

ANA ROSA PEIXOTO NASCIMENTO

**Cancro bacteriano (*Xanthomonas campestris* pv. *viticola*) da videira (*Vitis* spp.):
métodos de preservação e crescimento de isolados; escala diagramática e reação de
variedades de videira à doença**

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

RECIFE-PE

FEVEREIRO, 2005

**Cancro bacteriano (*Xanthomonas campestris* pv. *viticola*) da videira (*Vitis* spp.):
métodos de preservação e crescimento de isolados; escala diagramática e reação de
variedades de videira à doença**

ANA ROSA PEIXOTO NASCIMENTO

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO

Professora Dr^a. Rosa de Lima Ramos Mariano - Orientadora

Professor Dr. Sami Jorge Michereff - Co-Orientador

Professor Dr. Rildo Sartori Barbosa Coelho - Co-Orientador

RECIFE-PE

FEVEREIRO, 2005

**Cancro bacteriano (*Xanthomonas campestris* pv. *viticola*) da videira (*Vitis* spp.):
métodos de preservação e crescimento de isolados; escala diagramática e reação de
variedades de videira à doença**

ANA ROSA PEIXOTO NASCIMENTO

Tese defendida e aprovada pela Banca Examinadora em 11 de fevereiro de 2005

ORIENTADORA:

Profa. Dra. Rosa de Lima Ramos Mariano

EXAMINADORES:

Dra. Daniela Biaggioni Lopes (Embrapa Semi-Árido)

Dra. Sayonara Maria Paulino de Assis (MAPA)

Dra. Sônia Maria Alves de Oliveira

Dr. Delson Laranjeira

Dra. Suzana Alencar Freire Dantas (IPA)

RECIFE-PE

FEVEREIRO, 2005

Aos meus queridos pais, Lourdes e Pedro Peixoto, por tanta doação de amor, carinho, respeito, incentivo e confiança durante todos os momentos de minha vida.

As minhas irmãs Fátima, Larissa e Valéria e aos sobrinhos queridos: Alana, Alessandra, Matheus, Vinícius e ao pequeno Pedrinho, por estarem sempre presentes e por me transmitirem tanta alegria.

OFEREÇO

Ao meu querido esposo Clóvis, pelo amor, apoio e paciência.

Ao meu amado filho Caio, presente de Deus na minha vida, simplesmente por existir e deixar meus dias tão felizes!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo presente da vida e pela força que nos preenche o ser a cada novo dia, e nos faz buscar novos horizontes e um futuro feliz!

À Universidade do Estado da Bahia, UNEB, pela oportunidade concedida ao aprimoramento profissional.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, pela oportunidade de realização do Curso de Doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, pela concessão da bolsa de estudo pelo programa PICDT/CAPES/UNEB e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo apoio financeiro para a realização dos trabalhos.

À professora Rosa de Lima Ramos Mariano, pelo apoio, amizade, ensinamentos, incentivo e a enriquecedora orientação, desde a iniciação científica.

Ao professor Sami Jorge Michereff, pela atenção e orientação para a realização dos trabalhos.

À Coordenação e professores do Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, pelos ensinamentos recebidos e pela amizade.

À Embrapa Semi-Árido, especialmente às Dr^{as}. Daniela Biaggioni Lopes e Patrícia Coelho de Souza Leão por todo apoio para realização dos trabalhos.

A todos os colegas do Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade pela boa convivência, em especial Daniel Terao, Luís Carlos Cordeiro de Almeida e Marcelo Brito de Melo, meus colegas de turma; a Gilberto Souza Júnior, Sayonara Maria Paulino de Assis e Vitorina Nerivânia Covello Rehn pela amizade e todo apoio.

À turma do Laboratório de Fitobacteriologia: Adriano, Angélica, Cynthia, Enildo, Flávio, Janaína, João Augusto, Henrique, Indira, Marco Aurélio, Moacir, Valdicléria, Valter e Sandro pelo apoio e os bons momentos de convivência.

À querida amiga Ivanise de Oliveira Viana, laboratorista da Fitobacteriologia, por me ajudar na realização dos trabalhos e pelo carinho demonstrado.

E, finalmente, aos funcionários da Área de Fitossanidade, especialmente Darci Martins e Luis Coelho e a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO**Página**

AGRADECIMENTOS	v
RESUMO	viii
ABSTRACT	x
Capítulo I - Introdução geral	12
Referências bibliográficas	29
Capítulo II - Métodos de preservação de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>viticola</i> e influência da temperatura, pH e NaCl no crescimento do patógeno em meio de cultura	40
Resumo	41
Abstract	42
Referências bibliográficas	51
Capítulo III - Elaboração e validação de escala diagramática para cancro bacteriano da videira	57
Resumo	58
Abstract	59
Material e Métodos	62
Resultados e Discussão	64
Agradecimentos	68
Referências bibliográficas	69
Capítulo IV - Reação de variedades de videira a <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>viticola</i>, baseada nos componentes epidemiológicos do cancro bacteriano	77
Resumo	78
Abstract	79
Material e Métodos	81
Resultados e Discussão	84
Agradecimentos	87
Referências bibliográficas	88
CONCLUSÕES GERAIS	94

RESUMO

O Submédio São Francisco é o principal centro produtor e exportador de uvas de mesa do Brasil, onde a área plantada com esta cultura tem se expandido significativamente, nos últimos anos. No entanto, a intensificação do cultivo da videira, o plantio de variedades suscetíveis, além das condições climáticas prevalentes na região propiciam o surgimento de problemas fitossanitários, entre os quais se destaca o cancro bacteriano (*Xanthomonas campestris* pv. *viticola* - Xcv). Detectado pela primeira vez no Brasil, em parreirais do Submédio São Francisco, em 1998, o cancro é a doença bacteriana mais importante da videira na região. No presente trabalho foram estudados: métodos de preservação e o crescimento do patógeno em diferentes temperaturas, pHs e concentrações de NaCl; elaboração e validação de uma escala diagramática para cancro bacteriano; e reação de variedades de videira ao patógeno, baseada nos componentes epidemiológicos da doença. Os métodos dessecação em papel de filtro (DPF), repicagens periódicas (RP), água destilada esterilizada (ADE) e folhas herborizadas (FH) foram utilizados para preservar dois isolados de Xcv (Xcv1 e Unb1216) durante 12 meses. As variáveis viabilidade e patogenicidade foram avaliadas mensalmente e estimadas pela obtenção de crescimento bacteriano e área abaixo da curva de incidência da doença (AACID). Tanto o método DPF como ADE propiciaram viabilidade constante de 100 % durante 11 meses e os maiores valores de AACID. No método RP não se observou crescimento dos isolados aos 30 dias, enquanto que, em FH, Xcv foi isolada até cinco meses. Os efeitos da temperatura (0, 5, 10, 15, 20, 25, 27, 28, 29, 30, 35, 40 e 45°C), pH (5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0; 8,5 e 9,0) e concentração de NaCl (1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7%) sobre o crescimento de dois isolados de Xcv em meio de cultura NYD foram estudados sendo que o crescimento foi avaliado em fotocolorímetro. As temperaturas mínima e máxima para o crescimento de Xcv foram respectivamente 5 e 39°C, enquanto que um crescimento ótimo foi observado no intervalo de 27 a 29°C. Xcv não cresce a 0 e 40°C. A faixa de pH ótima para o crescimento desta bactéria é de 7,0 a 7,5. O crescimento de Xcv foi reduzido a partir de 3,0 % de NaCl, sendo o nível de 6,0 % letal para essa bactéria. Para padronizar métodos de quantificação da severidade do cancro bacteriano, foi elaborada uma escala diagramática com níveis de 2, 4, 8, 17, 34, 63 e 91% de área foliar lesionada. Na

validação da escala diagramática, 50 folhas com diferentes níveis de severidade da doença, mensurados previamente com o programa AutoCAD[®], foram avaliadas por 10 pessoas sem e com a utilização da escala. Foram realizadas duas avaliações com utilização da escala com intervalo de sete dias, onde seqüências diferentes das mesmas folhas foram estimadas visualmente pelos mesmos avaliadores. A acurácia e a precisão de cada avaliador foram determinadas por regressão linear simples, entre a severidade real e a estimada. Sem a escala, a maioria dos avaliadores superestimou a severidade da doença. Com a escala, os avaliadores obtiveram melhores níveis de acurácia e precisão, embora tendessem a subestimar a severidade com erros absolutos concentrando-se na faixa de 10%. Os avaliadores apresentaram boa repetibilidade e elevada reprodutibilidade das estimativas com utilização da escala, o mesmo não sendo verificado sem a utilização desta. A reação de 20 variedades de videira, sendo 13 de copa e sete de porta-enxerto, foi avaliada quanto à resistência à doença, em casa de vegetação. As plantas foram inoculadas com a suspensão do isolado Xcv1 ($A_{570} = 0,4$ correspondente a 10^8 UFC mL⁻¹), incubadas em casa de vegetação e observadas diariamente quanto aos componentes epidemiológicos do cancro bacteriano: período de incubação (PI), incidência de folhas com sintomas (INC), incidência de folhas com cancro (IFC), severidade da doença (SEV), taxa de progresso da incidência da doença (TPID), área abaixo da curva de progresso da severidade da doença (AACPSD). Todas as variedades foram suscetíveis ao patógeno, embora diferindo significativamente entre si ($P=0,05$) para a maioria das variáveis analisadas. Em geral, ‘Brasil’ apresentou os maiores níveis de doença para todas as variáveis testadas, enquanto ‘Isabel’ e ‘Paulsen 1103’ destacaram-se ao propiciarem os maiores valores de PI e os menores valores de INC, IFC, SEV, TPID e AACPSD, indicando o potencial dessas para utilização em programas de melhoramento genético e de manejo integrado do cancro bacteriano da videira. As variáveis estudadas podem ser utilizadas em pesquisas envolvendo reação de variedades ao cancro bacteriano da videira. Quando considerado o conjunto dos componentes epidemiológicos, a análise da distância Euclidiana por UPGMA permitiu a separação das variedades de copa e porta-enxerto em três grupos de similaridade cada.

ABSTRACT

The Submédio São Francisco is the main producing and exporting region of table grapes in Brazil, where the cultivated area with this fruit crop has been significantly expanded in the last years. However, the intensification of grape production, the use of susceptible cultivars, and the favorable environmental conditions of that region allowed the occurrence of disease and pest problems, with emphasis for the bacterial canker (*Xanthomonas campestris* pv. *viticola* - Xcv). Reported for the first time in Brazil, in plantations of the Submédio São Francisco in 1998, the canker is the most important bacterial disease of grapevine in that region. The present work aimed to study: methods of preservation and pathogen growth at different temperatures, pHs and NaCl concentrations; elaboration and validation of a diagrammatic key for bacterial canker; and the reaction of grapevine varieties to the pathogen, based on the disease epidemiological components. The preservation methods: dried paper strips (DPS), periodic transfer (PT), sterile distilled water (SDW) and dried leaves (DL) were utilised for storing two Xcv strains during 12 months. The variables viability and pathogenicity were evaluated monthly and estimated by bacterial growth and area under disease incidence curve (AUDIC). Both the DPS and SDW methods maintained 100% of cell viability and showed higher AUDIC values during 11 months. PT did not permit growth at 30 days while DL allowed the pathogen isolation for 5 months. The influence of temperature (0, 5, 10, 15, 20, 25, 27, 28, 29, 30, 35, 40 and 45°C), pH (5.0; 5.5; 6.0; 6.5; 7.0; 7.5; 8.0; 8.5 and 9.0) and NaCl concentration (1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7%) on the growth of two Xcv strains was studied in NYD medium and evaluated in spectrophotometer. The minimum and maximum temperatures for Xcv growth were respectively 5 and 39°C, while the optimum growth was observed from 27 to 29°C. Xcv does not growth at 0 or 40°C. The optimum pH for Xcv growth ranged from 7.0 to 7.5. The pathogen growth declined from 3.0 % NaCl and was null at 6.0 %. Aiming to standardize methods to quantify bacterial canker severity a diagrammatic key was elaborated including the levels 2, 4, 8, 17, 34, 63 and 91% of diseased leaf area. To validate the diagrammatic key, 50 leaves with different levels of severity, previously measured by the software

AutoCAD[®], were evaluated by 10 raters with and without the use of the key. Two evaluations were performed with the key at 7-day intervals when different sequences of the same leaves were visually estimated by the same raters. The accuracy and precision of each rater were determined by simple linear regression between actual and estimated severity. Without the key, most of the raters overestimated disease severity. With the key raters obtained better levels of accuracy and precision; however, all tended to underestimate severity, with absolute errors concentrated around 10%. Raters showed good repeatability and high reproducibility of estimative by using the key compared to not using it. The reaction of 20 grapevine varieties, 13 scions and seven rootstocks, was evaluated in relation to disease resistance under greenhouse conditions. Plants were inoculated with a suspension of the strain Xcv1 ($A_{570} = 10^8$ CFU mL⁻¹), incubated in a greenhouse and observed daily for epidemiological components of bacterial canker: incubation period (PI), incidence of leaves with symptoms (INC), incidence of leaves with canker (IFC), disease severity (SEV), progress rate of disease incidence (TPID), area under the disease severity progress curve (AACPSD). All varieties were susceptible to the pathogen, although there were significant differences among them ($P=0.05$) for most of the analyzed variables. 'Brasil' showed the highest disease levels for all variables tested, while 'Isabel' and 'Paulsen 1103' presented the highest values of PI and the lowest values of INC, IFC, SEV, TPID and AACPSD, suggesting the potential of those varieties in programs of genetic breeding and integrated management of grapevine bacterial canker. The studied variables might be utilized in research including reaction of varieties to this disease. Considering all the epidemiological components, the analysis of the Euclidean distance by UPGMA allowed the separation of scion and rootstock varieties into three similarity groups each.

Capítulo I

Introdução geral

A videira

O cultivo da videira (*Vitis* spp. L.) pertencente à família Vitaceae, vem desde a antiguidade. Vasos sagrados desenterrados em escavações na Turquia, na antiga cidade comercial de Kannish, mostraram que a viticultura era praticada desde a idade do bronze, há cerca de 3.500 anos A.C. (LEÃO; POSSÍDIO, 2000). A uva e o vinho, pelo seu papel relevante, foram definitivamente incorporados ao cotidiano de muitos povos, especialmente o europeu. As grandes descobertas estabelecidas com o avanço da navegação e a conseqüente expansão da colonização resultaram no transporte da videira, como item fundamental, para todos os continentes e na sua introdução no Brasil, por Martin Afonso de Souza em 1532 (POMMER; MAIA, 2003).

Originária no Oriente, a videira pode ser classificada em dois tipos: a européia (*V. vinifera* L.) do centro da Ásia Central, em regiões que possuem o clima típico mediterrâneo, e a videira americana (*V. labrusca* L. e outras espécies) do continente norte americano (POMMER; MAIA, 2003).

Existem cerca de 10 mil variedades de videira, adaptadas a vários tipos de solo e clima, o que possibilita o cultivo em quase todas as regiões do mundo. Embora amplamente cultivadas, as uvas são bastante sensíveis e variam de acordo com as condições edafoclimáticas em que se desenvolvem, apresentando características diferenciadoras como sabor, acidez, doçura, formato, coloração, resistência da casca, tamanho, quantidade de sementes e formato dos cachos (QUEIROZ-VOLTAN; PIRES, 2003). A videira pode ser cultivada para diferentes finalidades, sendo classificada comercialmente em: uvas para mesa (consumo *in natura*), para vinificação, para passas e para sucos doces (LEÃO, 2000), embora a maior parte da produção da uva, produzida na região Sul do Brasil, seja destinada à industrialização do vinho. Assim, calcula-se que cerca de 80% da produção total, região maior produtor, são transformados em vinhos ou outras bebidas alcoólicas; 10% são consumidos *in natura*; 5% destinam-se ao processamento de sucos e outros 5% transformam-se em uva passa (SOUSA, 1996).

A videira é um arbusto com caule sarmentoso e trepador, que se fixa a suportes naturais ou artificiais, mediante órgãos especializados denominados gavinhas. As flores são reunidas em inflorescências denominadas cachos compostos ou panículas. Os frutos da videira são bagas pedunculadas, reunidas em cachos de tamanho variável, que se apresentam compactos ou soltos, dependendo do número de bagas neles fixados (QUEIROZ-VOLTAN; PIRES, 2003).

A videira apresenta uma sucessão de ciclos vegetativos, intercalados por períodos de repouso. Nas regiões de clima bem definido, as fases do ciclo da planta acompanham as variações estacionais, com brotações ocorrendo na primavera e queda das folhas no outono. A videira cresce e se desenvolve melhor em regiões com verões longos e secos, moderadamente quentes, e com invernos frios para satisfazer as necessidades de repouso vegetativo (PEDRO JÚNIOR; SENTELHAS, 2003).

