



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DE PERNAMBUCO**
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM FITOPATOLOGIA**

Tese de Doutorado

Termoterapia e controle biológico para manejo do cancro bacteriano em videira

Francisco Conrado Queiroz Carvalho

**Recife – PE
2016**

FRANCISCO CONRADO QUEIROZ CARVALHO

**TERMOTERAPIA E CONTROLE BIOLÓGICO PARA MANEJO DO CANCRO
BACTERIANO EM VIDEIRA**

**RECIFE-PE
FEVEREIRO – 2016**

Ficha catalográfica

C331t Carvalho, Francisco Conrado Queiroz
Termoterapia e controle biológico para manejo do cancro bacteriano em videira / Francisco Conrado Queiroz Carvalho.
– Recife, 2016.
91 f. : il.

Orientador: Elineide Barbosa de Souza.
Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade

Federal
Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Recife,
2016.

Referências.

1. Vitis vinifera 2. Xanthomonas campestris pv. Viticola
3. Pragas – Controle biológico 4. Bactéria 5. Levedura I. Souza,
Elineide Barbosa de, orientador II. Título

CDD 632

FRANCISCO CONRADO QUEIROZ CARVALHO

**TERMOTERAPIA E CONTROLE BIOLÓGICO PARA MANEJO DO CANCRO
BACTERIANO EM VIDEIRA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Elineide Barbosa de Souza

Co-orientadoras: Prof.^a Dr.^a Rosa de Lima Ramos Mariano
Dr.^a Maria Angélica Guimarães Barbosa

**RECIFE-PE
FEVEREIRO – 2016**

**TERMOTERAPIA E CONTROLE BIOLÓGICO PARA MANEJO DO CANCRO
BACTERIANO EM VIDEIRA**

FRANCISCO CONRADO QUEIROZ CARVALHO

Tese defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 26/02/2016

ORIENTADORA:



Prof^ª Dra. Elineide Barbosa de Souza (UFRPE)

EXAMINADORES:



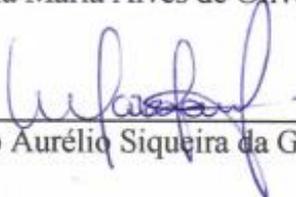
Prof^ª Dra. Cristiane Domingos da Paz (UNEB)



Dra. Tereza Cristina de Assis (IPA)



Prof^ª Dra. Sônia Maria Alves de Oliveira (UFRPE)



Prof^º Dr. Marco Aurélio Siqueira da Gama (UFRPE)

**RECIFE-PE
FEVEREIRO – 2016**

A Deus pelo amor, força e paciência, que nos faz caminhar e vencer a cada dia.

Aos meus queridos pais, Queiroz e Quitéria, e irmã, Lia, que estiveram presentes em todos os momentos e não mediram esforços para me ajudar nas dificuldades, não me deixando desanimar

DEDICO

À Laura, minha esposa, amiga e eterna namorada, por estar sempre ao meu lado, enfrentando todas as dificuldades para chegarmos até aqui.

A João Pedro, meu amado filho, pelas brincadeiras que deixaram os meus dias difíceis mais leves e felizes.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me concedido a vida e a oportunidade de estar aqui hoje;

As minhas queridas orientadoras Dra. Elineide Barbosa de Souza, Dra. Rosa de Lima Ramos Mariano e Maria Angélica Guimarães Barbosa, pela influência e incentivo;

Ao Pesquisador Dr. Carlos Alberto Tuão Gava, por todo apoio e disponibilidade em ajudar no andamento dos trabalhos realizados na Embrapa Semiárido;

À Universidade Federal Rural de Pernambuco pelo apoio institucional, e ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia que contribuíram para a minha formação;

À minha esposa Laura e meu filho João Pedro pelo amor incondicional, momentos de felicidade de todos os dias;

Aos meus pais, Queiroz e Quitéria, por todo amor e apoio em todas as fases de minha vida;

À minha irmã Lia, pelo apoio, carinho e amizade;

Ao meu sogro Jorge e minha sogra Vera por toda compreensão e apoio nos momentos difíceis;

Aos amigos do curso de Doutorado: Neto, Susan, Gustavo, Meridiana, Willie, Gustavo e Matheus, pelos momentos de amizades vividas;

Aos colegas/parceiros de laboratório da Embrapa Semiárido: Cris, Hilçana, Valéria, Marília e Carine;

Aos meus companheiros do Laboratório de Fitobacteriologia: Jéssica, Liliana, Mirzânia, Kátia, Chris, Edilaine, Iva, Adriano, Mirtis, Willams e Greecy pela amizade e apoio nos momentos de indecisão;

Ao amigo Seu Cícero, por fazer dos momentos difíceis e trabalhosos da casa de vegetação, uma grande diversão.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	viii
RESUMO GERAL	ix
GENERAL ABSTRACT.....	xi
CAPÍTULO I.....	12
Introdução geral.....	13
1. Histórico e importância socioeconômica da videira no Vale do São Francisco.....	13
2. Cancro Bacteriano da Videira (<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>viticola</i>)	15
3. Ciclo de vida de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>viticola</i> e aspectos epidemiológicos do cancro bacteriano.....	19
4. Manejo do Cancro Bacteriano da Videira	21
5. Referências bibliográficas	26
CAPÍTULO II.....	38
Termoterapia em bacelos de videira para manejo do cancro bacteriano.....	39
Resumo	39
Abstract.....	40
Introdução.....	40
Material e Métodos.....	43
Resultados e Discussão.....	46
Conclusão	50
Referências	51
CAPÍTULO III	62
Combinação de agentes de controle biológico e termoterapia no manejo do cancro bacteriano em videira.....	63
Resumo	63
Abstract	64
Introdução.....	65
Material e métodos	67
Resultados e discussão	71
Conclusão	79
Referências	79
CONCLUSÕES GERAIS	90

RESUMO GERAL

O cancro bacteriano, causado por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, tem sido responsável por significativos prejuízos econômicos na cultura da videira no Submédio do Vale do São Francisco, estados de Pernambuco e Bahia, Brasil. Este trabalho avaliou o efeito da termoterapia em bacelos de videira das cultivares Isabel e Red Globe na viabilidade de mudas e na erradicação de *X. campestris* pv. *viticola*, e também a combinação de agentes de controle biológico (ACB) e termoterapia na erradicação do patógeno e na redução da severidade da doença. Os bacelos foram tratados a 50, 52 e 54°C nos tempos de 30, 45 e 60 min, plantados, e o crescimento das mudas avaliado após 45 dias. A erradicação de *X. campestris* pv. *viticola* foi determinada nas temperaturas 50 e 52°C e tempos de 45, 50 e 60 min, quantificando-se a população bacteriana nos bacelos antes do plantio e componentes epidemiológicos do cancro bacteriano, 120 dias após o plantio. Apenas a temperatura de 54°C, principalmente durante 45 e 60 min, interferiu negativamente no número de folhas, altura da planta, comprimento e volume do sistema radicular. A população bacteriana foi reduzida nos bacelos de ambas cultivares. Nenhum binômio temperatura/tempo foi capaz de erradicar *X. campestris* pv. *viticola*, mas os sintomas de cancos nos ramos foram reduzidos de 65,5 a 95,9% nos tratamentos a 50 e 52°C durante 45 e 60 min. No estudo do efeito combinado de biocontrole e termoterapia, 23 isolados de ACB foram pulverizados nas folhas de 'Red Globe', com inoculação do patógeno após 24 h. Após 40 dias, o período de incubação e a severidade da doença foram avaliados. Foi determinada a atividade antibacteriana dos ACB ao patógeno, detectando-se a produção de antibióticos, substâncias voláteis, proteases e amônia. Apesar de não serem capazes de erradicar o patógeno, cinco isolados de bactérias LCB 6, LCB 30, LCB 33, UNEB 27 e RAB 9 (10^8 UFC/mL), e três isolados de leveduras L7, L8 e LF (10^7 cel/mL) se destacaram na redução do cancro bacteriano, exibindo pelo menos um tipo de atividade antibacteriana. Dois isolados de ACB (LCB 6 – *Bacillus subtilis* e LF – *Saccharomyces cerevisiae*) foram combinados à termoterapia (50 e 52°C for 45, 50 e 60 min). Os bacelos submetidos aos tratamentos termoterápicos, foram imersos posteriormente, durante 2 h, na suspensão de LCB 6 e LF e as mudas foram pulverizadas semanalmente, por 15 semanas. As plântulas foram avaliadas 120 dias após o plantio. Nenhuma combinação foi capaz de erradicar *X. campestris* pv. *viticola*, mas reduções na severidade da doença nas folhas e ramos foram observadas, sendo os melhores resultados obtidos com o uso

combinado do isolado da bactéria LCB 6 – *Bacillus subtilis* e termoterapia de 52°C durante 45 min, o qual é indicado para o manejo do cancro bacteriano.

Palavras-chaves: *Vitis vinifera* · *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* · Controle · Bactéria · Levedura

GENERAL ABSTRACT

Bacterial canker, caused by *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, has been responsible for significant economic losses on the grapevine crop in Brazilian states of Pernambuco and Bahia, located in the São Francisco river Valley. This work evaluated the effect of thermotherapy on cuttings of cultivars Isabel and Red Globe on the viability of plantlets and eradication of *X. campestris* pv. *viticola*, and the effect of combination of biological control agents (BCA) and thermotherapy on the pathogen eradication and disease severity reduction. The cuttings were treated at 50, 52 and 54°C during 30, 45 and 60 min, planted, and after 45 days the plantlets were analyzed for growth. The eradication of *X. campestris* pv. *viticola* was evaluated at 50 to 52°C and 45, 50 and 60 min by quantifying bacterial populations on cuttings before planting and epidemiological components of bacterial canker, 120 days after planting. Only the temperature of 54°C, mainly during 45 and 60 minutes, affected negatively leaf number, plant height, and length and volume of root system. The bacterial population was reduced in cuttings of both cultivars. No binomial temperature/time was able to eradicate *X. campestris* pv. *viticola*, but at 50 and 52°C during 45 to 60 min, canker symptoms on the branches were reduced from 65.5 to 95.9%. To evaluate the combined effect of BCA and thermotherapy, 23 BCA were sprayed on the leaves of 'Red Globe' and 24 h later the pathogen was inoculated. After 40 days, the incubation period and disease severity were evaluated. It was also determined the antibacterial activity of BCA to the pathogen, by testing for antibiotic production, detection of volatile substances, proteases and ammonia. Although not able to eradicate the pathogen, bacterial strains LCB 6, LCB 30, LCB 33, UNEB 27 and RAB 9 (10^8 CFU/mL), and yeast strains L7, L8 and LF (10^7 cel/mL) reduced bacterial canker, exhibiting at least one type of antibacterial activity. Two BCA (LCB 6 – *Bacillus subtilis* and LF - *Saccharomyces cerevisiae*) were combined with thermotherapy (50 and 52°C for 45, 50 and 60 min). The cuttings were subjected to thermotherapy, followed by immersion during two hours in the suspension of LCB 6 and LF, and the plantlets were sprayed weekly, through 15 weeks. The plantlets were evaluated 120 days after planting. No combination was able to eradicate *X. campestris* pv. *viticola*, but some of them reduced the disease severity on leaves and branches. The best results were obtained by combined use of LCB 6 –

Bacillus subtilis and thermotherapy at 52°C during 45 min, which is recommended for the integrated management of bacterial canker of grapevine.

Keywords: *Vitis vinifera* · *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* · Control · Bacteria · Yeast

CAPÍTULO I

Introdução geral

TERMOTERAPIA E CONTROLE BIOLÓGICO PARA MANEJO DO CANCRO BACTERIANO EM VIDEIRA

INTRODUÇÃO GERAL

1. Histórico e importância socioeconômica da videira no Vale do São Francisco

Pertencente à família Vitaceae (*Vitis* spp.), a videira é representada por mais de mil espécies, sendo o gênero *Vitis* o único de importância econômica. Esse gênero apresenta 108 espécies adaptadas a diferentes tipos de solo e clima, sendo cultivada em todas as partes do mundo, exceto em locais com temperatura muito baixa, sujeita a frequentes geadas (INGLEZ DE SOUZA; MARTINS, 2002).

Por se tratar de uma planta frutífera cultivada há séculos, com mercados consolidados tanto para o consumo *in natura* quanto para o processamento, o seu cultivo encontra-se espalhado por todos os continentes da Terra. Na produção de uva é observada uma ampla superioridade dos países europeus como Itália, Espanha e França, além de China, Estados Unidos e Turquia que completam o ranking dos seis maiores produtores da fruta no cenário mundial, restando o 12º lugar para o Brasil (FAO, 2013). No ano de 2015, a produção de uvas no Brasil foi de 1.453.889 toneladas e, deste montante, 876.286 toneladas foram produzidas pelo Rio Grande do Sul, principal estado produtor, e 319.084 toneladas foram produzidas no Nordeste. Na região Nordeste, a produção de uva se concentra no polo agrícola Petrolina (Pernambuco)/Juazeiro (Bahia), situado no Submédio do Vale do São Francisco. É importante ressaltar que devido à expansão da produção, o estado de Pernambuco situa-se como o segundo maior produtor nacional, tendo sido responsável pela produção de 228.727 toneladas de uva (IBGE, 2015).

A videira foi introduzida no Brasil pelos portugueses, por volta do ano de 1532, sendo o estado de São Paulo o pioneiro em seu cultivo. Posteriormente, a cultura se espalhou para as demais regiões, no entanto, sem ser considerada uma frutífera de grande importância econômica, devido à falta de adaptação das variedades europeias às nossas condições edafoclimáticas. Quase três séculos mais tarde, as primeiras variedades americanas de videira foram trazidas para o Brasil. Essas eram mais

resistentes aos problemas fitossanitários e adaptadas às condições brasileiras, o que contribuiu para sua expansão (POMMER; MAIA, 2003). Atualmente, a uva é cultivada desde o sul até o nordeste, ocupando uma área de aproximadamente 80 mil hectares (IBGE, 2016), merecendo destaque como os maiores produtores as regiões do Rio Grande do Sul e do Submédio do Vale do São Francisco. Essa cultura ocupa a 18^o posição no que se refere ao valor da produção agropecuária brasileira entre todos os produtos e 4^o. lugar entre as frutas, ficando atrás somente da laranja (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), banana (*Musa* spp.) e mamão (*Carica papaya* L.) (IBGE, 2016).

No Brasil é capaz de se produzir dois grupos de uva de mesa: a) uvas finas de mesa, em sua maioria são variedades da espécie *V. vinifera* L. (europeia), que apresentam bagas grandes e polpa carnosa, representado principalmente por cultivares como a 'Itália' e suas mutações ('Rubi', 'Benitaka' e 'Brasil'), 'Red Globe', 'Red Meire', 'Patricia' e as sem sementes ('Centennial Seedless', 'Superior Seedless' ou 'Festival', 'Thompson Seedless', 'Perlette', 'Catalunha' e 'Crimson Seedless'; e b) uvas comuns de mesa, na sua maioria variedades ou híbridos da espécie *V. labrusca* L. (americana), que apresentam bagas médias a grandes, com polpa mucilaginosa, cujas representantes principais são as cultivares Isabel e Niágara Rosada (NACHTIGAL, 2003). Segundo Leão e Possídio (2000), as uvas finas de mesa são cultivares suscetíveis às doenças fúngicas e altamente exigentes em tratamentos culturais, enquanto que as uvas comuns de mesa apresentam maior rusticidade, conseqüentemente, uma maior resistência aos problemas fitossanitários e maior facilidade em alguns tratamentos culturais, facilitando sua utilização tanto no processamento quanto no consumo *in natura*.

Apesar de haver registros do cultivo da videira já no século XVI, nos estados da Bahia e Pernambuco, por ocasião da colonização dos europeus (FALCADE, 2005) no Submédio do Vale do São Francisco, a vitivinicultura foi introduzida somente nos anos 50, graças a iniciativa da Comissão do Vale do São Francisco, hoje conhecida como Companhia do Desenvolvimento do Vale do São Francisco (CODEVASF), sendo necessária a utilização das técnicas de irrigação em virtude da precipitação pluvial insuficiente, além de práticas inovadoras como a poda racional, o desbaste dos cachos, o uso de fertilizantes e o controle de doenças para garantir o desenvolvimento das plantas e a produção das uvas. A região caracteriza-se por apresentar clima do tipo tropical semiárido, com um período seco e um período subúmido ao longo de todo o ano. A temperatura média anual é de 26°C, com pluviosidade em torno de 500 mm,

concentrada entre os meses de janeiro a abril (TONIETTO; TEIXEIRA, 2004). Os processos fisiológicos, aliados ao sucesso do manejo das podas e do controle hídrico, com o uso da irrigação, além da aplicação de defensivos, fertilizantes e agentes químicos reguladores de eventos fisiológicos garantem um crescimento rápido dos vinhedos. Nesta região, o ciclo de produção gira em torno de 120 dias, propiciando 2,5 safras por ano com produtividade acima da média nacional (LIMA; FERREIRA; CHRISTOFIDIS, 1999; SILVA; COELHO, 2000). Entretanto, estas mesmas condições podem induzir condições de estresse, propiciando o aparecimento de problemas fitossanitários que, se não contornados, podem trazer sérios prejuízos econômicos e, a médio/longo prazo diminuir a vida útil dos parreirais instalados.

A região do Submédio do Vale do São Francisco se destaca como grande produtora e exportadora de uvas finas de mesa com alta qualidade e, mais recentemente, na produção de uvas viníferas. A região responde por 99% das exportações brasileiras anuais da fruta, tanto em volume quanto em valores de produção (VALEEXPORT, 2011). O Submédio do Vale do São Francisco também responde por mais de 15% da produção brasileira de vinhos, distribuída entre seis vinícolas de um total de 700 hectares de vinhedos. A cultura da videira desempenha um papel social importante, pois gera em torno de 30 mil empregos diretos e indiretos na região (SILVA; COELHO, 2000), sendo uma das culturas que mais absorve mão-de-obra, empregando de três a quatro pessoas/hectare ao ano (ARAÚJO, 2001; LIMA; FERREIRA; CHRISTOFIDIS, 1999). Apesar do alto potencial para produção de uvas finas de mesa, existem problemas fitossanitários que, se não contornados, podem ocasionar sérios prejuízos e diminuir a vida útil dos parreirais instalados a médio/longo prazo. Várias doenças incitadas por bactérias, fungos, nematoides e vírus comprometem a parte aérea e o sistema radicular das plantas, causando perdas expressivas na produtividade dessa cultura. Dentre essas doenças se destaca o cancro bacteriano da videira, causado pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Nayudu) Dye.

2. Cancro Bacteriano da Videira (*Xanthomonas campestris* pv. *viticola*)

O cancro bacteriano da videira foi detectado inicialmente na Índia por Nayudu no ano de 1969 em plantios de videiras da variedade Anab-e-Shahi. Foram observados sintomas na forma de manchas foliares escuras de 1 a 2 mm de diâmetro, lesões nas

nervuras, que mesmo depois de secas não se destacavam da haste e cancos alongados de 1 a 2 cm nos ramos e pecíolos. Com base em testes bioquímicos e de patogenicidade, Nayudu em 1972 classificou o agente causal como *Pseudomonas viticola* Nayudu sp. nov., sendo posteriormente reclassificado como *X. campestris* pv. *viticola* por Dye em 1978 (TRINDADE et al., 2007).

No Brasil, apenas duas fitobacterioses haviam sido relatadas na cultura da videira: *Rhizobium* sp. (*Agrobacterium* sp.), registrada no Rio Grande do Norte e São Paulo e *R. radiobacter* (Beijerinck and van Delden) Young et al. [sin. *A. tumefaciens* (Smith and Townsend) Conn], no estado de Minas Gerais (OLIVEIRA et al., 1994). Entretanto, no início de 1998, o cancro bacteriano foi detectado no Submédio do Vale do São Francisco (Pernambuco e Bahia), com a observação de sintomas na forma de cancro em plantas de *V. vinifera* da variedade Red Globe. Posteriormente ao isolamento, testes bioquímicos e de patogenicidade, o patógeno foi identificado como *X. campestris* pv. *viticola* (MALAVOLTA JÚNIOR et al., 1998; LIMA et al., 1998). Um segundo relato desta doença no Brasil foi feito no estado do Piauí em ramos e folhas infectadas das variedades Red Globe, Itália e Ribier (MALAVOLTA JÚNIOR et al., 1999). No Brasil, este patógeno é considerado Praga Quarentenária Presente (A2) de acordo com a Instrução Normativa DAS nº 59 de 18 de dezembro de 2013 (BRASIL, 2013), ocorrendo nos estados da Bahia, Pernambuco, Ceará e Roraima, sendo um dos principais problemas fitossanitários da cultura da videira (RODRIGUES NETO et al., 2011; TOMAZ et al., 2011).

Conforme Lima et al. (1998), a enfermidade foi inicialmente observada em plantios com dois a três anos de idade após a enxertia, com incidência de até 100% em plantas de ‘Red Globe’ e em cultivares de uva sem sementes. Sintomas da doença também foram observados em plantas de ‘Itália’, ‘Festival’, ‘Brasil’, ‘Piratininga’, ‘Patrícia’, ‘Benitaka’, ‘Ribier’ e ‘Catalunha’, com incidência bastante variável, principalmente, em ‘Itália’ e ‘Benitaka’, que mostraram uma certa tolerância à doença.

Xanthomonas campestris pv. *viticola* é classificada dentro do domínio Bacteria, filo Proteobacteria, classe Gamaproteobacteria, ordem Xanthomonadales e família Xanthomonadaceae (HOLT et al., 1994). Em 1995, Vauterin et al. (1995) a partir de estudos de hibridização DNA-DNA, sugeriram que apenas isolados de brássicas deveriam estar inclusos dentro da espécie *Xanthomonas campestris* (Pammel) Dowson, por apresentarem maior homologia entre si (VAUTERIN et al., 1995). Mais

recentemente, Takita et al. (2004) analisaram a região *rpf*, responsável pela codificação de fatores envolvidos com a regulação e expressão de genes envolvidos na produção de enzimas extracelulares e de polissacarídeos, de diferentes espécies e patovares de *Xanthomonas*, e verificaram que o patovar *viticola* não apresentava padrão igual ao do patovar *campestris*. O sequenciamento de outras regiões, não especificadas pelos autores, mostrou maior similaridade de *X. campestris* pv. *viticola* a *X. axonopodis* pv. *citri* do que *X. campestris* pv. *campestris*. Apesar disso, ausências de estudos taxonômicos conclusivos que envolvem o patógeno da videira justifica a utilização do nome *X. campestris* pv. *viticola*.

