

UMA DOENÇA BACTERIANA DA PIMENTEIRA DO REINO (*Piper nigrum*), NOVA PARA O BRASIL (*)

CHARLES F. ROBBS

Escola Nacional de Agronomia
Universidade Rural — Rio de Janeiro

INTRODUÇÃO

Em julho de 1958, visitando os viveiros de pimenteira do reino (*Piper nigrum*) de propriedade da Dierberger Agricola, na cidade de Limeira, Estado de São Paulo, nossa atenção foi despertada para uma doença lesionando fôlhas. Coletado o material, foi a doença estudada por nós na Universidade Rural, e que passamos a descrever.

SINTOMATOLOGIA

Os primeiros sintomas visíveis aparecem nas fôlhas, sob a forma de pequeninos pontos verdes escuros, mais visíveis na página inferior das fôlhas. Nos períodos chuvosos, época em que visitamos a chácara Dierberger, as lesões aumentam rapidamente, tomando a forma arredondada ou angular, e sendo envolvidas por um halo de tecido amarelo. Posteriormente estas lesões tomam a coloração marron ou cinza escuro e enegrecem ao secarem ou apodrecerem. Estas manchas, quando numerosas, podem coalescer, formando grandes áreas necrosadas, o que provoca o amarelecimento e queda prematura das fôlhas. As hastes são infectadas mais raramente. Nos períodos úmidos, há exsudação bacteriana visível na página inferior das fôlhas atacadas.

ESTUDOS PATOLÓGICOS

Exames microscópicos do material afetado demonstraram sempre a presença de uma bactéria dotada de pouca motilidade (em água peptonada), exsudando abundantemente nos cortes

(*) Trabalho realizado sob os auspícios do Instituto de Economia Rural da Universidade Rural.

realizados. Para isolamento do patógeno, utilizamos o método do reticulado em placas contendo ágar dextrose Difco. As culturas eram previamente purificadas por isolamentos seriados (seis vezes) antes de inoculadas, procedendo-se da mesma forma com os reisolamentos. Nos nossos trabalhos foram utilizadas seis culturas, sendo 3 do primeiro isolamento e 3 do reisolamento.

As inoculações foram realizadas em plantas cultivadas em vasos de barro, gentilmente cedidas pelo Dr. RÔMULO PELTIER GONÇALVES. As plantas eram mantidas em câmara úmida 24 horas antes e depois de inoculadas. Cêrca de 15 dias após, eram notadas lesões de tamanho médio, desde que houvesse bastante umidade. Os melhores resultados foram obtidos nas inoculações por picada. Foram também inoculados, por picada, os seguintes vegetais: alface, almeirão, repólho, couve flôr, tomate, pepino, limão, feijão (vagens). Resultados positivos foram obtidos apenas em limão (black pit) e feijão. Em todos os casos foram usadas testemunhas.

ESTUDOS MORFOLÓGICOS E FISIOLÓGICOS DO ORGANISMO ISOLADO

Métodos — Os métodos padronizados e recomendados pela Sociedade Americana de Bacteriologistas foram sempre utilizados, salvo o emprêgo de técnicas especiais, que serão devidamente mencionadas. As medições foram realizadas por coloração negativa com vermêlho Congo (Benian). Os flagelos foram coloridos pelo método Casares Gil. Os meios desidratados da Difco ou da Baltimore Biological Lab. foram empregados. A produção de fluoresceína foi observada no meio descrito por CLARA (1934). Os compostos de carbono foram adicionados ao meio sintético de AYRES, RUPP & JOHNSON na proporção de 1%, sendo que a sacarose, lactose, maltose e rafinose foram esterilizadas por filtração. O indicador utilizado foi o azul de bromo timol. Os ácidos orgânicos foram adicionados na concentração de 0,15% e usado o vermêlho de fenol como indicador.