Os limites de difusão da cultura da videira, nas diversas regiões do mundo, estão condicionados particularmente pela temperatura, luminosidade, umidade atmosférica e disponibilidade hídrica no solo (COSTACURTA; ROSELLI, 1980). A radiação solar atua nos processos de fotossíntese, de movimento e de formação (TEIXEIRA, 2001). Coombe (1967) aponta a temperatura do ar como o fator ambiental mais significativa no comportamento da cultura da videira, porém a umidade do ar durante o ciclo é também muito importante por favorecer o surgimento de doenças (TEIXEIRA, 2001). Em termo de exigência hídrica, a videira é muito resistente à seca, graças ao seu sistema radicular, que é capaz de atingir grandes profundidades (COSTACURTA; ROSELLI, 1980).

A videira tem sido considerada como planta adaptada a regiões de clima temperado, pelo fato de ter folhas decíduas. No entanto, é cultivada atualmente em enorme diversidade de condições climáticas, a exemplo dos desertos da Califórnia e no Submédio São Francisco, onde temperaturas muito elevadas são comuns. No Brasil, a videira é cultivada desde o extremo Sul, principalmente Rio Grande do Sul e Santa Catarina, até o Nordeste, em regiões anteriormente consideradas climaticamente inaptas. Com o emprego da irrigação, o Submédio São Francisco, na Bahia e

Pernambuco e em extensas áreas de Minas Gerais tornou-se excelente região produtora de uva (PEDRO JÚNIOR; SENTELHAS, 2003), destacando-se pela expansão da área cultivada e do volume de produção e, principalmente, pelos altos rendimentos alcançados e qualidade da uva produzida (SILVA; CORREIA, 2000). O repouso vegetativo, nessa região do Submédio São Francisco, é dado pela época seca, e o manejo de irrigação, aliado ao clima quente, permite ao viticultor obter duas colheitas sucessivas no mesmo ano. Nesse clima de alta temperatura e de baixa umidade relativa, só variedades de *V. vinifera* se adaptam e a irrigação é obrigatória (PEDRO JÚNIOR; SENTELHAS, 2003).

O Submédio São Francisco apresenta pluviosidade baixa e irregular, em torno de 750 mm/ano, concentrada em período de três a cinco meses. As temperaturas são altas, com mínima em torno de 20°C e máxima de 31°C, com taxas elevadas de evapotranspiração e balanço hídrico negativo durante parte do ano. A insolação é muito forte, 2.800 h/ano e está aliada à baixa umidade relativa do ar. Os solos são oriundos de rochas cristalinas, predominantemente rasos, pouco permeáveis, sujeitos à erosão e de razoável fertilidade natural (ALBUQUERQUE, 1996).

A produção de uva no Submédio São Francisco concentra-se, principalmente, nos municípios de Petrolina e Santa Maria da Boa Vista, em Pernambuco, com 54% da área cultivada e Juazeiro, Curaçá, Sento Sé e Casa Nova, na Bahia, que detém os 46% restantes de área (SILVA; CORREIA, 2000).

No pólo Agroindustrial de Petrolina-Juazeiro encontram-se os maiores produtores de uva de mesa e manga do país, tendo alguns deles alcançado mercados externos (ARAÚJO, 2001). No entanto, a maior parte da produção de uva do Submédio São Francisco tem sido comercializada no mercado interno (regional e nacional), que absorve mais de 90% da produção nacional (SILVA; CORREIA, 2000).

O maior produtor mundial de uva no ano de 2004 foi a Itália com 8.400.000 t, seguida pela Espanha que produziu 6.901.900 t, a França com 7.800.000 t, os Estados Unidos com 5.509.330 t, a China com 5.342.500 t e a Turquia com 3.650.600 t. Na América do Sul, destacaram-se a Argentina

com uma produção de 2.365.000 t, o Chile com 1.750.000 t e o Brasil com 1.279.878 t. Com relação a produtividade, a Índia e a Venezuela lideraram apresentando 20 t/ha, seguidas pelo Brasil com 18 t/ha e o Egito com 16,9 t/ha (FAO, 2004)

A quantidade de uva produzida no Brasil no ano de 2003 foi de 1.067.422 t. A região Sul contribuiu com o maior valor, 633.698 t seguida pela região Sudeste com 238.109 t, região Nordeste 191.571 t, região Centro-Oeste 3.585 t e região Norte 459 t. O Estado brasileiro que apresentou a maior produção foi o Rio Grande do Sul com 489.015 t, seguido por São Paulo com 224.470 t, Pernambuco com 104.506 t, Paraná com 102.974 t e Bahia com 83.694 t (IBGE, 2004).

No Submédio São Francisco, em 2003, destacaram-se os Estados de Pernambuco e Bahia. Em Pernambuco, destacou-se o município de Petrolina com 71.645 t e na Bahia, o município de Juazeiro com 52.500 t (IBGE, 2003).

Cancro bacteriano da videira

A intensificação do cultivo de videira, o plantio de variedades suscetíveis e as condições climáticas prevalentes no Submédio São Francisco têm propiciado o surgimento de problemas fitossanitários, afetando diretamente a produção e a produtividade (TAVARES, 1995). Considere-se ainda que, a aquisição de mudas sem certificação também tem contribuído para a introdução de doenças nesse pólo agrícola (TAVARES; MENEZES, 1991).

Até o final de 1997, apenas bactérias do gênero *Agrobacterium* haviam sido relatadas no país infectando videira (BERIAM; ROBBS; RODRIGUES NETO, 1991; LACERDA et al., 1991; OLIVEIRA; ROMEIRO; LACERDA, 1994). Entretanto, no início de 1998 foi detectado, pela primeira vez no Brasil, o cancro bacteriano da videira em parreirais do Submédio São Francisco, onde a doença vem causando prejuízos em cultivares suscetíveis (LIMA et al., 1999; MALAVOLTA et al., 1999). 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 et al., 1999).

A doença foi também detectada no Estado do Ceará, em plantas das variedades Red Globe, Flame e Superior, no município de Jaguaruana (FREIRE; OLIVEIRA, 2001).

O agente causal do cancro bacteriano da videira é a bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Nayudu) Dye identificada através de testes bioquímicos, culturais, fisiológicos e de patogenicidade (MALAVOLTA et al., 1999) realizados em plantas das cultivares Red Globe (LIMA et al., 1998), Piratininga e Itália (NASCIMENTO et al., 1998). Esta bactéria é considerada como praga quarentenária A2 nos Estados da Bahia, Pernambuco e Piauí, de acordo com a Lei no. 9.712 de 20 de novembro de 1998 (BRASIL, 1998). 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. Sintomas semelhantes, com incidência variável, foram observados em plantios mais velhos dessas mesmas cultivares (LIMA et al., 1998). A intensidade dos sintomas causados por *X. campestris* pv. *viticola* varia segundo o nível de tolerância da variedade à doença e segundo as condições ambientais (LIMA, 2001).

A bactéria *X. campestris* pv. *viticola*, anteriormente denominada de *Pseudomonas viticola* sp. nov. (Nayudu) (NAYUDU, 1972) é um bastonete Gram-negativo, com dimensões de 0,6 x 1,2 - 2,5 µm, possuindo um flagelo polar e metabolismo aeróbico. Estudos feitos por Vauterin et al. (1995) sugerem a reclassificação de diferentes espécies pertencentes ao gênero *Xanthomonas*, através do estudo de hibridização DNA-DNA, embora não faça referência ao patógeno em estudo. Já Takita et al. (2004) ao analisarem a região de regulação de fatores de patogenicidade (RFP) em 21 estirpes pertencentes a diferentes patovares de *Xanthomonas campestris* verificaram que todas apresentaram padrão igual ao de *X. campestris* pv. *campestris*, exceto *X. campestris* pv. *viticola*, que foi agrupada com outras espécies de *Xanthomonas*.

A cultura pura em meio ágar-nutritivo apresenta colônias arredondadas, brilhantes, com bordos lisos e coloração esbranquiçada, pois não produz xantomonadina. Este pigmento, característico das bactérias do gênero *Xanthomonas*, pode não ser produzido por alguns patovares ou isolados de um mesmo patovar (BRADBURY, 1986; SWINGS; VAUTERIN; KERSTER, 1993). *X. campestris* pv. *viticola* não utiliza o nitrato como fonte de nitrogênio; a asparagina não é utilizada como fonte de carbono e nitrogênio, cresce bem em sais de amônio e ácido glutâmico, embora seu melhor crescimento seja em caseína hidrolisada (NAYUDU, 1972). Produz ácido a partir de glicose, manose, galactose, trealose, celobiose e frutose, mas não de dulcitol, glicerol, m-inositol, lactose, rafinose e sorbitol. Os testes de hipersensibilidade foram negativos em folhas de fumo (LIMA et al., 1999; MALAVOLTA et al., 1999), mas positivos em folhas de tomateiro cv. Santa Clara (MALAVOLTA et al., 1999). A caracterização bioquímica de 22 isolados do patógeno, provenientes de parreirais de Pernambuco e Bahia, indicou tratar-se de um grupo homogêneo, mostrando também o valor diagnóstico deste conjunto de testes (reação positiva para produção de ácidos a partir de glucose, arabinose e manose; produção de H₂S; catalase; proteólise de caseína e hidrólise de gelatina, esculina e amido; reação negativa para redução de nitrato e oxidase). Observou-se variação quanto à reação de hipersensibilidade em fumo (negativa para sete isolados e fraca, após 72 h, para os demais) e tolerância máxima ao NaCl (variou entre 1 e 5%) (FERREIRA et al., 2000).

Trindade e Ferreira (2001) verificaram uniformidade entre os padrões de REP-PCR obtidos para cinco isolados de *X. campestris* pv. *viticola* coletados em duas épocas (1998 e 2000) e três áreas distintas na região de Petrolina – PE, provenientes de ‘Red Globe’ e ‘Itália’, permitindo a diferenciação em relação ao isolado UnB-764, de *X. campestris* pv. *mangiferaeindicae* (Patel, Moniz & Kulkarni) Robbs, Ribeiro & Kimura. A caracterização de 41 isolados de *X. campestris* pv. *viticola* foi realizada por Trindade e Ferreira (2003) através de PCR com primers específicos para as seqüências repetitivas REP, ERIC e BOX. Os resultados permitiram agrupar os isolados em cinco subgrupos a 56% de similaridade. REP-PCR mostrou-se reproduzível e eficiente para caracterizar a

variabilidade em *X. campestris* pv. *viticola*, podendo também ser útil como uma técnica adicional para identificação da bactéria.

Anticorpos policlonais desenvolvidos por Araújo et al. (2003) mostraram-se altamente reativos e específicos para patovar, apresentando potencial para serem empregados em diagnósticos e programas de certificação desse patógeno.

Em plantas infectadas, os sintomas nas folhas surgem como pontos necróticos de 1-2 mm de diâmetro, com ou sem halos amarelados, algumas vezes coalescendo e causando a morte de extensas áreas do limbo foliar (Figura 1A). Nas nervuras e pecíolos das folhas, ramos (Figura 1B) e ráquis dos frutos (Figura 1D) formam-se manchas escuras alongadas, que evoluem para fissuras longitudinais de coloração negra, conhecidas como cancrios. As bagas são desuniformes em tamanho e cor (NAYUDU, 1972) podendo apresentar lesões necróticas (Figura 1C).

X. 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 (Figura 2).

Conforme Araújo (2001), superfície de hastes e folhas com sintomas do cancro bacteriano da videira e também de folhas assintomáticas, provenientes de áreas afetadas, revelaram intensa colonização por *X. campestris* pv. *viticola*. Observações feitas ao microscópio eletrônico de varredura permitiram afirmar que as células bacterianas aderem randomicamente às superfícies vegetais por meio de fixação apolar em monocamada, raramente formando agregados, e que maior frequência dessa adesão ocorre sobre nervuras e tricomas, no limbo foliar. 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).

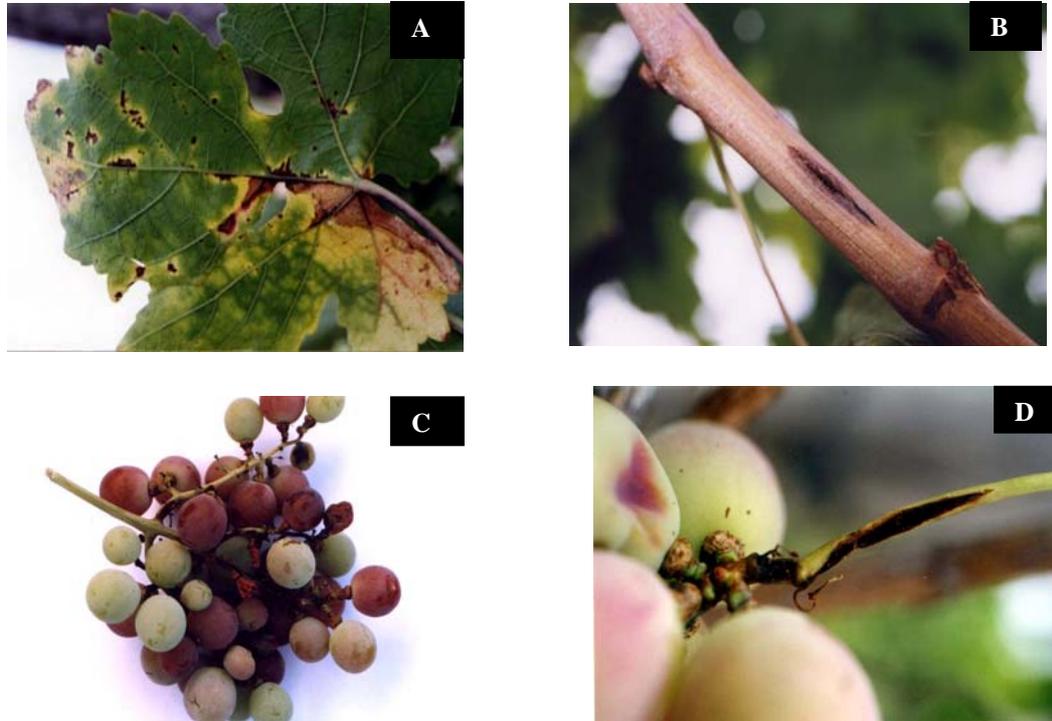


Figura 1. Sintomas do cancro bacteriano da videira causado por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* na cultivar Red Globe. A- Manchas localizadas nas nervuras e nos bordos das folhas, B- Cancro em ramo, C- Bagas desuniformes em tamanho e cor, D- Cancro na ráquis.

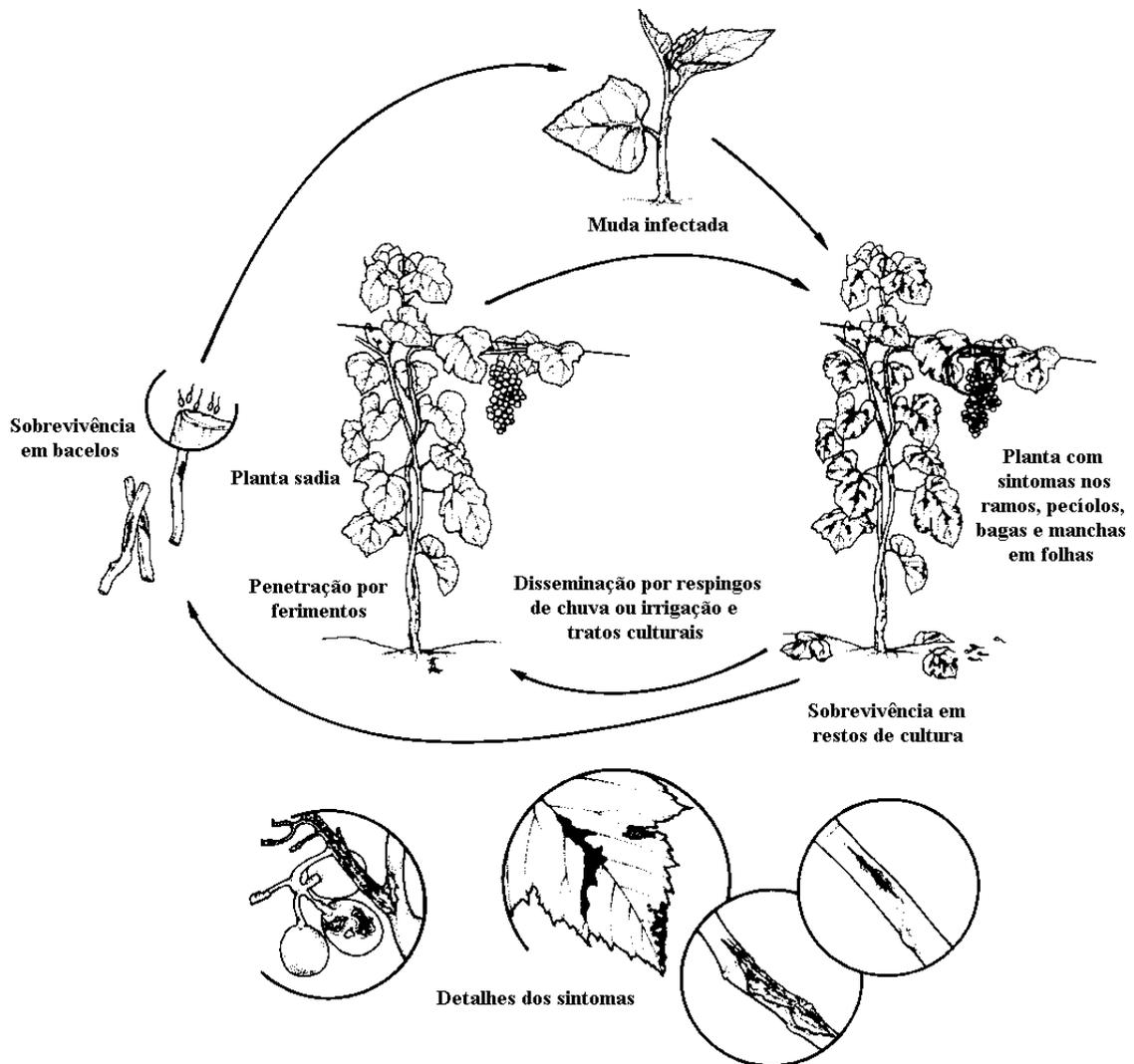


Figura 2. Ciclo do cancro bacteriano causado pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, em videira (MARIANO et al., 2001).