Apesar de pertencer ao gênero *Xanthomonas*, essa bactéria não produz o pigmento xantomonadina, apresentando colônias apigmentadas. Possui células em forma de bastonetes, monocapsuladas, uniflageladas, medindo de 1,2 a 2,5 μm (NAYUDU, 1972). É Gram-negativa, não apresenta pigmento fluorescente em meio King B, nem atividade de urease e oxidase. Não utiliza asparagina como única fonte de carbono e nitrogênio, não possui inclusões de poli- β -hidroxibutirato e não tolera concentrações de 1 a 2% de NaCl. Produz ácidos a partir de glucose, manose, galactose, trehalose, frutose e celobiose (LIMA et al., 1999b). Forma colônias arredondadas, convexas, brilhantes e bordos lisos, com coloração creme-esbranquiçada. Tem crescimento ótimo em pH 7,5 e entre 27 e 29°C, não crescendo a 0°C e a 40°C (NASCIMENTO et al., 2005). Quanto à reação de hipersensibilidade é geralmente negativa em folhas de fumo (*Nicotiana tabacum* L.), mas positiva em folhas de tomate da variedade Santa Clara (MALAVOLTA JÚNIOR et al., 1999).

Os sintomas do cancro bacteriano da videira no Submédio do Vale do São Francisco ocorrem preferencialmente no primeiro semestre do ano, época mais chuvosa e que apresentam altos registros de umidade relativa do ar e temperaturas (ARAÚJO et al., 1999). Estes fatores favorecem o aparecimento de sinais do patógeno, como a exsudação de pus bacteriano a partir dos cancrs presentes em ramos, favorecendo a disseminação do mesmo (LOPES; NASCIMENTO, 2004).

Em plantas de videira infectadas, os sintomas podem se manifestar em várias partes da planta. Nas folhas surgem como pontos necróticos de 1 a 2 mm de diâmetro, com ou sem halos amarelados, algumas vezes coalescendo e causando a morte de extensas áreas do limbo foliar. Pode-se observar ainda nas folhas a formação de manchas maiores e sua persistência na planta mesmo depois de secas (Figura 1A). Nos

pecíolos podem-se observar manchas necróticas e alongadas, formando cancos. Nos ramos (Figura 1B) e na ráquis (Figura 1C), ocorre a formação de manchas necróticas alongadas que evoluem para fissuras longitudinais de coloração negra, denominadas de cancro. A planta, além de baixa produtividade, pode apresentar sintomas nas bagas caracterizados por manchas cloróticas e necróticas circulares além de variações na cor e tamanho (Figura 1D) (LIMA et al., 1999b; MALAVOLTA JÚNIOR et al., 1999).

A intensidade dos sintomas do cancro bacteriano varia de acordo com a cultivar afetada. ‘Red Globe’ e algumas cultivares sem semente mostram-se mais suscetíveis a doença. O principal prejuízo verificado nessas é a redução na produção, pois plantas infectadas produzem cachos com sintomas de cancro no engaço, que prejudicam seu desenvolvimento, além da inutilização dos frutos para comercialização (LIMA; MOREIRA, 2002).

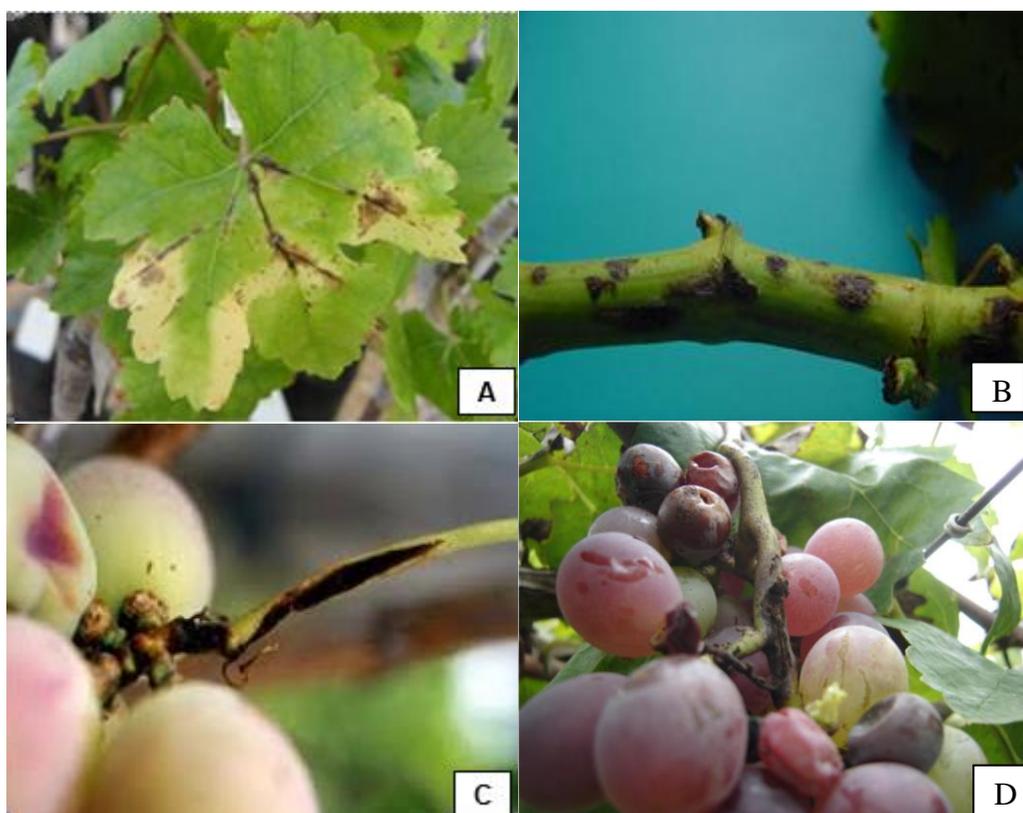


Figura 1. Sintomas do cancro bacteriano da videira causado por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. A- Manchas nas nervuras e nos bordos das folhas; B- Cancro nos ramos; C- Cancro na ráquis; D- Bagas com variações na cor e tamanho.

3. Ciclo de vida de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* e aspectos epidemiológicos do cancro bacteriano

Superfície de hastes e folhas com sintomas do cancro bacteriano da videira e também de folhas assintomáticas, provenientes de plantas infectadas, revelaram intensa colonização por *X. campestris* pv. *viticola*. Estudos através de microscopia eletrônica mostram que as células bacterianas são capazes de sobreviver no filoplano de videiras de forma epifítica, sugerindo que a aderência ocorre de forma randômica nas superfícies vegetais, principalmente no limbo foliar, sobre as nervuras e tricomas, por meio de fixação apolar em monocamadas, raramente formando agregados (ARAÚJO, 2001). A manutenção da fonte de inóculo por parte dessas populações se deve, em parte, pela formação de exsudação da bactéria sobre os cancos, bem como pela presença da bactéria sobre os ramos podados ou partes vegetais, que permanecem aderidas ao arame da latada (ARAÚJO; ROBBS; RIBEIRO, 2004). Assim, pressupõe-se que, uma vez as bactérias atingindo um sítio favorável, sua habilidade de resistir à remoção constitui vantagem seletiva, sendo responsável pelo aumento e estabilidade da população residente (ARAÚJO, 2001). Além disso, Guerra (2015) detectou a formação de biofilme por *X. campestris* pv. *viticola in vitro*, com níveis variáveis em função do isolado, a qual foi confirmada através de microscopia eletrônica de varredura e microscopia confocal laser. Biofilmes em bactérias fitopatogênicas podem atuar como um fator de virulência em estádios iniciais de colonização e infecção (FLEMMING; WINGENDER, 2010; GUTTENPLAN; KEARNS, 2013).

Xanthomonas campestris pv. *viticola* pode ser introduzida em parreirais, onde a doença ainda não ocorre, veiculada em mudas ou bacelos infectados, os quais irão originar plantas doentes. A disseminação da bactéria pode ocorrer através de restos de cultura infectados espalhados pelo pomar ou aderidos em roupas, veículos, mas principalmente em contentores, tesouras, canivetes e luvas não desinfestadas utilizadas na colheita de frutas de plantas doentes, capina, gradagem, roçagem, pulverizações e até a aplicação de herbicidas por barra favorecem a disseminação da bactéria no parreiral. A bactéria pode ser transportada por respingos de água de chuva ou irrigação, que a disseminam a longas distâncias (CHAND; PATIL; KISHUM, 1991). Irrigação do tipo sobre-copa, tanto a aspersão convencional quanto o pivô central favorecem a distribuição da doença. No Submédio do Vale do São Francisco, a estação chuvosa é

curta, mas durante esse período a disseminação da bactéria ocorre mais rapidamente e a intensidade da doença é elevada (NASCIMENTO et al., 2000). Lima et al. (1999) e Naydu (1972) observaram que o período mais favorável ao desenvolvimento da infecção era após as chuvas. Portanto, operações que ocasionam ferimentos nas plantas, como desbrota e poda, realizadas neste período em variedades suscetíveis podem propiciar a ocorrência de infecção nas plantas. Apenas o vento não dissemina a bactéria, sendo necessária a presença de água. A transmissão do cancro bacteriano dentro do pomar pode ocorrer mais rapidamente que entre pomares. Portanto, é importante que o viticultor esteja atento ao surgimento de sintomas da doença no parreiral, realizando inspeções periódicas que permitam a detecção de focos iniciais de infecção, retardando ou evitando a disseminação do patógeno o que favorece o manejo da doença.

A infecção de *X. campestris* pv. *viticola* ocorre por meio de aberturas naturais ou por injúrias nos tecidos ainda verdes do filoplano (ROBBS; RODRIGUES NETO, 1999). No entanto todos os agentes de ferimentos são importantes para a penetração, destacando-se os tratos culturais e ventos fortes. A bactéria coloniza os espaços intercelulares rapidamente, atingindo o parênquima xilemático e vasos condutores do sistema vascular, sendo assim, distribuída a outros órgãos da planta (ARAÚJO et al., 2002).

Em áreas de produção de uva do Submédio do Vale do São Francisco, *X. campestris* pv. *viticola* sobrevive de um ciclo para o outro em plantas infectadas, na parte aérea de plantas sadias como epifítica (ARAÚJO, 2001) e em restos culturais (NASCIMENTO et al., 2000). Silva et al. (2012) verificaram que em tecidos infectados de videira a bactéria sobrevive na superfície do solo por, pelo menos 80 dias mas se utilizada a prática de compostagem, sua presença no solo é eliminada em até 10 dias.

Xanthomonas campestris pv. *viticola* sobrevive por pelo menos 24 h em tesouras de colheita, indicando que as ferramentas de corte são fontes de inóculo e pode introduzir e difundir o cancro bacteriano da videira. Desinfestação das ferramentas com hipoclorito de sódio (20000 ppm) e de cloreto de dodecil dimetil e amônio (1.140 ppm) é, portanto, recomendada. As soluções destes agentes de higienização permanecem eficazes quando mantidos sob as condições ambientais dos vinhedos situadas no Submédio do Vale do São Francisco e quando soluções contêm fragmentos de plantas por pelo menos 8 h. Para a desinfestação de água contaminada, cloreto de dodecil

dimetil e amônio (570 ppm), hipoclorito de sódio (5000 ppm) e cloreto de benzalcônio (122,5 ppm) podem ser usados (NAUE et al., 2014b).

Em inoculações artificiais com este patógeno, observou-se infecção em plantas de mangueira (*Mangifera indica* L.), cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda), cajá-manga (*Spondias dulcis* Forst.), aroeira (*Schinus terebenthifolius* Raddi) (ARAÚJO; ROBBS; MACIEL, 1999) e nim (*Azadirachta indica* A. Juss) (MALAVOLTA JÚNIOR; ALMEIDA, 2000; NASCIMENTO et al., 2001). Na Índia, Desai et al. (1966) também observaram que o nim, planta utilizada como quebra-vento e inseticida natural, é hospedeira dessa bactéria, apresentando manchas foliares e cancos em ramos e pecíolos, sintomas semelhantes aos observados em videira. O patógeno também pode sobreviver em *Phyllanthus maderaspatensis* L. (CHAND; KISHUN, 1990). *X. campestris* pv. *viticola* foi detectada em plantas assintomáticas de videira IAC 572 e sintomáticas de IAC 766, ambas enxertadas na cultivar suscetível Red Globe (LIMA; FERREIRA, 2000; NASCIMENTO et al., 2000).

4. Manejo do Cancro Bacteriano da Videira

Apesar de o cancro bacteriano da videira ser um problema relativamente recente no Brasil, as perdas devido a essa doença foram estimadas em 1999 em mais de três milhões de reais em 120 hectares (ARAÚJO, 2001). Lima et al. (1999) relataram a erradicação de 100 hectares de videiras em produção na região do Submédio do Vale do São Francisco, sendo 85% dessa área cultivada com a variedade Red Globe e os outros 15% com a variedade Perlette. Considerando-se a natureza da infecção do patógeno, além da evasão, ou seja, poda de produção em períodos de baixa precipitação, as recomendações de manejo se baseiam na Instrução Normativa nº 2 de 06 de fevereiro de 2014 (MAPA, 2014), onde produtor, importador, comerciante ou detentor de plantas e partes de plantas de espécies do gênero *Vitis*, devem adotar algumas medidas preventivas e de erradicação: I- Desinfestação de veículos, máquinas, implementos, equipamentos e material de colheita, com produtos sanitizantes recomendados pela pesquisa; II- Destruição de material contaminado; controle químico com produtos recomendados pela pesquisa; III- Eliminação de hospedeiras alternativas de *X. campestris* pv. *viticola*; VI- Eliminação de todo o material resultante das podas, por meio de enterrio ou queima, para as variedades mais suscetíveis e sintomáticas; V-

Fazer inspeções visuais em todo o viveiro semanalmente, concentrando-se nas variedades mais suscetíveis e nos períodos de condições ambientais favoráveis a ocorrência da doença e VI- Comunicar imediatamente ao órgão oficial de defesa agropecuária (Agência de Defesa e Fiscalização Agropecuária de Pernambuco–ADAGRO) sobre qualquer suspeita de ocorrência do cancro bacteriano da videira, em áreas livres da doença.

Como controle químico recomenda-se a pulverização das plantas com produtos a base de cobre logo após a poda, brotações e ferimentos. Segundo Leite Júnior (2000), diversos produtos cúpricos têm sido utilizados no controle de doenças bacterianas, como oxicloreto de cobre, sulfato de cobre, hidróxido de cobre e óxido cuproso. O cobre atua na proteção do tecido vegetal contra infecção por bactérias e na redução da população bacteriana na superfície foliar, necessitando várias aplicações de produtos para alcançar controle adequado de doenças bacterianas. Entretanto, tem sido relatada a resistência de isolados de *X. campestris* pv. *viticola* ao cobre, oxitetraciclina, sulfato de gentamicina, kasugamicina e estreptomomicina (ARAÚJO, 2001; ARAÚJO; ROBBS; RIBEIRO, 2004; CHAND et al., 1994; NASCIMENTO et al., 2000;), demonstrando a ocorrência natural de resistência nas regiões produtoras, onde a aplicação desses produtos é frequente. Silva et al. (2015) trabalhando com 70 isolados de *X. campestris* pv. *viticola* e dois produtos comerciais a base de cobre (hidróxido de cobre [Cu(OH)₂] e oxicloreto de cobre [Cu₂(Cl(OH))₃], verificaram diversidade acentuada quanto à sensibilidade ao cobre. Entretanto, como conclusão importante, foi percebido que isolados obtidos em períodos mais recentes foram mais tolerantes que os isolados obtidos em períodos mais antigos.

Somado a isso, outra desvantagem relativa à aplicação de produtos químicos é a modificação do ambiente que estes podem provocar, tanto pela contaminação das comunidades de seres vivos que o compõe, quanto pela sua acumulação nos segmentos bióticos e abióticos do ecossistema (RIBAS; MATSUMURA, 2009).

Não existem, até o momento, cultivares de videira com resistência genética ao cancro bacteriano disponíveis no mercado. No entanto, estudos preliminares que testaram as espécies *V. vinicola* e *V. labrusca*, mostraram que a primeira espécie varia quanto à suscetibilidade ao cancro bacteriano, sendo as variedades sem sementes classificadas como suscetíveis a muito suscetíveis, enquanto que a segunda espécie se mostra menos suscetível, variando entre resistentes a moderadamente resistentes

(CHAND, 1992). Trabalhos posteriores indicam que além das variedades *V. vinicola* serem suscetíveis, os híbridos de videira também podem ser. Malavolta Júnior e Almeida (2003), sugeriram que a resistência observada nos híbridos *V. labrusca* x *V. vinicola*, Niagara rosa e Niagara branca é oriunda de *V. labrusca*, responsável pelo gene de resistência. De acordo com Lima et al. (1999b), as variedades de porta-enxertos IAC 572, 766 e 420, usados na região do Submédio do Vale do São Francisco, não mostraram sintomas quando enxertadas com variedades altamente suscetíveis. Entretanto, Lima (2000) e Nascimento et al. (2000) detectaram a presença de *X. campestris* pv. *viticola* em porta-enxerto das variedades Tropical 576 e Tropical 572, respectivamente. Nascimento et al. (2006) avaliando a reação de clones de videira à doença, verificaram que os menores índices foram observados em ‘Isabel’ e ‘Paulsen 1103’ enquanto que os clones de *V. vinifera* foram os mais suscetíveis. De acordo com a Instrução Normativa nº 9, de 20 de abril de 2006 (MAPA, 2006), ‘Red Globe’ possui alta suscetibilidade; ‘Thompson’, ‘Benitaka’, ‘Festival’ (Superior), ‘Sonaka’, ‘Itália’ e ‘Rubi’ possuem grau médio, e ‘Niagara Rosada’, ‘Niagara Branca’ e ‘Princês’ possuem baixa suscetibilidade.

O controle alternativo de doenças inclui as medidas que não englobam o controle químico clássico e o melhoramento genético de plantas para resistência às doenças. Dentro desse contexto, diversas opções podem se mostrar promissoras, como a termoterapia de bacelos de videira infectados e o controle biológico com o uso de bactérias e leveduras.

Diante das recomendações para o controle do cancro bacteriano, a utilização de material propagativo livre de *X. campestris* pv. *viticola* é uma necessidade no manejo da doença, para que não haja a introdução e/ou disseminação deste patógeno para novas áreas e regiões. Poucas pesquisas relacionadas ao controle preventivo, através do uso de material propagativo livre de infecção e a práticas de manejo que possam limitar a sobrevivência e disseminação dessa bactéria, foram realizadas no Brasil. Silva et al. (2013) utilizou cultura de tecidos e obteve plantas micropropagadas livres de *X. campestris* pv. *viticola* e com boa regeneração. No entanto, quando comparado com outras práticas, essa requer mais tempo para a obtenção do material pronto para plantio.

O tratamento de bacelos com erradicação do patógeno pode ser uma alternativa eficiente e mais rápida para a produção de material propagativo isento da doença. O tratamento de órgãos propagativos pela técnica de termoterapia foi utilizado para

erradicação de bactérias fitopatogênicas em cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) (FERNANDES JÚNIOR et al., 2010) e videira (MAHMOODZADEH et al., 2003), contra os patógenos *Leifsonia xyli subsp. xyli* (Davis) Evtshenko et al. e *Rhizobium vitis* (Ophel and Kerr) Young et al. (sin. *Agrobacterium vitis* Ophel and Kerr), respectivamente, e termoterapia aliada a fungicidas para o tratamento de estacas de videira, visando o controle de fungos fitopatogênicos (GRAMAJE et al., 2009a; GRAMAJE et al., 2009b).

Apesar de ser recomendado como uma das prioridades de pesquisa com o cancro desde 2004, após discussão por técnicos de instituições do país (LOPES; NASCIMENTO, 2004), o tratamento de bacelos tem sido pouco pesquisado. Lima e Mashida (2000) testando a termoterapia de bacelos (água quente, 48-50°C/15min.), além do efeito de produtos químicos (oxitetraciclina, sulfato de cobre, amônia quaternária, chloranphenicol e cobre líquido), verificaram sintomas da doença em pecíolos e folhas, para todos os tratamentos testados, em porcentagens variáveis. A erradicação de *X. campestris* pv *viticola* em bacelos de videira também foi testada por Naue et al. (2014a), em experimentos com termoterapia (50°C durante 30 e 40 min; 53°C durante 5 e 10 min); bactericidas [oxitetraciclina+sulfato de cobre (150+2.000; 165+2.200; 180+2.400 e 195+2.600 mg L⁻¹ de H₂O) e oxitetraciclina (600; 700; 800 e 900 mg L⁻¹); e sanitizantes [cloreto de dodecildimetil amônio (600; 1.200; 1.800; 2.400 e 3.000 µL L⁻¹); hipoclorito de sódio (5.000; 10.000; 20.000; 30.000 e 40.000 µL L⁻¹) e cloreto de benzalcônio (125; 167; 250; 334 e 500 µL L⁻¹)]. No entanto, nenhum tratamento termoterápico ou produto foi capaz de erradicar *X. campestris* pv. *viticola* de bacelos infectados. Esses resultados indicam que novos binômios temperatura/tempo precisam ser testados visando obter resultados eficientes.

A utilização de leveduras e bactérias antagonistas como agentes de biocontrole no manejo de bactérias fitopatogênicas tem sido estudada por vários pesquisadores (CONCEIÇÃO et al., 2014; CUNHA et al., 2006; MELO et al; 2015; OLIVEIRA et al., 2006). Segundo Baker e Cook (1974), o biocontrole pode ser definido como a redução da densidade de inóculo ou atividades determinantes da doença causada por um patógeno, por um ou mais organismos, realizado naturalmente ou através da manipulação do ambiente, hospedeiro ou antagonista ou pela introdução em massa de um ou mais antagonistas. Os mecanismos envolvidos são: parasitismo direto; predação; competição por nutrientes e nichos ecológicos; produção de antibióticos, bacteriocinas,

metabólitos ácidos ou tóxicos; competição trófica de elementos essenciais ao desenvolvimento do patógeno; e estímulo das defesas do hospedeiro, ativando mecanismos de resistência (ROMEIRO, 1995). A introdução de antagonistas adaptados ao microhabitat do patógeno é um aspecto relevante para muitos sistemas planta-patógeno, mas o sucesso do biocontrole dependerá da natureza das propriedades e mecanismos de ação do antagonista (MELO, 1998). Dentre os diversos agentes de biocontrole, bactérias benéficas que existem na natureza, como as endofíticas, rizobactérias e as residentes de filoplano podem vir a ser utilizadas (HALFELD-VIEIRA, 2002), além das leveduras. Leveduras são fungos unicelulares, amplamente distribuídos nos solos e na superfície de folhas, ramos, pétalas de flores, frutos e sementes de plantas, podendo agir como “tampão biológico”, impedindo a ocorrência de infecções (WILSON; WISNIEWSKI, 1989).