Descrição do organismo — A bactéria isolada tem forma de bastonete, com bordos arredondados, medindo de 1,5-3 por 0,8 a 1,5 micros, ocorrendo isoladamente ou aos pares, possuindo de um a três flagelos polares. É gran negativa, não possui cápsulas e é anaeróbia facultativa. Em ágar-extrato-de-carne-peptona forma, após uma semana, colônias pequenas, arredondadas, de bordos inteiros ou ligeiramente irregulares, branco-

acinzentadas, irizadas, elevadas, butirosas, com zonas internas concêntricas, opacas e produzindo abundante pigmento verde. Caldo nutritivo túrbido, sem película. Produção abundante de fluoresceína nos meios de CLARA e de STARR. Leite tornesolado alcalino com coagulação e peptonização. Liquefaz a gelatina. Não reduz nitratos a nitritos (meios sintético e peptonado após 30 dias). Produz amônia. Não produz H₂S nem indol. Não hidroliza o amido. Produção de ácido sem gás dos seguintes carboidratos: dextrose, levulose, galactose, manose, sacarose, glicerol e manitol; não fermenta maltose, lactose, rhamnose e salicina. Produz alcali dos ácidos citrico, fórmico e acético. Não ataca o ácido tartárico.

REVISÃO DAS PSEUDOMONAS FLUORESCENTES ASSINALADAS SÔBRE PIPERACEAS

A única bactéria fluorescente assinalada sôbre Piperaceae é a espécie mal descrita por RAGUNATHAN em 1928 e atacando *Piper betle*. A sintomatologia desta doença, descrita no Ceilão, e já assinalada nas ilhas Mauritius, é idêntica à doença encontrada na chácara Dierbeger em *Piper nigrum*.

ESTUDO COMPÁRATIVO DA PSEUDOMONAS DE PIPER NIGRUM

Infelizmente, não possuímos na coleção de cultivos puros do Laboratório de Fitopatologia da Escola Nacional de Agronomia, espécies típicas de diversas *Pseudomonas* fluorescentes, para que pudéssemos levar a efeito um estudo comparativo rigoroso com a espécie isolada da pimenteira do reino. Tratando-se de um patógeno que pode atacar outros hospedeiros de família botânica diferente, como ficou constatado pelas inoculações positivas obtidas em frutos verdes de limão (*Citrus limonia*) e vagens de feijão (*Phaseolus vulgaris*), poderíamos colocar o patógeno no grupo polífago de *Pseudomonas* fluorescentes proteolíticas, representados principalmente por *Pseudomonas syringae* Van Hall e *Pseudomonas marginalis* (Brown). Embora o trabalho de CLARA se refira a *P. syringae* como não fermentadora de sacarose, trabalhos mais recentes como o de SMITH (1944) e o de BERGEY (1957) demonstram o contrário. O mesmo acontece com *P. marginalis* que, embora citada no trabalho de BERGEY (1957) como não fermentadora de sacarose, é referida por FRIEDMAN (1951), MUNTANOLA (1948) e BROWN (1918) como fermentadora, produzindo ácido. A única diferença do nosso patógeno com *P. marginalis* é o de não produzir sintomas típicos em alface, assemelhando-se

nêste particular com *P. syringae* e também pelas lesões que causa em frutos de limão, assemelhando-se ao "black pit". Assim, pela semelhança dos caracteres culturais e fisiológicos bem como, da patogenicidade e sintomatologia, nos leva a identificar o agente da "bacteriose" da Pimenteira do reino como *Pseudomonas syringae*. Cabe ainda acrescentar que, embora *P. syringae* já tenha sido assinalada no Brasil por COSTA NETO (1947), esta é a primeira vez que se faz um estudo detalhado sôbre o patógeno em nosso país.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- BERGEY et al., 1957 — *Manual of determinative bacteriology*, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 7a. edição.
- BROWN, N. A., 1918 — *Jour. Agric. Res.* 13: 367-388.
- CLARA, F. M., 1934 — Cornell (N.Y.) Agric. Exp. Stat., Memoir 159.
- Committee on bacteriological Technic, Soc. Amer. Bacteriolog., Manual of methods for pure culture study of bacteria., Biotech. Public., Geneva, N. Y., 1951.
- COSTA NETO, J. P., 1937 — *Rev. Agronômica* (Porto Alegre). 1 (números 6 a 11).
- ELLIOT, C., 1951 — *Manual of bacterial plant pathogens*, Pub. por Chronica Botanica Co., Mass., U.S.A., 2a. edição.
- FRIEDMAN, B. A., 1951 — *Phytopat.* 41: 880-887, 1 fig.
- MUNTANOLA, M., 1948 — *Minist. Agric., Argentina* (B. Ayres), Série A, ano 4, n. 40. pp. 1-11, 2 figs.
- SMITH, M. A., 1944 — *Journ. Agric. Res.* 68: 269-298.