

## COMUNICAÇÕES

### QUEIMA BACTERIANA (*Xanthomonas campestris*) DO ALHO-PORRÓ (*Allium porrum*) EM MINAS GERAIS, BRASIL<sup>1</sup>

Andréa Bittencourt Moura<sup>2</sup>  
Reginaldo da Silva Romeiro<sup>3</sup>

O alho-porró é uma olerícola muito apreciada pela culinária sofisticada. Embora pouco cultivada no Brasil, atinge sempre bons preços e tem mercado garantido.

São descritas três bactérias capazes de incitar enfermidades no alho-porró: *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *porri* e *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (2).

Em horta caseira, em Viçosa, foi observada, em plantas de alho-porró (*Allium porrum*), uma enfermidade cujos sintomas surgiam nas folhas a partir da extremidade e progrediam até a base. Inicialmente o tecido amarelecia e, posteriormente, necrosava, sempre a partir do centro. As folhas afetadas ficavam tomadas por inteiro, secavam e caíam, mas não se observou morte de planta. Os sintomas em plântulas eram bem uniformes: necrose surgindo da ponta, onde se prendia o cotilédone, e encaminhando para a base.

No presente trabalho, esta fitobacteriose, desconhecida na região, é identificada, e seu agente etiológico, descrito como espécie.

---

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 04.08.1998.

<sup>2</sup> Departamento de Fitossanidade/FAEN. Universidade Federal de Pelotas. 966001-970 Pelotas, RS.

<sup>3</sup> Departamento de Fitopatologia. Universidade Federal de Viçosa. 36571-000 Viçosa-MG.

*Materiais e métodos.* Testes de exsudação em gota (13) foram realizados transferindo-se fragmentos de lesão para gotas de água, em lâmina, observando-se, após colocação de lamínula, a preparação com o menor aumento do microscópio ótico (40X). O isolamento foi feito a partir de fragmentos de tecido foliar retirados dos bordos da área necrosada. Os fragmentos foram imersos em álcool a 50%, por 20 segundos, desinfestados superficialmente com NaClO a 2%, por 2 minutos, macerados em uma gota de água estéril e, após 15 minutos, a suspensão foi semeada em meio KADO e HESKETT (6) pela técnica de estrias (13). As placas foram incubadas a 28°C/48 horas. Colônias surgidas foram repicadas para o mesmo meio e testadas quanto à patogenicidade.

Para os testes de hipersensibilidade, suspensão de células da fitobactéria foi preparada em solução salina, a partir de cultura em meio sólido com 24 horas de idade, e sua concentração ajustada para  $OD_{540} = 0,20$ , por turbidimetria (8). Folhas de cafeeiro, feijoeiro, fumo, maracujazeiro e tomateiro foram infiltradas com auxílio de seringa hipodérmica, segundo KLEMENT *et alii* (9). As plantas-teste foram mantidas em casa de vegetação e examinadas após 24 horas.

Suspensão de inóculo dos isolamentos em teste foi preparada segundo KIRALY *et alii* (8) para o teste de hipersensibilidade. A inoculação foi conduzida por injeção (12).

Para determinação do gênero fitopatogênico, a visualização das células bacterianas foi feita pelo método de BENIANS (3), o teste de coloração de Gram foi realizado como descrito por ACKERMAN-BROWN (1), a produção de xantomonadinas foi investigada pela metodologia descrita por LELLIOTT e STEAD (11), a utilização de asparagina foi avaliada em meio descrito por STARR (15) e as relações com o oxigênio livre foram verificadas tanto pelo uso de câmara de anaerobiose, em que a ausência de oxigênio foi conseguida pelo reagente "Anaerocult" (Merck), como pelo uso de meio de fermentação/oxidação (14).

Para a determinação da espécie fitopatogênica, foram avaliados crescimento mucóide, de acordo com KRIEG e HOLT (10), hidrólise de esculina, conforme descrito por DYE (4), liquefação de gelatinas, como recomendado por KELMAN e DICKEY (7), proteólise do leite, segundo DYE (4), crescimento a 36°C, produção de ácidos a partir de arabinose, glicose e manose e produção de urease, segundo FAHY e PERSLEY (5).