Apesar da maioria dos produtos comerciais possuírem como alvo fungos fitopatogênicos, como é o caso do Aspire[®] e Bio-save 110[®], à base da levedura *Candida oleophila* Montrocher I-182 e da bactéria *Pseudomonas syringae* van Hall, respectivamente, alguns produtos com ação contra bactérias fitopatogênicas estão bastante consolidados no mercado, como é o caso do Dygall[®], contra *R. radiobacter*. Trabalhos envolvendo o biocontrole do gênero *Xanthomonas* spp. são raros e muitas vezes inconstantes. Silva (2013) realizando seleção de 224 isolados de bactérias obtidas do filoplano, através de testes *in vitro* e *in vivo*, verificou que dois isolados se mostraram efetivos contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (Pereira) Dye, agente causal da mancha bacteriana do maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims). Especificamente com *X. campestris* pv. *viticola*, até o momento nenhum trabalho envolvendo controle biológico foi realizado, e este surge como uma alternativa para auxiliar no manejo do cancro bacteriano da videira.

Considerando a importância socioeconômica da videira para o Submédio do Vale do São Francisco, a potencial ameaça do cancro bacteriano para outras regiões produtoras de uva e a existência de poucos estudos sobre o manejo dessa doença, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da termoterapia de bacelos de videira das cultivares Isabel e Red Globe na viabilidade de mudas e na erradicação de *X. campestris* pv. *viticola*, e a combinação de agentes de controle biológico e termoterapia na erradicação do patógeno e na redução da severidade da doença

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, J. S. P.; OLIVARES, F. L.; REIS JUNIOR, F. B.; ROBBS, C. F. Movimento sistêmico de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em videira. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v. 27, p. 53-54, 2002.

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

ARAÚJO, J. S. P.; ROBBS, C. F.; RIBEIRO, R. L. D. Manejo integrado de fitobacterioses de importância econômica no Brasil. Parte 2. RAPP. **Revisão Anual de Fitopatologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 12, n. 1, p. 145-199, 2004.

ARAÚJO, J. S. P.; ROBBS, C. F.; MACIEL, G. F. Novos hospedeiros alternativos de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 23. 1999.

BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**. São Francisco: W.H. Freeman, 1974. 433 p.

CHAND, R.; KISHUN, R. Effect of temperature on the growth of grape vine bacterial pathogen. **Drakshavritta Souvenir**, Pune, v. 73, p. 5, 1990.

CHAND, R.; PATIL, P. B.; KISHUM, R. Management of bacterial canker disease (*Xanthomonas campestris* pv. *viticola*) of grape vine (*Vitis vinifera*) by pruning. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, New Delhi, v. 61, p. 220-222, n. 3, 1991.

CHAND, R.; SINGH, P. N.; SINGH, D.; SINGH, R.; Copper and streptomycin resistance in *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Zeitschrift fuer Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, Stuttgart, v. 101, n. 5, p. 487-491, 1994.

CHAND, R. Sources of resistance to grapevine bacterial canker disease in *Vitis*. **Indian Institute of Horticultural Research**, Bangalore, v. 31, n. 1, p. 83-86, 1992.

CONCEIÇÃO, C. S.; FELIX, K. C. S.; MARIANO, R. L. R.; MEDEIROS, E. V.; SOUZA, E. B. Combined effect of yeast and silicon on the control of bacterial fruit blotch in melon. **Scientia Horticulturae**, Amsterdan, v. 174, p. 164-170, 2014.

CUNHA, J. F.; PICOLI, E. A. T.; ALFENAS, A. C.; GONÇALVES, R. C. feito “in vitro” de antibióticos e rizobactérias no controle de bactérias fitopatogênicas ao *eucalyptus* spp. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 6, p. 871-876, 2006.

DESAI, S. G.; GANDHI, A. B.; PATEL, M. K.; KOTASTHANAE, W. V. A new bacterial leaf-spot and blight of *Azadirachta indica* A. Juss. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v. 16, n. 1, p. 322-323, 1966.

FALCADE, I. Paisagens vitícolas brasileiras. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 10., 2005, Bento Gonçalves. **Anais...** Disponível em: <www.cnpuv.embrapa.br/publica/anais/cbve10/cbve10-palestra04.pdf>. Acesso em: 5 fev. 2016.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT, 2015**. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2015. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/T/TP/E>>. Acesso em: 08 fev. 2016.

FERNANDES JÚNIOR. A. R.; GANEM JÚNIOR E. J.; MARCHETTI L. B. L.; URASHIMA A. S. Avaliação de diferentes tratamentos térmicos no controle do raquitismo-da-soqueira em cana de-açúcar. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, n. 1, p. 60-64, 2010.

FLEMMING, H. C.; WINGENDER, J. The biofilm matrix. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 8, p. 623-33, 2010.

GRAMAJE, D.; ARMENGOL, J.; SALAZAR, D.; LOPEZ-CORTE, I.; GARCIA-JIMENEZ, J. Effect of hot-water treatments above 50°C on grapevine viability and survival of Petri disease pathogens. **Crop Protection**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 280-285, 2009a.

GRAMAJE, D.; AROCA, A.; RAPOSO, R.; GARCIA-JIMENEZ, J.; ARMENGOL, J. Evaluation of fungicides to control Petri disease pathogens in the grapevine propagation process. **Crop Protection**, Oxford, v. 28, n. 12, p. 1091-1097, 2009b.

GUERRA, L. G., **Formação de biofilme e análise bidimensional de proteínas de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola***. 2015, 59 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2015.

GUTTENPLAN, S. B.; KEARNS, D. B. Regulation of flagellar motility during biofilm formation. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 37, n. 6, p. 849-71, 2013.

HALFELD-VIEIRA, B. A. **Bactérias residentes de filoplano de tomateiro como agentes de controle biológico de enfermidades da parte aérea da cultura**. 2002, 98 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

HOLT J. G., KRIEG N. R., SNEATH P. H. A., STALEY J. T., WILLIAMS S. T. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9 ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. p. 71-179.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **SIDRA, 2016**. Sistema de Recuperação Automática [on-line]. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2015. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=1613&z=p&o=28&i=P>>. Acesso em: 01 mar. 2016.

INGLEZ DE SOUZA, J. S.; MARTINS, F. P. **Viticultura brasileira: principais variedades e suas características**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 368 p.

LEÃO, P. C. S.; POSSÍDIO, E. L. Histórico da videira. In: LEÃO, P.C.S.; SOARES, J.M. (Ed.). **A viticultura no semi-árido brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2000. p. 13-17.

LEITE JÚNIOR, R. P. Surviving with citrus canker in Brazil. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR CITRICULTURE, 9., 2000, Orlando.

Proceedings... Flórida: International Society for Citriculture, 2000. p. 890-896

LIMA, J. E. F. W.; FERREIRA, R. S. A.; CHRISTOFIDIS, D. **O uso da irrigação no Brasil**. São Paulo: O Estado das águas no Brasil, 1999. p. 73-82.

LIMA, M. F.; FERREIRA, M. A. S. V. Infecção latente em porta-enxertos de videira causada por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 23, 2000, Campinas. **Programa e Resumos...** Campinas: SPF, 2000. p. 283.

LIMA, M. F.; FERREIRA, M. A. S. V.; MOREIRA, W. A.; DIANESE, J. C. Bacterial canker of grapevine in Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 3, p. 440-443, 1999.

LIMA, M. F.; MASHIMA, C. Tratamento químico e térmico de bacelos de videira infectados com *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 324, 2000.

LIMA, M. F.; MOREIRA, W. A. Doenças causadas por bactérias. In: LIMA, M. F.; MOREIRA, W. A. (Ed.). **Uva de mesa: fitossanidade**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. p. 27-34.

LIMA, M. F.; TAVARES, S. C. C. H.; NASCIMENTO, A. R. P.; MOREIRA, W. A.; MARIANO, R. L. R.; FERREIRA, M. A. S. V. Ocorrência de bacteriose em videira (*Vitis* spp.) no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 210, 1998.

LOPES, D. B. L.; NASCIMENTO, A. R. P. Situação atual do cancro bacteriano da videira no semi-árido nordestino. **In: Seminário novas perspectivas para o cultivo de uvas sem sementes no vale do são francisco**. Junho, 2004. Petrolina: Embrapa Semiárido. (Documento 185).

MAHMOODZADEH, H.; NAZIMEH, A.; MAJIDI, I.; PAYGAMI, I.; KHALIGHI, A. Effects of thermotherapy treatments on systemic *Agrobacterium vitis* in dormant grape cutting. **Journal of Phytopathology**. Berlin, v. 151, n. 9, p. 481-484, 2003.

MALAVOLTA JÚNIOR., V. A.; ALMEIDA, I. M. G. Patogenicidade de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em neem. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 287, 2000.

MALAVOLTA JÚNIOR., V. A.; ALMEIDA, I. M. G. Resistência de variedades de videira a *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 3, p. 373-376, 2003.

MALAVOLTA JÚNIOR., V. A.; ALMEIDA, I. M. G.; SUGIMORI, M. H.; RIBEIRO, I. J. 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, v. 23, n. 1, p. 211, 1998.

MALAVOLTA JÚNIOR., V. A.; ALMEIDA, I. M. G.; SUGIMORI, M. H.; RIBEIRO, I. J. A.; RODRIGUES NETO, J.; PIRES, E. J. P.; NOGUEIRA, E. M. C. Ocorrência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em videira no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 262- 264, 1999.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa**. Instrução Normativa MAPA Nº 09, de 20 de abril de 2006. DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO, Brasília, Nº 10, 26 de abril de 2006, seção 1, p. 01. Disponível em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp? data=07/02/2014&jornal=1&pagina=9&totalArquivos=140>>. Acesso em: 12 jan. 2016.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa**. Instrução Normativa MAPA Nº 02, de 06 de fevereiro de 2014. DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO, Brasília, Nº 27, 07 de fevereiro de 2014, seção 1, p. 09. Disponível em: <[http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp? data=07/02/2014&jornal=1&pagina=9&totalArquivos=140](http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=07/02/2014&jornal=1&pagina=9&totalArquivos=140)>. Acesso em: 05 fev. 2016.

MASHIDA; C. H. **Uva sem semente**. Recife: SEBRAE/PE. 2000. 51 p. (Agricultura, 14).

MELO, E. A.; MARIANO, R. L. R.; LARANJEIRA, D.; SANTOS, L. A.; GUSMÃO, L. O.; SOUZA, E. B. Efficacy of yeast in the biocontrol of bacterial fruit blotch in melon plants. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 40, n. 1, p. 56-64, 2015.

MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Eds.) **Controle biológico**. Jaguariúna. Embrapa, 1998. p. 17-67.

NACHTIGAL, J. C. Avanços tecnológicos na produção de uvas de mesa. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 10., 2003, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p.167-170.

NASCIMENTO, A. R. P.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R.; GOMES, A. M. A. Elaboração e validação de escala diagramática para cancro bacteriano da videira. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, n. 1, p. 56-61, 2005.

NASCIMENTO, A. R. P.; MASHIMA, C. H.; LIMA, M. F. **Cancro bacteriano**: nova doença da videira no submédio São Francisco. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2000. 22 p. (Embrapa Semi-Árido. Circular Técnica, 58).

NASCIMENTO, A. R. P.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. M.; VIANA, I. O. Reação de clones de videira a *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, baseada nos componentes epidemiológicos do cancro bacteriano. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 1-7, 2006.

NASCIMENTO, A. R. P.; SILVA, V. A. V.; MONTEIRO, L. C.; AGUIAR, I. F.; CASTRO, G. S. S. *Azadiracta indica* – hospedeiro alternativo de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, no Submédio São Francisco. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 283, 2001.

NAUE, C. R.; BARBOSA, M. A. G.; BATISTA, D. C.; SOUZA, E. B.; MARIANO, R. L. R. Efeito do tratamento de bacelos de videira ‘Red Globe’ no controle do cancro bacteriano causado por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, p. 853-861, 2014a.

NAUE, C. R.; COSTA, V. S. O.; BARBOSA, M. A. G.; BATISTA, D. C.; SOUZA, E. B.; MARIANO, R. L. R. *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* on grapevine cutting tools and water: survival and disinfection. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 96, 451-458, 2014b.

NAYUDU, M. V. *Pseudomonas viticola* sp. nov., incitant of a new bacterial disease of grapevine. **Phytopathologische Zeitschrift**, Berlin, v. 73, n. 1, p. 183-186, 1972.

OLIVEIRA, J. R.; ROMEIRO, R. S.; LACERDA, B. S. L. Ocorrence of *Agrobacterium tumefaciens* biovar B on grapevine in Brazil. **Journal of Phytothology**, v. 140, n. 6, p. 363-366, 1994.

OLIVEIRA, A.; SANTOS, M. H. M.; SILVEIRA, E. B.; GOMES A. M. A.; MARIANO, R. L. R. Biocontrole da mancha-aquosa do melão pelo tratamento de sementes com bactérias epifíticas e endofíticas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 3, p. 373-377, 2006.

POMMER, C. V.; MAIA, M. L. Introdução. In: POMMER, C. V. (Ed.). **Uva: tecnologia de produção, pós-colheira, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes Editora Ltda, 2003. p. 11-35.

RIBAS, P. P. MATSUMURA, A. T. S. A química dos agrotóxicos: impactos sobre a saúde e meio ambiente. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v. 10, n. 14, p. 149-158, 2009.

ROBBS, C. F.; RODRIGUES NETO, J. Enfermidades causadas por bactérias em frutíferas tropicais no Brasil. VIDEIRA. Cancro bacteriano dos ramos e bagas ou crestamento das folhas. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 51-52, 1999.

RODRIGUES NETO, J.; DESTÉFANO, S.A.L.; RODRIGUES, L.M.R.; PELLOSO, D.S.; OLIVEIRA JÚNIOR, L.C. Grapevine bacterial canker in the State of São Paulo, Brazil: detection and eradication. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 36, n. 1, p. 42-44, 2011.

ROMEIRO, R. S. **Bactérias Fitopatogênicas**, Editora UFV, Viçosa. 1995. 367 p.

SILVA, E. I.; GUERRA, M. L.; MELO, E. A.; SANTOS, M. M. B.; GAMA, M. A. S.; SOUZA, E. B. Perfil de sensibilidade de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* a produtos cúpricos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 48., 2015, São Pedro. **Anais ...** Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2015. p.87.

SILVA, W. L. M. **Bactérias de filoplano de maracujazeiro como agente de controle biológico da mancha-bacteriana**. 2013, 84 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Roraima, Roraima, 2013.

SILVA, P. C. G.; COELHO, R. C. Caracterização social e econômica da videira. In: LEÃO, P. C. de S.; SOARES, J.M. **A viticultura no semi-árido brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2000. p. 19-32.

SILVA, A. M. F.; MELO, N. F.; SOUZA, E. B.; MARIANO, R. L. R. Limpeza clonal de mudas de videira infectadas por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, p. 316-19, 2013.

SILVA, A. M. F.; MENEZES, E. B.; SOUZA, E. B.; MARIANO, R. L. R.
Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em tecido infectado de videira.
Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 34, p. 757-765, 2012.

TAKITA, M. A.; SOUZA, A. A.; BORGES, K. M.; COLETTA-FILHO, H. D.;
MONGE, G. A.; DESTÉFANO, S.; RODRIGUES NETO, J.; MACHADO, M. A.
Região RPF (Regulação de fatores de patogenicidade) distingue espécies de
Xanthomonas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 253-254, 2004. Suplemento.

TOMAZ, R.; SCREMIN, R. M.; FERREIRA, M. A. S. V.; BARBOSA, M. A. G.
Detecção e erradicação de videiras com sintomas do cancro bacteriano no Estado do
Paraná. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 36, p. 896, 2011. Suplemento.

TONIETTO, J.; TEIXEIRA, A. H. C. **Zonage climatique dès périodes viticoles de
production dans l'année em zonage tropicale: application de la méthodologie du
Système CCM Géoviticole**. In: JOINT INTERNATIONAL CONFERENCE ON
VITICULTURAL ZONING. Cape Town, 2004. Siuth África, 2004. p. 193-201.

TRINDADE, L. C.; MARQUES, E; LOPES, D. B.; FERREIRA, M. A. S. V.
Development of a molecular method for detection and identification of *Xanthomonas
campestris* pv. *viticola*. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 33, p. 16-23, n.1,
2007.

VALEXPOR. Associação dos Exportadores de Hortigranjeiros e Derivados do Vale do
São Francisco, 2011. **Dados estatísticos**. Disponível em:
<<http://www.brazilianfruit.org.br/Relatorios/Relatorios.asp>>. Acesso em: 10 Set. 2015.

VAUTERIN, L.; HOSTE, B.; KERSTERS, K.; SWINGS, J. Reclassification of
Xanthomonas. **International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology**,
Washington, v. 45, p n. 1, 472-489, 1995.

WILSON, C. L.; WISNIEWSKI, M. E. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: An emerging technology. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 27, n. 2, p. 425-441, 1989.

CAPÍTULO II

Termoterapia em bacelos de videira para manejo do cancro bacteriano

1 **Termoterapia em bacelos de videira para manejo do cancro bacteriano**

2 Francisco Conrado Queiroz Carvalho⁽¹⁾; Rosa de Lima Ramos Mariano⁽¹⁾; Maria Angélica
3 Guimarães Barbosa⁽²⁾ e Elineide Barbosa de Souza⁽¹⁾

4 ⁽¹⁾ Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros, S/N, Dois Irmãos, 52171-900,
5 Recife, Pernambuco, Brasil. Email: conradoqueiroz@hotmail.com, rrbac@gmail.com,

6 elineidebs@yahoo.com.br

7 ⁽²⁾ Embrapa Semiárido, BR 428, Km 152, Zona Rural, 56302-970 Petrolina, Pernambuco, Brasil. Email:

8 angélica.guimaraes@embrapa.br

9
10 Resumo - O cancro bacteriano, causado por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, é uma
11 doença de grande importância para a cultura da videira no Brasil. Este trabalho avaliou o
12 efeito da termoterapia de bacelos de videira das cultivares Isabel e Red Globe na viabilidade
13 de mudas e na erradicação de *X. campestris* pv. *viticola*. Os bacelos foram tratados a 50, 52 e
14 54°C nos tempos de 30, 45 e 60 min, plantados, e o crescimento das mudas avaliado após 45
15 dias. A erradicação de *X. campestris* pv. *viticola* foi determinada nas temperaturas 50 e 52°C
16 e tempos de 45, 50 e 60 min, quantificando-se a população bacteriana nos bacelos antes do
17 plantio e componentes epidemiológicos do cancro bacteriano, 120 dias após o plantio. Apenas
18 a temperatura de 54°C, principalmente durante 45 e 60 min, interferiu negativamente no
19 número de folhas, altura da planta, comprimento e volume do sistema radicular. A população
20 bacteriana foi reduzida nos bacelos de ambas cultivares. Nenhum binômio temperatura/tempo
21 foi capaz de erradicar *X. campestris* pv. *viticola*, mas os sintomas de cancos nos ramos foram
22 reduzidos de 65,5 a 95,9% nos tratamentos a 50 e 52°C durante 45 e 60 min. Considerando as
23 duas cultivares, a viabilidade de mudas e controle da doença, é recomendado o tratamento dos
24 bacelos de videira a termoterapia de 52°C durante 45 min para o manejo do cancro bacteriano.
25 Termos para indexação: *Vitis vinifera*, *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, controle,
26 material propagativo.

27 **Thermotherapy on cuttings of grapevine for the management of bacterial canker**

28 Abstract – Bacterial canker, caused by *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, is a very
29 important disease for the grapevine crop in Brazil. This work evaluated the effect of
30 thermotherapy on cuttings of cultivars Isabel and Red Globe on the viability of plantlets and
31 eradication of *X. campestris* pv. *viticola*. The cuttings were treated at 50, 52 and 54°C during
32 30, 45 and 60 min, planted, and after 45 days the plantlets were analyzed for growth. The
33 eradication of *X. campestris* pv. *viticola* was evaluated at 50 to 52°C and 45, 50 and 60 min
34 by quantifying bacterial populations on cuttings before planting and epidemiological
35 components of bacterial canker, 120 days after planting. Only the temperature of 54°C,
36 mainly during 45 and 60 minutes, affected negatively leaf number, plant height, and length
37 and volume of root system. The bacterial population was reduced in cuttings of both cultivars.
38 No binomial temperature/time was able to eradicate *X. campestris* pv. *viticola*, but at 50 and
39 52°C during 45 to 60 min, canker symptoms on the branches were reduced from 65.5 to
40 95.9%. Considering the two cultivars, the viability of plantlets and the disease control, the
41 treatment of grapevine cuttings at 52°C during 45 min is recommended for the management
42 of bacterial canker.

43 Index terms: *Vitis vinifera*, *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, control, propagation
44 material.

45

46 **Introdução**

47

48 O cancro bacteriano é uma doença destrutiva que tem sido responsável por
49 significativos prejuízos econômicos na cultura da videira no Brasil, em áreas produtoras dos
50 estados de Pernambuco e Bahia, localizadas na região do Submédio do Vale do São Francisco
51 (Malavolta Júnior et al., 1999). Essa região é responsável por 99% das exportações brasileiras

52 anuais da fruta, tanto em volume quanto em valores de produção (Valexport, 2011). O cancro
53 bacteriano da videira é causado por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Nayudu) Dye,
54 bactéria classificada como praga quarentenária presente (A2) no Brasil (Tostes et al., 2014).

55 As epidemias do cancro bacteriano da videira têm sido atribuídas ao plantio de mudas
56 ou bachelos infectados (Lima & Moreira, 2002), que ocasionam significativa redução na
57 produção, principalmente na variedade Red Globe. Plantas infectadas produzem cachos com
58 sintomas de cancro no engaço, que prejudicam seu desenvolvimento, além da inutilização dos
59 frutos para comercialização (Lima & Moreira, 2002).