A disseminação de *X. campestris* pv. *viticola* 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 frutos de plantas doentes. Tratos culturais como desbrota, poda, raleio de bagas, colheita, torção de ramos antes da

aplicação de cianamida hidrogenada, cuja finalidade é estimular e uniformizar a brotação (MASHIMA, 2000), 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 levam 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 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; MASHIMA; LIMA, 2000). O vento seco não dissemina a bactéria, sendo sempre 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. Todos os agentes de ferimentos são importantes para a penetração da bactéria destacando-se os tratos culturais e ventos fortes. Após a penetração, a bactéria multiplica-se rapidamente colonizando os espaços intercelulares e atingindo o sistema vascular, sendo transmitida a todos os órgãos da planta (NASCIMENTO; MARIANO, 2004).

Em áreas de produção de uva do Submédio São Francisco, *X. campestris* pv. *viticola* sobrevive de um ciclo para o outro em plantas infectadas, na parte aérea de plantas saudas como epifítica (ARAÚJO, 2001) e em restos culturais (NASCIMENTO; MASHIMA; LIMA, 2000). Em inoculações artificiais com este patógeno, observou-se infecção em plantas de mangueira (*Mangifera indica* L.), como também relatado por Chand e Kishum (1990), cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda), cajá-manga (*Spondias dulcis* Forst.), aroeira (*Schinus terebenthifolius* Radii) (ARAÚJO; ROBBS; MACIEL, 1999) e nim (*Azadirachta indica* A. Juss) (MALAVOLTA; 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). A bactéria foi também detectada em plantas assintomáticas de IAC 572 e sintomáticas de IAC 766, ambas enxertadas na cultivar suscetível Red Globe (LIMA; FERREIRA, 2000; NASCIMENTO; MASHIMA; LIMA, 2000).

Estudos sobre a resistência de isolados de *X. campestris* pv. *viticola* ao cobre e estreptomicina foram feitos por Chand et al. (1994) e por Araújo et al. (2003). Diferentes isolados do patógeno diferem quanto à resistência a esses bactericidas. A adaptação *in vitro* a altas doses de cobre e estreptomicina foram também observados nestes isolados. Esses resultados têm impacto negativo sobre o controle químico dessa doença e enfatizam a importância da utilização de material sadio (bacelos e mudas) para o plantio. Com a finalidade de obtenção de um meio semi-seletivo para *X. campestris* pv. *viticola*, a sensibilidade de 12 isolados do patógeno a antibióticos foi testada por Nascimento e Mariano (2003), observando-se que o patógeno foi resistente apenas a: Optoquina, Clindamicina, Trimetropim, Cefaclor, Oxacilina, Amoxicilina, Nitrofurantoína e Ampicilina.

Apesar do cancro bacteriano da videira ser uma doença de ocorrência recente no Brasil e haver deficiência de literatura sobre o assunto, algumas recomendações de manejo da doença podem ser feitas, baseadas no que foi recomendado pela Comissão Técnica para a Cultura da Uva (1999) composta por técnicos e pesquisadores reunidos logo após a detecção do problema no Submédio São Francisco e no que vem sendo aplicado desde então por viticultores dessa região, possibilitando uma produção satisfatória, mesmo com o patógeno instalado no pomar. Desta forma, sugere-se: instalar rodolúvio na entrada das fazendas com Amônia quaternária a 0,1% ou tapete de cal; evitar o trânsito de máquinas e equipamentos entre propriedades e lotes; utilizar material vegetativo sadio; evitar irrigação sobre-copa; desinfestar contentores de colheita e ferramentas entre cada planta colhida e/ou tratada; pulverizar as plantas podadas e feridas com cobre; eliminar e queimar restos de cultura; e eliminar plantas daninhas do parreiral (NASCIMENTO; MARIANO, 2004).

Métodos de preservação e fatores que afetam o crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*

A importância de se preservar culturas bacterianas advém da necessidade de se poder dispor do organismo ou espécime viável a qualquer momento para diversos fins, entre os quais didáticos e de pesquisa. No entanto, é necessário que se preserve o organismo vivo, pelo maior período possível e por um método que não permita ou minimize a ocorrência de mutações ou de variabilidade que possam refletir em perda de patogenicidade, virulência ou características básicas da cultura original. Características adicionais de um bom método de preservação incluem simplicidade, o não requerimento de equipamento sofisticado, baixo custo, rapidez de execução e elevado grau de eficiência (ROMEIRO, 2001).

Vários métodos são utilizados para preservação de bactérias, tais como: repicagem periódica, água destilada esterilizada, preservação em tecido seco (herborizado), dessecação em fitas de papel de filtro, preservação por secagem, congelamento a -20°C ou -80°C , óleo mineral, nitrogênio líquido, preservação em solo, contas de vidro ou porcelana e liofilização (ROMEIRO, 2001; MARIANO; ASSIS, 2000).

Entre os métodos de preservação, a repicagem periódica é o mais tradicional. Embora seja simples, este método tem algumas desvantagens como perda de patogenicidade ou virulência e comprometimento da estabilidade genética. A preservação em água destilada esterilizada tem sido utilizada com sucesso para preservação de bactérias Gram-negativas, inclusive para *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al., que foi preservada por este método por um período de 11 anos (ROMEIRO, 2001). A preservação em tecido seco (herborizado), consiste na manutenção do material vegetal infectado em prensa de madeira, para herborização. Segundo Mariano e Assis (2000), este método é recomendado para bactérias fitopatogênicas, embora apresente a desvantagem de ser necessário um novo isolamento a cada vez que se necessita da cultura. A dessecação em papel de filtro é um método simples e não requer equipamentos caros, sendo possível manter a

viabilidade de fitobactérias por um longo período de tempo (TAKATSU, 1980), permitindo a preservação de culturas de *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stabbe e *P. syringae* Van Hall por 10 anos (TAKATSU, 1994).

Segundo Barbosa e Torres (1999), o metabolismo celular de uma bactéria está diretamente ligado a muitos fatores físicos e químicos do meio ambiente, que interferem na assimilação dos nutrientes a serem utilizados. Para atingir o máximo desenvolvimento, uma bactéria necessita de condições ideais de temperatura, pH e concentrações de sais, entre outros fatores. No entanto, a temperatura é um dos fatores mais importantes, pois influencia a absorção de nutrientes, o crescimento e a sobrevivência do organismo, determinando, de modo geral, a velocidade das reações metabólicas, por atuar na atividade enzimática (BARBOSA; TORRES, 1999). Segundo Bedendo (1995), a temperatura exerce efeito nos processos de colonização e reprodução das bactérias. Temperaturas em torno de 25-30°C e alta umidade relativa do ar proporcionam condições favoráveis ao desenvolvimento de *X. campestris* pv. *viticola* (CHAND; KISHUN, 1990), e conseqüentemente, no desenvolvimento da doença.

Existe uma variação considerável nos valores mínimo, ótimo e máximo de pH para o crescimento de bactérias de gêneros diferentes, mas a maioria está compreendida na faixa de pH mínimo variando de 4,5 a 5,0 e máximo de 8,0 a 8,5, sendo o pH ótimo entre 6,5 a 7,5 (OGINSKY; UMBREIT, 1959). Agentes bacterianos causam maiores danos quando o pH atinge valores próximos à neutralidade ou ligeira alcalinidade (BEDENDO, 1995).

A maioria das bactérias, exceto as bactérias marinhas, crescem bem em baixas concentrações de sal. Assim, quando a bactéria é colocada em uma solução com alta concentração de soluto (50% ou mais), seu crescimento é inibido. Em geral, há inibição do crescimento microbiano devido à pressão osmótica, tornando o citoplasma desidratado e ocorrendo contração da parede celular (OGINSKY; UMBREIT, 1959).

Segundo Malavolta et al. (1999) e Araújo (2001), isolados de Xcv crescem até 36°C, enquanto informações sobre pH e concentração de sais são inexistentes.

Aspectos Epidemiológicos

Apesar da importância do cancro da videira, existem poucos estudos epidemiológicos sobre a doença no Brasil e no mundo, e uma melhor compreensão desse patossistema servirá como base para adoção de estratégias visando o manejo integrado da doença. Deve-se também considerar a comparação de epidemias como um instrumento de pesquisa, que além de indicar semelhanças e diferenças existentes, permite definir princípios gerais para os fenômenos epidemiológicos, servindo para aferir hipóteses e teorias, sustentando-as ou refutando-as em função dos resultados obtidos (KRANZ, 1988).

Importantes instrumentos comparativos e analíticos da intensidade da doença são: período de incubação, incidência, severidade, taxa de progresso da doença e área abaixo da curva de progresso da doença. O período de incubação pode demonstrar os diferentes níveis de resistência das plantas, sendo diretamente influenciado pelo genótipo da cultivar, ou seja, cultivares suscetíveis tendem a ter períodos de incubação mais curtos (KONG et al., 1997). Diferenças no período de incubação refletem diferenças na taxa de crescimento do patógeno no hospedeiro e, conseqüentemente, na taxa de progresso da epidemia, sendo um importante componente de resistência (PARLEVLIET, 1979). A incidência é a característica mais fácil e rápida para a quantificação de doenças com alta acurácia e precisão. A severidade é uma importante variável utilizada em doenças que ocorrem na parte aérea, em estudos que consideram a eficiência de medidas de controle, condições favoráveis a epidemias e em estudos de danos (VALE et al., 2004). A taxa de progresso da doença revela a velocidade de crescimento da doença no tempo, enquanto a área abaixo da curva de progresso da doença constitui a integração da intensidade da doença entre dois períodos de tempo, sendo utilizada para sumarizar a curva de progresso da doença (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

A avaliação da intensidade de uma doença (incidência ou severidade) é um requisito indispensável nos estudos epidemiológicos básicos, como a caracterização quantitativa de

epidemias nos estudos aplicados de prognósticos, na comparação de diversas práticas de manejo de doenças, assim como para determinar a importância econômica das mesmas por meio de modelos de estimação de perdas (KRANZ, 1988; CAMPBELL; MADDEN, 1990).

Um sistema de quantificação de doenças de sucesso deve proporcionar resultados acurados, precisos e reproduzíveis. No entanto, como a quantificação da severidade das doenças é estimada visualmente, está sujeita a grande subjetividade, podendo assim, induzir graves erros de acurácia, precisão e reprodutibilidade. Uma forma de diminuir estes problemas é selecionar um sistema de quantificação que permita aproximar satisfatoriamente o valor de uma medição estimada ao valor real de uma doença (TOVAR-SOTO et al., 2002).

Para minimizar a subjetividade das estimativas de severidade e também auxiliar o avaliador, escalas diagramáticas têm sido uma ferramenta bastante útil, melhorando os níveis de exatidão e precisão das avaliações. Entretanto, as escalas diagramáticas devem ser de fácil uso, aplicáveis em diferentes condições com resultados reproduzíveis, além de apresentarem níveis suficientes que representem todos os estádios de desenvolvimento da doença (BERGER, 1980). Estas escalas representam ilustrações de uma série de plantas, folhas ou partes de plantas, com diferentes níveis de severidade, sendo atualmente, a principal ferramenta de avaliação de severidade para diversas doenças (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996)

Na elaboração de escalas diagramáticas devem ser considerados importantes aspectos como:

- i) o limite superior da escala deve corresponder à intensidade máxima de doença observada no campo;
- ii) a determinação da intensidade real de doença no campo e sua representação na escala devem ter alta precisão;
- iii) as subdivisões da escala devem respeitar as limitações da acuidade visual humana definidas pela lei de estímulo-resposta de Weber-Fechner, na qual a acuidade visual é proporcional ao logaritmo da intensidade do estímulo-resposta logaritmo/linear de Weber-Fechner (HORSFALL; COWLING, 1978). Embora não exista um consenso sobre o fato de que o sistema de avaliação baseado em intervalos de classe logarítmicos supere aquele baseado em intervalos não logarítmicos (lineares ou arbitrários), vários trabalhos sobre elaboração de escalas diagramáticas,

têm utilizado distribuição logarítmica de classes de severidade para a quantificação de doenças (MICHEREFF; MAFFIA; NORONHA, 2000; LEITE; AMORIM, 2002; TOVAR-SOTO et al., 2002; GOMES; MICHEREFF; MARIANO, 2004).

Após a elaboração da escala diagramática, os graus de acurácia e precisão das estimativas propiciados pela escala devem ser analisados, pois determinam a qualidade das estimativas (KRANZ, 1988).

Objetivos

Devido à importância da cultura da videira e do cancro bacteriano na região do Submédio São Francisco, nos estados de Pernambuco e Bahia, no Nordeste do Brasil e a existência de poucos estudos sobre esta doença, o presente trabalho teve como objetivos: i) avaliar os métodos de preservação de *X. campestris* pv. *viticola* e a influência da temperatura, pH e NaCl no crescimento do patógeno em meio de cultura (capítulo II); ii) elaborar uma escala diagramática para avaliação do cancro bacteriano da videira (capítulo III); iii) estudar a reação de variedades de videira ao patógeno baseada nos componentes epidemiológicos da doença (capítulo IV).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, T. C. **Uva para exportação: aspectos técnicos da produção.** EMBRAPA-SPI, 1996. 53 p. (Publicações Técnicas FRUPEX, n. 25).

COMISSÃO TÉCNICA PARA A CULTURA DA UVA. **Recomendações técnicas visando minimizar os efeitos maléficos das doenças da videira.** Petrolina: Embrapa Semi-Árido; Valexport, 1999. 2p.

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*) no Brasil.** 2001. 121p. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2001.

ARAÚJO, J. S. P.; OLIVEIRA, B. C.; GONÇALVES, K. S.; CASTILHO, A. M. C.; RIBEIRO, R. L. D.; ROBBS, C. F. Resistência ao cobre em estirpes brasileiras de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, Suplemento, p. 339-340, 2003.

ARAÚJO, J. S. P.; OLIVEIRA, B. C.; REIS JR., F. B.; ROBBS, C. F.; RIBEIRO, R. L. D. Produção e caracterização de anticorpos policlonais contra *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, Suplemento, p. 236, 2003.

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.

BARBOSA, H. R.; TORRES, B. B. **Nutrição e metabolismo bacterianos**. In: TRABULSI, L. R. et al. (Eds). Microbiologia. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 1999. p.25-54.

BEDENDO, I. P. Ambiente e doença. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. Manual de fitopatologia. Princípios e conceitos. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p.331-341.

BERGAMIM FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1996. 299p.

BERGER, R. D. Measuring disease intensity. In: TENG, P.S.; KRUPA, S.V. (Eds.). **Crop loss assessment**. St. Paul: University of Minnesota, 1980. p. 28-31.

BERIAM, L. O. S.; ROBBS, C. F.; RODRIGUES NETO, J. Galha bacteriana (*Agrobacterium* sp.) em videira no Estado do Rio Grande do Norte. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 4, 1991, São Paulo. **Resumos...** 1991. p. 04.

BRADBURY, J. F. **Guide to plant pathogenic bacteria**. Kew: C.A.B. International, 1986. 332 p.

BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução normativa n. 233 de 7 de dez, 1998. dá continuidade aos trabalhos de levantamento da praga *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* na Região do Submédio São Francisco e institui normas para sua erradicação. **Diário Oficial** (da República Federativa do Brasil), Brasília, 30 dez 1998. Seção 1:p.89.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley e Sons, 1990. 532 p.