*Resultados e discussão.* Sempre que folhas de alho-porró com sintomas típicos de enfermidade eram submetidas ao teste de exsudação em gota (13), observava-se abundante fluxo de células bacterianas que saíam, sob forma de massa ou nuvem, de dentro do fragmento examinado.

As massas de células situavam-se sempre nos bordos do fragmento, como esperado, e eram pardas e abundantes.

Tentativas de isolamento em meio 523 de KADO e HESKETT (6) resultaram sempre no aparecimento de colônias de coloração amarelada, brilhantes, elevadas e de bordos regulares.

Os sete isolamentos obtidos a partir destas colônias não induziram sintomas de hipersensibilidade, transcorridos menos de 24 horas após as inoculações em feijoeiro, tomateiro e fumo. As inoculações no hospedeiro foram capazes de reproduzir sintomas semelhantes àqueles observados nas plantas naturalmente infectadas.

Ao microscópio, pelo método de Benians, a bactéria evidenciava-se como bastonetes retos, isolados e regulares. O teste de Gram indicou serem todos os isolamentos Gram-negativos.

As provas, utilizando os sete isolamentos obtidos, realizadas para a determinação do gênero fitopatogênico, permitiram posicionar os isolados em estudo no gênero *Xanthomonas* (Quadro 1 e Figura 1). Testes recomendados por SCHAAD (14) indicaram tratar-se da espécie *Xanthomonas campestris* (Quadro 2). Embora este descreva a espécie como produtora de ácido a partir de arabinose e incapaz de hidrolisar uréia, os resultados obtidos divergiram sob este aspecto. Esta discordância não invalida a classificação aqui realizada, uma vez que o Manual de BERGEY (10) reconhece que o resultado positivo ou negativo refere-se ao comportamento de 80% ou mais da população, podendo os isolados estudados se enquadrarem nos 20% restantes, adicionado ao fato de que o enquadramento destes em qualquer outra espécie do gênero *Xanthomonas* ficaria ainda mais discordante e distante.

QUADRO 1 - Características fisiológicas, bioquímicas e tintoriais para diferenciação de gêneros fitopatogênicos

Característica Diferenciadora	<i>Agrobacterium</i>	<i>Erwinia</i>	Corine-formes	<i>Pseudomonas</i>	<i>Xanthomonas</i>	Isolados em estudo
bastonete	+	+	+	+	+	+
coloração de Gram	-	-	+	-	-	-
utilização de asparagina	+	+	+	+	-	-
anaerobiose facultativa	-	+	-	-	-	-
indução de hipertrofia	+	-	-	-	-	-
crescimento em meios de rotina	+	+	+	+	+	+
produção de xantomonadina	-	-	-	-	+	+

(+) = positivo para 80% ou mais dos isolamentos testados; (-) = negativo para 80% ou mais dos isolamentos testados.

