIFFMANN-NADEL e COHEN, em 1966, observaram que o período de incubação para *Phytophthora parasitica* em frutos de laranja. Shamouti inoculados foi de 5 a 19 dias, sendo mais longo em temperaturas mais baixas (9).

No isolamento do fungo a partir de amostras do solo, um dos problemas que ocorre é o grande número de contaminantes fúngicos e bacterianos nas placas (8). SNEH, em 1972, sugeriu um meio seletivo contendo KH_2PO_4 (1,0g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5g), $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,1g), D-L treonina (1,0g), tiamina HCl (0,02g), agar (20,0g), sacarose (5,0g), óleo de milho (0,1 ml) e água (q.s.p. 1.000 ml) adicionado de pimáricina (2ppm), micostatin (10 ppm), cloranfenicol (60 ppm), penicilina G (60 ppm) e sulfato de polimixina B (60 ppm). As colônias foram reconhecidas macroscopicamente após 4 dias de incubação, e a presença de colônias de *Pythium* sp. não dificultou o reconhecimento (10). Follin, em 1971, sugeriu a adição de benlate, penicilina e polimixina a um meio de agar e feijão lima, menos oneroso e com resultados equivalentes ou melhores que o meio com pimáricina, penicilina e polimixina, usualmente empregado no isolamento de *Pythium* sp. e *Phytophthora* sp. (5).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Esse trabalho foi realizado em pomar cítrico de laranja doce sobre limão cravo, implantado em solo sob cerrado, no município de Goiânia (Go.), com idade de 12 anos aproximadamente, apresentando elevado índice de ocorrência de Podridão do Pé. Dentre as plantas apresentando lesões típicas de *Phytophthora*, foram tomadas dez, distribuídas ao acaso, e as amostras de terra foram extraídas a 20 cm de distância do caule no lado da lesão típica. As amostras foram coletadas na superfície (0 - 5 cm) entre 10 e 15 cm e entre 25 e 30 cm de profundidade. O método usado no isolamento foi o de inoculação e reisolamento a

partir do tecido da polpa de maçãs consistentes, conforme técnica usada por VAN DER SCHEER (12) para *Phytophthora cactorum*. Essa mesma técnica foi desenvolvida usando-se laranjas verdoengas para a inoculação. Um outro método usado no isolamento do fungo a partir do solo foi o de infecção da base de folhas de abacaxizeiro mediante sua introdução na amostra de terra e isolamento a partir das lesões castanhas e consistentes do tecido foliar basal. Uma parte de cada amostra de solo foi enviada ao laboratório para análise química, inclusive pH, e física, tendo-se obtido os resultados expressos nos Quadros 1 e 2.

QUADRO 1 - Análise química das dez amostras de solo do pomar cítrico. Goiânia, 1972

Nº da amostra	pH	Ca+Mg mE/100 ml	P ppm	K ppm	Al mE/100 ml
1	6,2	4,7	55	80	-
2	5,6	2,1	27	60	-
3	5,5	3,2	22	60	-
4	5,6	3,1	60	130	-
5	5,6	3,1	4	60	-
6	5,6	2,3	52	130	-
7	4,8	3,5	2	80	-
8	5,5	2,7	-	60	-
9	5,7	4,3	-	50	-
10	5,6	3,9	1	50	-

QUADRO 2 - Análise granulométrica das dez amostras de solo do pomar cítrico (fino arenoso barrento). Goiânia, 1972

Nº da amostra	Areia (%)	Argila (%)	Limo (%)
1	32,0	8,5	59,5
2	29,7	14,0	56,3
3	30,0	13,2	56,8
4	33,4	15,0	51,6
5	28,2	17,1	54,7
6	26,0	18,2	53,8
7	31,0	19,0	50,0
8	31,8	10,2	58,0
9	30,2	15,0	54,8
10	37,3	13,5	49,2

O isolamento do fungo foi realizado também a partir das lesões típicas nas mesmas dez plantas da amostragem de solo. A

técnica usada foi a de plantio direto do fragmento de tecido infetado, da zona limítrofe da lesão, em meio de agar-água (AA) e depois repicagem para batata + dextrose + agar (BDA) contido em placas de Petri. O plantio dos fragmentos no meio de cultura foi realizado assepticamente, tendo-se usado antibióticos, como a tetraciclina e estreptomicina, para inibir contaminações bacterianas.