60 Os sintomas do cancro bacteriano da videira no Submédio do Vale do São Francisco
61 ocorrem preferencialmente no primeiro semestre do ano, época mais chuvosa e que apresenta
62 altos registros de umidade relativa do ar e temperaturas (Lima et al., 1999). *X. campestris* pv.
63 *viticola* pode afetar diferentes órgãos da videira, em diferentes estádios de desenvolvimento.
64 Nas folhas surgem como pontos necróticos de 1 a 2 mm de diâmetro, com ou sem halos
65 amarelados, algumas vezes coalescendo e causando a morte de extensas áreas do limbo foliar.
66 Nos pecíolos, ramos e ráquis ocorre a formação de manchas necróticas alongadas que
67 evoluem para fissuras longitudinais de coloração negra, denominadas de cancro. A planta,
68 além de baixa produtividade, pode apresentar sintomas nas bagas caracterizados por manchas
69 cloróticas e necróticas circulares, além de deformidade no tamanho e variações de coloração
70 (Lima et al., 1999; Malavolta Júnior et al., 1999).

71 Considerando-se a natureza da infecção do patógeno, além da evasão, ou seja, poda de
72 produção em períodos de baixa precipitação pluviométrica, as recomendações de manejo do
73 cancro bacteriano no Brasil se baseiam na Instrução Normativa nº 2 de 06 de fevereiro de
74 2014 (MAPA, 2014), onde produtor, importador, comerciante ou detentor de plantas e partes
75 de plantas de espécies do gênero *Vitis*, devem adotar algumas medidas preventivas e de
76 erradicação, incluindo as que interferem na introdução e na disseminação do patógeno. Dentro

77 desse contexto, a utilização de material propagativo livre de *X. campestris* pv. *viticola* é uma
78 necessidade no manejo da doença, para que não haja a introdução e/ou disseminação deste
79 patógeno para novas áreas e regiões. O tratamento de bachelos com erradicação do patógeno
80 pode ser uma alternativa eficiente e mais rápida para a produção de material propagativo
81 isento da doença.

82 O tratamento de órgãos propagativos pela técnica de termoterapia foi utilizado para
83 erradicação de bactérias fitopatogênicas em videira (Mahmoodzadeh et al., 2003) e cana-de-
84 açúcar (Fernandes Júnior et al., 2010), contra os patógenos *Rhizobium vitis* (Ophel and Kerr)
85 Young et al. (sin. *Agrobacterium vitis* Ophel and Kerr) e *Leifsonia xyli subsp. xyli* (Davis)
86 Evtshenko et al., respectivamente, e de fungos fitopatogênicos pela termoterapia aliada a
87 fungicidas para o tratamento de estacas de videira (Gramaje et al., 2009a; Gramaje et al.,
88 2009b). No entanto, o tratamento de bachelos para o controle do cancro bacteriano tem sido
89 pouco pesquisado. Naue et al. (2014a) testaram a erradicação de *X. campestris* pv. *viticola* em
90 bachelos de videira em experimentos com termoterapia (50°C durante 30 e 40 min; 53°C
91 durante 5 e 10 min); bactericidas [oxitetraciclina+sulfato de cobre (150+2.000; 165+2.200;
92 180+2.400 e 195+2.600 mg L⁻¹ de H₂O) e oxitetraciclina (600; 700; 800 e 900 mg L⁻¹); e
93 sanitizantes [cloreto de dodecildimetil amônio (600; 1.200; 1.800; 2.400 e 3.000 µL L⁻¹);
94 hipoclorito de sódio (5.000; 10.000; 20.000; 30.000 e 40.000 µL L⁻¹) e cloreto de benzalcônio
95 (125; 167; 250; 334 e 500 µL L⁻¹)], verificando que nenhum tratamento termoterápico ou
96 produto foi capaz de erradicar *X. campestris* pv. *viticola* de bachelos infectados. Esses
97 resultados indicam que novos binômios temperatura/tempo precisam ser testados visando
98 obter resultados eficientes.

99 Portanto, o objetivo da pesquisa foi avaliar a eficiência da termoterapia de bachelos de
100 videira das cultivares Isabel e Red Globe na viabilidade de mudas e na erradicação de *X.*
101 *campestris* pv. *viticola*.

Material e Métodos

102

103

104 O isolado Xcv2^{rif} de *X. campestris* pv. *viticola*, um mutante espontâneo e estável a 100
105 ppm de rifampicina, pertencente a Coleção de Bactérias do Laboratório de Fitopatologia da
106 Embrapa Semiárido, Petrolina/PE, Brasil, foi utilizado nos experimentos. Esse mutante teve
107 taxa de crescimento em meio líquido NYD (deextrose 10 g, extrato de carne 3 g, extrato de
108 levedura 5 g, peptona 5 g e água destilada 1000 mL) e patogenicidade em videira similar ao
109 isolado selvagem Xcv2 (Silva et al., 2012), e foi identificado por PCR (Naue et al., 2014b).

110 O mutante foi cultivado em meio NYDAM^{rif} (NYD acrescido de 18 g ágar, e 100 ppm
111 ampicillin + 100 ppm rifampicin) a 28°C por 48 h. A concentração da suspensão bacteriana
112 em água destilada e esterilizada (ADE) foi ajustada a $A_{570} = 0,4$ (10^8 UFC/mL) usando um
113 espectrofotômetro (Analyser 500M, Brazil). No momento das inoculações Tween 20
114 (0,005%) foi adicionado à suspensão bacteriana.

115 Para realização dos experimentos foram utilizadas a cultivar Isabel e Red Globe. Os
116 bacelos da cultivar Isabel foram obtidos em São Vicente Férrer/região Agreste de
117 Pernambuco e se encontravam livres de *X. campestris* pv. *viticola*, enquanto que os da a
118 cultivar Red Globe, foram oriundos de Petrolina/região do Submédio do Vale do São
119 Francisco em Pernambuco e estavam naturalmente infectados com a bactéria.

120 Quatro métodos de inoculação de *X. campestris* pv. *viticola* foram testados em bacelos
121 de videira da cultivar Isabel, com o objetivo de selecionar o melhor método para os demais
122 experimentos: (1) Imersão – imersão dos bacelos em suspensão bacteriana por períodos de 30,
123 40 e 45 min; (2) Infiltração a vácuo – bacelos submetidos a pressão de vácuo (500 mmHg)
124 por 20 min (Frenkel et al., 1969); (3) Injeção – injeção de 6 µL de suspensão bacteriana no
125 xilema dos bacelos, com auxílio de uma seringa; (4) Picada – duas picadas realizadas com
126 alfinete entomológico nos bacelos, seguindo-se a deposição de células bacterianas no local do

127 ferimento. Após esse processo, uma cobertura com algodão umedecido em ADE e envolvido
128 por papel laminado foi colocado em cada um dos pontos de inoculação (Nascimento et al.,
129 1998).

130 Antes do plantio, para determinar a quantificação da população de *Xcv2^{Rif}*, cinco
131 bacelos de cada tratamento foram pesados em balança analítica e fragmentados/triturados em
132 liquidificador, contendo 200 mL de ADE. Posteriormente, diluições em ADE foram
133 realizadas e alíquotas de 100 mL foram plaqueadas em meio NYDAM^{rif}. As placas foram
134 incubadas por 72 h a 28°C, quando foi realizada a contagem do número de colônias,
135 determinando-se a população bacteriana por grama de tecido.

136 Logo após os tratamentos, os bacelos foram plantados em sacos de polietileno (10 x 20
137 cm) contendo solo em condições de casa de vegetação, e durante 120 dias foi realizada a
138 avaliação da erradicação da doença pela detecção da presença ou ausência de sintomas nas
139 plantas, determinando-se: a) período de incubação da doença, representado pelo número de
140 dias entre a brotação do bacelo e o surgimento dos sintomas da doença. Plantas que não
141 apresentaram sintomas tiveram o período de incubação ajustado para o período de avaliação
142 total, acrescido de um dia; b) incidência da doença, calculada ao final do experimento, pelo
143 percentual de folhas e ramos com sintomas em relação ao número total de folhas e ramos da
144 planta; e c) severidade da doença, nas folhas e ramos. Nas folhas a severidade foi determinada
145 com auxílio de escala diagramática variando de 2 a 91% de área foliar com sintomas
146 (Nascimento et al., 2005) e nos ramos, pelo número de cancos. O delineamento experimental
147 foi inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento, sendo a unidade
148 experimental constituída por quatro plantas.

149 Para avaliar o efeito da termoterapia na viabilidade de mudas de videira, bacelos das
150 cultivares Isabel e Red Globe, com comprimento de 30 cm, contendo duas gemas, foram
151 imersos em banho-maria (Cien Tec 268). Os binômios temperatura/tempo testados foram os

152 seguintes: 50, 52 e 54°C nos tempos de 30, 45 e 60 min, selecionados a partir do trabalho de
153 Gramaje et al. (2009a). Os bacelos da testemunha foram imersos em água com temperatura
154 ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). Em viveiro, os bacelos foram plantados em tubetes (JKS industrial
155 LTDA[®]), contendo substrato a base de fibra de coco (Bioplant[®]). As médias de temperatura e
156 umidade relativa do ar foram de 33,4°C e 56,4%, respectivamente. Após 45 dias do plantio,
157 foram analisadas as seguintes variáveis: número de folhas (unidade) – contagem do total de
158 folhas formadas por planta; altura da planta (cm) – medição do colo à folha mais alta da
159 planta; comprimento do sistema radicular (cm) – medição do colo ao final do sistema
160 radicular da planta; volume do sistema radicular (cm^3) – quantidade de água deslocada em
161 uma proveta ao se colocar o sistema radicular da planta. Para cada cultivar o delineamento
162 experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 4 x 3 (temperaturas x tempos de
163 imersão), com quatro repetições por tratamento, sendo a unidade experimental constituída por
164 cinco bacelos.

165 A termoterapia de bacelos de videira nas temperaturas de 50 e 52°C e tempos de 45, 50
166 e 60 min foi testada com a finalidade de erradicar *X. campestris* pv. *viticola*. Bacelos de da
167 cultivar Isabel com comprimento de 30 cm foram inoculados com Xcv2^{Rif} pelo método de
168 imersão em suspensão bacteriana por 30 min, enquanto que os bacelos da cultivar Red Globe
169 com 30 cm de comprimento foram testados sob infecção natural, sem a necessidade de
170 inoculação do patógeno. Após 48 h em câmara úmida, estes foram submetidos aos
171 tratamentos termoterápicos. Os bacelos da testemunha foram imersos em água com
172 temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). A erradicação da bactéria foi avaliada em testes *in vitro* e *in*
173 *vivo*, seguindo a mesma metodologia do experimento de seleção de métodos de inoculação.
174 As médias de temperatura e umidade relativa do ar da casa de vegetação foram de 29,1°C e
175 68,3%, respectivamente. Para cada cultivar o delineamento experimental foi inteiramente
176 casualizado, em arranjo fatorial 3 x 3 (temperaturas x tempos de imersão), com quatro

177 repetições por tratamento, sendo a unidade experimental constituída por cinco
178 bacelos/plantas.

179 Todos os experimentos foram conduzidos duas vezes. Os dados foram transformados
180 em raiz quadrada ($\sqrt{x + 0,5}$) e submetidos a testes de comparação de média (Tukey) ao nível
181 de 5% de probabilidade, com o auxílio do programa STATISTIX® (versão 9.0, Analytical
182 Software, Tallahassee). Não existiu diferença significativa ($P \leq 0,05$) na variância dos
183 experimentos. Então, os dados foram analisados como repetição no tempo. Para facilitar a
184 comparação entre os tratamentos do efeito da termoterapia na viabilidade de mudas de
185 videira, a testemunha foi considerada como padrão comum, sendo fixado 100% em todas as
186 variáveis de crescimento da planta.

187

188 **Resultados e Discussão**

189

190 Atualmente, um dos problemas que mais ameaçam a estabilidade fitossanitária da
191 videira na região do Submédio do Vale do São Francisco é o cancro bacteriano. Por se tratar
192 de uma praga quarentenária presente (A2) no Brasil (Tostes et al., 2014), justifica-se o
193 desenvolvimento de pesquisas envolvendo o princípio da erradicação de Xcv através da
194 termoterapia, uma vez que as epidemias têm início a partir do plantio de mudas e bacelos
195 infectados (Lima & Moreira, 2002).

196 Para o presente estudo, as cultivares Isabel e Red Globe foram utilizadas como graus
197 de resistência e suscetibilidade ao cancro bacteriano, respectivamente (Nascimento et al.,
198 2006) e uma vez que ‘Isabel’ estava livre de *X. campestris* pv. *viticola*, quatro métodos de
199 inoculação do patógeno foram testados. A população de $Xcv2^{Rif}/g$ de tecido detectada nos
200 bacelos após a inoculação foi significativamente ($P \leq 0,05$) maior no método de imersão,
201 independente do tempo de inoculação, em relação aos métodos de infiltração a vácuo e

202 injeção, mas sem se diferenciar do método de picada (Tabela 1). Contudo, não houve
203 diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre os métodos de inoculação quanto ao período de
204 incubação, incidência e severidade da doença, em folhas e ramos (Dados não apresentados).
205 Devido à facilidade operacional e de tempo, o método de imersão durante 30 min em
206 suspensão bacteriana foi selecionado para uso nos experimentos posteriores. Apesar de já ser
207 utilizado em vários trabalhos (Nascimento et al., 1998; Peixoto et al., 2007; Silva et al., 2012),
208 a eficiência do método da picada se restringe a sintomas bem localizados e somente deve ser
209 utilizado em testes de patogenicidade. A metodologia de infiltração a vácuo tem origem no
210 trabalho de Frenkel et al. (1969) em frutas com sementes, o que pode ter contribuído para o
211 resultado negativo, uma vez que bacelos são materiais muito lignificados e de difícil
212 penetração. Por essa mesma razão, o método de injeção também obteve resultados
213 insatisfatórios.

214 A viabilidade das mudas de videira das cultivares Isabel e Red Globe não foi afetada
215 pela termoterapia dos bacelos a 50°C, independentemente do tempo de duração, indicando
216 que os binômios temperatura/tempo testados não prejudicaram a qualidade das mudas
217 (Figuras 1 e 2). Resultados semelhantes foram obtidos por Gramaje et al. (2009a), ao testarem
218 temperaturas acima de 50°C nos mesmos tempos utilizados no presente experimento em
219 bacelos de videira no controle da doença de Petri. Temperaturas de 50°C durante 30 e 40 min
220 foram utilizadas na erradicação de *X. campestris* pv. *viticola* em bacelos de videira e não
221 provocaram o subdesenvolvimento das plantas, tampouco fitotoxidade das mesmas (Naue et
222 al., 2014a). Nesse mesmo contexto, o binômio 50°C durante 30 min não prejudicou o
223 desenvolvimento de mudas de videira da cultivar Thompson Seedless e porta enxerto NAZ3
224 (Mahmoodzadeh et al., 2003) (Figuras 1 e 2).

225 O tratamento dos bacelos da cultivar Isabel na temperatura de 52°C, na maioria dos
226 tempos, afetou a viabilidade das mudas em relação ao número de folhas e altura da planta,

227 mas não em relação ao comprimento e volume do sistema radicular (Figura 1). Efeito
228 negativo dessa temperatura também foi detectado em 'Red Globe' no tempo de 60 min e
229 temperatura de 52°C, em todas as variáveis analisadas (Figura 2). Apesar de ter afetado
230 algumas características agronômicas da videira, a temperatura de 52°C teve suas perdas
231 compensadas pela redução na severidade do cancro bacteriano, como evidenciado no
232 experimento de erradicação de *X. campestris* pv *viticola* dos bacelos. A temperatura de 54°C,
233 por sua vez, apresentou resultados negativos para as mudas das duas cultivares (Figuras 1 e 2)
234 em praticamente todas as variáveis testadas, principalmente nos tempos de duração de 45 e 60
235 min, não sendo indicada, portanto, para uso como tratamento termoterápico de bacelos de
236 videira. Nas variáveis número de folhas, comprimento e volume do sistema radicular,
237 reduções de até três vezes podem ser observadas, quando comparada com a testemunha,
238 enquanto que na altura da planta essa redução foi menos drástica.

239 A cultivar Isabel se mostrou mais sensível a termoterapia do que a cultivar Red Globe,
240 e isso é devido a características próprias do cultivo de cada região de origem dessas
241 cultivares. Enquanto que no Submédio do Vale do São Francisco o cultivo caracteriza-se por
242 ser uma atividade agrícola altamente tecnificada e concentrada em unidades produtivas
243 empresariais, de pequeno, médio e grande portes, que direcionam suas produções
244 principalmente para o mercado externo (Leão & Lima, 2009), em São Vicente Férrer o cultivo
245 é feito, em sua maioria, por agricultores familiares. Isso justifica a obtenção de bacelos menos
246 vigorosos e com menores diâmetros e, conseqüentemente, mais sensíveis aos tratamentos de
247 termoterapia da cultivar Isabel. Além disso, bacelos de videira obtidos de clima mais frios são
248 mais sensíveis ao tratamento de termoterapia do que os bacelos obtidos de clima quente
249 (Crocker et al., 2002), e as temperaturas médias anuais de São Vicente Férrer e do Submédio
250 do Vale do São Francisco são de 27,2°C e 31,1°C, respectivamente. Deve-se considerar

251 também que algumas cultivares de videira, devido as características fisiológicas próprias, são
252 mais sensíveis que outras ao tratamento de termoterapia (Waite & Morton, 2007).

253 Os binômios temperatura/tempo utilizados com a finalidade de erradicar *X. campestris*
254 *pv. viticola* dos bacelos de videira foram os que menos afetaram o desenvolvimento de
255 mudas, baseados no experimento de viabilidade. Na cultivar Isabel as temperaturas de 50°C e
256 52°C durante 45, 50 e 60 min foram capazes de diminuir a população de *X. campestris* *pv.*
257 *viticola* em níveis não detectáveis, evidenciando pelo crescimento bacteriano somente na
258 testemunha (Figura 3A). Em 'Red Globe', em todos os tratamentos termoterápicos foram
259 observadas populações significativamente inferiores ($P \leq 0,05$) em relação à testemunha
260 (Figura 3B). Quando foram avaliados os componentes epidemiológicos do cancro bacteriano,
261 constatou-se que nenhum tratamento termoterápico foi capaz de erradicar Xcv, mas alguns
262 binômios temperatura/tempo reduziram os sintomas da doença (Figura 4 e 5). Em 'Isabel', as
263 temperaturas de 50°C e 52°C se mostraram eficientes na redução da doença nos ramos, o que
264 pode ser observado pelo aumento do período de incubação e diminuição da severidade da
265 doença, nos tempos de 45 e 60 min, além de 52°C durante 50 min, enquanto que na variável
266 incidência somente a temperatura de 52°C foi eficiente em todos os tempos testados (Figura
267 4). Já nas folhas a redução da doença foi significativa ($P \leq 0,05$) em relação à testemunha em
268 todos os tempos e variáveis epidemiológicas testadas somente na temperatura de 52°C. As
269 temperaturas de 50°C e 52°C na cultivar Red Globe foram eficientes ($P \leq 0,05$) na redução da
270 doença somente na variável severidade da doença nos ramos, a nos tempos de 45, 50 e 60
271 min, e na severidade da doença nas folhas quando utilizada a temperatura 50°C durante 60
272 min.

273 Apesar do objetivo não ter sido totalmente alcançado, os resultados mostraram
274 redução do cancro bacteriano em ambas as cultivares testadas, principalmente em relação aos
275 sintomas de cancos nos ramos, que foram reduzidos de 65,5 a 95,9% nos tratamentos a 50 e

276 52°C durante 45 e 60 min Esses resultados são bem significativos, uma vez que uma das
277 principais formas de disseminação da doença é através de bacelos infectados Além disso, *X.*
278 *campestris* pv. *viticola* é uma bactéria sistêmica, que coloniza os vasos do xilema, o que
279 dificulta o controle. Naue et al. (2014a) não tiveram tanta eficiência quando utilizaram os
280 binômios de 50°C durante 30 e 40 min e 53°C durante 5 e 10 min no controle do cancro
281 bacteriano, justificando que provavelmente os tempos de exposição dos bacelos não foram
282 suficientes para atingir o patógeno. Dessa forma, foi com base nos resultados negativos desses
283 autores que na presente pesquisa foram testadas novas combinações de temperatura e tempos
284 de termoterapia. Como mencionado anteriormente, devido a circunstâncias do cultivo, os
285 bacelos da cultivar Red Globe foram mais vigorosos e com maior diâmetro quando
286 comparado com ‘Isabel’, o que provavelmente justifica a maior dificuldade de controle para
287 essa cultivar, o que também foi observado por Mahmoodzadeh et al. (2003), e que talvez seja
288 contornado com a utilização de maiores tempos (Naue et al., 2014a). Além do mais, as
289 populações naturais de *X. campestris* pv. *viticola* em ‘Red Globe’ poderiam estar em níveis
290 muito elevados, o que teria dificultado o controle do cancro bacteriano.

291 Os viveiros nacionais ainda não utilizam a prática de termoterapia como rotina na
292 produção de mudas de videira. Isso se deve ao fato da desconfiança com relação a sua
293 eficiência, e por inexistir uma metodologia prática e adaptável às condições locais. No
294 entanto, de acordo com os resultados obtidos na pesquisa, considerando as duas cultivares,
295 viabilidade da muda, controle da doença e ausência de diferença significativa entre os tempos
296 de termoterapia, é recomendado o tratamento dos bacelos de videira a temperatura de 52°C
297 durante 45 min para o manejo do cancro bacteriano.

298

299

Conclusão

300

301 O tratamento termoterápico dos bacelos de videira a 52°C durante 45 min, por não
302 afetar a viabilidade das mudas e reduzir os sintomas do cancro nos ramos das cultivares Isabel
303 e Red Globe, é recomendado para o manejo do cancro bacteriano.

304

305 **Agradecimentos**

306

307 Aos produtores de uva no Submédio do Vale do São Francisco; ao Conselho Nacional
308 de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo a
309 Francisco C. Q. Carvalho, e de pesquisa a Rosa L. R. Mariano e Elineide B. Souza (Proc.
310 307348/2011-3).

311

312 **Referências**

313

314 CROCKER, J., WAITE, H., WRIGHT, P., FLETCHER, G., 2002. Source area management:
315 avoiding cutting dehydration and good nursery management may be the keys to successful hot
316 water treatment. **Australian and New Zealand Grapegrower Winemaker**, v.461a, p.33–37,
317 2008.

318

319 FERNANDES JÚNIOR, A.R.; GANEM, JUNIOR, E.J.; MARCHETTI, L.B.L.;
320 URASHIMA, A.S. Avaliação de diferentes tratamentos térmicos no controle do raquitismo-
321 da-soqueira em cana de-açúcar. **Tropical Plant Pathology**, v.35, p.60-64, 2010.

322

323 FRENKEL, C.; KLEIN, I.; DILLEY, D.R. Methods for the study of ripening and protein
324 synthesis in intact pome fruits. **Phytochemistry**, v.8, p.945-955, 1969.