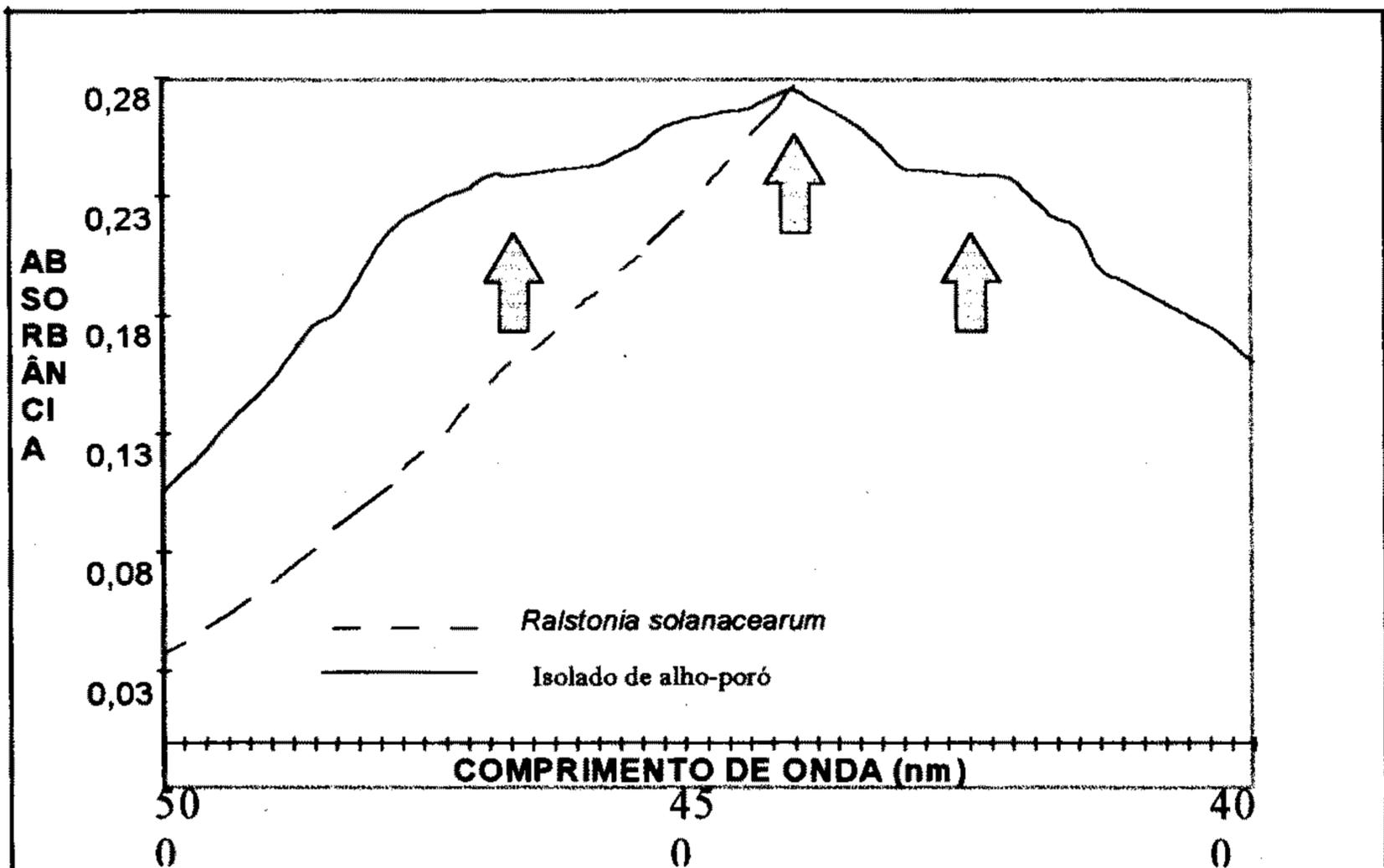


FIGURA 1 - Produção de xantomonadina por isolados de alho-porró (—), comparado com a falta de produção do mesmo pigmento por isolados de *Ralstonia solanacearum* (---), usados como controle negativo.

**QUADRO 2 - Características fisiológicas, bioquímicas e tintoriais para diferenciação de espécies fitopatogênicas de *Xanthomonas*.**

Característica Diferenciadora	<i>X. campestris</i>	<i>X. fragariae</i>	<i>X. albilineans</i>	<i>X. axonopodis</i>	<i>X. ampelina</i>	Isolados em estudo
crescimento mucóide em GYCA	+	+	-	-	-	+
crescimento a 36°C	+	-	+	+	-	+
hidrólise de esculina	+	-	+	+	-	+
liquefação de gelatina	v	+	v	-	-	+
proteólise de leite	+	-	-	-	-	-
produção de urease	-	-	-	-	+	-
produção de ácido a partir de arabinose	+	-	-	-	+	-
glucose	+	+	+	+	-	+
manose	+	+	+	-	-	+

(+) = positivo para 80% ou mais dos isolamentos testados; (-) = negativo para 80% ou mais dos isolamentos testados; (v) = reação variável.

A enfermidade descrita, causada por *Xanthomonas campestris*, é o primeiro relato da doença no Brasil, e quiçá no mundo, para a cultura de alho-porró.