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.; 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, n. 3, p. 220-222, 1991.

COOMBE, B.G. Influence of temperature on composition and quality of grapes. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 5, n. 206, p. 23-35, 1967.

COSTACURTA, A.; ROSELLI, G. Critères climatiques et édaphiques pour l'établissement des vignobles. **Bulletin De L' Office International Du Vin**, Paris, v. 53, n. 596, p. 773-786, 1980.

DESAI, S. G.; GANDHI, A. B.; PATEL, M. K.; KOTASTHANA, W. V. A new bacterial leaf-spot and blight of *Azadirachta indica* A. Juss. **Indian Phytopathology**, New Delhi, n. 19, p. 322-323, 1966.

FAO. **FAOSTAT – Agricultural statistics database**. Rome: World Agricultural Information Centre, 2004. Disponível em: <http://apps.fao.org/lim500/nph-wrap.pl>. Acesso em: 17 fev. 2005.

FERREIRA, M. A. S. V.; BRAGA, J. P.; FRANÇA, C. D.; UESUGI, C. H.; LIMA, M. F. Caracterização bioquímica de isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.25, Suplemento, p. 459. 2000.

FREIRE, F. C. O.; OLIVEIRA, A. D. S. **Ocorrência do cancro bacteriano da videira no Estado do Ceará**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2001. 2p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 62).

GOMES, A. M. A.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R. Elaboração e validação de escala diagramática para cercosporiose da alface. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 30, n. 1, p. 38-42, 2004.

HORSFALL, J. G.; COWLING, E. B. Pathometry: The measurement of plant disease. In: HORSFALL, J. G.; COWLING, E. B. (Eds.). **Plant disease: an advanced treatise – how disease develops in populations**. New York: Academic Press, 1978. v. 2, p. 119-136.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2002. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso: 19 nov. 2004.

KRANZ, J. Methodology of comparative epidemiology. In: KRANZ, J.; ROTEM, J. (Eds.). **Experimental techniques in plant disease epidemiology**. Heidelberg: Springer-Verlag, 1988. p. 279-290.

KONG, G. A.; SIMPSON, G. B.; HOCHMAN, J. K.; BROWN, J. F. Components of quantitative resistance in sunflower to *Alternaria helianthi*. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 130, p. 439-451, 1997.

LACERDA, B. S. L.; OLIVEIRA, J. L.; ROMEIRO, R. S.; BROMMOSHENKEL, S. H. Ocorrência de galha em videira incitada por *Agrobacterium*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 2, p. 47, 1991.

LEÃO, P. C. S. Principais variedades. In: LEÃO, P. C. de S.; SOARES, J.M. (Eds.). **A viticultura no Semi-árido brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2000. p. 45-64.

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

LEITE, R. M. V. B. C.; AMORIM, L. Elaboração e validação de escala diagramática para mancha de *Alternaria* em girassol. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 28, n. 1, p. 14-19, 2002.

LIMA, M. F. **Cancro bacteriano da videira, causado por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola***. Disponível em: www.cpatsa.embrapa.br/artigos/cancro.html. Acesso em: 11 julh. 2001.

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.; TAVARES, S. C. C. de 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, Suplemento, p. 210, 1998.

MALAVOLTA JR., 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 JR., V. A.; ALMEIDA, I. M. G.; SUGIMORI, M. H.; RIBEIRO, I. J. A.; RODRIGUES NETO, J.; PIRES, E. J. P.; NOGUEIRA, E. M. C. *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em videira no Estado do Piauí. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 27, 1999.

MALAVOLTA JR., 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. 26-27, 1999.

MARIANO, R. L. R.; ASSIS, S. M. P. Preservação de bactérias fitopatogênicas. In: MARIANO, R. L. R. (Coord.). **Manual de práticas em fitobacteriologia**. Recife: Imprensa Universitária, 2000. p. 37-47.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; OLIVEIRA, I. S.; NASCIMENTO, A. R. P. Diagnose e manejo de fitobacterioses de importância no nordeste brasileiro. In: MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. (Eds.). **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife: UFRPE, 2001. p. 141-169.

MASHIMA; C. H. **Uva sem semente**. Colaboração de Roberto D. Hirai; Umberto A. Camargo. Recife: SEBRAE/PE. 2000. 51 p. (Agricultura, 14).

MICHEREFF, S. J.; MAFFIA, L. A.; NORONHA, M. A. Escala diagramática para avaliação da severidade da queima das folhas do inhame. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 4, p. 612-619, 2000.

NASCIMENTO, A. R. P.; MARIANO, R. L. R. Cancro bacteriano da videira: etiologia, epidemiologia e medidas de controle. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n.1, p. 301-307, 2004.

NASCIMENTO, A. R. P.; MARIANO, R. L.R. Sensibilidade de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* a antibióticos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, Suplemento, p. 339, 2003.

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.; 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, Suplemento, p. 283, 2001.

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

- NAYUDU, M. V. *Pseudomonas viticola* sp. nov., incitant of a new bacterial disease of grape. **Phytopathologische Zeitschrift**, Berlin, v. 73, p. 183-186, 1972.
- OGINSKY, E. L.; UMBREIT, W. W. **An introduction to bacterial physiology**. 2.ed. San Francisco: W.H. Freeman and Company, 1959. 443 p.
- OLIVEIRA, J. R.; ROMEIRO, R. S.; LACERDA, B. S. L. Occurrence of *Agrobacterium tumefaciens* biovar 3 on grapevine in Brazil. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 140, n. 6, p. 363-366, 1994.
- PARLEVLIET, J.E. Componentes of resistance that reduce the rate of epidemic development. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 17, p. 203-222, 1979.
- PEDRO JÚNIOR, M. J.; SENTELHAS, P. C. Clima e Produção. In: POMMER, C.V. (Ed.). **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. p. 63-107.
- POMMER, C. V.; MAIA, M. L. Introdução. In: POMMER, C. V. (Ed.). **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes Editora Ltda, 2003. p. 11-35.
- QUEIROZ-VOLTAN, R. B; PIRES, E. J. P. A videira. In: POMMER, C. V. (Ed.). **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. p. 37-61.
- ROMEIRO, R. S. Preservação de bactérias fitopatogênicas. In: ROMEIRO, R.S. **Métodos em bacteriologia de plantas**. Viçosa: UFV, 2001. p.87-96.

SILVA, P. C. G. da; CORREIA, 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.

SWINGS, J.; VAUTERIN, L.; KERSTER, K. The bacterium *Xanthomonas*. In: SWINGS, J. G.; CIVEROLO, E. L. (Ed.). **Xanthomonas**. London: Chapman & Hall, 1993. p. 127-156.

SOUSA, J. S. I. **Uvas para o Brasil**. Piracicaba: FEALQ, 1996. 791 p.

TAKATSU, A. Coleção de bactérias fitopatogênicas preservadas pelo método de dessecação em tirinhas de papel. Informações de dez anos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.19, Suplemento, p.315, 1994.

TAKATSU, A. Preservação das bactérias fitopatogênicas pelo método de dessecação. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 5, n. 3, p.461, 1980.

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, Suplemento, p. 253-254, 2004.

TAVARES, S. C. C. de H. **Principais doenças das culturas de:** manga, uva, acerola e banana. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 1995. 1v. Apostila do Curso de Atualização Técnica para Engenheiros Agrônomos do Banco do Brasil, Petrolina, PE, 1995.

TAVARES, S. C. C. de H.; MENEZES, M. Processo de infecção de *Botryodiplodia theobromae* em plantas de mangueira e videira no trópico semi-árido brasileiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 16, Suplemento, p. 55, 1991.

TEIXEIRA, A.H. C. Exigências climáticas da cultura da videira. In: LEÃO, P. C. de S.; SOARES, J. M. (Eds.) **A viticultura no Semi-árido brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2001. p. 33-44.

TOVAR-SOTO, A.; HERNANDEZ-MARTÍNEZ, M.; CRISTÓBAL-ALEJO, J.; ROMERO-HIJO, R.; MORA-AGUILERA, G. Escala logarítmica diagramática de severidade de la mancha negra (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) em chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.) **Revista Mexicana de Fitopatologia**, Texcoco, v. 20, n. 1, p. 103-109, 2002.

TRINDADE, L. C.; FERREIRA, M. A. Caracterização de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* através de REP, ERIC e BOX-PCR. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, Suplemento, p. 370, 2003.

TRINDADE, L. C.; FERREIRA, M. A. Caracterização de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* através de REP-PCR. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, Suplemento, p. 285, 2001.

VALE, F. X. R.; JESUS, W. C. J.; LIBERATO, J. R.; SOUZA, C. A. Quantificação de doenças e do crescimento do hospedeiro. In: VALE, F. X. R.; JESUS, W. C. J.; ZAMBOLIM, L. (Eds.). **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Editor Perfil, 2004. 531p.

VAUTERIN, L.; KERSTERS, K.; SWINGS, J. Reclassification of *Xanthomonas*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 45, n. 3, p. 472-489, 1995.

Capítulo II

Métodos de preservação de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* e influência da temperatura, pH e NaCl no crescimento do patógeno em meio de cultura

1 **Métodos de preservação de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* e influência da temperatura,**
2 **pH e NaCl no crescimento do patógeno em meio de cultura***

3
4 **Ana R. P. Nascimento^{1**}, Rosa L. R. Mariano^{2***} & Marco A. S. Gama²**

5
6 ¹Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais, Universidade do Estado da Bahia, CEP 48900-
7 000, Juazeiro, BA, e-mail: anarpeixoto@uol.com.br.; ²Departamento de Agronomia, Área de
8 Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP 52171-900, Recife-PE, e-mail:
9 rmariano@truenet.com.br.

10
11 (Aceito para publicação em / /)

12
13 Autor para correspondência: Ana Rosa Peixoto Nascimento

14
15 NASCIMENTO, A.R.P., MARIANO, R.L.R. & GAMA, M.A.S. Métodos de preservação de
16 *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* e influência da temperatura, pH e NaCl no crescimento do
17 patógeno em meio de cultura. Fitopatologia Brasileira

18
19 **RESUMO**

20
21 A bactéria fitopatogênica *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Xcv) causa o cancro
22 bacteriano da videira, que ocasiona grandes prejuízos à viticultura no Brasil. Os métodos
23 dessecação em papel de filtro (DPF), repicagens periódicas (RP), água destilada esterilizada (ADE)
24 e folhas herborizadas (FH) foram utilizados para preservar dois isolados de Xcv durante 12 meses.
25 As variáveis viabilidade e patogenicidade foram avaliadas

26
27 * Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor. Universidade Federal Rural de
28 Pernambuco (2004).

29 ** Bolsista PICDT/CAPES/UNEB

30 ***Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq

31

1 mensalmente e estimadas pela obtenção de crescimento bacteriano e área abaixo da curva de
2 incidência da doença (AACID). Tanto o método de DPF como o de ADE propiciaram viabilidade
3 constante de 100 % durante 11 meses e os maiores valores de AACID. No método de RP não se
4 observou crescimento dos isolados aos 30 dias, enquanto que em FH, Xcv foi reisolada até cinco
5 meses. A influência da temperatura (0, 5, 10, 15, 20, 25, 27, 28, 29, 30, 35, 40 e 45°C), pH (5,0;
6 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0; 8,5 e 9,0) e concentração de NaCl (1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7%) sobre o
7 crescimento de dois isolados de Xcv foi estudada em meio de cultura líquido e avaliada em
8 fotocolorímetro. As temperaturas mínima e máxima para o crescimento de Xcv foram
9 respectivamente 5 e 39 °C, enquanto que um crescimento ótimo foi observado no intervalo de 27 a
10 29°C. Xcv não cresce a 0 e 40°C. A faixa de pH ótima para o crescimento desta bactéria é de 7,0 a
11 7,5. O crescimento de Xcv decresceu a partir de 3,0% de NaCl, sendo o nível de 6,0 % letal para
12 essa bactéria.

13 **Palavras-chave adicionais:** videira, cancro bacteriano, crescimento

14
15 **ABSTRACT**

16
17 **Preservation methods for *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* and influence of temperature,**
18 **pH and NaCl on the pathogen growth in culture medium**

19
20 The phytopathogenic bacterium *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Xcv) induces
21 the bacterial canker of grapevine which causes severe losses in Brazil. Four preservation
22 methods (dried paper strips (DPS), periodic transfer (PT), sterile distilled water (SDW) and
23 dried leaves (DL)) were compared for storing two Xcv strains during 12 months. The
24 viability and pathogenicity were evaluated every month and estimated by bacterial growth

25

1 and area under disease incidence curve (AUDIC). Both the DPS and SDW methods maintained
2 100% of cell viability and showed higher AUDIC values during 11 months. The PT method did not
3 permit growth at 30 days while DL maintained cell viability until 5 months. The influence of
4 temperature (0, 5, 10, 15, 20, 25, 27, 28, 29, 30, 35, 40 and 45°C), pH (5.0; 5.5; 6.0; 6.5; 7.0;
5 7.5; 8.0; 8.5 and 9.0) and NaCl concentration (1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7%) on the growth of two Xcv
6 strains was studied in liquid culture medium and evaluated in spectrophotometer. The minimum and
7 maximum temperatures for Xcv growth were respectively 5 and 39°C, while the optimum growth
8 was observed from 27 to 29°C. Xcv does not growth at 0 and 40°C. The optimum pH for Xcv
9 growth ranged from 7.0 to 7.5. The pathogen growth declined from 3% NaCl and was nule at 6.0
10 %.

11 **Adittional key-words:** grape, bacterial canker, growth

12

13

14 No Brasil, o cancro bacteriano causado pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*
15 (Nayudu) Dye (Xcv) foi detectado, pela primeira vez em 1998, em videiras no Submédio São
16 Francisco, onde a doença tem causado prejuízos em cultivares suscetíveis (Malavolta et al., 1999),
17 ocorrendo a necessidade de pesquisas sobre esse patógeno.

18 Culturas bacterianas, dentre outras, devem ser preservadas para utilização com fins didáticos
19 e de pesquisa (Mariano & Assis, 2000). O organismo deve ser mantido vivo pelo maior período
20 possível e por um método que não permita ou minimize a ocorrência de mutações ou de
21 variabilidade quanto a patogenicidade, virulência ou características básicas da cultura
22 original (Romeiro, 2001). Vários métodos são utilizados para preservação de

23

1 bactérias, tais como: repicagem periódica, preservação por secagem, água destilada esterilizada,
2 preservação em órgãos vegetais infectados, dessecação em fitas de papel de filtro, congelamento a –
3 20 ou –80°C, óleo mineral, nitrogênio líquido, preservação em solo, contas de vidro ou porcelana e
4 liofilização (Mariano & Assis, 2000; Romeiro, 2001).

5 Poucos estudos têm sido conduzidos sobre fatores que afetam o crescimento de Xcv.
6 Segundo Barbosa & Torres (1999) o metabolismo celular de uma bactéria está diretamente ligado a
7 muitos fatores físicos e químicos do meio ambiente, que interferem na assimilação dos nutrientes a
8 serem utilizados. Para atingir o máximo de desenvolvimento, uma bactéria necessita de condições
9 ideais de temperatura, pH e concentrações de sais, entre outros fatores. Segundo Malavolta *et al.*
10 (1999) e Araújo (2001), isolados de Xcv crescem até 36°C, enquanto informações sobre pH e
11 concentração de sais são inexistentes.

12 Este trabalho objetivou comparar métodos de preservação de Xcv e determinar a influência
13 da temperatura, pH e NaCl no crescimento do patógeno, em meio de cultura.

14 Foram utilizados os isolados de Xcv1 e UnB1216, ambos obtidos de ramos de videira ‘Red
15 Globe’ com sintomas característicos do cancro bacteriano, sendo o primeiro proveniente de
16 Juazeiro, BA e o segundo de Petrolina, PE, este pertencente à Coleção de Bactérias
17 Fitopatogênicas do Departamento de Fitopatologia da Universidade de Brasília, Brasília, DF.
18 A patogenicidade dos isolados foi confirmada pela pulverização de suspensões bacterianas (10^8
19 UFC/mL) em folhas de videiras ‘Red Globe’ sadias com 100 dias, submetidas à pré e pós-
20 tratamento em câmara úmida por 48 horas.

21

1 **Preservação de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola***

2 No estudo de preservação dos isolados Xcv1 e UnB1216 foram comparados os métodos de
3 água destilada esterilizada, dessecação em papel de filtro, folhas herborizadas e repicagens
4 periódicas, durante 12 meses com avaliações mensais.