325

326 GRAMAJE, D.; ARMENGOL, J.; SALAZAR, D.; LOPEZ-CORTE, I.; GARCIA-JIMENEZ,
327 J. Effect of hot-water treatments above 50°C on grapevine viability and survival of Petri
328 disease pathogens. **Crop Protection**, v.28, p.280-285, 2009a.

329

330 GRAMAJE, D.; AROCA, A.; RAPOSO, R.; GARCIA-JIMENEZ, J.; ARMENGOL, J.
331 Evaluation of fungicides to control Petri disease pathogens in the grapevine propagation
332 process. **Crop Protection**, v.28, p.1091-1097, 2009b.

333

334 LEÃO, P.C.S.; LIMA, M.A.C. Histórico da Viticultura no Vale do Submédio São Francisco.
335 In: Documentos on line. **Subsídios Técnicos para a Indicação Geográfica de Procedência**
336 **do Vale do Submédio São Francisco: Uva de Mesa e Manga**. Petrolina: Embrapa, 2009,
337 p.21-25.

338

339 LIMA, M.F.; FERREIRA, M.A.S.V.; MOREIRA, W.A. DIANESE, J.C. Bacterial canker of
340 grapevine in Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, p.440-443, 1999.

341

342 LIMA, M. F.; MOREIRA, W. A. Doenças causadas por bactérias. In: Lima, M. F.; Moreira,
343 W. A. (Ed.). **Uva de mesa: fitossanidade**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002.
344 p.27-34.

345

346 MAHMOODZADEH, H.; NAZIMEH, A.; MAJIDI, I.; PAYGAMI, I.; KHALIGHI, A.
347 Effects of thermotherapy treatments on systemic *Agrobacterium vitis* in dormant grape
348 cutting. **Journal of Phytopathology**, v.151, p.481-484, 2003.

349

350 MALAVOLTA JÚNIOR, V.A.; ALMEIDA, I.M.G.; SUGIMORI, M.H.; RIBEIRO, I.J.A.;
351 RODRIGUES NETO, J.; PIRES, E.J.P.; NOGUEIRA, E.M.C. Ocorrência de *Xanthomonas*
352 *campestris* pv. *viticola* em videira no Brasil. **Summa Phytopathologica**, v.25, p. 262- 264,
353 1999.

354
355 MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO.
356 **Instrução normativa MAPA Nº 02, 06 de Fevereiro de 2014.** DIÁRIO OFICIAL DA
357 UNIÃO, Brasília, Nº 27, 07 de fevereiro de 2014, seção 1, p. 09. Disponível em:
358 <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=07/02/2014&jornal=1&pagina=9&totalArquivos=140>>. Acesso em: 10 fev. 2016.

360
361 NASCIMENTO, A.R.P., GARZIERA, F., TAVARES, S.H.; MARIANO, R.L.R. Avaliação
362 de patogenicidade da bactéria da necrose em videiras (*Vitis* spp.). **Fitopatologia Brasileira**,
363 v.23, p.213, 1998.

364
365 NASCIMENTO, A.R.P.; GOMES, A.M.A.; MICHEREFF, S.J.; MARIANO, R.L.R.
366 Elaboração e validação de escala diagramática para cancro bacteriano da videira. **Summa**
367 **Phytopathologica**, v.31, p 56-61, 2005.

368
369 NASCIMENTO, A.R.P.; MICHEREFF, S.J.; MARIANO, R.L.M.; VIANA, I.O. Reação de
370 clones de videira a *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, baseada nos componentes
371 epidemiológicos do cancro bacteriano. **Ciência Rural**, v.36, p.1-7, 2006.

372
373 NAUE, C.R.; BARBOSA, M.A.G; BATISTA, D.C.; SOUZA, E.B.; MARIANO, R.L.R.
374 Efeito do tratamento de bacelos de videira 'Red Globe' no controle do cancro bacteriano

375 causado por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.36,
376 p.853-861, 2014a.

377

378 NAUE, C.R.; COSTA, V.S.O.; BARBOSA, M.A.G.; BATISTA, D.C.; SOUZA, E.B.;
379 MARIANO, R.L.R. *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* on grapevine cutting tools and
380 water: survival and disinfection. **Journal of Plant Pathology**, v.96, p.451-458, 2014b.

381

382 PEIXOTO, A.R.; MARIANO, R.L.R.; MOREIRA, J.O.T.; VIANA, I.O. Hospedeiros
383 alternativos de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p.161-
384 164, 2007.

385

386 SILVA, A.M.S.; MENEZES, E.F.; SOUZA, E.B.; MELO, N.F.; MARIANO, R.L.M.
387 Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em tecido infectado de videira.
388 **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, p.757-765, 2012.

389

390 TOSTES, G.O., ARAÚJO, J.S.P., FARIAS, A.R.G., FRADE, D.A.R., OLIVARES, F.L.
391 Detection and cellular localization of *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* in seeds of
392 commercial 'Red Globe' grapes. **Tropical Plant Pathology**, v.39, p.134-140, 2014.

393

394 VALEEXPORT. 2001. **Associação dos Exportadores de Hortigranjeiros e Derivados do**
395 **Vale do São Francisco.** Dados estatísticos. Disponível em:
396 <<http://www.brazilianfruit.org.br/Relatorios/Relatorios.asp>>. Acesso em: 10 fev. 2016.

397

398 WAITE, H., MORTON, L. Hot water treatment, trunk diseases and other critical factors in the
399 production of high-quality grapevine planting material. **Phytopathologia Mediterranea**,
400 v.46, p.5–17, 2007.

401

402

403

404

405

406

407

408

409

410

411

412

413

414

415

416

417

418

419

420

421

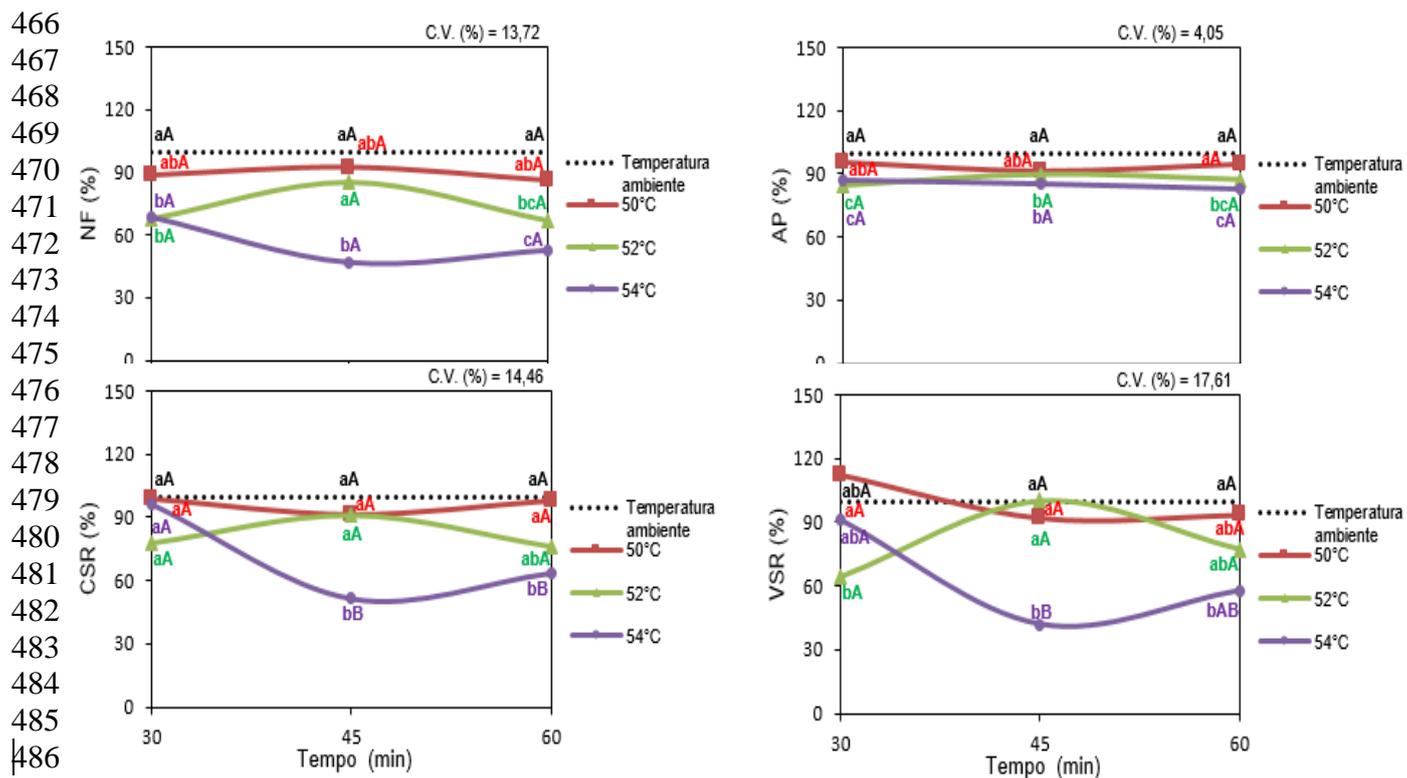
422

423 **Tabela 1.** População de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Xcv2^{Rif}) em bacelos de videira
 424 inoculados por diferentes métodos

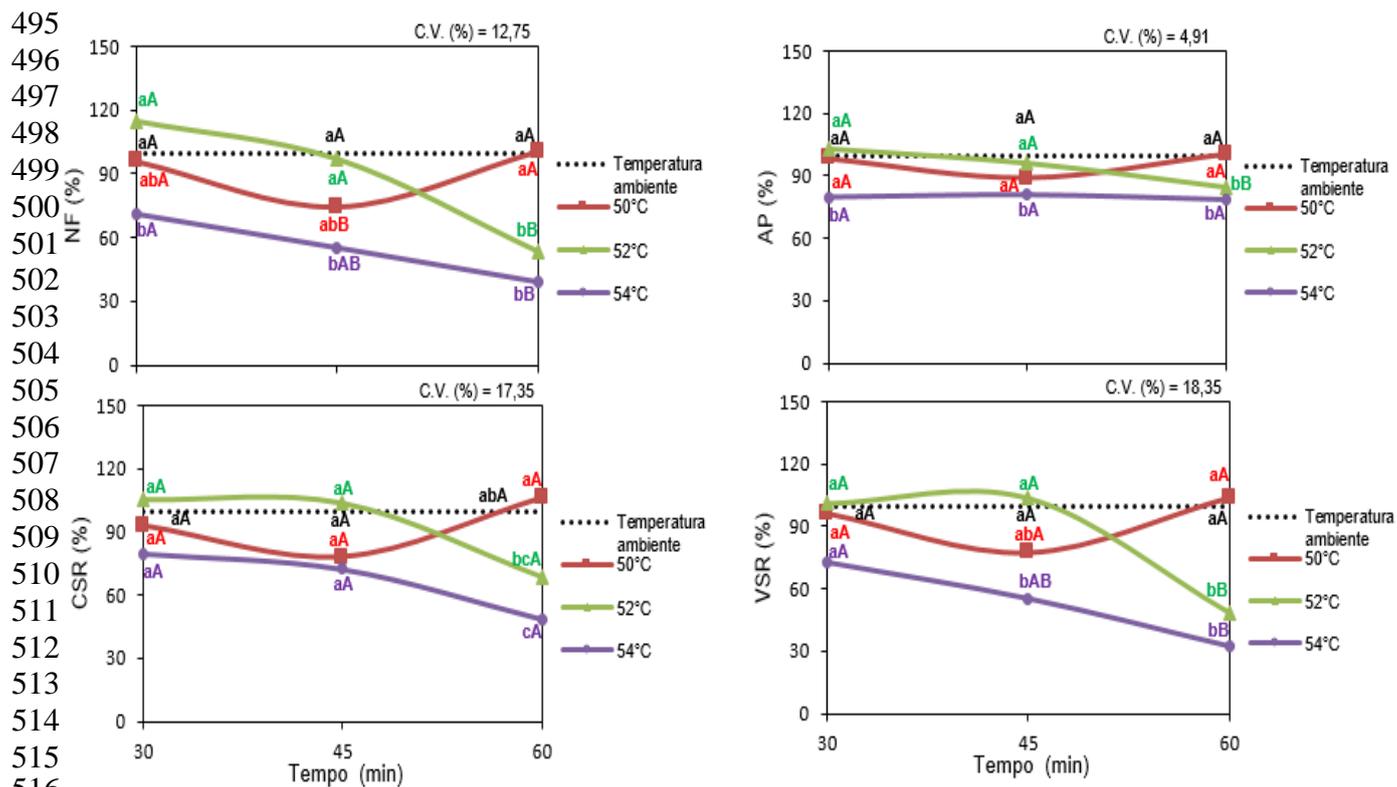
Método de inoculação	População de XCV2^{Rif} (Log UFC/g de tecido)
Imersão 30'	5,48 a ¹
Imersão 40'	5,68 a
Imersão 45'	5,59 a
Infiltração a vácuo	4,35 b
Injeção	4,52 b
Picada	5,0 ab
C.V. (%)	10,63

425 ¹Médias de dez repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste
 426 de Tukey (P ≤ 0,05).

427
 428
 429
 430
 431
 432
 433
 434
 435
 436
 437
 438
 439
 440
 441
 442
 443
 444
 445
 446
 447
 448
 449
 450
 451
 452
 453
 454
 455
 456
 457
 458
 459
 460
 461
 462
 463
 464
 465



488 **Figura 1.** Viabilidade de mudas de videira cultivar Isabel, após tratamento de termoterapia
 489 dos bacelos em diferentes binômios temperatura/tempo. Variáveis de crescimento da planta:
 490 número de folhas (NF); altura da planta (AP); comprimento do sistema radicular (CSR);
 491 volume do sistema radicular (VSR). Médias de dez repetições. Médias seguidas pela mesma
 492 letra minúscula ao longo do tempo e maiúscula dentro de cada tempo não diferem
 493 significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).
 494



517 **Figura 2.** Viabilidade de mudas de videira cultivar Red Globe, após tratamento de
 518 termoterapia dos bacelos em diferentes binômios temperatura/tempo. Variáveis de
 519 crescimento da planta: número de folhas (NF); altura da planta (AP); comprimento do sistema
 520 radicular (CSR); volume do sistema radicular (VSR). Médias de dez repetições. Médias
 521 seguidas pela mesma letra minúscula ao longo do tempo e maiúscula dentro de cada tempo
 522 não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

523

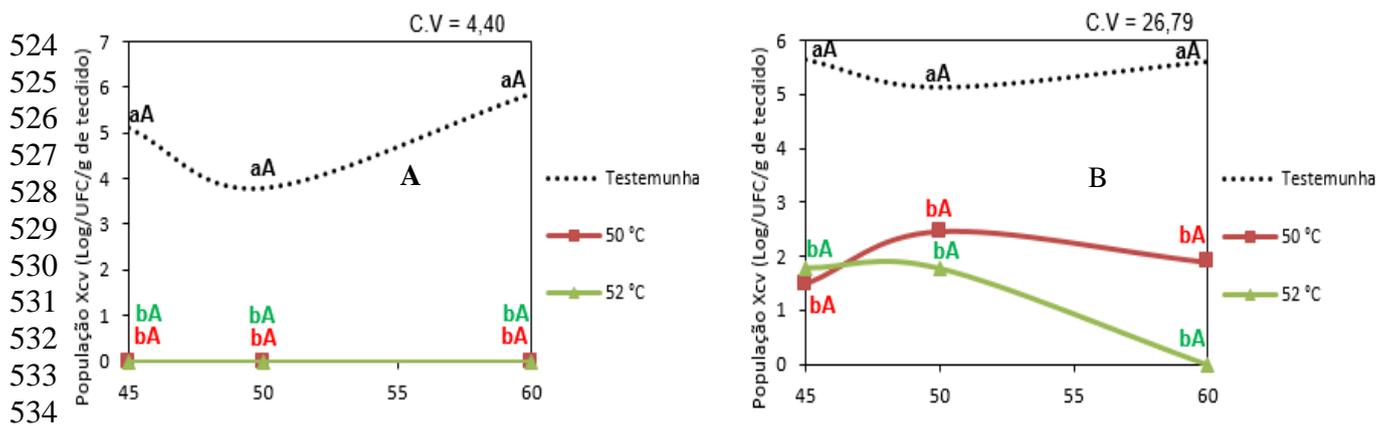


Figura 3. População de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Xcv^{2Rif}) em bacelos de videira das cultivares Isabel (A) e Red Globe (B) após tratamento de termoterapia em diferentes binômios temperatura/tempo. Médias de oito repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula ao longo do tempo e maiúscula dentro de cada tempo não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

524
525
526
527
528
529
530
531
532
533
534

535

536

537

538

539

540

541

542

543

544

545

546

547

548

549

550

551

552

553

554

555

556

557

558

559

560

561

562

563

564

565

566

567

568

569

570

571

572

573

574

575

576

577

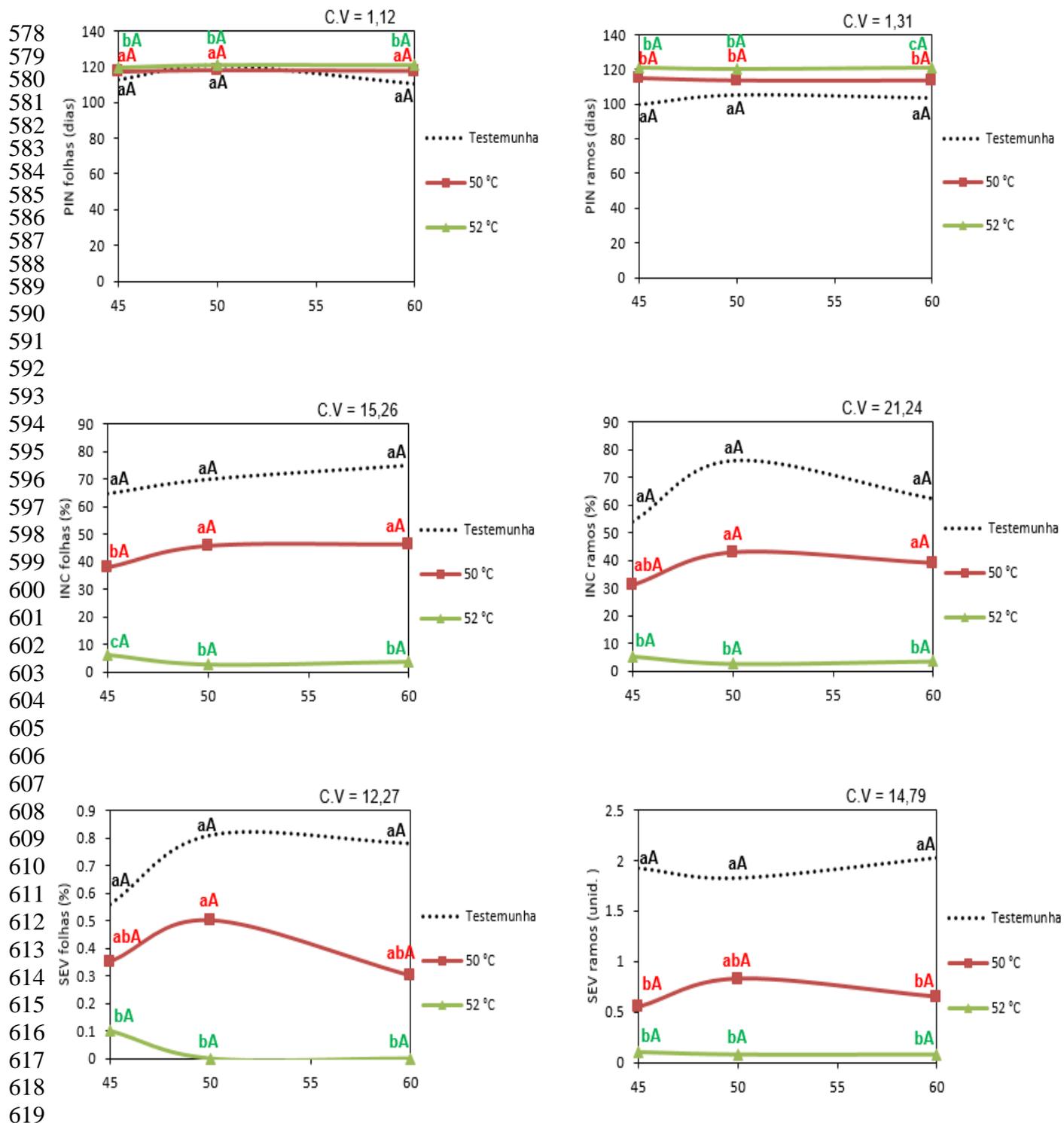
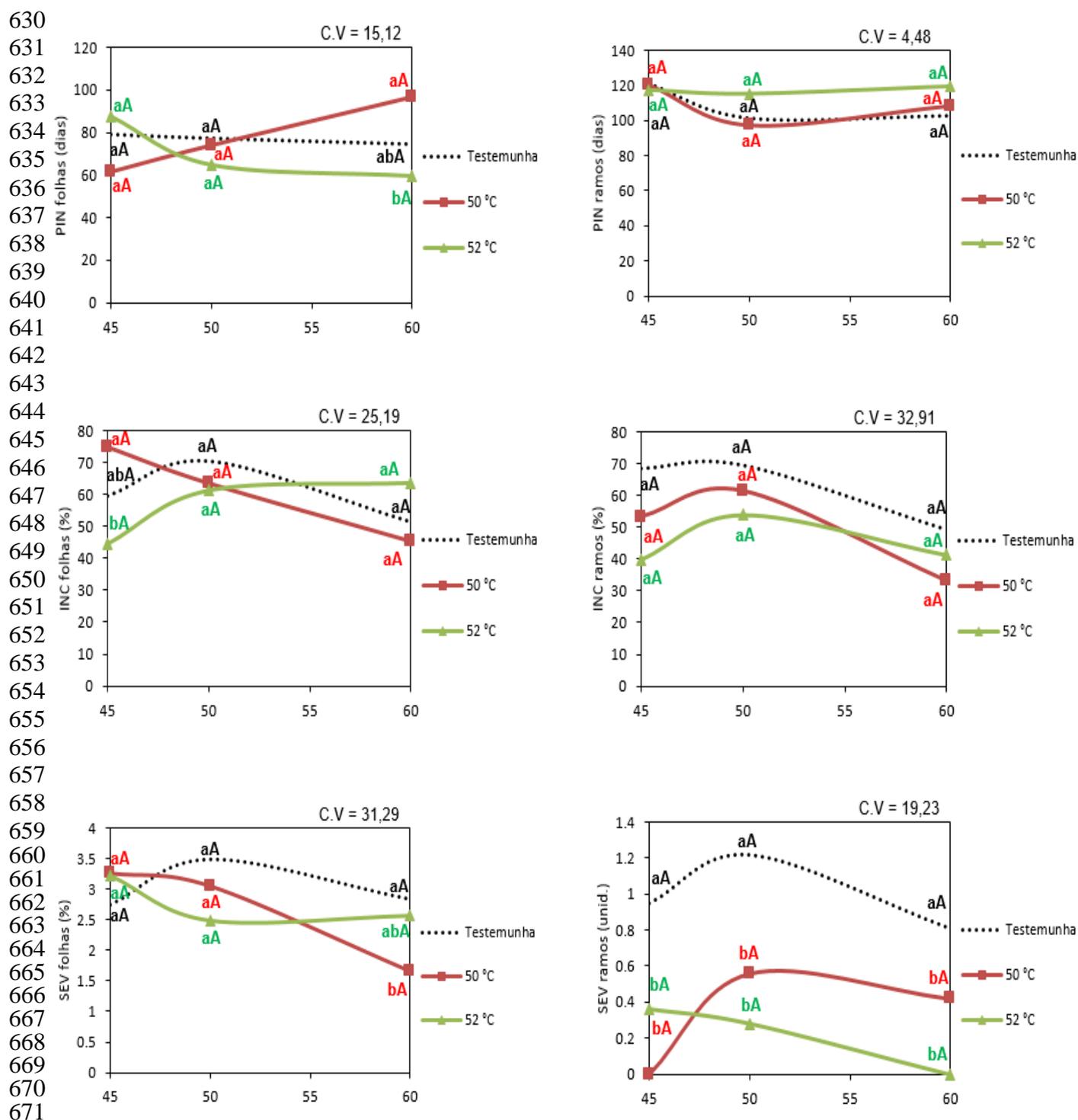


Figura 4. Influência da termoterapia na erradicação de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em bacelos de videira da cultivar Isabel, avaliada em plântulas com 120 dias. Variáveis epidemiológicas: período de incubação, incidência e severidade da doença, nas folhas e ramos. Nas folhas a severidade foi determinada com auxílio de escala diagramática (Nascimento et al., 2005) e nos ramos, pelo número de cancos. Médias de oito repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula ao longo do tempo e maiúscula dentro de cada tempo não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).



