

Foto: C.G. Panagopoulos – Agricultural University, Atenas, Grécia



***Xilophilus ampelinus*: Bactéria quarentenária com risco para a cultura da videira no Brasil**

Carolina F. Fonseca¹
Abi S. A. Marques²

Introdução

A necrose bacteriana da videira foi identificada pela primeira vez na Itália no século 19 e o agente causal identificado na Grécia por Panagopoulos (1969) que o caracterizou e descreveu como *Xanthomonas ampelina*. Posteriormente, a bactéria foi renomeada como *Xylophilus ampelinus* (Willems *et al.* 1987). Na França, em 1985, a mesma doença foi atribuída à bactéria *Erwinia vitivora* (Prunier *et al.*, 1970), mas com a descrição de *X. ampelinus*, foi provado que a doença era causada por esta bactéria. O mesmo aconteceu na África do Sul e na Itália.

A necrose bacteriana da videira reduz a produtividade e encurta a vida das plantas, causando grandes perdas econômicas. Os prejuízos causados pela doença variam, dependendo da cultivar afetada, das condições climáticas do local e pela ocorrência de raças mais agressivas do patógeno, podendo causar desde perdas de parte da produção até a perda total (Dreo *et al.*, 2005) Sua distribuição geográfica está indicada na Fig. 1.

¹ Graduanda, Agronomia, Universidade de Brasília, E-mail: carolf@cenargen.embrapa.br

² Eng. Agr., PhD., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. E-mail: amarques@cenargen.embrapa.br



Fig. 1 – Distribuição geográfica de *Xylophilus ampelinus*
 (Fonte: <http://www.agric.wa.gov.au/agency/Pubns/factsheets/2000>)

Posição taxonômica de *Xylophilus ampelinus*

A bactéria causadora da necrose bacteriana da videira, *Xylophilus ampelinus* Willems *et al.* 1987 ocupa a seguinte posição taxonômica:

Divisão: Gracilicutes

Classe:

Grammaproteobacteria

Família: Pseudomonadaceae

Sinonímia

A bactéria causadora da necrose bacteriana da videira recebeu as seguintes denominações:

Bacillus vitovorus Baccharini 1893

Xanthomonas ampelina

Panagopoulos 1969

Xylophilus ampelinus Willems *et al.* 1987

Nomes da doença

A necrose bacteriana da videira é conhecida em inglês como “Bacterial blight of grapevine”, em espanhol como “Necrosis Bacterian”, em francês como “Maladie d’Óleron” ou

“Maladie Bactérienne” e em grego como “Tsilik Marasi”.

Distribuição geográfica

A distribuição geográfica da necrose bacteriana da videira é bastante reduzida (Fig. 1). Ocorrências do patógeno foram relatadas na **Europa** nos seguintes países: França, Grécia, Moldávia, Alemanha, Portugal e Eslovênia, sendo que em Portugal a ocorrência não está confirmada; na **Ásia**, a doença foi verificada na Turquia, de onde já foi erradicada; na **África**, os países atingidos são a África do Sul e a Tunísia (ocorrência também não confirmada); na **América do Norte** a bactéria está presente nos Estados Unidos; na **América do Sul**, a presença dos sintomas descritos na Argentina foram atribuídos a *Erwinia vitivora* (Quarantine..., 2000).

Não há relatos da ocorrência de *X. ampelinus* no Brasil. A bactéria é regulamentada como Praga quarentenária A1 para o Brasil e para a região do COSAVE (Brasil, 1999).

Sintomas

No campo, a bactéria afeta o sistema vascular, atingindo-o a partir de pontos de entrada que podem ter sido abertos durante a poda. Pelo tecido xilemático, ela acaba por afetar diversos órgãos da planta. Os brotos que se encontram perto dos locais de poda são geralmente os mais afetados (Pearson, 1990).

Os sintomas mais comuns são: manchas escuras (marrons ou violáceas) que podem evoluir para rachaduras ou cancos profundos, nos entrenós e no pedúnculo e ráquis dos cachos; ramos com amadurecimento irregular em plantas com faixas longitudinais verde-amareladas em plantas no final do ciclo vegetativo; manchas angulares roxas ou escuras com um halo oleoso nas folhas (Figura 2) da base dos ramos, além de manchas necrosadas no pecíolo e dessecação marginal do limbo. As flores podem tomar uma coloração arroxeada e consistência dura, e

acabam caindo, causando queda na produção. As raízes também podem ser atacadas, resultando no retardamento do crescimento dos galhos. Além destes sintomas, em condições favoráveis, pode ocorrer a seca progressiva de ramos e a conseqüente morte da planta (Quarantine..., 2000).

Os sintomas mais característicos da doença são cancos que se desenvolvem na primavera, em galhos verdes. Estes galhos racham e os tecidos do xilema ficam expostos. Os cancos ocorrem nos pecíolos das folhas causando uma necrose característica na folha. Estes podem também aparecer em flores primárias e secundárias e nos talos dos frutos. Os sintomas aparecem também quando as condições climáticas são bastante favoráveis, como alta umidade e chuva, durante a primavera. *X. ampelinus* é um patógeno sistêmico, que infecta o tecido do xilema, hibernando neste (Manceau *et al.*, 2005).