A época de coleta de amostras para isolamento do fungo, tanto a partir do solo como de lesões, foi a segunda quinzena de março (final do período chuvoso) e primeira quinzena de setembro (final do período seco) no decorrer dos anos de 1971, 1972 e 1973.

O critério usado para os casos de resultados negativos foi repetir mais duas vezes o isolamento e considerar-se a persistência de negatividade como ausência do fungo na amostra de terra ou no fragmento lesionado ressecado. O teste de patogenicidade foi realizado apenas para algumas cepas tomadas ao acaso dentre os isolamentos obtidos.

4. RESULTADOS

A primeira série de isolamentos foi realizada em setembro de 1971, tendo-se obtido resultados positivos(+) em 3 amostras, em diferentes profundidades, no caso de isolamento a partir do solo (Quadro 3), e em 6 plantas no isolamento lesional. Nas demais plantas os resultados foram negativos.

QUADRO 3 - Resultados de isolamento a partir do solo em diferentes profundidades, no final do período seco de 1971

Plantas Nº	Profundidade			pH do solo
	0,5 cm	10-15 cm	25-30 cm	
2	+	-	-	5,7
7	-	+	+	5,4
9	-	-	+	5,5

Os resultados positivos nos isolamentos a partir dos tecidos lesionados foram obtidos nas plantas de números 2, 4, 5, 7, 8 e 10.

Em março de 1972, foram tomadas ao acaso outras dez plantas no mesmo pomar, tendo-se obtido resultados positivos (+) em apenas 2 amostras do solo, em diferentes profundidades (Quadro 4), e em 8 das 10 plantas em estudo, no caso do isolamento lesional. Esse trabalho foi repetido nas mesmas plantas no final do período seco (setembro) do mesmo ano, obtendo-se resultados positivos (+) a partir de 4 dentre 10 plantas, no isolamento lesional, e de 3, em diferentes níveis de profundidade, no caso de amostras do solo. No caso do isolamento lesional, foram obtidas cepas do fungo a partir de todas as plantas estudadas,

exceto as de número 1 e 7 no final do período chuvoso, e apenas as plantas de nº 2, 4, 8 e 10 deram resultados positivos, no final do período seco.

QUADRO 4 - Resultados de isolamento a partir do solo em diferentes profundidades, no fim dos períodos seco e chuvoso de 1972

Época	Planta nº	Profundidade			pH do solo
		0-5 cm	10-15cm	25-30cm	
Final do período chuvoso	4	+	+	-	5,0
	6	+	-	-	5,6
Final do período seco	4	-	+	+	5,3
	8	+	-	-	5,9
	9	-	+	-	6,0

Em 1973, os trabalhos foram repetidos com outras 10 plantas tomadas ao acaso, obtendo-se resultados positivos, no caso do isolamento lesional, em 8 plantas no final do período chuvoso, e em 4 plantas no final no período seco. Nos isolamentos a partir do solo, os resultados positivos foram obtidos em apenas 2 amostras no final do período chuvoso, e em 4 no final do período seco, em diferentes profundidades, conforme dados expressos no Quadro 5. Os resultados negativos no isolamento lesional no final do período chuvoso foram observados nas plantas 6 e 9, e no final do período seco nas plantas 3, 4, 6, 7, 8 e 9.

QUADRO 5 - Resultados de isolamento a partir do solo em diferentes profundidades no final dos períodos chuvoso e seco de 1973

Época	Planta nº	Profundidade			pH do solo
		0-5cm	10-15cm	25-30cm	
Final do período chuvoso	1	+	-	-	4,8
	5	-	+	-	5,2
Final do período seco	2	-	+	-	5,7
	4	-	+	+	5,3
	5	+	-	+	4,9
	10	-	+	-	6,1

5. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os resultados dessa experiência confirmam o solo e as lesões como local de sobrevivência do inóculo de *Phytophthora* spp. em pomares cítricos localizados em solos classificados como fino-arenoso-barrento, fertilidade mediana ou fraca e pH na faixa de 4,8 a 6,2.