5 Pelo método de água destilada esterilizada, os isolados foram cultivados em meio
6 NYDA (dextrose 10 g, extrato de carne 3 g, extrato de levedura 5 g, ágar 18 g, água destilada
7 1000 mL) por 48 horas, quando um “loopful” do crescimento bacteriano foi transferido para
8 tubos plásticos de criogenia (2,0 mL) contendo 1,0 mL de água destilada esterilizada, sendo
9 armazenados em condições de laboratório (25 ± 2 °C). A cada avaliação, um “loopfull”
10 de suspensão de cada isolado foi plaqueado em meio NYDA pelo método de
11 estrias.

12 O método de dessecação em papel de filtro, idealizado por Bassell *et al.* (1991), foi
13 realizado conforme modificação de Takatsu (1980). A cada avaliação, quatro fitas de papel de filtro
14 contendo cada isolado, uma de cada pacote da preservação, foram plaqueadas em NYDA.

15 Na preservação em folhas herborizadas, folhas de videira foram inoculadas
16 por pulverização sem ferimento, como previamente descrito na patogenicidade.
17 Após 12 dias, as folhas com sintomas foram coletadas, herborizadas por oito dias e
18 colocadas em envelopes de papel, os quais foram armazenados em condições de
19 laboratório. A cada avaliação, realizou-se o reisolamento do patógeno a partir de
20 lesões de quatro folhas para cada isolado.

21 No método de repicagens periódicas, os isolados foram cultivados em tubos de
22 ensaio com meio NYDA por 48 horas e conservados a 4 °C durante 12 meses. A cada
23

1 avaliação, os isolados foram repicados para novos tubos com NYDA e após 48 horas, parte
2 deles foi novamente armazenada em geladeira e parte analisada quanto a viabilidade e
3 patogenicidade.

4 Para todos os métodos de preservação estudados, a viabilidade do isolado foi
5 demonstrada pela recuperação de crescimento bacteriano em meio de cultura. Nos casos de
6 crescimento positivo, avaliou-se a patogenicidade inoculando-se as suspensões bacterianas
7 (10^8 UFC/mL) por pulverização em cinco folhas de videira 'Red Globe'. A incidência da
8 doença foi avaliada com intervalos de sete dias durante 35 dias, calculando-se a área
9 abaixo da curva da incidência da doença (AACID) pela expressão de Shanner & Finney
10 (1977). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas
11 pelo teste de Tukey ($P=0,01$). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado
12 em arranjo fatorial 2x4, sendo dois isolados do patógeno e quatro métodos de preservação.
13 Foram utilizadas quatro repetições para cada método de preservação testado.

14

15 **Influência da temperatura, pH e NaCl no crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*** 16 **em meio de cultura**

17 O crescimento dos isolados Xcv1 e UnB 1216 foi avaliado em meio de cultura
18 líquido NYD, com incubação em estufa tipo B.O.D. (Biochemistry Oxygen Demand) às
19 temperaturas 0, 5, 10, 15, 25, 27, 28, 29, 30, 35, 40 e 45°C; em meio NYD com níveis de pH
20 ajustados para 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0; 8,5 e 9,0 (com HCl e KOH a 1 M) e em meio
21 Caldo Nutritivo suplementado com NaCl a 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7%. Alíquotas de 0,1 mL das
22 suspensões bacterianas foram depositadas em tubos de ensaio contendo 4,9 mL dos

23

1 diferentes meios. No estudo do efeito dos níveis de pH e concentrações de NaCl, os tubos
2 foram mantidos em B.O.D., à temperatura de 29°C. O delineamento experimental foi
3 inteiramente casualizado com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por um
4 tubo de ensaio.

5 Após 48 horas de incubação, o crescimento dos isolados Xcv1 e UnB1216 nas
6 diferentes temperaturas, níveis de pH e concentrações de NaCl foi avaliado em
7 fotocolorímetro (570 nm). Os dados foram plotados em gráficos e as médias obtidas para
8 os dois isolados foram submetidas à análise de regressão não linear para selecionar os
9 modelos com os melhores ajustes às curvas de crescimento, com base no coeficiente de
10 determinação (R^2) e no quadrado médio do resíduo.

11 Não se observou diferença significativa ($P=0,01$) entre os isolados testados, tanto
12 no estudo da viabilidade quanto da preservação, motivo pelo qual foram analisados
13 conjuntamente. A viabilidade dos isolados preservados pelos diferentes métodos de
14 preservação está representada na Fig. 1. Nos métodos de dessecação em tiras de papel de
15 filtro e água destilada esterilizada foi 100% até 11 meses de observação, havendo aos 12
16 meses uma redução para 80% para ADE. Araújo (2002) observou que este método
17 possibilitou uma viabilidade constante de 100%, durante seis meses, para os isolados Aac1
18 e Aac1.12 de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Schaad et al.) Willems et al. No entanto,
19 quando este autor utilizou o método de água de torneira esterilizada, notou que os isolados
20 perderam a viabilidade no decorrer das avaliações, chegando a 0%, após seis meses. O
21 método da água de torneira esterilizada tem sido usado com sucesso para preservação de
22

1 bactérias Gram-negativas, inclusive *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.*
2 (Romeiro, 2001) e Xcv (Araújo, 2001).

3 No método de repicagens periódicas, não se obteve crescimento da bactéria em
4 nenhuma das avaliações, o que o torna inviável para a preservação de Xcv (Fig. 1). Segundo
5 Romeiro (2001), um dos problemas deste método é o intervalo entre repicagens, pois a
6 meia-vida de culturas preservadas pode variar de dias a meses, em função da espécie.

7 No método de folhas herborizadas, observou-se nos três primeiros meses uma
8 viabilidade de 100% dos isolados, embora no quarto e quinto meses houvesse uma redução
9 para 80% e a partir do sexto mês, perda total de viabilidade (Fig. 1). Já Araújo (2002),
10 observou grande oscilação na porcentagem de recuperação pelo reisolamento, atribuída ao
11 fato de que folhas diferentes foram utilizadas a cada amostragem, e que o material
12 herborizado foi conservado à temperatura ambiente. Romeiro (2001) indica este método
13 como viável para a maioria das bactérias fitopatogênicas e Ferreira & Romeiro (1986)
14 preservaram a viabilidade e patogenicidade de *Pseudomonas syringae* pv. *glycinae*
15 (Coerper) Young, Dye & Wilkie por nove anos.

16 Entre os métodos de preservação de Xcv, a dessecação em papel de filtro e a água
17 destilada esterilizada propiciaram os maiores valores de áreas abaixo das curvas da
18 incidência da doença, sem diferir significativamente ($P= 0,01$) entre si (Tabela 1). Isto
19 significa que a patogenicidade dos isolados foi mantida durante os 12 meses de avaliação. O
20 método de dessecação em papel de filtro pode ser utilizado para manutenção de bactérias
21 por períodos de até 12 anos (Mariano & Assis, 2000; Romeiro, 2001). Culturas de *P.*
22 *cichorii* (Swingle) Stapp, *P. syringae* pv. *glycinae* e *P. syringae* pv. *tabaci* (Wolf & Foster),
23 Young, Dye & Wilkie foram recuperadas com 60 a 80% de eficiência a partir deste método

24

1 (Takatsu, 1980; Takatsu, 1994). A preservação em água destilada esterilizada é um método
2 cujo procedimento é simples e utilizado com frequência nos laboratórios de
3 Fitobacteriologia. Já no método de folhas herborizadas houve grande redução da
4 patogenicidade com o decorrer do tempo, enquanto que no de repicagens periódicas, houve
5 perda total de viabilidade e patogenicidade a partir de um mês. A utilização da área abaixo
6 da curva da incidência da doença permitiu uma eficiente comparação dos métodos de
7 preservação, pois avaliou a patogenicidade dos isolados, item considerado importante na
8 preservação de patógenos.

9 Os dois isolados de Xcv testados apresentaram crescimento similar quando
10 submetidos a diferentes temperaturas, pH e concentrações de NaCl.

11 As temperaturas mínima e máxima para o crescimento de Xcv foram respectivamente
12 5 e 39 °C (Fig. 2A), enquanto que um crescimento ótimo foi observado no intervalo de 27 a
13 29 °C. Xcv não cresce a 0 e 40 °C. O modelo cúbico $Y = 0,040249 - 0,006747x +$
14 $0,000893x^2 - 0,000019x^3$ apresentou um bom ajuste com R^2 de 87,8%. Araújo (2001)
15 relatou temperatura máxima de 36 °C para o crescimento de Xcv. Também Malavolta et al.
16 (1999), observaram crescimento de Xcv a 36 °C, mas não a 41 °C. A temperatura é um dos
17 fatores mais importantes do meio, pois influencia a absorção de nutrientes, crescimento e a
18 sobrevivência dos organismos, determinando, de modo geral, a velocidade das reações
19 metabólicas, por atuar na atividade enzimática (Barbosa & Torres, 1998). Segundo Bedendo
20 (1995), a temperatura exerce efeito nos processos de colonização e reprodução das bactérias
21 e, conseqüentemente, no desenvolvimento da doença.

22

1 Verificou-se que os dois isolados de Xcv cresceram numa ampla faixa de pH: 5,0 a
2 9,0 (Fig. 2B). O modelo cúbico $Y = 0,562100 - 0,267626x + 0,052619x^2 + 0,003131x^3$
3 apresentou um bom ajuste com R^2 de 90%. A faixa de pH ótima para o crescimento desta
4 bactéria foi 7,0 a 7,5. Existe uma variação considerável nos valores mínimos, ótimos e
5 máximos de pH para o crescimento de gêneros de bactérias diferentes, mas a maioria está
6 compreendida na faixa de pH mínimo variando de 4,5 a 5,0 e máximo de 8,0 a 8,5, sendo o
7 pH ótimo entre 6,5 a 7,5 (Oginsky & Umbreit, 1959). Agentes bacterianos causam maiores
8 danos quando o pH atinge valores próximos à neutralidade ou ligeira alcalinidade (Bedendo,
9 1995). De acordo com Saddler (1994) *Burkholderia cepacia* (Palleroni & Holmes) Yabuuchi
10 *et al.* e *R. solanacearum*, bem como *A. avenae* subsp. *citrulli* (Cavalcanti, 2003) requerem
11 pH próximo à neutralidade para maior crescimento.

12 Os dois isolados de Xcv cresceram similarmente nos meios contendo 1 a 5% de
13 NaCl (Fig. 2C). O crescimento de Xcv decresceu a partir de 3,5% de NaCl, sendo o nível
14 de 6,0 % letal para essa bactéria. O modelo cúbico $Y = -0,014000 + 0,086309x -$
15 $0,026607x^2 + 0,002083x^3$ apresentou um bom ajuste com R^2 de 84,9%. Altas concentrações
16 de NaCl tornam o ambiente hipertônico. Nessas condições ocorre a perda da água de
17 dentro da célula, através da membrana plasmática para o meio extracelular, com
18 conseqüente inibição do crescimento bacteriano (Tortora et al., 2002). Cavalcanti (2003)
19 também verificou a ausência de crescimento de *A. avenae* subsp. *citrulli* nas
20 concentrações de 6 e 7% de NaCl.

21

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23

ARAÚJO, D.V. Métodos de inoculação e preservação de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* e sobrevivência em sementes de melão. (Dissertação de Mestrado) – Recife. Universidade Federal Rural de Pernambuco, 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*) no Brasil. (Tese de Doutorado)- Rio de Janeiro. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2001.

CAVALCANTI, M.T. Crescimento de isolados de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* em diferentes temperaturas, níveis de pH, concentrações de sal e carboidratos. (Monografia). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2003.

BARBOSA, H.R. & TORRES, B.B. Nutrição e metabolismo bacterianos. In: Trabulsi, L.R. et al. (Eds.). Microbiologia. 3. ed. São Paulo. Atheneu. 1999. pp.25-54.

BEDENDO, I.P. Ambiente e doença. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (Eds.). Manual de fitopatologia. Princípios e conceitos. São Paulo. Agronômica Ceres 1995. pp.331-341.

1 FERREIRA, L.P. & ROMEIRO, R.S. Ampliação de cultivares da série diferenciadora de raças
2 fisiológicas de *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* em soja. Fitopatologia Brasileira 11:335. 1986.
3 (Resumo).

4
5 MALAVOLTA JR., V.A., ALMEIDA, I.M.G., SUGIMORI, M.H., RIBEIRO, I.J.A,
6 RODRIGUES NETO, J., PIRES, E.J.P. & NOGUEIRA, E.M.C. Ocorrência de
7 *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em videira no Brasil. Summa Phytopathologica, 25:
8 pp.262-264. 1999.

9
10 MARIANO, R.L.R. & ASSIS, S.M.P. Preservação de bactérias fitopatogênicas. In: MARIANO,
11 R.L.R. (Coord.). Manual de práticas em fitobacteriologia. Recife. Imprensa Universitária. 2000. pp.
12 37-47.

13
14 OGINSKY, E. L.; UMBREIT, W.W. An introduction to bacterial physiology. 2. ed. San Francisco.
15 W.H. Freeman and Company. 1959.

16
17 ROMEIRO, R.S. Preservação de bactérias fitopatogênicas. In: ROMEIRO, R.S. (Ed.). Métodos em
18 bacteriologia de plantas. Viçosa. UFV. 2001. pp.87-96.

19
20 SADDLER, G.S. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Mycopathologia Dordrecht. 1994.

21
22 SHANER, G.; FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-
23 mildewing resistance in knox wheat. Phytopathology 15:1051-1056, 1977.

24

1

2 TAKATSU, A. Coleção de bactérias fitopatogênicas preservadas pelo método de
3 dessecação em tirinhas de papel. Informações de dez anos. Fitopatologia Brasileira 19:
4 315. 1994 (Resumo).

5

6 TAKATSU, A. Preservação das bactérias fitopatogênicas pelo método de dessecação. Fitopatologia
7 Brasileira 5:461. 1980 (Resumo).

8

9 TORTORA, G.J., FUNKE, B.R. & CASE, C.L. Microbiologia. Porto Alegre. Artes
10 Médicas, 2002.

11

12

13

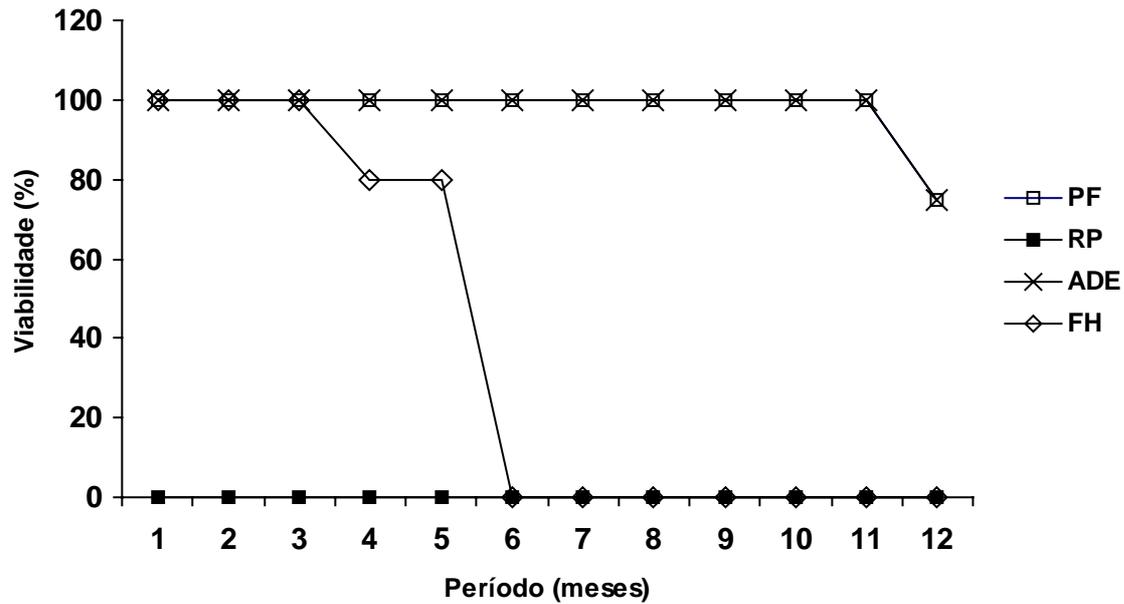
14

15

16

17

18



1
2 **FIG. 1** – Viabilidade de isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* pelos métodos de
3 preservação de dessecação em papel de filtro (PF), repicagens periódicas (RP), água destilada
4 esterilizada (ADE) e folhas herborizadas (FH), medida pelo crescimento após repicagem ou
5 reisolamento, durante 12 meses.