Figura 2 - Sintomas da necrose bacteriana da videira em folhas.
(Foto: C.G. Panagopoulos – Agricultural University, Atenas, Grécia)
Morfologia e Metabolismo Celular

X. ampelinus é uma bactéria gram-negativa com um flagelo polar. Em cultura a 25 °C o crescimento é lento. A bactéria não apresenta consistência mucosa, é lisa, amarela, circular, forma colônias inteiras atingindo 0,4 a 0,8 mm de diâmetro dentro de 6 a 10 dias em meio de levedura, glicose e agar, que é favorável a um crescimento médio (Bradbury, 1986; Bradbury, 1991).

Bioecologia

A doença é associada a climas quentes e úmidos, e sua expansão é favorecida por irrigação aérea. A temperatura ideal para o crescimento da bactéria está entre 20 e 25 °C (Quarantine..., 2000).

Embora *in vitro* temperaturas acima de 33 °C se tornem letais, a nível de campo, a bactéria parece não ser afetada pelas altas temperaturas de verão. As chuvas, especialmente na primavera e verão, favorecem a doença, enquanto a sucessão de vários anos de seca a controla.

O patógeno pode ser transmitido por instrumentos de poda, infectando os tecidos através de ferimentos causados por ela, principalmente quando o clima está úmido. A água utilizada para irrigação também pode transmitir a doença.

Epidemiologia e controle

A epidemiologia do cancro da videira indica que nenhum inseto vetor de real importância foi encontrado. A principal fonte de infecção é aparentemente materiais de propagação infectados e

bactérias epifíticas que penetram através de ferimentos naturais ou artificiais (Dreo *et. al*, 2005)

A bactéria se conserva durante o inverno principalmente na parte aérea da planta, em especial na base de ramos infectados e nos restos da poda. Através do xilema, infecta os brotos novos, ramos, folhas e cachos. Os cancos desenvolvidos nos ramos novos são a fonte de inóculo para infecção direta, através de estômatos, durante as estações úmidas (Quarantine..., 2000).

A dispersão natural do patógeno é limitada aos vinhedos e áreas próximas. No comércio internacional, a bactéria pode ser disseminada através de mudas de videira infectadas (Quarantine..., 2000).

A disseminação da necrose bacteriana foi atribuída a mudanças nas técnicas de cultivo utilizadas nos vinhedos (Ridé, 1996).

Em vinhedos afetados pela doença recomenda-se realizar a poda no período máximo de repouso vegetativo da plantas, começando pelas de aparência sadia, deixando para o final as com sintomas.

Eliminar todas as partes afetadas da planta, inclusive braços inteiros se for necessário; desinfetar a tesoura de poda a cada duas plantas, ou pelo menos após algumas plantas podadas e, desinfetar sempre, quando passar de uma planta doente para uma planta sadia; queimar todo o resto de poda; arrancar e queimar plantas muito afetadas; não abusar de adubos nitrogenados; fazer tratamentos com cúpricos, especialmente com a calda bordalesa por sua aderência e persistência, sendo um tratamento logo após a poda (500 g de cobre metálico por 100 litros de água) e,

outro no período compreendido entre a fase vegetativa ponto verde e primeiras folhas expandidas (250 g Cu/100 litros) (ref.)

Procedimentos de inspeção e detecção

Um método recomendado para a detecção de *X. ampelinus* é o isolamento da bactéria em meio sólido. Serfontein *et al.* (1997) descreveu um método aprimorado o qual ainda não é totalmente satisfatório, pois não existe nenhum meio seletivo específico para *X. ampelinus* (Manceau *et al.*, 2005).

A comprovação da identidade da bactéria somente pode ser efetivada através de testes laboratoriais, tais como:

- **Isolamento em meio de cultura seletivo** - O crescimento da bactéria em meio de cultura é lento, levando em torno de 6 dias para formar pequenas colônias de 0,2 a 0,3 mm. Para atingir diâmetro de 1 mm são necessários mais de 15 dias de incubação. Estas colônias são lisas, de forma arredondada, de contorno irregular e de coloração amarelada.

- **Testes sorológicos** - Pode ser utilizado o teste imunoenzimático de ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) que é encontrado no mercado em forma de kits de diagnose. Também pode ser detectada pela técnica de imunofluorescência indireta.

- **Microscopia eletrônica** - Em amostras devidamente preparadas, as células bacterianas podem ser visualizadas, com dimensões aproximadas de 2,3 x 0,6 µm (ref.)

- **Deteção por PCR** – deteção específica pode ser realizada a partir diferentes partes da planta (tronco, galhos lenhosos, ponteiros, folhas e exudato de seiva), por PCR, após recuperação da bactéria dos tecidos da planta e extração do DNA. Oligonucleotídeos específicos foram desenvolvidos e a visualização dos produtos de PCR feita por eletroforese em gel de agarose ou por um procedimento ELISA (Manceau *et al.*, 2005).