Os dados relativos ao isolamento lesional mostraram que foi possível isolar o fungo a partir dos tecidos infetados, em amostras coletadas em diferentes épocas, sendo alcançada maior percentagem no final do período chuvoso que no final do período seco. Observou-se que, no final do período chuvoso, as lesões apresentavam aspecto típico, com a parte externa da casca exibindo aparência úmida e os tecidos internos mostrando típica descoloração para marrom, enquanto que no final do período seco as lesões exibiam aspecto ressecado, com as cascas se soltando ou revirando os bordos para fora, conferindo uma aparência bastante atípica em relação à observação anterior. Essa diferença na sobrevivência do patógeno no tecido lesionado e aspecto da lesão, se deve principalmente ao baixo teor de umidade atmosférica e à ausência total de chuvas nas regiões de cerrado no período de abril a setembro, em contraste com o período chuvoso de outubro a março.

Com relação aos resultados obtidos no isolamento do fungo a partir de amostras do solo, observa-se que houve um índice relativamente baixo de resultados positivos, e esse fato poderia ser atribuído a ineficiência da técnica usada no isolamento ou ao baixo índice de sobrevivência do fungo no solo. Com relação ao método de isolamento, observou-se que a técnica de inoculação e reisolamento a partir do tecido consistente de maçã foi mais eficiente que a mesma técnica em laranjas verdeongas, entretanto, mesmo usando-se maçãs, foram necessárias pelo menos 60 inoculações para cada subamostra de solo em cada tentativa. A técnica de infecção e isolamento a partir do tecido basal da folha do abacaxizeiro foi a que ofereceu menor índice de resultados positivos, não obstante ser menos onerosa. Considerando-se a aplicação de três técnicas de isolamento e o elevado número de repetições, é possível admitir-se que esses resultados possam dar uma visão aproximada da sobrevivência desse fungo no solo. Comparando-se os dados contidos nos Quadros 4 e 5, é possível inferir-se que a sobrevivência do fungo no solo ocorreu em maior índice no decorrer do período seco do que no período chuvoso. É possível que a ação da microflora tenha alguma influência na sobrevivência desse fungo no solo, entretanto, a julgar pelos resultados dessa experiência, parece não haver indicação de que seja um fator preponderante. Observando-se ainda os dados contidos nos Quadros 3, 4 e 5, pode-se notar que, no decorrer do período seco, houve maior índice de sobrevivência do patógeno no nível de profundidade média (10-15 cm) e máxima (25-30 cm), enquanto que no período chuvoso a sobrevivência foi máxima na camada superficial (0-5 cm) e mediana (10-15 cm). Esses resultados parecem indicar que, dentre outros fatores, a umidade e temperatura do solo atuam, possivelmente em interação com a microflora, sobre a sobrevivência do fungo em diferentes camadas do solo de cerrado. As variações nas características físicas, na fertilidade das amostras e no pH são pequenas, não permitindo portanto a-

valiar o efeito desses fatores sobre a sobrevivência do fungo no solo.

O uso de solução de tetraciclina, em diversas concentrações, sobre o fragmento infetado, no isolamento lesional, pode retardar ou mesmo inibir, dependendo da concentração, o crescimento do fungo *Phytophthora* spp. em meio de agar-água e batata-dextrose-agar.

Com base nos resultados dessa experiência é possível concluir que a sobrevivência de *Phytophthora* spp. em pomares cítricos, em região de cerrado, ocorre em lesões típicas de Podridão do Pé e no solo. As condições mesológicas nas diferentes camadas do solo afetam a sobrevivência do fungo em diferentes estações do ano.