6

1

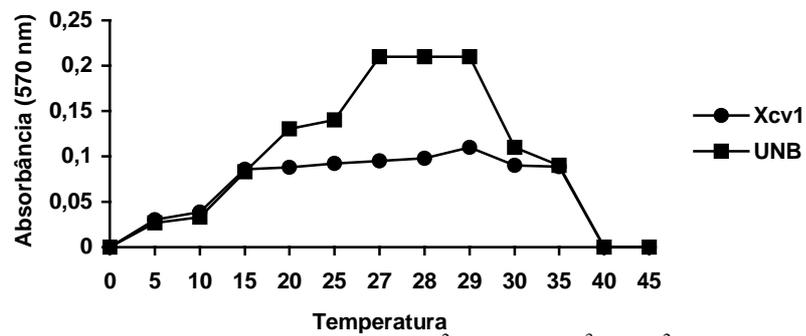
2 **TABELA 1** - Eficiência de métodos de preservação de *Xanthomonas campestris* pv.
 3 *viticola* avaliada pela área abaixo da curva da incidência da doença (AACID), durante 12
 4 meses

Método Preservação	AACID ¹
Dessecação em papel de filtro	1096,88 ² a
Água destilada esterilizada	1096,88 a
Folhas herborizadas	225,00 b
Repicagens periódicas	00,00 c

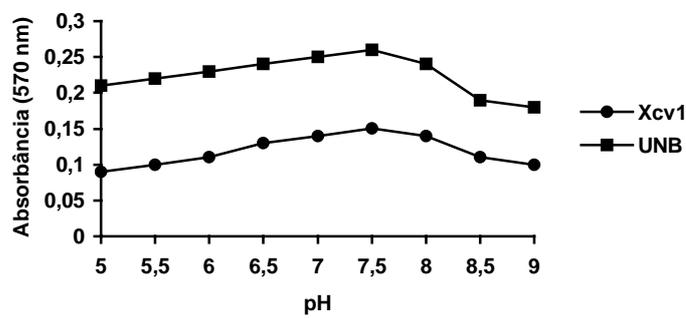
5 ¹Calculada conforme Shanner & Finney (1977), utilizando os dados mensais de incidência da
 6 doença

7 ²Média de oito repetições. Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo
 8 teste de Tukey (P=0,01)

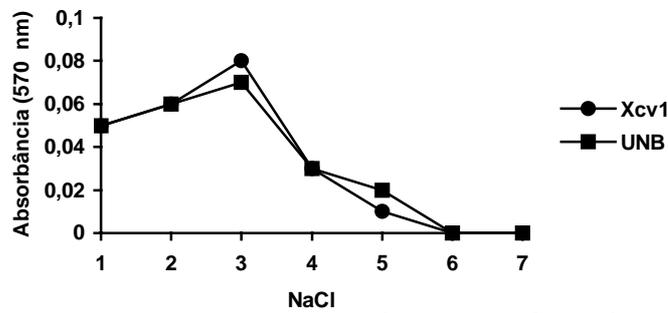
9

1
2

$$Y = 0,040249 - 0,006747x + 0,000893x^2 - 0,000019x^3 \quad R^2 = 87,8\%$$



$$Y = 0,562100 - 0,267626x + 0,052619x^2 - 0,003131x^3 \quad R^2 = 90,0\%$$



$$Y = -0,014000 + 0,086309x - 0,026607x^2 + 0,002083x^3 \quad R^2 = 84,9\%$$

3

4

5 **FIG. 2** - Crescimento de isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em diferentes
6 temperaturas de incubação (A), níveis de pH (B) e concentrações de NaCl (C).

7

8

Capítulo III

Elaboração e validação de escala diagramática para cancro bacteriano da videira

Elaboração e validação de escala diagramática para cancro bacteriano da videira

Ana R.P. Nascimento¹, Sami J. Michereff², Rosa L.R. Mariano², Andréa M.A. Gomes³

¹Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais – Universidade do Estado da Bahia, CEP 48900-000, Juazeiro-BA, Brasil. E-mail: anarpeixoto@uol.com.br. Bolsista da CAPES/PICDT; ²Departamento de Agronomia – Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP 52171-900, Recife-PE, Brasil. E-mail: sami@ufrpe.br. Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq; ³Departamento de Biologia – Área de Microbiologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP 52171-900, Recife-PE, Brasil. E-mail: andreamagoges@hotmail.com

Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Autor para correspondência: Sami J. Michereff

Aceito para publicação em:

RESUMO

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**

O cancro bacteriano da videira, causado por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, encontra-se amplamente disseminado na região do Submédio São Francisco, causando sérios prejuízos em cultivares suscetíveis. Apesar da importância da doença, inexistem estudos epidemiológicos no Brasil e, para que esses estudos sejam realizados, é necessário o desenvolvimento de métodos padronizados de quantificação da severidade da doença no campo.

26 Com este propósito, foi elaborada uma escala diagramática com os níveis de 2, 4, 8, 17, 34, 63
27 e 91% de área foliar lesionada, testando-se a acurácia, a precisão e a reprodutibilidade das
28 estimativas de severidade do cancro da videira com e sem a sua utilização. Na validação da
29 escala diagramática, 50 folhas com diferentes níveis de severidade da doença, mensurados
30 previamente com o programa AutoCAD[®], foram avaliadas por 10 pessoas sem e com a
31 utilização da escala diagramática. Foram realizadas duas avaliações com utilização da escala,
32 com intervalo de sete dias, onde seqüências diferentes das mesmas folhas foram estimadas
33 visualmente pelos mesmos avaliadores. A acurácia e a precisão de cada avaliador foi
34 determinada por regressão linear simples, entre a severidade real e a estimada. Sem a escala,
35 a maioria dos avaliadores superestimou a severidade da doença. Com a escala, os avaliadores
36 obtiveram melhores níveis de acurácia e precisão, embora tendessem a subestimar a
37 severidade, com os erros absolutos concentrando-se na faixa de 10%. Os avaliadores
38 apresentaram boa repetibilidade e elevada reprodutibilidade das estimativas com a utilização
39 da escala, o mesmo não sendo verificado sem a utilização desta. A escala diagramática
40 proposta mostrou-se adequada para avaliação da severidade do cancro bacteriano da videira.
41 Palavras-chaves adicionais: *Vitis vinifera*, *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, quantificação,
42 severidade.

44 ABSTRACT

45 Nascimento, A.R.P.; Michereff, S.J.; Mariano, R.L.R.; Gomes, A.M.A Development and validation
46 of a diagrammatic key for bacterial canker of grapevine. *Summa Phytopathologica*

47 Bacterial canker of grapevine caused by *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* occurs
48 throughout the Region of Submédio São Francisco causing losses in susceptible cultivars. In
49 spite of the importance of this disease no epidemiological studies exist in Brazil and in order to
50 perform them it is necessary to develop standard methods to quantify disease severity in field.

51 Hence a diagrammatic key including the levels 2, 4, 8, 17, 34, 63 and 91% of diseased leaf area
52 was elaborated and tested for accuracy, precision and reproducibility of the estimative of bacterial
53 canker severity with and without using the key. The diagrammatic key was validated by 10 raters
54 using 50 leaves with different levels of severity previously measured by the software AutoCAD®
55 for Windows with and without using the key. Two evaluations were performed with the key at 7-
56 day intervals when different sequences of the same leaves were visually estimated by the same
57 raters. The accuracy and precision of each rater were determined by simple linear regression
58 between actual and estimated severity. Without the key, most of raters overestimated disease
59 severity. With the key raters obtained better levels of accuracy and precision, however all tended to
60 underestimate severity, with absolute errors concentrated around 10%. Raters showed good
61 repeatability and high reproducibility of estimative by using the key compared to the no use of it.
62 The proposed diagrammatic key is suitable for the evaluation of severity of bacterial canker of
63 grapevine.

64

65 *Additional keywords: Vitis vinifera, Xanthomonas campestris pv. viticola, assessment, severity.*

66

67 O Submédio São Francisco é o principal centro produtor e exportador de uvas (*Vitis*
68 *vinifera* L.) de mesa do Brasil, onde se destacam os municípios de Santa Maria da Boa Vista e
69 Petrolina, no Estado de Pernambuco, com 54% da área cultivada. A produção de uva tem
70 grande importância sócio-econômica para a região, tendo em vista o expressivo número de
71 empregos gerados e a movimentação da economia proporcionada (24). No início de 1998, foi
72 detectado pela primeira vez no Brasil, em parreirais do Submédio São Francisco, o cancro
73 bacteriano da videira causado por *Xanthomonas campestris pv. viticola* (Nayudu) Dye (12).
74 Desde então, a doença encontra-se disseminada em toda a região, causando sérios prejuízos em
75 cultivares suscetíveis (15).

76

76 Os sintomas do cancro da videira podem se manifestar em várias partes da planta. Nas
77 folhas, surgem como lesões escuras, pequenas (1-2mm de diâmetro) e angulares, com ou sem halos
78 amarelados, que quando coalescem, causam crestamento e destruição de extensas áreas do limbo
79 foliar. Nas nervuras e pecíolos das folhas, bem como nos ramos e ráquis dos frutos, formam-se
80 manchas escuras alongadas, que evoluem para fissuras longitudinais de coloração negra, conhecidas
81 como cancos. As bagas são desuniformes em tamanho e cor, podendo apresentar lesões necróticas
82 (12, 15).

83 Apesar da importância do cancro da videira, inexistem estudos epidemiológicos no Brasil e,
84 para que esses estudos sejam realizados, é necessário o desenvolvimento de métodos padronizados
85 de quantificação da severidade da doença no campo. Embora a doença se manifeste em vários
86 órgãos da videira, o sintoma foliar é um forte indicativo da sua intensidade. Nesse sentido, a
87 intensidade do cancro pode ser expressa pela determinação da severidade, ou seja, porcentagem ou
88 proporção de área foliar lesionada.

89 Um sistema de quantificação de doença de sucesso deve propiciar resultados acurados,
90 precisos e reprodutíveis. Acurácia refere-se à proximidade de uma estimativa a um valor real de
91 quantidade de doença avaliada. Precisão refere-se à variação ou repetibilidade associadas com uma
92 estimativa. Reprodutibilidade refere-se à ausência de variação em estimativas quando a mesma
93 amostra de doença é avaliada por outro avaliador (3). Como a quantificação da severidade das
94 doenças é estimada visualmente, está sujeita a grande subjetividade e pode induzir a graves erros de
95 acurácia, precisão e reprodutibilidade. No entanto, uma forma de diminuir estas inconveniências é
96 selecionar um sistema de quantificação que permita aproximar satisfatoriamente o valor de uma
97 medição estimada ao valor real de uma doença (25).

98 Para minimizar a subjetividade das estimativas de severidade e também auxiliar o
99 avaliador, escalas diagramáticas têm sido uma ferramenta bastante útil. Entretanto, as escalas
100 diagramáticas devem ser de fácil uso, aplicáveis em diferentes condições e produzir resultados

101 reproduzíveis, além de apresentarem níveis suficientes que representem todos os estádios de
102 desenvolvimento da doença (2).

103 Na elaboração de escalas diagramáticas devem ser considerados importantes aspectos
104 como: i) o limite superior da escala deve corresponder à intensidade máxima de doença
105 observada no campo; ii) a determinação da intensidade real de doença no campo e sua
106 representação na escala devem ter alta precisão; iii) as subdivisões da escala devem
107 respeitar as limitações da acuidade visual humana definidas pela lei de estímulo-resposta de
108 Weber-Fechner, na qual a acuidade visual é proporcional ao logaritmo da intensidade do
109 estímulo (8). Para verificação da qualidade das estimativas propiciadas pela escala
110 diagramática, os níveis de acurácia, precisão e reprodutibilidade das estimativas com a
111 utilização da escala devem ser analisados (3, 10).

112 Considerando-se a inexistência de métodos padronizados para quantificação do cancro
113 bacteriano da videira, este trabalho teve como objetivos desenvolver uma escala diagramática para
114 avaliação da severidade da doença e analisar os níveis de acurácia, precisão e reprodutibilidade das
115 estimativas geradas com sua utilização.

116

117

MATERIAL E MÉTODOS

118

119 **Elaboração da escala diagramática**

120 Para elaboração da escala diagramática foram coletadas 100 folhas de videira (cv. Red
121 Globe) em parreirais comerciais no município de Petrolina – PE, com diferentes níveis de
122 severidade do cancro bacteriano. As folhas foram reproduzidas por fotocópias coloridas e as
123 lesões analisadas quanto à forma, distribuição e freqüência. Posteriormente, essas folhas foram
124 escaneadas e com auxílio do programa AutoCAD® (Autodesk, 1998), foram determinadas a área
125 foliar total e a área lesionada de cada folha, obtendo-se a severidade da doença (porcentagem de

126

126 área foliar lesionada). Baseando-se na lei de Weber-Fechner de acuidade visual (8), bem como na
127 forma, distribuição e frequência das lesões, foi confeccionada uma escala diagramática logarítmica
128 com oito níveis de severidade.

129

130 **Validação da escala diagramática**

131 No teste de validação da escala diagramática foram utilizadas 50 folhas de videira com
132 sintomas de cancro bacteriano em diferentes níveis de intensidade, reproduzidas em
133 fotocópias coloridas. A severidade foi avaliada por 10 pessoas, a maioria sem experiência na
134 quantificação de doenças. Inicialmente, a severidade foi estimada sem o auxílio da escala
135 diagramática e, após sete dias, com o auxílio dessa. Visando avaliar a repetibilidade das
136 estimativas com a escala diagramática, sete dias após a primeira avaliação, nova seqüência
137 das mesmas folhas foi organizada e uma segunda estimativa visual com auxílio da escala foi
138 efetuada pelos mesmos avaliadores.

139 A acurácia e a precisão de cada avaliador foi determinada por meio de regressão linear
140 simples, com a severidade real obtida eletronicamente como variável independente e a
141 severidade estimada pelo avaliador como variável dependente. A acurácia das estimativas foi
142 determinada pelo teste t aplicada ao intercepto da regressão linear (a), para verificar se foi
143 significativamente diferente de 0, e ao coeficiente angular da reta (b), para testar se foi
144 significativamente diferente de 1, ao nível 1% de probabilidade. Valores de intercepto
145 significativamente diferentes de 0 indicam a presença de desvios constantes, enquanto valores de
146 coeficiente angular da reta que desviam significativamente de 1 indicam a presença de desvios
147 sistemáticos. A precisão das estimativas foi obtida pelo coeficiente de determinação da regressão
148 (R^2), pela variância dos erros absolutos (severidade estimada menos real) e pela repetibilidade
149 das estimativas, determinada pela regressão da segunda avaliação em relação à primeira de uma
150 mesma unidade amostral. A reprodutibilidade das estimativas foi determinada pelos valores de

151

151 R^2 obtidos de regressões lineares entre as severidades estimadas por diferentes avaliadores
152 combinados em pares (10, 17). As análises de regressão foram efetuadas com o auxílio do programa
153 Microsoft Excel 2000[®] (Microsoft Corporation, 2000).

155 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

156
157 O valor máximo de severidade do cancro bacteriano nas folhas de videira coletadas em
158 parreirais comerciais do Submédio São Francisco foi de 91%. Valores acima de 60% são raramente
159 encontrados no campo, pois causam senescência e seca prematura da folha. A escala diagramática
160 elaborada para cancro da videira representou valores de 2, 4, 8, 17, 34, 63, 82 e 91% de área foliar
161 lesionada (Figura 1). Nos níveis de severidade a partir de 8%, a representação dos sintomas incluiu
162 tecidos necrosados e lesões coalescidas, como adotado na elaboração das escalas diagramáticas para
163 cercosporiose da alface (6) e mancha de *Alternaria* em girassol (11). A coalescência de lesões é
164 característica do cancro da videira, que pode formar extensas áreas de tecido necrosado na folha
165 (12).

166 Na validação da escala diagramática, sem a sua utilização os valores do intercepto
167 relacionados a 90% dos avaliadores diferiram significativamente de zero ($P \leq 0,01$), indicando a
168 presença de desvios constantes (Tabela 1). A maioria desses avaliadores superestimou
169 consistentemente ($P \leq 0,01$) a severidade do cancro bacteriano da videira, indicando a presença
170 de desvios positivos constantes para todos os níveis de severidade da doença. Com a utilização
171 da escala, os valores do intercepto de 40% dos avaliadores (A, D, F e I) diferiram
172 significativamente de zero ($P \leq 0,01$) na primeira avaliação e 30% (B, D e F) na segunda, todos
173 com desvios negativos constantes, ou seja, subestimativa. Em relação aos valores do coeficiente
174 angular da reta, 60% dos avaliadores apresentaram valores significativamente diferentes de 1
175 ($P \leq 0,01$) sem a utilização da escala diagramática, indicando a presença de desvios sistemáticos

176

176 (Tabela 1). Com a utilização da escala, somente 30% dos avaliadores na primeira (B, D e F) e
177 segunda (C, F e H) avaliação apresentaram coeficientes angulares significativamente diferentes de 1
178 ($P \leq 0,01$) (Tabela 1). Para cada 1% de incremento na severidade do cancro bacteriano da videira
179 quantificada eletronicamente, a severidade aumentou em média 0,95%, 0,94% e 0,93% quando
180 estimada pelos avaliadores sem auxílio da escala diagramática e com a escala na primeira e segunda
181 avaliação, respectivamente.