Medidas quarentenárias

No Brasil, *X. ampelinus* é considerada uma praga quarentenária A1, ou seja, não está presente no País, porém possui características de ser causadora potencial de importantes danos econômicos, caso ocorra sua introdução (www.agricultura.gov.br).

Para que não ocorra a disseminação desta praga, existem medidas de controle a serem tomadas:

Para áreas não afetadas pela doença, as mudas ou material vegetativo devem ser provenientes de locais onde a doença não ocorra, ou devem vir com atestados de sanidade de órgão oficial especializado na diagnose da bactéria.

Mesmo em áreas onde a doença ocorre, quando vai se implantar um novo vinhedo ou replantar vinhedos afetados é fundamental que se obtenha material de origem idônea, comprovadamente livre da doença, elegendo as cultivares menos sensíveis, adaptadas às condições regionais.

Agradecimentos

A C.G. Panagopoulos (Agricultural University, Atenas, Grécia), pela permissão para utilização das fotos. A Sérgio Eustáquio de Noronha pela confecção do mapa.

Referências Bibliográficas

(Quarantine..., 2000).

BRADBURY, J.F. **Guide to plant pathogenic bacteria.** Wallingford, UK: CAB International, 1986. 332 p.

BRADBURY, F. F. IMI description of fungi and bacteria no. 1050. *Mycopathologia* 115:63-64. 1991.

BRASIL, 1999. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa SDA nº 38, de 14 de outubro de 1999.

DREO, T., SELJAK, G., JANSE, J. D., VAN DER BELD, I., TJOU-TAM-SIN, L., GORKINK-SMITS, P. & RAVNIKAR, M. First laboratory confirmation of *Xylophilus ampelinus* in Slovenia. 2005. OEPP/EPPO, *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 35:149 – 155.

<http://www.agricultura.gov.br/>

http://www.eppo.org/QUARANTINE/bacteria/Xylophilus_ampelinus/XANTAM_ds.pdf

MANCEAU, C., GRALL, S., BRIN, C., & GUILLAUMES, J. Bacterial extraction from grapevine and

detection of *Xylophilus ampelinus* by a PCR and Microwell plate detection system. 2005. OEPP/EPPO, *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 35:55–60

PANAGOPOULOS, C.G. 1969. The disease “Tsilik Marasi” of grapevine: its description and identification of the causal agent (*Xanthomonas ampelina* *Xanthomonas ampelina* sp. Nov.). *Ann. Inst. Phytopathol. Benaki* 9:59-81.

PEARSON, R.C. & GOHEEN, A.C. eds. *Compendium of grape disease.* St. Paul, Minnesota: American Phytopathological Society, 1990, 93 p.

PRUNIER, J. P., M. RIDE, R. LAFON, AND J. BULLIT. 1970. La nécrose bactérienne de la vigne. *C. R. Acad. Agric. France* 56:975-982.

RIDE, M. 1996. La nécrose bactérienne de la vigne: données biologiques et épidémiologiques, bases d'une stratégie de lutte. *C. R. Acad. Agric. France* 82:31-50.

SERFONTEIN, S., SERFONTEIN, J.J., BOTHA, W.J. & STAPHORST, J.L. (1997) The isolation and characterization of *Xylophilus ampelinus*. *Vitis* 36, 209–210.

WILLEMS A, GILLIS M, KERSTERS K, VAN DEN BROEKE L & DE LEY J (1987). Transfer of *Xanthomonas ampelina* Panagopoulos 1969 to a new genus, *Xylophilus* gen. nov., as *Xylophilus ampelinus* (Panagopoulos 1969) comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 37, 422–430.

| | | | |
|---|---|--|--|
| <p>Comunicado Técnico, 133</p> <p>Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento</p> | <p>Exemplares desta edição podem ser adquiridos na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Serviço de Atendimento ao Cidadão Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) – Brasília, DF CEP 70770-900 – Caixa Postal 02372 PABX: (61) 448-4600 Fax: (61) 340-3624 http://www.cenargen.embrapa.br e.mail:sac@cenargen.embrapa.br</p> <p>1ª edição 1ª impressão (2005):</p> | <p>Comitê de Publicações</p> <p>Expediente</p> | <p>Presidente: <i>Maria Isabel de Oliveira Penteado</i></p> <p>Secretário-Executivo: <i>Maria da Graça Simões Pires Negrão</i></p> <p>Membros: Arthur da Silva Mariante Maria Alice Bianchi Maria da Graça S. P. Negrão Maria de Fátima Batista Maria Isabel de O. Penteado Maurício Machain Franco Regina Maria Dechechi Carneiro Sueli Correa Marques de Mello Vera Tavares de Campos Carneiro</p> <p>Supervisor editorial: <i>Maria da Graça S. P. Negrão</i></p> <p>Normalização Bibliográfica: <i>Maria Iara Pereira Machado</i></p> <p>Editoração eletrônica: <i>Maria da Graça Simões Pires Negrão</i></p> |
|---|---|--|--|