6. RESUMO

Estudou-se a sobrevivência de *Phytophthora* spp. em lesões de Podridão do Pé e em amostras do solo de pomar cítrico em solo de cerrado. As amostragens foram feitas no final do período chuvoso e no final do período seco, tendo-se usado a técnica de inoculação e reisolamento a partir de tecido de maçã consistente e de laranja verdeoenga, e a técnica de infecção e isolamento a partir do tecido basal da folha do abacaxizeiro. A técnica de reisolamento a partir da maçã foi a mais eficiente. A sobrevivência do fungo nas lesões teve maior índice no decorrer do período chuvoso do que no período seco. No solo, a percentagem de sobrevivência foi maior no decorrer do período seco. No decorrer do período seco a sobrevivência ocorreu mais frequentemente nas camadas medianas (10-15 cm) e profundas (25-30 cm) do que na camada superficial (0-5 cm), enquanto que no período chuvoso a sobrevivência foi maior nas camadas superficial e mediana do solo. Concluiu-se que a sobrevivência do fungo no solo está correlacionada com a interação temperatura, umidade e microflora.

7. SUMMARY

Survival of *Phytophthora* spp. was studied on local lesions of the stem of citrus end in soil beneath citrus grove in the Cerrado region at the end of the rainy and dry seasons. Isolations were made using apple fruits, orange fruits, and tissue from the base of young pineapple leaves. The apple technique gave the most consistent results. The level of recovery of the fungus from the local lesions was higher at the end of the rainy season than at the end of the dry season, while in the soil, the reverse was true. At the end of the dry season the inoculum level was higher in medium (10-15 cm) and deep (25-30 cm) layers than in the superficial (0-5 cm) one, while at the end of the wet season the inoculum level was higher in the superficial and medium layers. It was concluded that the survival of the fungus in the soil is influenced by the interaction of temperature, humidity and microflora.

8. LITERATURA CITADA

1. APPLE, J.L. Persistence of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* in soil. *Plant Dis. Rep.*, Beltsville, 47: 632-4, 1963.

2. CAMERON, H. R. Effect of hydrogen ion concentration on growth rates of *Phytophthora* sp. *Phytopathology*, Saint Paul, Minn., 52(8):721-8. 1962.
3. COHEN, E. & SCHIFFMANN-NADEL, M. Respiration pattern of lemon fruit infected with *Phytophthora citrophthora*. *Phytopathology*, Saint Paul, Minn., 62(8):932-3. 1972.
4. COHEN, E. & SCHIFFMANN-NADEL, M. Post infection changes in chemical compounds of lemons caused by *Phytophthora citrophthora*. *Phytopathology*, Saint Paul, Minn., 62(11):1361-2, 1972.
5. FOLIN, J.C. L'utilisation du benomyl pour l'isolement selectif des Pythiacées. *Cot. Fibr. trop.*, Paris, 26(4):467, 1971.
6. KLOTZ, L. J.; STOLZY, L.H.; LABANAUSKAS, C.K.; & DE WOLFE, T.A. Importance of *Phytophthora* spp. e aeration in root rot and growth inhibition of orange seedlings. *Phytopathology*, Saint Paul, Minn., 61(11):1342-6, 1971.
7. KLOTZ, L.J.; STOLZY, L.H.; DE WOLFE, T.A. Rate of oxygen supply and distribution of root rotting fungi in soil. *Soil Science*, Baltimore, 99(3):200-4, 1965.
8. KLOTZ, L.J. & DE WOLFE, T.A. The production and use of zoospore suspensions of *Phytophthora* spp. for investigations on diseases in Citrus. *Plant Dis. Rep.*, Beltsville, 44(7):572-3, 1960.
9. SCHIFFMANN-NADEL, M. & COHEN, E. Length of the incubation period of *Phytophthora citrophthora* under natural conditions in citrus groves. *Plant Dis. Rep.*, Beltsville, 50(4):251-3, 1960.
10. SNEH, B. An agar medium for the isolation and macroscopic recognition of *Phytophthora* spp. from soil on dilution plates. *Cann. J. of Microbiol.*, Summerland, 18 (9):1389-92, 1972.
11. STOLZY, L.H.; LETEY, J.; KLOTZ, L.J.; LABANAUSKAS, C.K. Water and aeration as factors in root decay of *Citrus sinensis*. *Phytopathology*, Saint Paul, Minn., 55(3):270-5, 1965.
12. VAN DER SCHEER, H.A.T. Isolation of *Phytophthora cactorum* from soil in orchards and strawberry fields and differences in pathogenicity to apple. *Neth. J. Plant Path.*, Wageningen, 77(3):65-72, 1971.