# Inibição in vitro de Xanthomonas campestris pv. viticola por indutores de resistência

In vitro inhibition of Xanthomonas campestris pv. viticola by resistance inducers

Leila Oliveira Santos<sup>1</sup>; Valéria Sandra de Oliveira Costa<sup>1</sup>; Elizângela Batista Freire<sup>2</sup>; Diógenes da Cruz Batista<sup>3</sup>; Daniel Terao<sup>3</sup>; Maria Angélica Guimarães Barbosa<sup>3</sup>.

#### Resumo

O cancro bacteriano, causado por Xanthomonas campestris pv. viticola (XCV), é um dos principais problemas fitossanitários da videira nas áreas irrigadas do Submédio São Francisco. Na busca de alternativas para o controle desta doença, têm-se realizado testes com indutores de resistência. No entanto, é necessário conhecer os mecanismos de ação desses produtos. Com o objetivo de verificar se os indutores de resistência estudados possuem atividade antibacteriana, foi avaliada a inibicão in vitro de XCV por indutores de resistência. Foi realizado um antibiograma com três isolados de XCV: XCV13; XCV17 e XCV46 e quatro indutores de resistência, sendo eles: Bion<sup>®</sup>, Agro-Mos<sup>®</sup>, Soil-Set<sup>®</sup> e Metabissulfito de sódio (ERP-20), além de oxicloreto de cobre e água destilada esterilizada que foram utilizados como padrão positivo e negativo, respectivamente. O isolado XCV46 apresentou diferença significativa quanto à sensibilidade ao cobre e apenas oxicloreto de cobre e Soil-Set inibiram significativamente o crescimento de patógeno, diferindo entre si e dos demais tratamentos (teste de Tukey,P=0,05).

**Palavras-chave**: cancro-bacteriano, controle químico, indução de resistência.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Bolsista CNPq/Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Estagiária Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Pesquisador(a) da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE. E-mail: angelica.guimaraes@cpatsa.embrapa.br.

## Introdução

O cancro-bacteriano da videira, causado por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Nayudu) Dye, foi detectado em parreirais do Submédio São Francisco em 1998, em plantios da cultivar Red Globe (MALAVOLTA JÚNIOR et al., 1998). Desde o aparecimento da bactéria na região, a área plantada com Red Globe diminuiu consideravelmente. Em decorrência da expressiva incidência da doença em diversas cultivares de videira, a prática na região é concentrar a produção em apenas um ciclo, no segundo semestre, quando a ausência ou ocorrência esparsa de chuvas desfavorece a disseminação do patógeno.

As informações disponíveis sobre o cancro-bacteriano são poucas, mesmo mundialmente, considerando-se que, anteriormente, essa doença foi relatada apenas na Índia, onde não causou grandes prejuízos em parreirais infectados (NAYUDU, 1972).

O manejo da doença vem sendo baseado em um conjunto de práticas culturais e químicas que devem ser adotadas durante o período seco do ano (NASCIMENTO, 2000). Dentre as medidas preconizadas para o manejo da doença, está a utilização de cúpricos, no entanto, produtos químicos não são eficientes no controle do cancro-bacteriano (CHAND,1992), e diante da falta de uma cultivar resistente e de outros métodos de controle efetivos para o manejo desta doença, têm-se demandado esforços para desenvolver estratégias alternativas de controle, sendo uma delas, o uso de indutores de resistência sistêmica adquirida (RSA).

O tratamento localizado de plantas com certos químicos bióticos e abióticos pode resultar na indução local ou sistêmica de resistência de plantas a doenças causadas por patógenos (LOON et al., 1998). A resistência induzida por esses tratamentos é geralmente caracterizada pela redução no tamanho e/ou número de lesões que se desenvolvem após a inoculação da planta induzida com um patógeno virulento e algumas vezes, com a reação de hipersensibilidade induzida por um patógeno avirulento (BAYSAL et al., 2005). Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi verificar se os indutores de resistência possuíam alguma atividade antibacteriana sobre *X. campestris* pv. *viticola* (XCV), tendo-se em vista a necessidade de descartar possível efeito bactericida ou bacteriostático sobre o patógeno, visto que busca-se a ação do produto apenas sobre a planta, de forma a não provocar danos ao meio ambiente nem selecionar isolados do patógeno resistentes a esses produtos.

#### Material e Métodos

O ensaio in vitro foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE pelo método de antibiograma modificado (MARIANO et al., 2005). Foram utilizados três isolados de XCV: XCV13; XCV17 e XCV46, obtidos de plantios comerciais de videira da variedade Red Globe, sendo os isolados XCV13 e XCV 17 provenientes do município de Petrolina, PE e o isolado XCV46 proveniente de Juazeiro, BA. Foi preparada uma suspensão concentrada de cada isolado e adicionados 2 mL de cada suspensão, individualmente, em Erlenmeyers contendo 200 mL de meio bacteriológico NYDA (ágar nutritivo, glicose, extrato de levedura e água) fundente. Foram testados quatro indutores de resistência, sendo eles: Bionº, Agro-Mosº, Soil-Setº e Metabissulfito de sódio (ERP-20). Oxicloreto de cobre e água destilada esterilizada foram utilizados como padrão positivo e negativo, respectivamente. As dosagens utilizadas dos produtos foram as recomendadas pelos fabricantes. Após solidificação do meio, foram depositados discos de papel filtro, com 6 mm de diâmetro, embebidos na solução de cada produto e um dos discos em água destilada esterilizada. As placas foram incubadas em B.O.D. (Biochemistry Oxigen Demand), na temperatura de 28 °C. A avaliação foi realizada 48 horas após a incubação por meio da medição do halo de inibição, em sentidos diametralmente opostos, com o uso de régua milimetrada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3x6, correspondendo a três isolados bacterianos e seis tratamentos (Bion®, Agro-Mos®, Soil-Set® Metabissulfito de sódio, Oxicloreto de cobre e água), com sete repetições. Os dados foram transformados em  $(x + 0.5)^{1/2}$  e submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey (P=0,05). As análises foram realizadas com auxílio do programa SAS.