672 **Figura 5.** Influência da termoterapia na erradicação de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*
673 em bacelos da cultivar Red Globe, avaliada em plântulas com 120 dias. Variáveis
674 epidemiológicas: período de incubação, incidência e severidade da doença, nas folhas e
675 ramos. Nas folhas a severidade foi determinada com auxílio de escala diagramática
676 (Nascimento et al., 2005) e nos ramos, pelo número de cancos. Médias seguidas pela mesma
677 letra minúscula ao longo do tempo e maiúscula dentro de cada tempo não diferem
678 significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

CAPÍTULO III

**Combinação de agentes de controle biológico e termoterapia no manejo do cancro
bacteriano em videira**

27 dias após o plantio. Nenhuma combinação foi capaz de erradicar *X. campestris* pv. *viticola*,
28 mas reduções na severidade da doença nas folhas e ramos foram observadas. Os melhores
29 resultados foram obtidos com o uso combinado de LCB 6 - *Bacillus subtilis* e termoterapia a
30 52°C durante 45 min, o qual é recomendado para o manejo integrada do cancro bacteriano da
31 videira.

32 Termos para indexação: *Vitis vinifera*, *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, Controle
33 biológico, Bactéria, Levedura.

34 **Combination of biological control agents and thermotherapy in the management of**
35 **bacterial canker of grapevine**

36 Abstract – Bacterial canker, caused by *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, has been
37 responsible for significant economic losses on the grapevine crop in Brazilian states of
38 Pernambuco and Bahia, located in the São Francisco river Valley. This work evaluated the
39 effect of combination of biological control agents (BCA) and thermotherapy on the pathogen
40 eradication and disease severity reduction. Initially 23 BCA were sprayed on the leaves of
41 'Red Globe' and 24 h later the pathogen was inoculated. After 40 days, the incubation period
42 and disease severity were evaluated. It was also determined the antibacterial activity of BCA
43 to the pathogen, by testing for antibiotic production, detection of volatile substances,
44 proteases and ammonia. Although not able to eradicate the pathogen, bacterial strains LCB 6,
45 LCB 30, LCB 33, UNEB 27 and RAB 9 (10^8 CFU/mL), and yeast strains L7, L8 and LF (10^7
46 cel/mL) reduced bacterial canker, exhibiting at least one type of antibacterial activity. Two
47 BCA (LCB 6 – *Bacillus subtilis* and LF - *Saccharomyces cerevisiae*) were combined with
48 thermotherapy (50 and 52°C for 45, 50 and 60 min). The cuttings were subjected to
49 thermotherapy, followed by immersion during two hours in the suspension of LCB 6 and LF,
50 and the seedlings were sprayed weekly, through 20 weeks. The plantlets were evaluated 120
51 days after planting. No combination was able to eradicate *X. campestris* pv. *viticola*, but some

52 of them reduced the disease severity on leaves and branches. The best results were obtained
53 by combined use of LCB 6 – *Bacillus subtilis* and thermotherapy at 52°C during 45 min,
54 which is recommended for the integrated management of bacterial canker of grapevine.

55 Index terms: *Vitis vinifera*, *Xanthomonas campestris* pv. *Viticola*, Biological control,
56 Bacteria, Yeast.

57

58 **Introdução**

59

60 A região do Submédio do Vale do São Francisco se destaca como grande produtora e
61 exportadora de uvas finas de mesa de alta qualidade e, mais recentemente, na produção de
62 uvas viníferas. A produção dessa região, que abrange áreas produtoras dos estados da Bahia e
63 de Pernambuco, responde atualmente por 99% das exportações brasileiras anuais da fruta,
64 tanto em volume quanto em valores de produção (Valexport, 2011). A intensificação do
65 cultivo de videira, o plantio de variedades suscetíveis e as condições climáticas prevalentes no
66 Submédio do Vale do São Francisco propiciaram o surgimento do cancro bacteriano, causado
67 pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Nayudu) Dye, doença que afeta
68 diretamente a produção e produtividade e vem causando grandes prejuízos em cultivares
69 suscetíveis na região há quase 20 anos (Lima et al., 1999; Malavolta Júnior et al., 1999;
70 Tavares, 1995).

71 Os sintomas do cancro bacteriano da videira caracterizam-se principalmente como
72 pequenas lesões necróticas, angulares, esparsas, que coalescem causando amplo crestamento
73 foliar. Manchas alongadas ocorrem nas nervuras, pecíolos e ramos, com formação de cancrios
74 e descoloração na região vascular. Nas ráquis, observam-se manchas e cancrios; e nas bagas,
75 lesões pequenas, escuras e arredondadas (Malavolta Júnior et al., 1999). No Submédio do
76 Vale do São Francisco a doença ocorre preferencialmente no primeiro semestre do ano, época

77 mais chuvosa e que apresenta altos registros de umidade relativa do ar e temperaturas (Araújo
78 et al., 1999).

79 *X. campestris* pv. *viticola* é uma praga quarentenária presente (A2) (Tostes et al.,
80 2014), o que faz com que o manejo da doença seja regulamentado pelo Ministério da
81 Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2014). É recomendado ao produtor,
82 importador, comerciante ou detentor de plantas e partes de plantas de espécies do gênero *Vitis*
83 adotar algumas medidas preventivas e de erradicação, incluindo as que interferem na
84 introdução e na disseminação do patógeno. Dentro desse contexto, na ausência de material
85 propagativo livre de *X. campestris* pv. *viticola*, o tratamento de bacelos com erradicação do
86 patógeno pode ser uma alternativa eficiente e mais rápida para a produção de material
87 propagativo isento da doença, o que vem sendo utilizado com frequência em estudos com
88 termoterapia, mas com resultados ainda inconsistentes (Carvalho, 2016; Naue et al., 2014).
89 Dessa forma, o controle biológico com a utilização de bactérias antagonistas e leveduras pode
90 ser uma alternativa complementar para esse tipo de manejo.

91 Bactérias antagonistas e leveduras como agentes de controle biológico no manejo de
92 bactérias fitopatogênicas têm sido estudadas por vários pesquisadores (Conceição et al., 2014;
93 Cunha et al., 2006; Melo et al., 2015; Oliveira et al., 2006; Pusey et al., 2009; Wang et al.,
94 2009). No entanto, trabalhos envolvendo o controle biológico de espécies do gênero
95 *Xanthomonas* são poucos, a maioria com bactérias (Monteiro et al., 2005; El-Hendawy et al.,
96 2005; Van Hop et al., 2014), e mais especificamente se tratando de *X. campestris* pv. *viticola*,
97 são inexistentes. Dentre os principais mecanismos de ação desses micro-organismos,
98 destacam-se a antibiose, parasitismo, competição (espaço e nutrientes) e indução de
99 resistência (Gerhardson, 2002)

100 Diante da importância do cancro bacteriano da videira para o Brasil, da necessidade da
101 descoberta de novas medidas para uma melhor eficiência do manejo da doença e da

102 inexistência de pesquisas com controle biológico nesse patossistema, objetivou-se neste
103 trabalho avaliar o efeito combinado de agentes de controle biológico (ACB) e termoterapia na
104 erradicação de *X. campestris* pv. *viticola*.

105

106

Material e Métodos

107

108 Foi utilizado nos experimentos um mutante de *X. campestris* pv. *viticola*, resistente a
109 100 ppm de rifampicina, pertencente a Coleção de Bactérias do Laboratório de Fitopatologia
110 da Embrapa Semiárido. Esse mutante, denominado de isolado Xcv2^{rif}, foi identificado por
111 PCR (Naue et al. 2014), teve taxa de crescimento em meio líquido NYD (dextrose 10 g,
112 extrato de carne 3 g, extrato de levedura 5 g, peptona 5 g e água destilada 1000 mL) e
113 patogenicidade em videira similar ao isolado selvagem Xcv2 (Silva et al., 2012). Nos
114 experimentos foram utilizadas suspensões bacterianas preparadas em água destilada e
115 esterilizada (ADE) e ajustadas a concentração de 10^8 UFC.mL⁻¹ ($A_{570} = 0,4$) em
116 espectrofotômetro (Analyser 500M, Brazil), a partir do cultivo do mutante em meio
117 NYDAM^{rif} (NYD acrescido de 18 g ágar.L⁻¹, 100 ppm ampicilina e 100 ppm rifampicina) a
118 28°C por 48 h. No momento das inoculações o espalhante adesivo Tween 20 (0,005%) foi
119 adicionado à suspensão bacteriana.

120 Para o manejo biológico do cancro bacteriano da videira foram testados 23 isolados de
121 ACB pertencentes à Coleção de Culturas do Laboratório de Controle Biológico da Embrapa
122 Semiárido, Petrolina/PE, Brasil e Coleção de Culturas Rosa Mariano do Laboratório de
123 Fitobacteriologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, Brasil,
124 sendo 15 isolados de bactérias (LCB 3, LCB 5, LCB 6, LCB 6, LCB 28, LCB 30, LCB 31,
125 LCB 33, LCB 45, UNEB 01, UNEB 25, UNEB 27, UNEB 52, RAB 7, RAB 9 e HNF15) e
126 oito isolados de leveduras (L3A, LMS, LMA-1, L7K, LF, L7, L8 e L9).

127 Os isolados das bactérias foram cultivadas em meio NYDA (NYD acrescido de 18 g
128 ágar L⁻¹) por 36-48 h, e as concentrações ajustadas em ADE para A₅₇₀ = 0,4 (10⁸ UFC mL⁻¹)
129 usando um espectrofotômetro (Analyser 500M, Brazil). Os isolados de leveduras foram
130 cultivados em meio líquido Sabouraud por 36-48 h, e as concentrações ajustadas em ADE
131 para 10⁷ células mL⁻¹ a partir de contagem em Câmara de Neubauer. No momento das
132 inoculações Tween 20 (0,005%) foi adicionado às suspensões. Os isolados promissores no
133 controle do cancro bacteriano foram identificados pelo sequenciamento da região 16S.

134 Três métodos de aplicação dos ACB foram testados em folhas de plantas de videira da
135 cultivar Red Globe cultivadas em casa de vegetação, em relação a três isolados de bactérias
136 ACB: (1) Aplicação dos ACB através de pulverização após ferimento provocado por gaze, e
137 inoculação do patógeno (*Xcv2^{rif}*) após 24 h, também por pulverização; (2) Aplicação dos
138 ACB através de pulverização e inoculação de *Xcv2^{rif}* por gaze após 24 h; (3) aplicação dos
139 ACB por pulverização logo após inoculação de *Xcv2^{rif}* por gaze. A testemunha constou
140 apenas da inoculação das folhas com ADE. Apesar de naturalmente infectadas, as mudas de
141 videira foram inoculadas artificialmente com *Xcv2^{rif}* para proporcionar uma maior severidade
142 da doença e, conseqüentemente, uma maior rapidez no aparecimento dos sintomas. O método
143 de inoculação foi escolhido de acordo com os dados da severidade da doença nas folhas, que
144 foi determinado com auxílio de uma escala diagramática variando de 2 a 91% de área foliar
145 com sintomas (Nascimento et al., 2005). O delineamento experimental foi inteiramente
146 casualizado, em arranjo fatorial 4 x 3 (métodos de aplicação x ACB), com cinco repetições
147 por tratamento, sendo a unidade experimental constituída por três folhas.

148 Selecionado o método de aplicação, foi avaliado o efeito dos 23 isolados de bactérias
149 antagonistas e leveduras na erradicação de *X. campestris* pv. *viticola*. Após 40 dias da
150 aplicação dos tratamentos, foi determinado as variáveis epidemiológicas período de incubação
151 e severidade da doença. As médias de temperatura e umidade relativa do ar foram de 28,4°C e

152 71,6%. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições por
153 tratamento, sendo a unidade experimental constituída por três folhas.

154 Para determinar o antagonismo dos ACB de *X. campestris* pv. *viticola* foram
155 realizados quatro testes *in vitro*: a) *Antibiograma* - em placas de Petri foi vertida uma camada
156 básica de ágar-ágar sólido (1,8% de ágar) com aproximadamente 1 mm de espessura.
157 Posteriormente verteu-se uma sobrecamada de meio NYDA semi-sólido (0,9% de ágar),
158 acrescido da suspensão de *X. campestris* pv. *viticola* (10^8 UFC mL⁻¹), na proporção de 200 µL
159 10 mL⁻¹. Após a solidificação da sobrecamada, discos de papel de filtro foram embebidos nas
160 suspensões das bactérias (10^8 UFC mL⁻¹) e leveduras (10^7 células mL⁻¹) ACB e colocados
161 sobre a superfície do meio. Em cada placa foram colocados quatro discos, dispostos de uma
162 maneira equidistante. A testemunha foi realizada da mesma forma e consistiu de discos
163 embebidos em ADE. As placas foram incubadas a 28°C e após 48 h e com o auxílio de uma
164 régua milimetrada mediu-se o diâmetro do halo de inibição, em dois sentidos opostos,
165 estabelecendo-se a média (Romeiro, 2005); b) *Produção de substâncias voláteis* – para
166 determinação da atividade antibacteriana das substâncias voláteis foi utilizada a técnica da
167 placa sobreposta (Dick & Hutchinson, 1966). Após incubação por 36-48 h, determinou-se o
168 crescimento de *X. campestris* pv. *viticola* em espectrofotômetro (Analyser 500M, Brazil); c)
169 *Determinação da produção de protease* – a concentração de proteínas totais foi determinada
170 de acordo com Bradford (1976), com algumas modificações. A partir da construção da curva
171 padrão em diferentes concentrações do corante azul de Coomassie, a capacidade de produção
172 de protease foi determinada pela leitura das amostras em espectrofotômetro (Analyser 500M,
173 Brazil). As amostras foram compostas por 25 µL de extrato centrifugado do crescimento em
174 meio líquido dos ACB, acrescidos de 25 µL de caseína e 50 µL de corante azul de Coomassie.
175 Foram realizadas duas leituras, a primeira instantaneamente e a segunda apenas 2 h depois do
176 contato entre extrato de ACB e caseína, colocando após esse período o corante azul de

177 Coomassie. A diferença das leituras representava a quantidade de proteína degradada; d)
178 *Produção de amônia* – a concentração de amônio foi determinada de acordo com Kempers &
179 Zweers (1986), com algumas modificações. A partir da construção da curva padrão em
180 diferentes concentrações do complexo inofenol (sulfato de amônio + salicilato de sódio), a
181 capacidade de produção de amônia foi determinada pela leitura das amostras em
182 espectrofotômetro (Analyser 500M, Brazil). Considerando que a reação H_2SO_4 e amônia
183 (NH_3) resulta em amônio (NH_4^+), fundos de placas de Petri contendo crescimento dos ACB
184 foram sobrepostas com fundos de placas de Petri contendo papel filtro embebido com ácido
185 sulfúrico (H_2SO_4) a 1 N, e posteriormente lacrados com fita adesiva. A extração do amônio
186 foi realizada na presença de cloreto de potássio (KCl), realizando-se a leitura para
187 determinação da concentração de amônio em cada amostra. Em todos os testes o
188 delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento,
189 sendo a unidade experimental constituída por três placas de Petri.

190 A combinação de ACB e termoterapia na erradicação de *X. campestris* pv. *viticola* foi
191 testada no tratamento de bacelos de videira da cultivar Red Globe com comprimento de 30
192 cm, obtidos de áreas de cultivo com histórico da doença e, sendo assim, naturalmente
193 infectados. Os tratamentos termoterápicos consistiram em submeter os bacelos às
194 temperaturas de 50 e 52°C durante 45, 50 e 60 min, seguindo metodologia de Gramaje et al.
195 (2009). Após uma hora da aplicação da termoterapia, os bacelos foram submersos por 2 h em
196 suspensões dos dois ACB que mais se destacaram nos experimentos anteriores. Após o
197 plantio dos bacelos em casa de vegetação e aparecimento das primeiras folhas, aplicações
198 sucessivas de ACB foram realizadas a cada semana, durante 15 semanas. A testemunha
199 consistiu na imersão de bacelos em água com temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ C$) e sem a
200 aplicação dos ACB. A erradicação foi analisada através da presença ou ausência de sintomas
201 nas plantas, após 120 dias do plantio, sendo determinados em folhas e ramos: a) período de

202 incubação da doença, representado pelo número de dias entre a brotação do bacelo e o
203 surgimento dos sintomas da doença. Plantas que não apresentaram sintomas tiveram o período
204 de incubação ajustado para o período de avaliação total, acrescido de um dia; b) incidência da
205 doença, calculada ao final do experimento, pelo percentual de folhas e ramos com sintomas
206 em relação ao número total de folhas e ramos da planta; e c) severidade da doença. A
207 severidade nas folhas foi determinada com auxílio de escala diagramática variando de 2 a
208 91% de área foliar com sintomas (Nascimento et al., 2005) e nos ramos pelo número de
209 cancos. Para cada ACB o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em
210 arranjo fatorial 3 x 3 (temperaturas x tempo de imersão), com quatro repetições por
211 tratamento, sendo a unidade experimental constituída por cinco baceiros.

212 Todos os experimentos foram conduzidos duas vezes. Os dados obtidos foram
213 analisados quanto aos pressupostos da análise de variância (ANOVA), transformados em raiz
214 quadrada ($\sqrt{x + 0,5}$) e submetidos a testes de comparação de média (Tukey) ou teste de
215 agrupamento (Scott-Knott) ao nível de 5% de probabilidade, com o auxílio do programa
216 STATISTIX® (versão 9.0, Analytical Software, Tallahassee) e SISVAR® (Ferreira, 1992),
217 respectivamente. Para o experimento que não atendeu aos pressupostos da ANOVA, foi
218 realizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de probabilidade com
219 auxílio do programa STATISTIX®. Não existiu diferença significativa ($P \leq 0,05$) na variância
220 dos experimentos. Então, os dados foram analisados como repetição no tempo.

221

222

Resultados e Discussão

223

224 Todos os métodos de aplicação dos ACB reduziram os sintomas típicos do cancro
225 bacteriano da videira em mudas da cultivar Red Globe, em maiores ou menores proporções a
226 depender do isolado do ACB (Tabela 1). No entanto, no método que utilizou a aplicação dos

227 ACB através de pulverização e inoculação de *X. campestris* pv. *viticola* por gaze após 24 h,
228 foram observadas médias de severidade significativamente inferiores ($P \leq 0,05$) a testemunha
229 nos três isolados testados. Provavelmente, esse método garantiu aos antagonistas uma
230 vantagem de adaptação, pois houve tempo suficiente para a colonização dos sítios de infecção
231 na planta (Hallmann et al., 1997), evidenciando que a maior eficiência do controle do cancro
232 bacteriano está condicionada à aplicação do ACB antes da instalação do patógeno.
233 Antagonistas são capazes de inibir o estabelecimento do patógeno por colonizar os locais de
234 infecção e competir por espaço e nutrientes. Uma vez na folha pré-colonizada com o ACB, *X.*
235 *campestris* pv. *viticola* pode ter tido seu crescimento inibido por substâncias antimicrobianas
236 (Shiomi et al., 2006). Mesmo que houvesse crescimento do patógeno, o mesmo encontraria
237 dificuldade na competição por espaço e sítios de infecção (Levy, 1995; Godoy et al., 1997;
238 Shiomi et al., 2006).