182 A superestimativa dos níveis de severidade das doenças sem o uso de escalas diagramáticas,
183 como verificado para o cancro bacteriano da videira, é comum em vários patossistemas (9). A
184 tendência dos avaliadores em subestimar os níveis de severidade do cancro bacteriano da videira
185 quando utilizaram a escala diagramática assemelha-se ao constatado na validação das escalas para
186 cercosporiose da alface (6), mancha parda da mandioca (13) e queima das folhas do inhame (14).
187 No entanto, contrasta com o verificado em vários estudos envolvendo validação de escalas
188 diagramáticas (4, 7, 11, 16, 19, 22, 23, 25), nos quais foi constatada a tendência dos avaliadores em
189 superestimar os níveis de severidade das doenças.

190 Na análise da precisão, estimativas visuais da severidade sem a utilização da escala
191 diagramática explicaram 32 a 93% da variação (R^2) na mensuração eletrônica da doença, com
192 média de 74% (Tabela 1). Com a utilização da escala, na primeira avaliação as estimativas visuais
193 explicaram 89 a 94% da variação na mensuração eletrônica, com média de 92%, enquanto na
194 segunda avaliação, as estimativas visuais explicaram 86 a 95% da variação, com média de 92%
195 (Tabela 1). Os elevados níveis de precisão das estimativas visuais do cancro bacteriano da videira
196 com auxílio da escala diagramática assemelham-se aos verificados em outros estudos de validação
197 de escalas (4, 7, 11, 16, 17, 19, 21, 25), sendo muito próximos à média de 95%, considerada a
198 desejável por Kranz (10).

199 A presença de desvios sistemáticos nas mensurações do cancro bacteriano da videira,
200 mesmo entre aqueles avaliadores com bons níveis de precisão, indica a divergência entre

201

201 estimativas acuradas e precisas, como constatado por Nutter et al. (17) na mensuração da mancha
202 foliar de *Agrostis palustris* Huds., causada por *Sclerotinia homoeocarpa* Bennett. Avaliações
203 realizadas com baixa acurácia não representam sérios problemas, uma vez que os desvios
204 normalmente seguem o mesmo padrão. Neste caso, os possíveis desvios, caso não possam ser
205 corrigidos pelo treinamento, poderiam ser compensados por equações de calibração para cada
206 avaliador envolvido no estudo, como realizado por Shaw & Royle (21) na avaliação da septoriose
207 do trigo. A correção desses desvios pode ser importante nos patossistemas em que decisões de
208 manejo sejam baseadas em limiares de doença (18).

209 Em geral, os avaliadores evidenciaram boa repetibilidade nas estimativas, pois a quantidade
210 média de variação na primeira avaliação explicada pela segunda avaliação foi de 89% (Tabela 2).
211 Para somente 20% dos avaliadores os valores do coeficiente angular da reta entre as duas avaliações
212 foram significativamente diferentes de 1 ($P \leq 0,01$) e os valores do intercepto diferentes de zero
213 ($P \leq 0,01$) (Tabela 2).

214 A reprodutibilidade das avaliações entre os avaliadores combinados aos pares, também,
215 pode ser utilizada como um indicativo de precisão de um método de avaliação de doenças (17).
216 Diferentes avaliadores, utilizando a mesma escala para a avaliação do mesmo material, devem
217 estimar os mesmos valores de severidade (18). As regressões lineares entre as severidades
218 estimadas pelos 10 avaliadores, quando não utilizaram a escala diagramática, produziram
219 coeficientes de determinação (R^2) variando de 23 a 90%, sendo que em somente 8,9% dos casos foi
220 $\geq 85\%$ (Tabela 3). Com a utilização da escala, nas duas avaliações os valores de R^2 foram elevados,
221 variando entre 78 e 98%, sendo $\geq 85\%$ em 84,4% dos casos na primeira avaliação e em 86,7% dos
222 casos na segunda (Tabela 3), assemelhado-se aos constados na validação de escalas
223 diagramáticas para outros patossistemas (4, 5, 11, 16, 17). Portanto, quando a escala
224 diagramática para cancro bacteriano da videira foi utilizada, os dados estimados pelos diferentes
225 avaliadores estiveram próximos a uma concordância perfeita, indicando alta precisão (18).

226 A utilização da escala diagramática propiciou boa estimativa da severidade do cancro
227 bacteriano da videira pelos avaliadores. No entanto, pelas equações não se pode inferir como os
228 avaliadores perceberam diferentes níveis de severidade da doença. As diferenças (resíduos) entre os
229 valores estimados visualmente e os reais obtidos eletronicamente na quantificação da severidade
230 sem a utilização da escala diagramática foram muito elevadas, chegando a atingir 73,8%. Por outro
231 lado, nas duas avaliações com o auxílio da escala os resíduos concentraram-se na faixa de 10% e
232 poucas vezes atingiram o valor de 20% (Figura 2). Esses níveis de resíduos são considerados
233 aceitáveis segundo os critérios adotados em outros estudos de avaliação de escalas diagramáticas (1,
234 4, 5, 6, 11, 13, 14, 16, 17, 20).

235 A presença de algum nível de erro absoluto nas mensurações pode ser compensada pela
236 rapidez e padronização que resultam do uso de escalas diagramáticas. Além disso, como a
237 maioria dos métodos de quantificação de severidade de doenças, o uso de escalas diagramáticas
238 está sujeito a um certo grau de subjetividade, o que pode ser minimizado com o treinamento dos
239 avaliadores (18).

240 A diferença entre os avaliadores na mensuração do cancro bacteriano da videira confirma as
241 observações de Nutter Jr. & Schultz (18) quanto à variação na habilidade entre indivíduos para
242 discriminar níveis de doença. A qualidade da estimativa da doença, além de ser influenciada por
243 estímulos e respostas psicológicas, pode ser afetada por fatores como complexidade da unidade
244 amostral, tamanho e forma das lesões, cor e número de lesões na unidade amostral (10), fadiga e
245 dificuldade de concentração na tarefa (23).

246 A proposta de estabelecer um sistema padronizado para orientar a avaliação da severidade
247 de determinada doença é de grande responsabilidade, pois, caso o sistema seja deficiente, o custo
248 de sua utilização pode ser maior do que os benefícios alcançados com seu uso (11, 18). No
249 entanto, a padronização é altamente desejável, pois a uniformização da metodologia
250

250 de avaliação de doenças permite comparações entre os resultados obtidos em diferentes instituições
251 e localidades (2).

252 O uso da escala diagramática propiciou melhorias significativas nos níveis de acurácia e
253 precisão das mensurações, confirmando a importância da utilização de escalas diagramáticas para
254 “calibrar” o sistema visual do avaliador.

255 A escala diagramática proposta para avaliação do cancro bacteriano da videira mostrou ser
256 de fácil utilização, capaz de fornecer uma rápida estimativa da doença, aplicável a uma ampla gama
257 de situações e proporcionar boa acurácia e precisão das estimativas, podendo ser utilizada em
258 levantamentos de campo, estudos de progresso e disseminação da doença, bem como resistência
259 quantitativa de germoplasmas de videira.

260

261

AGRADECIMENTOS

262

263 Os autores expressam seus agradecimentos a todos os avaliadores que participaram das
264 etapas de validação da escala diagramática.

265

266

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

267

- 268 1. Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Palazzo, D.A.; Bassanezi, R.B.; Godoy, C.V.; Torres, G.M.
269 Clorose variegada dos citros: uma escala diagramática para avaliação da severidade da doença.
270 **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, n.2, p.174-180, 1993.
- 271 2. Bergamin Filho, A.; Amorim, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle**
272 econômico. São Paulo: Agronômica Ceres, 1996. 299p.
- 273 3. Campbell, C.L.; Madden, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John
274 Wiley, 1990. 532p.

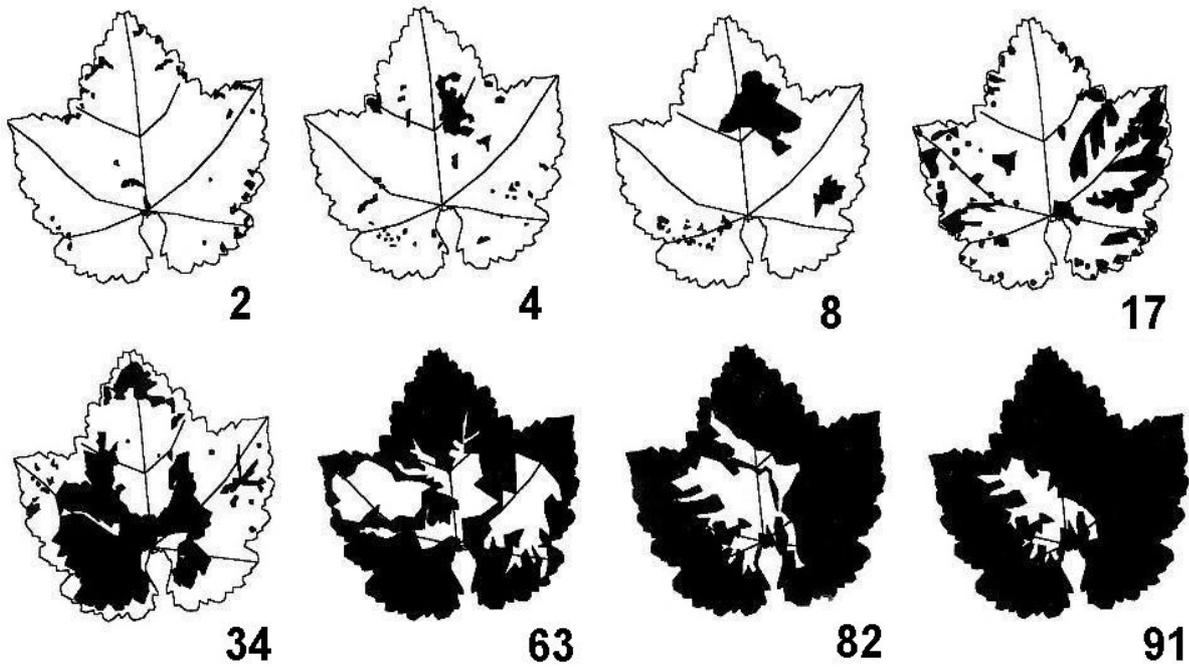
275

- 275 4. Díaz, C.G.; Bassanezi, R.B.; Bergamin Filho, A. Desenvolvimento e validação de uma
276 escala diagramática para *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em feijoeiro. **Summa**
277 **Phytopathologica**, Jaboticabal, v.27, n.1, p.35-39, 2001.
- 278 5. Godoy, C.V.; Carneiro, S.M.T.P.G.; Iamauti, M.T.; Dalla Pria, M.; Amorim, L.; Berger,
279 R.D.; Bergamin Filho, A. Diagrammatic scale for bean: development and validation.
280 **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, Stuttgart, v.104, n.4, p.336-
281 345, 1997.
- 282 6. Gomes, A.M.A.; Michereff, S.J.; Mariano, R.L.R. Elaboração e validação de escala
283 diagramática para cercosporiose da alface. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.30,
284 n.1, p.39-43, 2004.
- 285 7. Hock, J.; Kranz, J.; Renfro, B.L. Tests of standard diagrams for field use in assessing the
286 tarspot disease complex of maize (*Zea mays*). **Tropical Pest Management**, London, v.38, n.3,
287 p.314-318, 1992.
- 288 8. Horsfall, J.G.; Cowling, E.B. Pathometry: the measurement of plant disease. In:
289 Horsfall, J.G.; Cowling, E.B. (Ed.) **Plant disease: an advanced treatise – how disease**
290 **develops in populations**. New York: Academic Press, 1978. v.2, p.119-136.
- 291 9. Kranz, J. Study in maximum severity in plant diseases. In: Travaux Dédiés à Georges
292 Viennot-Bourgin. **Proceedings ...** Paris: Société Française de Phytopathologie, 1977.
293 p.167-173.
- 294 10. Kranz, J. Measuring plant disease. In: Kranz, J.; Rotem, J. (Ed.) **Experimental**
295 **techniques in plant disease epidemiology**. Heidelberg: Springer-Verlag, 1988. p.35-50.
- 296 11. Leite, R.M.V.B.C.; Amorim, L. Elaboração e validação de escala diagramática para mancha
297 de *Alternaria* em girassol. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 28, n.1, p.14-19, 2002.
- 298

- 298 12. Malavolta Jr., V.A.; Almeida, I.M.G.; Sugimori, M.H.; Ribeiro, I.J.A; Rodrigues Neto, J.; Pires,
299 E.J.P.; Nogueira, E.M.C. Ocorrência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em videira no
300 Brasil. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.25, n.3, p.262-264, 1999.
- 301 13. Michereff, S.J.; Maffia, L.A.; Noronha, M.A. Escala diagramática para avaliação da
302 severidade da queima das folhas do inhame. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.25, n.4,
303 p.612-619, 2000.
- 304 14. Michereff, S.J.; Pedrosa, R.A.; Noronha, M.A.; Martins, R.B.; Silva, F.V. Escala diagramática e
305 tamanho de amostras para avaliação da severidade da mancha parda da mandioca
306 (*Cercosporidium henningsii*). **Agrotropica**, Itabuna, v.10, n.3, p.143-148, 1998.
- 307 15. Nascimento, A.R.P.; Mariano, R.L.R. Cancro bacteriano da videira: etiologia, epidemiologia e
308 medidas de controle. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.1, p.301-307, 2004.
- 309 16. Nita, M; Ellis, M.A.; Madden, L.V. Reliability and accuracy of visual estimation of Phomopsis
310 leaf blight of strawberry. **Phytopathology**, St. Paul, v.93, n.8, p.995-1005, 2003.
- 311 17. Nutter Jr., F.W.; Gleason, M.L.; Jenco, J.H.; Christians, N.C. Assessing the accuracy, intra-rater
312 repeatability, and inter-rater reliability of disease assessment systems. **Phytopathology**, St.
313 Paul, v.83, n.8, p.806-812, 1993.
- 314 18. Nutter Jr., F.W.; Schultz, P.M. Improving the accuracy and precision of disease assessments:
315 selection of methods and use of computer-aided training programs. **Canadian Journal of Plant**
316 **Pathology**, Ottawa, v.17, n.1, p.174-184, 1995.
- 317 19. Parker, S.R.; Shaw, M.W.; Royle, D.J. The reliability of visual estimates of disease severity on
318 cereal leaves. **Plant Pathology**, London, v.43, n.6, p.856-865, 1995.
- 319 20. Rodrigues, J.C.; Nogueira, L.N.; Machado, M.A. Elaboração e validação de escala
320 diagramática para leprose dos citros. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.28, n.2,
321 p.192-196, 2002.
- 322

- 322 21. Shaw, M.W.; Royle, D.J. Estimation and validation of a function describing the rate at which
323 *Mycosphaerella graminicola* causes yield in winter wheat. **Annals of Applied Biology**,
324 London, v.115, n.5, p.425-442, 1989.
- 325 22. Sherwood, R.T.; Berg, C.C.; Hoover, M.R.; Zeiders, K.E. Illusions in visual assessment of
326 *Stagonospora* leaf spot of orchardgrass. **Phytopathology**, St. Paul, v.73, n.2, p.173-177,
327 1983.
- 328 23. Shokes, F.M.; Berger, R.D.; Smith, D.H.; Rasp, J.M. Reliability of disease assessment
329 procedures: a case study with late leafspot of peanut. **Oléagineux**, Paris, v.42, n.4, p.245-251,
330 1987.
- 331 24. Silva, P.C.G.; Correia, R.C. Caracterização social e econômica da videira. In: Leão, P.C.D.S.;
332 Soares, J.M. (Ed.) **A viticultura no semi-árido brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido,
333 2000. 336p.
- 334 25. Tovar-Soto, A.; Hernandez-Martínez, M.; Cristóbal-Alejo, J.; Romero-Hijo, R.; Mora-Aguilera,
335 G. Escala logarítmica diagramática de severidade de la mancha negra (*Colletotrichum*
336 *gloeosporioides* Penz.) en Chirimoyo (*Annona cherimola* Mill). **Revista Mexicana de**
337 **Fitopatología**, Obregón, v.20, n.1, p.103-109, 2002.