Pertence ainda ao campo das hipóteses como a enfermidade surgiu na região de Viçosa, onde tradicionalmente não ocorre o cultivo desta olerícola. A hipótese mais provável é que o patógeno esteja associado à semente e que nesta região tenha encontrado condições propícias ao seu desenvolvimento. Há ainda como reforço desta possibilidade a observação de plântulas que apresentavam, com grande frequência, sintomas de necrose progressiva a partir das pontas, local em que o cotilédone se prendia, e este material, sempre que examinado ao microscópio ótico, apresentava pequena exsudação.

## SUMMARY

### (*Xanthomonas campestris* IN LEEK (*Allium porrum*) IN MINAS GERAIS, BRAZIL)

A leek disease found in Viçosa, Minas Gerais, showed pale apical lesions progressing downward from the leaf apex which later became necrotic. These leaves are completely taken up by the infection, dry up and fall off, while the plant remains alive. One bacterium producing medium yellow, shining, regularly edged, elevated colonies was isolated in a standard culture medium. It was unable to induce HR in beans, coffee, passion fruit, tobacco and tomato but induced the same observed leaf symptoms when reinoculated into healthy leek plants. The isolated bacteria are straight, regular, rod-shaped, Gram-negative cells, unable to use asparagine, strict aerobes, xanthomonadin-producers, non tumorigenic and can be positioned in *Xanthomonas*. Biochemical tests identified *X. campestris* as the species. The disease may be seed transmitted.

## LITERATURA CITADA

1. ACKERMAN-BROWN, A.M. *General microbiology manual*. 2 ed. Columbus, Ohio State University, 1978. 130p. (Microbiology 602).
2. BRADBURY, J.F. *Guide of plant pathogenic bacteria*. Surrey, CAB International, 1986. 332p.
3. CHAVES, G.M., CARVALHO, M.G., CRUZ FILHO, J. & ROMEIRO, R.S. *Roteiro de aulas práticas de fitopatologia*. Viçosa, UFV, 1973. 58p.
4. DYE, D.W. *Xanthomonas*. In: SHAAD, N.W. (ed.). *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*. 2 ed. St. Paul, APS Press, 1980. p.45 - 49.
5. FAHY, P.C. & PERSLEY, G.J. *Plant bacterial diseases - A diagnostic guide*. Sydney, Academic Press, 1983. 393p.

6. KADO, C.I. & HESKETT, M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology*, 60: 969 - 979, 1970.
7. KELMAN, A. & DICKEY, R.S. *Erwinia*: the soft rot or "carotovora" group. In: SHAAD, N.W. (ed.). *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*. 2 ed. St. Paul, APS Press, 1980. p.31 - 35.
8. KIRALY, Z., KLEMENT, A., SOLIMOSY, F. & VÖRÖS, J. *Methods in plant pathology*. Budapest, Akadémiai Kiadó, 1970. 509p.
9. KLEMENT, A., RUDOLPH, K. & SANDS, D.C. (eds.) *Methods in phytobacteriology*. Budapest, Akadémiai Kiadó, 1990. 568p.
10. KRIEG, N.R. & HOLT, J.G. (eds.) *Bergey's manual of systematics bacteriology*. Baltimore, Williams & Wilkins, 1984. v.1. 660p.
11. LELLIOTT, R.A. & STEAD, D.E. *Methods for the diagnosis of bacterial plant diseases*. Oxford, Blackell Scientific Publications, 1987. 216p.
12. ROMEIRO, R.S. *Identificação de bactérias fitopatogênicas*. Viçosa, Imprensa Universitária - UFV, 1976. 92p.
13. ROMEIRO, R.S. *Métodos em bacteriologia de plantas. III - Isolamento de bactérias fitopatogênicas*. Viçosa, Departamento de Fitopatologia, 1991. 55p. (apostila).
14. SCHAAD, N.W. (ed.). *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*. 2 ed. St. Paul, APS Press, 1988. 158p.
15. STARR, M.P. The genus *Xanthomonas*. In: STARR, M.P. *et alli* (ed.). *The prokaryotes*. Berlim, Springer-Verlag, 1981. p.742 - 763.