239 Nenhum dos 23 isolados de ACB foi capaz de erradicar *X. campestris* pv. *viticola*. No
240 entanto, reduziram os sintomas do cancro bacteriano em mudas de videira. As médias do
241 período de incubação da doença variaram de 12,33 a 28,20 dias (Figura 1A), enquanto que as
242 médias da severidade variaram de 1,27 a 24,40% (Figura 1B). Considerando as duas variáveis
243 epidemiológicas analisadas, cinco isolados de bactérias LCB 6, LCB 30, LCB 33, UNEB 27 e
244 RAB 9 e dois os isolados de leveduras L7, L8 e LF aumentaram significativamente ($P \leq 0,05$) o
245 período de incubação e diminuíram a severidade da doença em relação a testemunha em até
246 43,72% e 94,75%, respectivamente. Esses resultados são relevantes, uma vez que a videira em
247 estádios iniciais de desenvolvimento, ou seja, mudas, apresentam alta suscetibilidade ao
248 cancro bacteriano. Com base nesses resultados foi possível observar que apesar das bactérias
249 antagonistas e leveduras fazerem parte do grupo de micro-organismos que se encontram em
250 maior diversidade e quantidade na superfície foliar (Lindow & Leveau, 2002), somente uma
251 pequena parcela possui características de controle biológico de doenças. Outro dado

252 importante é a falta de especificidade dos isolados quanto ao hospedeiro. Excetuando o
253 isolado de levedura LF, que foi obtido de plantas de videira, todos os outros são oriundos
254 principalmente de hortaliças. Segundo Quadt-Halmann & Kloepper (1996), não há
255 impedimento nenhum na colonização em hospedeiros diferentes da sua origem, podendo
256 ocorrer até mesmo com maior intensidade. Até o momento nenhum trabalho envolvendo
257 controle biológico foi realizado especificamente com *X. campestris* pv. *viticola*. No entanto, o
258 efeito de antagonistas contra espécies do gênero *Xanthomonas* já foi citado anteriormente por
259 outros autores. Oito isolados de *Bacillus* spp. foram testados no controle de diversos isolados
260 de *X. campestris* pv. *campestris*, e somente os isolados RAB 7, R14, C116 e C210 foram
261 capazes de inibir o patógeno através de atividade microbiana (Monteiro et al., 2005). Segundo
262 os autores, devido à variabilidade genética, nem todos os antagonistas inibem diferentes
263 isolados fitopatogênicos com a mesma eficiência e nem todos os isolados possuem a mesma
264 sensibilidade aos antagonistas. O isolado RAB 7, por exemplo, foi utilizado na presente
265 pesquisa e não apresentou atividade antibacteriana a *X. campestris* pv. *viticola*. Em outro
266 estudo, a aplicação do antagonista *Rahnella aquatilis* nas folhas, raízes e sementes de
267 tomateiro e no solo, resultou em menor sensibilidade de mudas de tomateiro a *X. campestris*
268 pv. *vesicatoria* (El-Hendawy et al., 2005). Mais recentemente, Van Hop et al. (2014),
269 utilizando como antagonista o isolado VN08-A-12 de *Streptomyces toxytricini*, obtiveram
270 redução de 38,3% das lesões provocadas por *X. oryzae* pv. *oryzae* e redução da perda de
271 produtividade de 43,2% em arroz provocados pelo crestamento bacteriano.

272 O insignificante número de estudos com controle biológico de doenças bacterianas,
273 principalmente da parte aérea se deve ao fato da grande desconfiança com relação a sua
274 eficiência, bem como da preferência por parte dos agricultores pelo imediatismo do controle
275 químico, deixando de lado os impactos danosos em longo prazo ocasionados ao meio
276 ambiente. Exemplos disso, são os poucos produtos disponíveis no mercado, como exemplos

277 temos o YieldPlus[®] (*Cryptococcus albidus*), Shemer[®] (*Metschnikowia fructicola*), Nexy[®]
278 (*Candida oleophila*), Aspire[®] (*C. oleophila*), Bio-save 110[®] (*Pseudomonas syringae*) e
279 Dygall[®] (*Rhizobium radiobacter*), nenhum com registro no Brasil.

280 Os testes *in vitro* conseguiram identificar isolados produtores de antibióticos e de
281 compostos voláteis que inibiram o crescimento de *X. campestris* pv. *viticola*, bem como
282 produtores de proteases e amônia que podem afetar a célula bacteriana (Tabela 2). No entanto,
283 com base nessas atividades não foi possível separar os isolados de bactérias (LCB 6, LCB 30,
284 LCB 33, UNEB 27 e RAB 9) e os isolados de leveduras (L7, L8 e LF) que reduziram a
285 severidade do cancro bacteriano dos demais isolados.

286 O antibiograma revelou que dentre os oito isolados de ACB que reduziram a
287 severidade da doença apenas LCB 30 se destacou entre os mais eficientes inibidores do
288 crescimento de *X. campestris* pv. *viticola*, juntamente com os isolados LCB 3, UNEB 25,
289 L3A, LCB 5, RAB 7, UNEB 01, LCB 28 e HNF15, uma vez que produziram halo variando
290 de 1,94 a 2,84 cm, e somente os isolados LCB 33, LF, L7 e L8 não produziram antibiótico
291 (Tabela 2). Dois isolados de levedura (LMA-1 e LMS) utilizados na presente pesquisa
292 também não apresentaram atividade antibacteriana a *A. citrulli* (Melo et al., 2015). A
293 antibiose é um importante mecanismo pelo qual antagonistas beneficiam a planta pela
294 produção de moléculas com atividade direta sobre o patógeno (Melo et al., 2015). A grande
295 predominância de bactérias antagonistas em relação a leveduras como produtoras de
296 antibióticos se deve ao fato de as primeiras, principalmente do gênero *Bacillus*, terem como
297 principal mecanismo de ação, entre outros, a produção de substâncias antimicrobianas
298 (Leelasuphakul et al., 2008), enquanto as leveduras tem como principal mecanismo de ação a
299 competição por espaço/nutrientes, indução de resistência na planta hospedeira, parasitismo e
300 produção de enzimas extracelulares (Punja & Etkhede, 2003).

301 No teste da produção de substâncias voláteis, os isolados UNEB 27, L8, LF, LCB 30 e
302 L7, que foram capazes de reduzir o cancro bacteriano, além de L7K, foram os maiores
303 produtores dentre os isolados de ACB testados, apresentando redução de crescimento de *X.*
304 *campestris* pv. *viticola* variando de 14,08 a 23,16% (Tabela 2). A importância dos compostos
305 orgânicos voláteis antimicrobianos recebe pouca atenção quando comparado ao antagonismo
306 causado por substâncias difusíveis (Chaurasia et al., 2005). No entanto, uma série de novos
307 trabalhos tem focado atenção nestes produtos do metabolismo, que se apresentam como gases
308 ou que possuem alta pressão de vapor, e que em condições normais são liberados da célula
309 (Tarkka & Piechulla, 2007). Esses compostos possuem baixa massa molecular e podem
310 pertencer a várias classes químicas tais como álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres, lactonas,
311 terpenos e compostos de enxofre (Wheatley, 2002). Corroborando com os resultados
312 encontrados nessa pesquisa, isolados de *Pseudomonas* sp. e *B. subtilis* conseguiram reduzir
313 significativamente a contagem de colônias de *Xanthomonas* sp., e com *Bacillus* sp. (EUCB 13
314 e 28) o resultado foi ainda mais drástico, sendo capaz de inibir totalmente o crescimento do
315 patógeno (Paz et al., 2012). Os autores sugeriram uma alta produção de HCN *in vitro* por
316 parte dos isolados de *Bacillus* sp., o que pode indicar uma relação deste metabólito volátil
317 com a inibição da bactéria fitopatogênica.

318 Os isolados LCB 3, L3A, UNEB 01, LCB 30, LCB 6, LCB 33, LMA-1, UNEB 52,
319 LMS, L7K, L7, L8 e L9 se destacaram significativamente ($P \leq 0,05$) na capacidade de degradar
320 proteínas com relação aos demais, com produção variando de 188,83 a 312,76 μg de proteína
321 degradada, dentre os quais cinco isolados foram eficientes no controle do cancro bacteriano
322 (LCB 30, LCB 6, LCB 33, L7 e L8) (Tabela 2). Considerando que a parede celular é
323 composta por ligações peptídicas entre aminoácidos e proteínas, as proteases, também
324 denominadas de enzimas proteolíticas, produzidas por esses antagonistas quebram essa

325 ligação presente nos patógenos, degradando proteínas e conseqüentemente, tornando-as
326 danificadas e desnecessárias (Lehninger, 1995).

327 A amônia (NH₃) é produzida e liberada por alguns micro-organismos como metabólito
328 secundário e é um composto tóxico a diferentes seres vivos com efeito direto contra
329 fitopatógenos (Macagnan et al., 2009). No teste para sua detecção, os isolados L3A, LCB 5,
330 RAB 7, LMA-1, L7K, LF, L9 e L7 se destacaram significativamente ($P \leq 0,05$) na capacidade
331 de produzir amônia com relação aos demais isolados. A produção de amônia por esses
332 isolados variou de 22,40 a 36,80 mg/L, incluindo os isolados LF e L7 que reduziram o cancro
333 bacteriano (Tabela 2). Esse teste foi adaptado segundo a metodologia de Kempers & Zweers
334 (1986), que originalmente é utilizado para detecção de amônio no solo. A maioria dos testes
335 de detecção da literatura são de natureza qualitativa, como por exemplo o utilizado por Barra
336 et al. (2008), que estudando a potencialidade antagonista de 43 isolados verificaram que a
337 maioria foi capaz de produzir amônia isoladamente ou em conjunto com HCN, mas sem aferir
338 o quanto foi produzido. No presente trabalho, a produção determinada de modo qualitativo
339 nos dá uma dimensão maior da capacidade desses antagonistas.

340 A inconsistência dos resultados *in vitro* e *in vivo* verificada nesse trabalho é
341 relativamente comum na literatura. Vários autores já mencionaram que muitos antagonistas,
342 apesar de apresentarem alta atividade antimicrobiana em condições de laboratório contra
343 patógenos, apresentam pouco ou nenhum controle da doença na planta, ressaltando a
344 frequente falta de correlação dos estudos *in vitro* e *in vivo* (Lang & Kommedahl, 1976;
345 Fravel, 1988). As atividades antibacterianas detectadas nos isolados que reduziram a
346 severidade do cancro bacteriano podem fazer parte dos mecanismos de ação responsáveis pelo
347 controle biológico da doença em videira.

348 Para avaliar o efeito da combinação de agentes de controle biológico e termoterapia na
349 erradicação de *X. campestris* pv. *viticola* em plantas de videira da cultivar Red Globe, foram

350 selecionados a bactéria LCB 6 (*Bacillus subtilis*) e a levedura LF (*Saccharomyces cerevisiae*).
351 A importância da integração de sistemas no manejo de doenças pode ser resumida na
352 afirmação de Barker et al. (1994), onde segundo os autores o manejo integrado é um
353 componente chave para a produção sustentável de alimentos e para a qualidade de vida em
354 uma população mundial crescente. Além do fato de que a utilização de somente um tipo de
355 manejo muitas vezes é insuficiente para uma determinada doença, como é o caso do cancro
356 bacteriano da videira. Nesse contexto, a erradicação de patógenos utilizando termoterapia é
357 um estado passageiro, uma vez que as possibilidades de reinfecção são grandes, ainda mais no
358 patossistema videira/cancro bacteriano, que apresenta diversas maneiras de disseminação
359 (Gramaje et al., 2009). Dessa forma, há de se considerar possibilidades de combinação entre
360 termoterapia e outros métodos de controle, como por exemplo, o controle biológico (Fourie &
361 Halleen, 2004; Graham, 2007; Halleen et al., 2007).

362 A termoterapia visando à erradicação de *X. campestris* pv. *viticola* foi testada em
363 outras pesquisas, sem sucesso, mas em alguns casos reduzindo os sintomas do cancro
364 bacteriano. O tratamento termoterápico de bacelos de videira da cultivar Red Globe a 50°C e
365 52°C durante 45 e 60 min não erradicou o patógeno, mas reduziu a doença em níveis variando
366 de 66,7 a 78,8% (Carvalho, 2016), enquanto que os binômios de 50°C durante 30 e 40 min e
367 53°C durante 5 e 10 min também não foram eficientes no controle da doença (Naue et al.,
368 2014). Diante dos resultados obtidos por Carvalho (2016), avaliou-se o efeito de bactérias e
369 leveduras integradas a termoterapia, utilizando os mesmos binômios temperatura/tempo
370 testados por esses autores, com o objetivo de erradicar *X. campestris* pv. *viticola* dos bacelos
371 de videira.

372 Avaliando os componentes epidemiológicos do cancro bacteriano, constatou-se que a
373 combinação de ACB e termoterapia não foi capaz de erradicar *X. campestris* pv. *viticola*,
374 produzindo resultados variados no controle da doença (Figuras 2 e 3). Quando a bactéria LCB

375 6 foi integrada a termoterapia na temperatura de 50°C durante 50 min, houve resposta
376 significativa ($P \leq 0,05$) na redução da severidade da doença nas folhas, em nível de 28,25%, o
377 mesmo acontecendo nos ramos nos tempos 50 e 60 min, respectivamente de 69,73 e 47,09%.
378 Nos bacelos de videira expostos à temperatura de 52°C durante 45, 50 e 60 min, houve
379 redução da severidade da doença nas folhas variando de 27,74 a 42,94%, e a 45 e 60 min nos
380 ramos, variando de 44,39 a 54,65%. A incidência da doença só diminuiu nas folhas e ramos
381 na temperatura 52°C durante 60 min, e o período de incubação da doença não foi aumentado
382 em nenhum tratamento (Figura 2).

383 Na combinação da levedura LF a termoterapia, quando os bacelos de videira foram
384 expostos à temperatura de 50°C houve redução ($P \leq 0,05$) na incidência da doença nas folhas
385 no tempo de 50 min e da severidade da doença nas folhas e ramos em 45, 50 e 60 min (Figura
386 3). Já com relação a temperatura de 52°C, observou-se redução da incidência da doença nas
387 folhas nos tempos 50 e 60 min e nos ramos em 60 min. A severidade da doença nas folhas foi
388 reduzida no tempo de 60 min em 34,94% e nos ramos em 50 e 60 min, em níveis de 65,66 e
389 81,50% respectivamente. O período de incubação da doença também não foi aumentado em
390 nenhum tratamento.

391 Apesar do objetivo da pesquisa não ter sido alcançado, ou seja, erradicação de *X.*
392 *campestris* pv. *viticola* dos bacelos de videira com a combinação de ACB e termoterapia, os
393 resultados mostraram redução da doença nas folhas e ramos em algumas interações. Já
394 Carvalho (2016), utilizando os mesmos binômios temperatura/tempo obtiveram redução da
395 doença nas folhas apenas na temperatura de 50°C no tempo de 60 min. Esse autor indicou o
396 manejo da doença a termoterapia a 52°C durante 45 min.

397 Os melhores resultados foram obtidos com a combinação da bactéria LCB 6 a
398 termoterapia 52°C durante 45 e 60 min. Contudo, considerando que o binômio 52°C/60 min
399 afetou a viabilidade das mudas de videira (Carvalho, 2016) e que não houve diferença

400 significativa entre esses tempos (Figura 2), é recomendado para o manejo do cancro
401 bacteriano da videira o uso combinando da bactéria antagonista LCB 6 (*Bacillus subtilis*) e da
402 termoterapia 52°C durante 45 min. Essa bactéria se destacou na capacidade de produzir
403 proteases, podendo ser um dos mecanismos envolvidos no controle da doença.

404

405 **Conclusão**

406

407 Para o manejo do cancro bacteriano da videira é recomendado o uso combinado da
408 bactéria ACB *Bacillus subtilis* LCB 6 a termoterapia de 52°C durante 45 min.

409

410 **Agradecimentos**

411

412 Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela
413 concessão da bolsa de estudo a Francisco C. Q. Carvalho, e de pesquisa a Rosa L. R. Mariano
414 e Elineide B. Souza (Proc. 307348/2011-3).

415

416 **Referências**

417

418 BARKER, K.R.; HUSSEY, L.R.; KRUSBERG, L.R.; BIRD, G.W.; DUNN, R.A.; FERRIS,
419 H.; FERRIS, V.R.; FRECKMAN, D.W.; GABRIEL, C.J.; GREWAL, A.E.; McGUIDWIN,
420 A.E.; RIDDLE, D.L.; ROBERTS, P.A.; SCHIMITT, D.P. Plant and soil nematodes: societal
421 impact and focus for the future. **Journal of Nematology**, Lakeland, v.26, p.127-137, 1994.

422

423 BARRA, V.R.; SILVA, R.; FERRAZ, G.M.; MACAGNAN, D.; SILVA, H.S.A.; MOURA,
424 A.B.; HALFELD-VIEIRAS, B.; MENDONÇA, H.L.; VIEIRA JÚNIOR, J.R. Potencialidade

425 antagonística detectada em alguns procariotas agentes de biocontrole de enfermidades de
426 plantas. **Summa Phytopathologica**, v.34, p.121-126, 2008.

427

428 BRADFORD M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities
429 of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72,
430 p.248–254, 1976.

431

432 CARVALHO, F.C.Q. **Termoterapia e controle biológico para manejo do cancro**
433 **bacteriano em videira**. 2016. 92 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade
434 Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2016.

435

436 CHAURASIA, B.; PANDEY, A.; PALNI, L.M.S.; TRIVEDP, I.; KUMAR, B.; COLVIN, N.
437 Diffusible and volatile compounds produced by an antagonistic *Bacillus subtilis* strain cause
438 structural deformations in pathogenic fungi *in vitro*. **Microbiological Research**, v.160, p.75-
439 81, 2005.

440

441 CONCEIÇÃO, C.S.; FELIX, K.C.S.; MARIANO, R.L.R.; MEDEIROS, E.V.; SOUZA, E.B.
442 Combined effect of yeast and silicon on the control of bacterial fruit blotch in melon. **Scientia**
443 **Horticulturae**, v.174, p.164-170, 2014.

444

445 DICK, C.M.; HUTCHINSON, S.A. Biological activity of volatile fungal metabolites. **Nature**,
446 v.211, p.868, 1966.

447

- 448 EL-HENDAWY, H.H.; OSMAN, M.E.; SOROUR, N.M. Biological control of bacterial spot
449 of tomato caused by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* by *Rahnella aquatilis*.
450 **Microbiological Research**, v.160, p.343–352, 2005.
- 451
- 452 FERREIRA, D.F. **SISVAR (Sistema para análise de variância para dados balanceados)**.
453 UFLA, Lavras. 1992.
- 454
- 455 FOURIE, P.H.; HALLEN, F. Proactive control of Petri disease of grapevine through treatment
456 of propagation material. **Plant Disease**, v.88, p.1241–1245, 2004.
- 457
- 458 FRAVEL, D.R. Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. **Annual Review**
459 **of Phytopathology**, v. 26, p. 75-91, 1988.
- 460
- 461 GERHARDSON, B. Biological substitutes for pesticides. **Trends in Biotechnology**, v.20,
462 p.338-343, 2002.
- 463
- 464 GODOY, C.V.; CARNEIRO, S.M.T.P.G.; IMAUTI, M.T.; PRIA, D.; AMORIM, L.;
465 BERGAMIN FILHO, A.; BERGER R.D GODOY, C.V. Diagrammatic scales for bean
466 diseases: development and validation. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und**
467 **Pflanzenschutz**, v.104, p.336-345, 1997.
- 468
- 469 GRAHAM, A. Integration of hot water treatment with biocontrol treatments improves yield
470 and sustainability in the nursery. **Australian & New Zealand Grapegrower & Winemaker**,
471 v.534, p.33–39, 2007.
- 472

- 473 GRAMAJE, D.; ARMENGOL, J.; SALAZAR, D.; LOPEZ-CORTE, I.; GARCIA-JIMENEZ,
474 J. Effect of hot-water treatments above 50°C on grapevine viability and survival of Petri
475 disease pathogens. **Crop Protection**, v.28, p.280-285, 2009.
- 476
- 477 HALLEEN, F.; FOURIE, P.H.; CROUS, P.W. Control of black foot disease in grapevine
478 nurseries. **Plant Pathology**, v.56, p.637–645, 2007.
- 479
- 480 HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W.F.; KLOEPPER, J.W.
481 Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, v.43, p.895-
482 914, 1997.
- 483
- 484 LANG, D.S.; T. KOMMEDAHL. Factors affecting efficacy of *Bacillus subtilis* and other
485 bacteria as corn seed treatments. **Proc. Am. Phytopathol. Soc**, v.3, p.272, 1976.
- 486
- 487 LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**. Ed. Sarvier,
488 1995.
- 489
- 490 LEVY, E. Biological control of plant pathology by antibiotic-producing bacteria. In: LEVY,
491 E, CARMELLI, S (Eds.). **Allelopathy, organisms, process and applications**. American
492 **Chemical Society**, Washington DC, 1995, p.300-309.
- 493
- 494 LIMA, M.F.; FERREIRA, M.A.S. V.; MOREIRA, W.A; DIANESE, J.C. Bacterial canker of
495 grapevine in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, p.440-443, 1999.
- 496

- 497 LINDOW, S. E.; LEVEAU, J.H.J. Phyllosphere microbiology. **Current Opinion in**
498 **Biotechnology**, v.13, p.238-243. 2002.
- 499
- 500 KEMPERS, A.J.; ZEWERS, W.L. Ammonium determination in soil extracts by the salicylate
501 method. **Soil Science Plant Analysis**, v.17, p.715-723, 1986.
- 502
- 503 MACAGNAN, D.; ROMEIRO, R.S.; POMELLA, A.W.V. Inibição da germinação de
504 basidiósporos de *Crinipellis pernicioso* por compostos voláteis produzidos por cinco
505 actinomicetos residentes de filoplano de cacauero. **Summa Phytopathol**, v.35, p.140-142,
506 2009.
- 507
- 508 MALAVOLTA JÚNIOR, V.A.; ALMEIDA, I.M.G.; SUGIMORI, M.H.; RIBEIRO, I.J.A.;
509 RODRIGUES NETO, J. Ocorrência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em videira no
510 Brasil. **Summa Phytopathologica**, v.25, p.262-264, 1999.
- 511
- 512 MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa MAPA**
513 **Nº 02**. 06 de Fevereiro de 2014. DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO, Brasília, Nº 27, 07 de
514 fevereiro de 2014, seção 1, p. 09. Disponível em:
515 <[http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?](http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=07/02/2014&jornal=1&pagina=9&totalArquivos=140)
516 [data=07/02/2014&jornal=](http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=07/02/2014&jornal=1&pagina=9&totalArquivos=140)
517 [1&pagina=9&totalArquivos=140](http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=07/02/2014&jornal=1&pagina=9&totalArquivos=140)>. Acesso em 15 de Set. 2015.
- 518 MELO E.A.; MARIANO, R.L.R.; LARANJEIRA, D.; SANTOS, L.A.; GUSMÃO, L.O.;
519 SOUZA, E.B. Efficacy of yeast in the biocontrol of bacterial fruit blotch in melon plants.
520 **Tropical Plant Pathology**, v.40, p.56–64, 2015.

521 MONTEIRO, L. MARIANO, R.L.R., SOUTO-MAIOR, A.M. Antagonism of *Bacillus* spp.
522 against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. **Brazilian archives of biology and**
523 **technology**, v.48, p.23-29, 2005.

524

525 NASCIMENTO, A.R.P.; MICHEREFF, S.J.; MARIANO, R.L.R.; GOMES, A.M.A.
526 Elaboração e validação de escala diagramática para cancro bacteriano da videira. **Summa**
527 **Phytopathologica**, v.31, p.56-61, 2005.