#### Resultados e Discussão

Dos produtos testados, oxicloreto de cobre e Soil-Set® inibiram o crescimento de XCV in vitro, tendo sido observada interação entre os isolados e os tratamentos testados (Tabela 1). Dos isolados, apenas o XCV46 diferiu dos demais quando submetido ao tratamento com oxicloreto de cobre (Pd^0,05), indicando haver diferença na sensibilidade de isolados de XCV ao cobre. Apesar de não haver nenhum produto registrado para o controle desta bactéria, é recomendada a utilização de produtos à base de cobre como medida de prevenção ao cancrobacteriano e no controle de várias doenças da videira. A diferença na

sensibilidade de XCV ao cobre já havia sido relatada (ARAÚJO, 2001; MARQUES; FONSECA; 2005) e, segundo Cooksey (1990), o uso contínuo e, muitas vezes, indiscriminado, de compostos cúpricos na agricultura tem levado à ocorrência de bactérias fitopatogênicas ou saprofíticas resistentes ao cobre. A ausência de inibição de XCV pelo Bion®, pelo Agro-Mos® e pelo ERP-20 atende aos pré-requisitos dos indutores de resistência, visto que estes produtos se caracterizam por atuar de modo semelhante ao ácido salicílico, potencializando as defesas da planta contra a chegada de um patógeno sem, no entanto, atuar diretamente sobre os microrganismos. A ação bactericida do Soil-Set® deve-se, possivelmente, à presença de cobre em sua formulação.

**Tabela 1.** Efeito de indutores de resistência sobre o crescimento in vitro de *Xanthomonas campestris* pv. *Viticola.* 

Produtos	Isolados		
	XCV 13	XCV 17	XCV 46 <sup>1</sup>
Oxicloreto de cobre	27,00Aa*	28,89Aa	23,79Ba
Soil-Set®	8,57Ab	7,86Ab	8,25Ab
Bion <sup>®</sup>	0 Ac	0 Ac	0 Ac
Agro Mos®	0 Ac	O Ac	0 Ac
ERP-20	0 Ac	O Ac	0 Ac
Testemunha	0 Ac	0 Ac	0 Ac
CV = 5.7%			

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Halo de inibição em milímetros (mm).

#### Conclusões

Os isolados testados apresentam diferença na sensibilidade ao cobre. O produto Soil-Set® possui atividade antibacteriana. Os produtos Bion®, Agro-Mos® e ERP-20 podem ser utilizados como indutores de resistência.

<sup>\*</sup>Médias originais de sete repetições. Os dados foram transformados em  $(x+0,5)^{1/2}$  para realização da análise de variância. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na horizontal e minúscula na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (P=0,05).

## Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa concedida.

### Referências

ARAUJO, J. S. P. Perfil epidemiológico e subsídios para controle de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Nayudu) Dye, agente do cancro bacteriano da videira (*Vitis vinifera* L.) no Brasil. 2001. 121 f. (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

BAYSAL, Ö.; TURGUT, C.; MAO, G. Acibenzolar-S-methyl induced resistance to *Phytophthora capsici* in pepper leaves. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 49, n. 4, p. 599-604, 2005.

CHAND, R. Sources of resistance to grapevine bacterial canker disease in *Vitis*. Indian Institute of Horticultural Research, Bangalore, v. 31, p. 83-86, 1992.

COOKSEY, D. A. Genetics of bactericide resistance in plant pathogenic bacteria. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, v. 28, p. 201-219, 1990.

LOON, L. C. van; BAKKER, P. A. H. M.; PIETERSE, C. M. J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 36, p. 453-483, 1998.

MALAVOLTA JUNIOR, V. A.; ALMEIDA, I. M. G.; SUGIMORI, M. H.; RIBEIRO, I. A.; RODRIGUES NETO, J.; PIRES, E. J. P.; NOGUEIRA, E. M. C. Ocorrência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em videira no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 23, p. 211, 1998.

MARIANO, R. L. R., ASSIS, S. M. P.; SILVEIRA, E. B; GOMES, A. M. A. Produtos biológicos e alternativos para controle de bactérias fitopatogênicas. In: MARIANO, R. L. R; SILVEIRA, E. B (Coord.) Manual de práticas em fitobacteriologia. Recife: UFRPE, 2005. p. 115-117.

MARQUES, A. S. A.; FONSECA, F. C. *Xylophilus ampelinus*: Bactéria quarentenária com risco para a cultura da videira no Brasil. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. 7 p.(Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Comunicado Técnico, 133).

NASCIMENTO, A. R. P. Sensibilidade "in vitro" de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* a bactericidas e fungicidas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 25, p. 326-327, 2000.

NAYUDU, M. V. *Pseudomonas viticola* sp. nov., incitant of a new bacterial disease of grape vine. **Phytopathologishe Zeitschrift**, Berlin, v. 73, p. 183-186,1972.