528

529 NAUE, C.R.; COSTA, V.S.O.; BARBOSA, M.A.G.; BATISTA, D.C.; SOUZA, E.B.;
530 MARIANO, R.L.R. *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* on grapevine cutting tools and
531 water: survival and disinfection. **Journal of Plant Pathology**, v.96, p.451-458, 2014.

532

533 OLIVEIRA, A.; SANTOS, M.H.M.; SILVEIRA, E.B.; GOMES, A.M.A.; MARIANO, R.L.R.
534 Biocontrole da mancha-aquosa do melão pelo tratamento de sementes com bactérias epifíticas
535 e endofíticas. **Horticultura Brasileira**, v.24, p.373-377, 2006.

536

537 PAZ, I.C.P.; SANTIN, R.C.M.; GUIMARÃES, A.M.; ROSA, O.P.P.; DIAS, A.C.F.;
538 QUECINE, M.C.; AZEVEDO, J.L.; MATSUMURA, A.T.S. Eucalyptus growth promotion by
539 endophytic *Bacillus* spp. **Genetics and Molecular Research**, v.11, p.3711-3720, 2012.

540

541 PUNJA, Z.K.; UTKHEDE, R.S. Using fungi and yeasts to manage vegetable crop disease.
542 **Trend in Biotechnology**, v. 21, p. 400-407, 2003.

543

544 PUSEY, P.L.; STOCKWELL, V.O.; MAZZOLA, M. Epiphytic bacteria and yeasts on apple
545 blossoms and their potential as antagonists of *Erwinia amylovora*. **Phytopathology**, v.99,
546 p.571-581, 2009.

547

548 QUADT-HALLMANN, A.; KLOEPPER, J.W. Immunological detection and localization of
549 the cotton endophyte *Enterobacter asburiae* JM22 in different plant species. **Canadian**
550 **Journal of Microbiology**, v.42, p.1144-1154, 1996.

551

552 ROMEIRO, R. S. **Bactérias Fitopatogênicas**, Editora UFV, Viçosa. 1995, 367p.

553

554 SHIOMI, F.S.; SILVA, H.S.A.; MELO, I.S.; NUNES, F.V.; BETTIOL, W. Bioprospecting
555 endophytic bacteria for Biological control of coffee leaf rust. **Scientia Agricola**, v.63, p.32-
556 39, 2006.

557

558 SILVA, S.S.; CARVALHO, F.C.Q.; SILVA, J.R.; LINS, S.R.O.; OLIVEIRA, S.M.A. Uso de
559 antagonistas e produtos alternativos no manejo pós-colheita de podridão mole em pimentão.
560 **Revista Ciência Agronômica**, v.45, p.718-725, 2014.

561

562 TAVARES, S.C.C.H. Principais doenças das culturas de: manga, uva, acerola e banana.
563 Petrolina: EMBRAPA. CPATSA, 1995. 1v. (Apostila do Curso de Atualização Técnica para
564 Engenheiros Agrônomos do Banco do Brasil, Petrolina, PE, 1995).

565

566 TARKKA, M.T.; PIECHULLA, B. Aromatic weapons: truffles attack plants by the production
567 of volatiles. **The New Phytologist**, v.175, p.381-383, 2007.

568 TOSTES, G.O.; ARAUJO, J.S.P.; FARIAS, A.R.G.; FRADE, D.A.R.; OLIVARES, F.L.
569 Detection and cellular localization of *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* in seeds of
570 commercial 'Red Globe' grapes. **Tropical Plant Pathology**, v.19, p.134-140, 2014.

571
572 SILVA, A.M.F.; MENEZES, E.F.; SOUZA, E.B.; MELO, N.F.; MARIANO, R.L.R.
573 Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em tecido infectado de videira.
574 **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, p.757-765, 2012.

575
576 VALEXPOR. Associação dos Exportadores de Hortigranjeiros e Derivados do Vale do São
577 Francisco. **Dados estatísticos.** Disponível em:
578 <<http://www.brazilianfruit.org.br/Relatorios/Relatorios.asp>>. Acesso em 10 de Fev. 2016.

579
580 VAN HOP, D.; PHUONG HOA, P.T.; QUANG, N.D.; TON, P.H.; Ha, T.H.; VAN HUNG,
581 N.; VAN, N.T.; VAN HAI, T.; KIM QUY, N.T.; ANH DAO, N.T.; THI THOM, V.
582 Biological control of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* causing rice bacterial blight disease by
583 *Streptomyces toxytricini* VN08-A-12, isolated from soil and leaf-litter samples in Vietnam.
584 **Biocontrol Science**, v.19, p.103-111, 2014.

585
586 WANG, X.; LI, G.; JIANGA, D.; HUANGD, H. Screening of plant epiphytic yeasts for
587 biocontrol of bacterial fruit blotch (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*) of hami melon.
588 **Biological Control**, v.50, p.164–171, 2009.

589
590 WHEATLEY, R.E. The consequences of volatile organic compound mediated bacterial and
591 fungal interactions. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.81, p.357-364, 2002.

592

593 **Tabela 1.** Seleção de métodos de aplicação de agentes de controle biológico (ACB) em
 594 videira para erradicação de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*.

Método	Bactéria ACB		
	LCB 3	LCB 5	UNEB 25
M1 ¹	29,4 abA ^{2,3}	15,2 bAB	6,93 bB
M2	0,93 cB	11,2 bA	7,87 bAB
M3	13,0 bB	21,0 abAB	41,13 aA
Test	53,2 aA	55,47 aA	48,98aA

C.V. (%) = 35,39

595 ¹M1 = Aplicação dos ACB através de pulverização após fermento provocado por gaze, e
 596 inoculação de Xcv após 24 h, também por pulverização; M2 = Aplicação dos ACB através de
 597 pulverização e inoculação de Xcv por gaze após 24 h; M3 = Aplicação dos ACB por
 598 pulverização logo após inoculação de Xcv por gaze.

599 ² Severidade do cancro bacteriano em folhas de videira, avaliada com auxílio de uma escala
 600 diagramática (Nascimento et al., 2005).

601 ³Médias de dez repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e
 602 maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

603
604
605
606
607
608
609
610
611
612
613
614
615
616
617
618
619
620
621
622
623
624
625
626
627
628
629
630
631
632
633
634

635 **Tabela 2.** Atividade antibacteriana de agentes de controle biológico contra *Xanthomonas*
 636 *campestris* pv. *viticola*.
 637

Isolados ¹	Antibiose Halo (cm)	Produção de substâncias voláteis (Rcresc. %)	Produção de Protease (µg)	Produção de Amônia (mg/L)
LCB 3	2,84 a ²	4,63 c	218,46 a	11,13 e
UNEB 25	2,66 b	3,58 d	134,36 b	0,42 i
L3A	2,36 c	0 d	265,73 a	24,46 c
LCB 5	2,28 c	10,25 c	98,13 b	22,40 c
RAB 7	2,05 d	0 d	135,1 b	27,48 c
UNEB 01	2,0 d	0 d	245,83 a	4,97 g
LCB 30	1,99 d	14,08 b	188,83 a	0,34 i
LCB 28	1,95 d	5,62 c	157,83 b	9,08 f
HNF15	1,94 d	0 d	114,3 b	12,72 e
RAB 9	1,90 e	8,64 c	169,1 b	12,65 e
LCB 45	1,86 e	8,70 c	101,83 b	2,20 h
LCB 6	1,84 e	10,43 c	229,23 a	6,72 g
LCB 31	1,82 e	0 d	178,13 b	19,48 d
UNEB 27	1,62 f	23,16 a	137,9 b	17,19 d
LCB 33	0,0 g	0 d	219,5 a	17,10 d
LMA-1	0,0 g	0 d	251,66 a	21,72 c
UNEB 52	0,0 g	0 d	189,56 a	13,61 e
LMS	0,0 g	0 d	272,43 a	20,10 d
L7K	0,0 g	15,07 b	236,36 a	36,80 a
LF	0,0 g	14,14 b	173,86 b	31,67 b
L9	0,0 g	10,37 c	312,76 a	26,09 c
L7	0,0 g	12,78 b	200,8 a	28,78 b
L8	0,0 g	18,77 a	276,7 a	15,92 d
C.V. (%)	5,82	11,98	14,98	8,79

638 ¹Agentes de controle biológico. Bactérias: LCB 3, LCB 5, LCB 6, LCB 6, LCB 28, LCB 30,
 639 LCB 31, LCB 33, LCB 45, UNEB 01, UNEB 25, UNEB 27, UNEB 52, RAB 7, RAB 9 e
 640 HNF15); Leveduras leveduras (L3A, LMS, LMA-1, L7K, LF, L7, L8 e L9).

641 ²Médias de seis repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não
 642 diferem significativamente entre si ($P \leq 0,05$) pelo teste de agrupamento de Scott-Knott.

643
 644

645
646
647
648
649
650
651
652
653
654
655
656
657
658
659
660
661
662
663
664
665
666
667
668
669
670
671
672
673
674
675
676
677
678
679
680
681
682
683
684
685
686
687
688
689
690

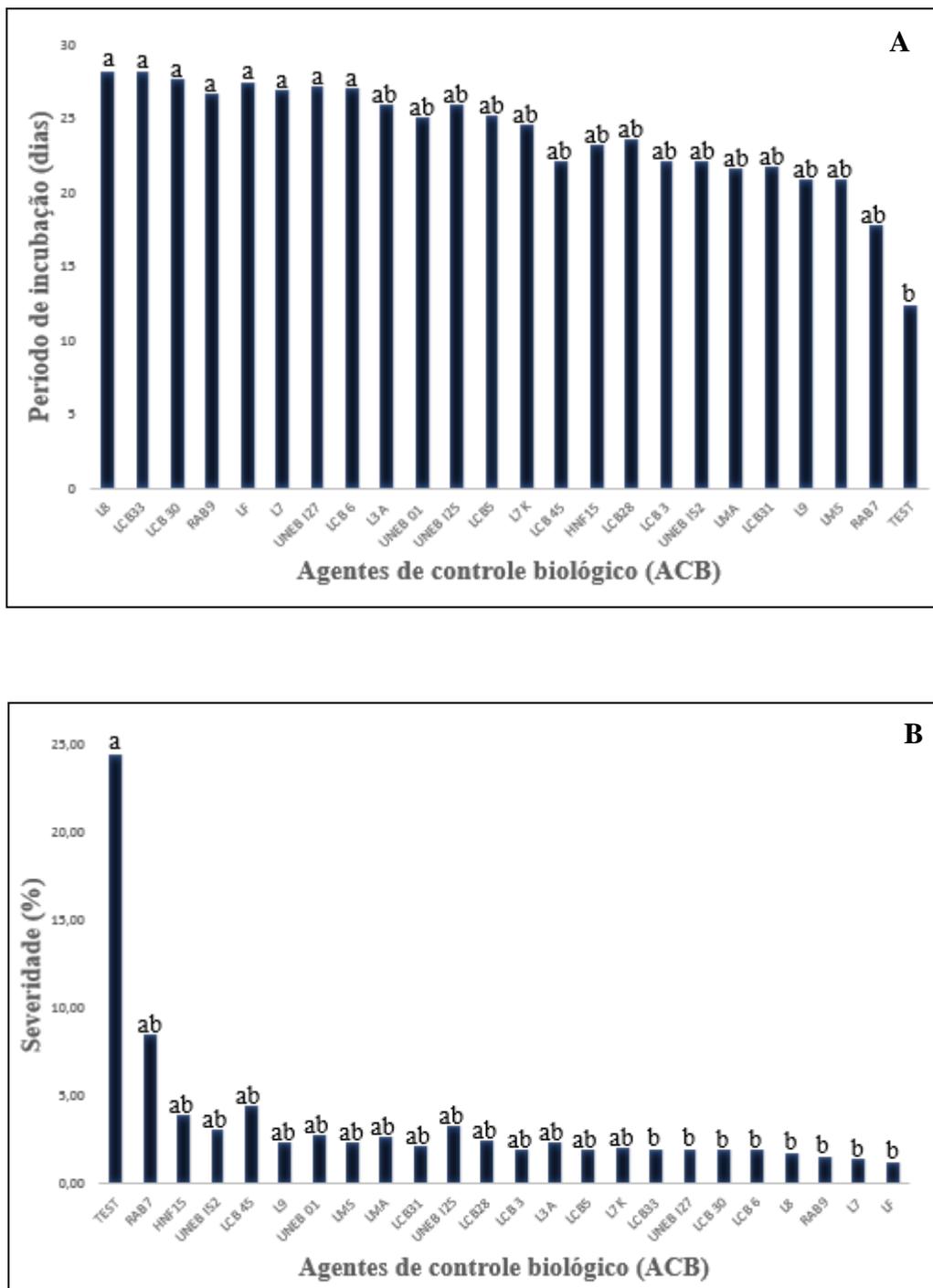


Figura 1. Efeito de agentes de controle biológico na erradicação de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em mudas de videira, avaliada pelo componentes epidemiológicos período de incubação (A) e severidade nas folhas (B), avaliada com auxílio de escala diagramática (Nascimento et al., 2005). Médias de dez repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($P \leq 0,05$).

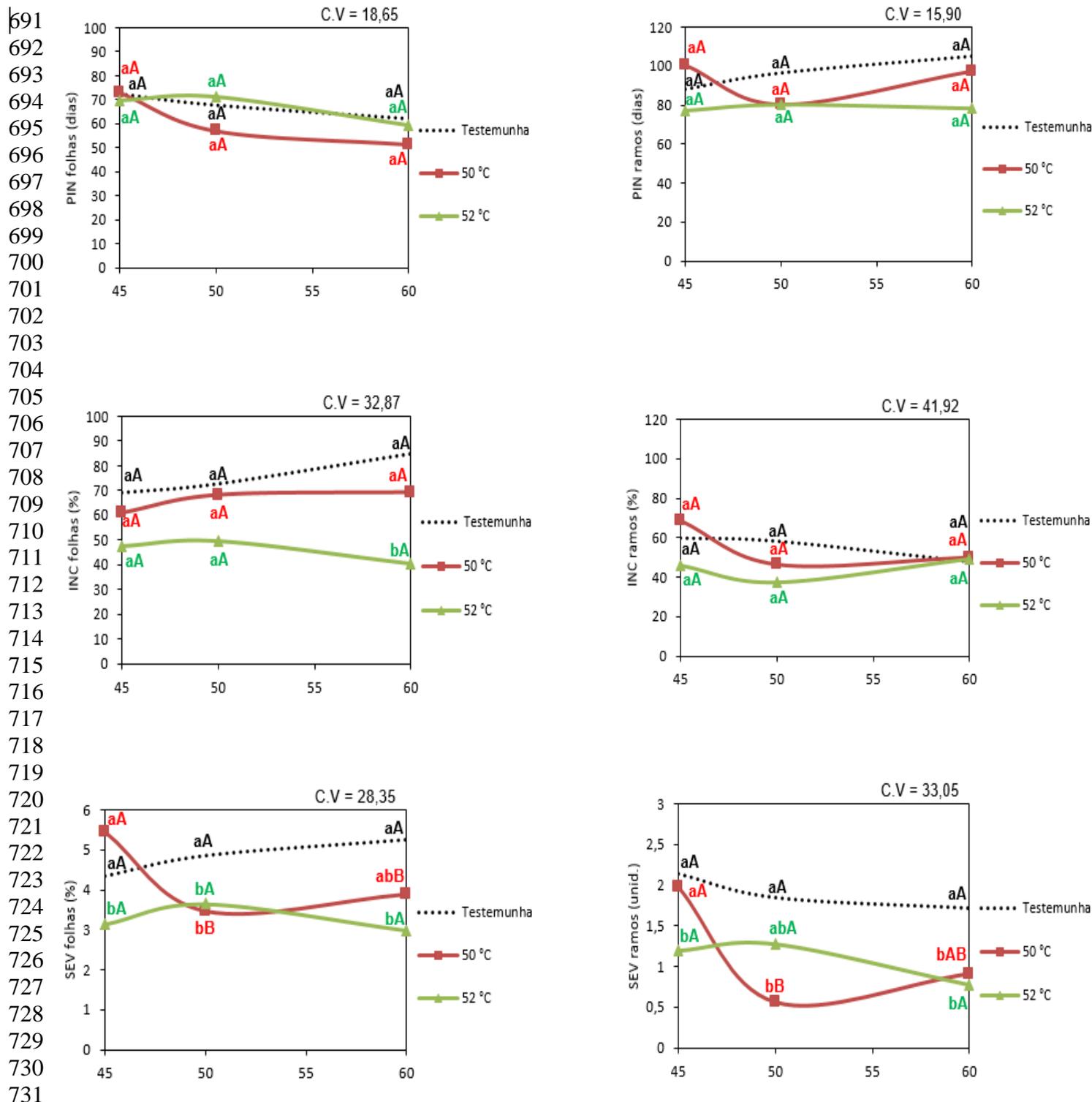
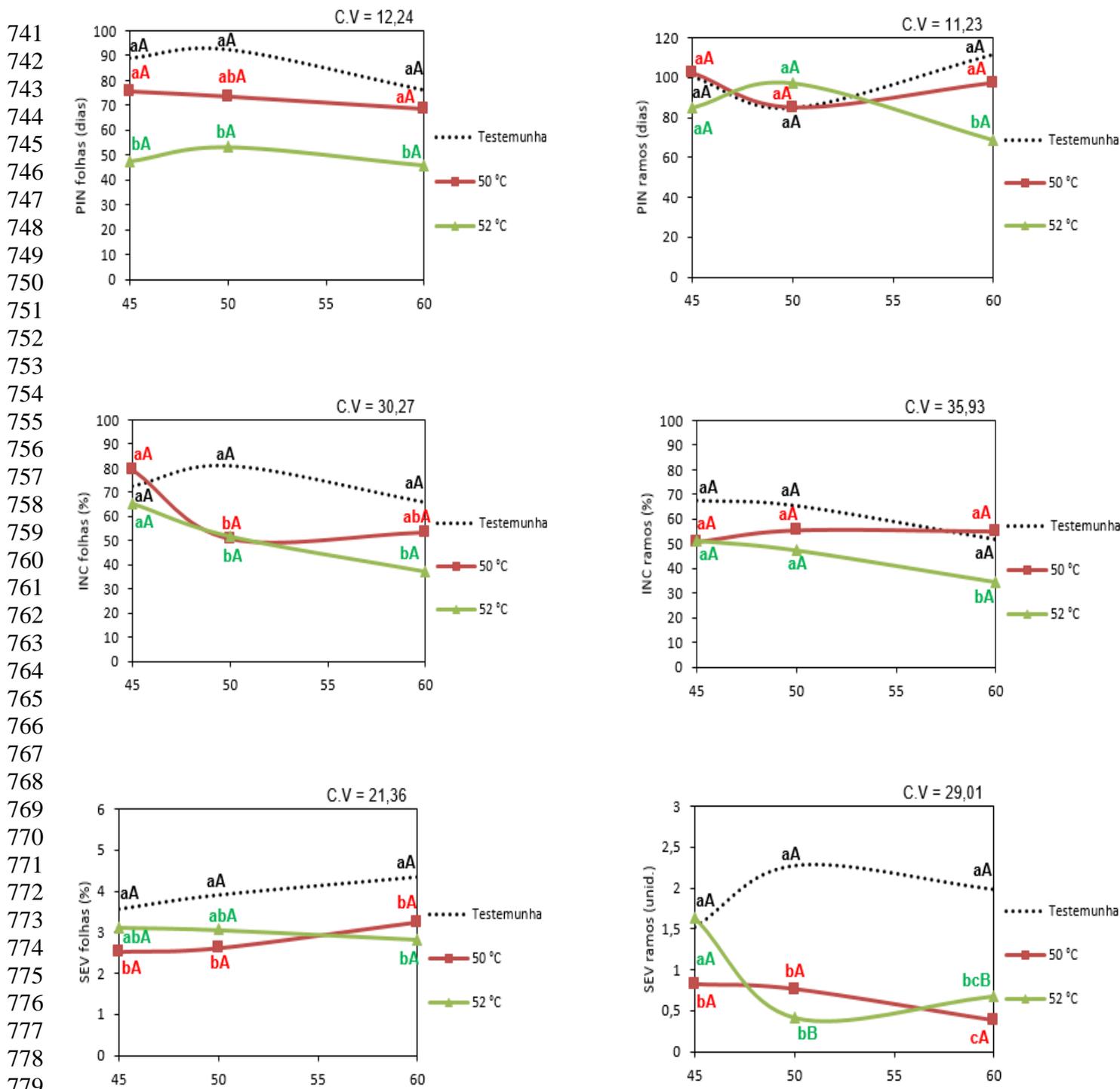


Figura 2. Influência da combinação da bactéria LCB 6 (*Bacillus subtilis*) e termoterapia na erradicação de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em videira da cultivar Red Globe, avaliada em plântulas com 120 dias. Variáveis epidemiológicas: período de incubação (PIN), incidência (INC) e severidade da doença (SEV), nas folhas e cancos. Nas folhas a severidade foi determinada com auxílio de escala diagramática (Nascimento et al., 2005) e nos ramos, pelo número de cancos. Médias de oito repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

740



780 **Figura 3.** Influência da combinação da levedura LF (*Saccharomyces cerevisiae*) e
 781 termoterapia na erradicação de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em videira da cultivar
 782 Red Globe, avaliada em plântulas com 120 dias. Variáveis epidemiológicas: período de
 783 incubação (PIN), incidência (INC) e severidade da doença (SEV), nas folhas e cancos. Nas
 784 folhas a severidade foi determinada com auxílio de escala diagramática (Nascimento et al.,
 785 2005) e nos ramos, pelo número de cancos. Médias de oito repetições. Médias seguidas pela
 786 mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si
 787 pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

788
 789

CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES GERAIS

- A termoterapia de 54°C nos tempos de duração de 45 e 60 min não deve ser utilizada no tratamento de bacelos porque interferiram negativamente na viabilidade de mudas de videira;
- O tratamento termoterápico dos bacelos de videira a 52°C durante 45 min, por não afetar a viabilidade das mudas e reduzir os sintomas do cancro nos ramos das cultivares Isabel e Red Globe, é recomendado para o manejo do cancro bacteriano;
- A bactéria *Bacillus subtilis* (LCB 6) e a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (LF) () combinados a termoterapia de 50 e 52°C durante 50 e 60 min foram eficientes na redução da severidade do cancro bacteriano nas folhas e ramos;
- A produção de antibióticos, compostos voláteis, proteases e amônia por alguns agentes de controle biológico eficientes na redução da severidade do cancro bacteriano podem estar associadas ao controle da doença.