338

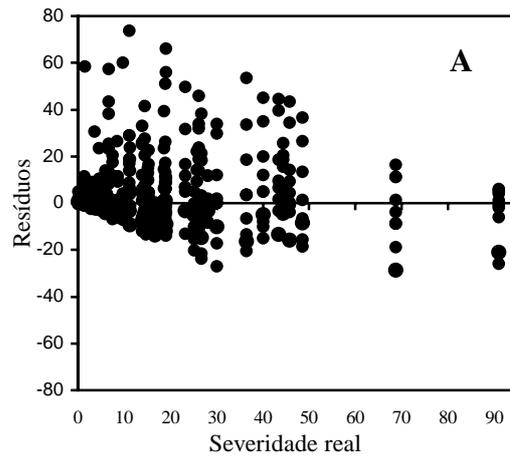


338

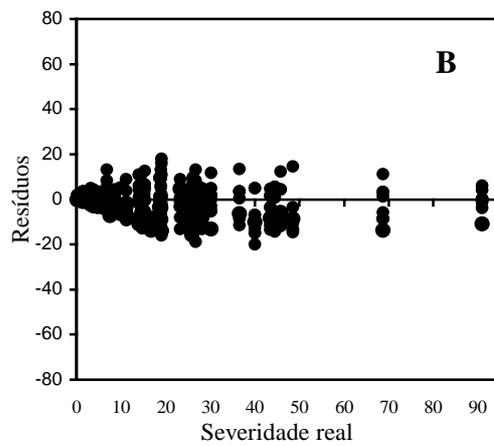
339 **Figura 1.** Escala diagramática do cancro bacteriano da videira indicando os níveis de 2, 4, 8, 17, 34,

340 63, 82 e 91% de severidade.

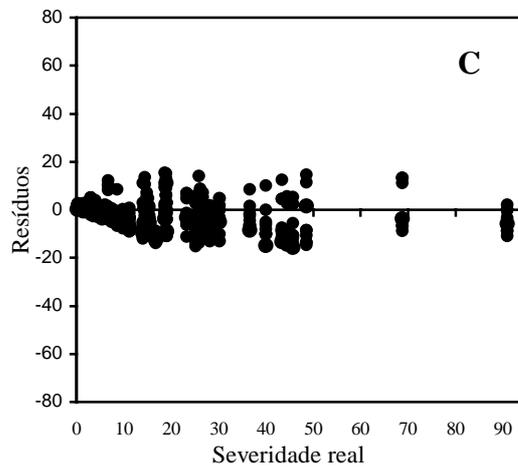
341



341



342



343

344 **Figura 2.** Resíduos (severidade estimada - severidade real) das estimativas do cancro bacteriano
345 da videira realizadas sem o auxílio da escala diagramática (A) e com auxílio da escala
346 diagramática na primeira (B) e segunda (C) avaliação.

347

347 **Tabela 1.** Intercepto (a), coeficiente angular da reta (b) e coeficiente de determinação (R^2) de
 348 equações de regressão linear simples relacionando estimativas visuais efetuadas por avaliadores à
 349 severidade real do cancro bacteriano da videira determinada eletronicamente com o auxílio do
 350 programa AutoCAD®.

351

Avaliador	Sem Escala			Com Escala					
				1ª. Avaliação			2ª. Avaliação		
	a	b	R^2	a	b	R^2	a	b	R^2
A	9,88*	1,31*	0,66	-2,85*	0,93	0,91	-0,45	0,93	0,86
B	-3,01*	0,83*	0,89	0,01	0,87*	0,91	-2,62*	0,91	0,93
C	9,64*	1,04	0,77	2,07	1,04	0,92	0,09	0,88*	0,90
D	3,32*	0,76*	0,65	-2,60*	0,87*	0,92	-3,24*	0,91	0,93
E	4,66*	0,90	0,79	-0,27	0,96	0,94	-1,56	0,97	0,92
F	-1,02	0,74*	0,93	-2,68*	0,86*	0,94	-2,53*	0,88*	0,93
G	2,71*	0,90	0,91	-1,33	0,94	0,94	-0,53	0,97	0,95
H	3,56*	0,92	0,86	1,73	0,96	0,94	-0,30	0,86*	0,92
I	11,45*	0,82*	0,32	-2,25*	0,92	0,93	-0,85	0,94	0,93
J	9,42*	1,29*	0,66	-0,23	1,00	0,89	1,20	1,08	0,93
Média	5,06	0,95	0,74	-0,84	0,94	0,92	-1,08	0,93	0,92

352

353 *Asterisco representa situações onde a hipótese de nulidade ($a=0$ ou $b=1$) foi rejeitada pelo teste t ($P \leq 0,01$).

354

354 **Tabela 2.** Intercepto (a), coeficiente angular da reta (b) e coeficiente de determinação (R^2) de
 355 equações de regressão linear simples relacionando a segunda à primeira estimativa do cancro
 356 bacteriano da videira por um mesmo avaliador, com o auxílio da escala diagramática.

357

Avaliador	a	b	R^2
A	2,89*	0,97	0,87
B	-1,40	0,96	0,87
C	-0,55	0,79*	0,86
D	0,35	0,99	0,88
E	-0,61	0,97	0,90
F	0,65	0,98	0,91
G	1,45	1,00	0,94
H	-1,04	0,86*	0,89
I	2,07	0,97	0,91
J	3,30*	0,97	0,85
Média	0,71	0,95	0,89

358

359 *Asterisco representa situações onde a hipótese de nulidade ($a=0$ ou $b=1$) foi rejeitada pelo teste
 360 t ($P \leq 0,01$).

361

361 **Tabela 3.** Coeficientes de determinação (R^2) de equações de regressão linear simples relacionando
 362 as estimativas do cancro bacteriano da videira entre avaliadores sem o auxílio da escala
 363 diagramática e com auxílio da escala diagramática na primeira e segunda avaliação.

364

Sem Escala									
Avaliador	B	C	D	E	F	G	H	I	J
A	0,51	0,78	0,53	0,55	0,62	0,70	0,72	0,23	0,77
B		0,71	0,57	0,69	0,85	0,85	0,68	0,32	0,52
C			0,75	0,69	0,76	0,76	0,78	0,30	0,77
D				0,55	0,67	0,73	0,72	0,45	0,63
E					0,75	0,77	0,78	0,29	0,62
F						0,90	0,80	0,34	0,60
G							0,85	0,35	0,76
H								0,35	0,73
I									0,25

Com Escala – 1ª. Avaliação									
Avaliador	B	C	D	E	F	G	H	I	J
A	0,84	0,84	0,86	0,84	0,90	0,85	0,82	0,90	0,78
B		0,89	0,87	0,88	0,87	0,87	0,86	0,90	0,91
C			0,87	0,90	0,89	0,89	0,88	0,93	0,88
D				0,89	0,91	0,93	0,85	0,90	0,81
E					0,91	0,95	0,91	0,92	0,92
F						0,91	0,90	0,93	0,84
G							0,89	0,92	0,86
H								0,87	0,85
I									0,86

Com Escala – 2ª. Avaliação									
Avaliador	B	C	D	E	F	G	H	I	J
A	0,92	0,85	0,82	0,85	0,93	0,81	0,86	0,83	0,88
B		0,92	0,91	0,89	0,98	0,92	0,94	0,90	0,90
C			0,84	0,84	0,92	0,91	0,89	0,90	0,91
D				0,89	0,89	0,91	0,87	0,89	0,87
E					0,90	0,90	0,89	0,89	0,85
F						0,89	0,93	0,92	0,90
G							0,92	0,93	0,91
H								0,90	0,86
I									0,90

365

Capítulo IV

Reação de variedades de videira ao cancro bacteriano, baseada em componentes epidemiológicos

Reação de variedades de videira ao cancro bacteriano, baseada em componentes epidemiológicos*

Reaction of grapevine varieties to bacterial canker based on epidemiological components

Ana Rosa Peixoto Nascimento¹ Sami Jorge Michereff² Rosa de Lima Ramos Mariano²

Ivanise de Oliveira Viana³

RESUMO

O cancro bacteriano, causado por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Xcv), é a doença bacteriana mais importante da videira na região do Submédio São Francisco. A reação de 20 variedades de videira, sendo 13 de copa e sete de porta-enxerto, foi avaliada quanto à resistência à doença, em casa de vegetação. As plantas foram inoculadas com a suspensão do isolado Xcv1 ($A_{570} = 0,4$ correspondente a 10^8 UFC mL⁻¹), incubadas em casa de vegetação e observadas diariamente quanto aos componentes epidemiológicos do cancro bacteriano: período de incubação (PI), incidência de folhas com sintomas (INC), incidência de folhas com cancro (IF), severidade da doença (SEV), taxa de progresso da incidência da doença (TPID), área abaixo da curva de progresso da severidade da doença (AACPSD). Todas as variedades inoculadas apresentaram sintomas da doença, embora diferindo significativamente entre si ($P=0,05$) para a maioria das variáveis analisadas. Em geral, 'Brasil' apresentou os maiores níveis de doença para todas

*Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor.

¹Engenheiro Agrônomo, Professor, Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais, Universidade do Estado da Bahia., Av Edgard Chastnet, s/n, 48900-000, Juazeiro – BA, Brasil. Aluna do Curso de Doutorado em Fitopatologia/Programa de Pós-graduação em Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife – PE, Brasil. Bolsista PICDT/CAPES/UNEB. E-mail: anarpeixoto@uol.com.br.

²Engenheiro Agrônomo, Professor, Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq. E-mail: rmariano@truenet.com.br. Autor para correspondência (R.L.R. Mariano).

³Laboratorista, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

as variáveis testadas, enquanto 'Isabel' e 'Paulsen 1103' destacaram-se ao propiciarem os maiores valores de PI e os menores valores de INC, IFC, SEV, TPID e AACPSD, indicando o potencial dessas para utilização em programas de melhoramento genético e de manejo integrado do cancro bacteriano da videira. As correlações significativas ($P=0,05$) verificadas entre as variáveis estudadas demonstram que qualquer uma delas pode ser utilizada em pesquisas envolvendo reação de variedades ao cancro bacteriano da videira. Quando considerado o conjunto dos componentes epidemiológicos, a análise da distância Euclidiana por UPGMA permitiu a separação das variedades de copa e porta-enxerto em três grupos de similaridade cada.

Palavras-chave: *Vitis* spp., *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, resistência de plantas a doenças.

ABSTRACT

Bacterial canker caused by *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Xcv) is the most important bacterial disease of grapevine in the region of Submédio São Francisco. The reaction of 20 grapevine varieties, 13 scions and seven rootstocks, was evaluated in relation to disease resistance under greenhouse conditions. Plants were inoculated with suspension of the strain Xcv1 ($A_{570} = 0,4$ corresponding to 10^8 CFU mL⁻¹), incubated in greenhouse and observed daily for epidemiological components of bacterial canker: incubation period (PI), incidence of leaves with symptoms (INC), incidence of leaves with canker (IFC), disease severity (SEV), progress rate of disease incidence (TPID), area under the disease severity progress curve (AACPSD). All varieties were susceptible to the disease, although significantly differing among them ($P=0.05$) for most of the analyzed variables. Generally 'Brasil' showed the highest disease levels for all variables tested while 'Isabel' and 'Paulsen 1103' presented the highest values of PI and the lowest values of INC, IFC, SEV, TPID and AACPSD, suggesting the potential of those varieties in programs of genetic breeding and

integrated management of grapevine bacterial canker. The significant correlations ($P=0.05$) observed among the studied variables demonstrated that anyone might be utilized in research including reaction of varieties to this disease. Considering all the epidemiological components the analysis of the Euclidean distance by UPGMA allowed the separation of scion and rootstock varieties into three similarity groups each.

Keywords: *Vitis* spp., *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, plant disease resistance.

INTRODUÇÃO

O cultivo da videira (*Vitis* spp.) na região do Submédio São Francisco tem grande importância sócio-econômica, pois constitui uma das principais culturas para exportação e se destaca, entre as culturas irrigadas, como a mais importante para comercialização no mercado interno (SILVA & CORREIA, 2000). Entretanto, sua produtividade e qualidade são afetadas por diversos fatores, incluindo a ocorrência de doenças como o cancro bacteriano, causado por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Nayudu) Dye., que constitui a principal doença bacteriana da videira na região.

Esta doença foi detectada pela primeira vez no Brasil em 1998, em parreirais do Submédio São Francisco, onde tem causado grandes prejuízos em cultivares suscetíveis (LIMA et al., 1999; MALAVOLTA et al., 1999; NASCIMENTO & MARIANO, 2004). Em plantas infectadas, os sintomas 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. Nas nervuras e pecíolos das folhas, nos ramos e ráquis dos frutos, formam-se manchas escuras e alongadas, que evoluem para fissuras longitudinais de coloração negra conhecidas como cancos. As bagas são desuniformes em tamanho e cor (NAYUDU, 1972), podendo apresentar lesões necróticas. Uma vez que produtos químicos, como fungicidas e bactericidas não são eficientes no controle do cancro bacteriano (CHAND, 1989), o uso de cultivares resistentes pode ser uma alternativa de controle (CHAND, 1992),

sendo fundamental a análise da reação de variedades ao patógeno em condições controladas e no campo.

A comparação de epidemias, baseada em componentes epidemiológicos da doença, é um instrumento de pesquisa que permite identificar semelhanças e diferenças entre epidemias, constituindo em importante ferramenta para análise quantitativa da resistência de genótipos às doenças de plantas (KRANZ, 2002).

Estudos de reação de variedades de videira a *X. campestris* pv. *viticola* foram realizados na Índia (CHAND, 1992) e no Brasil, no estado de São Paulo (MALAVOLTA et al., 2003). No entanto, estes estudos inexitem no estado de Pernambuco, terceiro maior produtor de uva de mesa do país (IBGE, 2002) e onde a doença ocorreu inicialmente (LIMA et al., 1999; MALAVOLTA et al., 1999). Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a reação de variedades de videira quanto a resistência a *X. campestris* pv. *viticola*, com base nos componentes epidemiológicos da doença, em condições de casa de vegetação, em Recife, Pernambuco.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado o isolado Xcv1 de *X. campestris* pv. *viticola*, obtido de ramo de videira, (variedade Red Globe) com sintomas característicos do cancro bacteriano, proveniente do município de Juazeiro, BA. A confirmação da patogenicidade foi realizada em plantas da mesma cultivar, com 100 dias de idade. O método de inoculação utilizado foi fricção com gaze, no qual compressas de gaze dupla umedecidas com 0,5 mL da suspensão bacteriana foram levemente friccionadas em ambas as superfícies da folha. A suspensão bacteriana em água destilada esterilizada contendo Tween 20 (0,05 %) foi ajustada à concentração de $A_{570} = 0,4$ correspondente a 10^8 UFC mL⁻¹, conforme equação previamente determinada e inoculada em cinco folhas por planta. As plantas foram submetidas à pré e pós-tratamento em câmara úmida por 48 horas e incubadas em casa de vegetação.

A reação de 20 variedades de videira, incluindo de copa e porta-enxerto (Tabela 1), foi avaliada em casa de vegetação em relação a *X. campestris* pv. *viticola*, baseada nos componentes epidemiológicos do cancro bacteriano. As plantas, com 150 dias, foram fornecidas pela Embrapa Semi-Árido (Petrolina - PE) e mantidas em sacos de polietileno (14 cm x 22 cm) contendo vermiculita:solo arenoso (1:9, v:v). Após a inoculação, realizada como no teste de patogenicidade, as plantas foram mantidas em casa de vegetação e irrigadas por rega com mangueira. Durante o experimento, a temperatura e umidade relativa na casa de vegetação foram registradas, calculando-se as médias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 20 tratamentos e cinco repetições por tratamento, sendo cada repetição constituída por uma planta e cinco folhas avaliadas por planta.

As plantas foram avaliadas diariamente, até 42 dias após a inoculação, determinando-se os seguintes componentes epidemiológicos do cancro bacteriano: a) período de incubação (PI), representado pelo número de dias entre a inoculação e o surgimento dos sintomas da doença. Plantas que não apresentaram sintomas da doença tiveram o período de incubação ajustado para 43 dias, correspondendo ao período de avaliação total acrescido de um dia, conforme proposto por IAMSUPASIT et al. (1993); b) incidência de folhas com sintomas aos 42 dias após a inoculação (INC), calculada pela porcentagem de folhas com sintomas em relação ao total de folhas avaliadas por planta; c) incidência de folhas com cancro aos 42 dias após a inoculação (IFC), calculada pela porcentagem de folhas com cancro em relação ao total de folhas avaliadas; d) severidade da doença aos 42 dias após a inoculação (SEV), estimada com o auxílio de escala diagramática variando de 2 a 91% de área foliar com sintomas (NASCIMENTO et al., 2005); e) taxa de progresso da incidência da doença (TPID), estimada pelo parâmetro b da equação de regressão linear simples, tendo a proporção da incidência de folhas doentes linearizada pela transformação monomolecular [$y = \ln[1/(1-y)]$] (CAMPBELL & MADDEN, 1990) como variável dependente e o tempo em dias após a inoculação como variável independente. A transformação monomolecular foi utilizada porque propiciou o melhor ajuste das curvas de incidência na maioria das situações quando

comparada às demais transformações testadas (exponencial, logística e Gompertz), com base no maior coeficiente de determinação da regressão (R^2) para reciprocidade entre valores observados e previstos de incidência da doença, menor quadrado médio do resíduo e ausência de tendências indesejáveis no gráfico de dispersão de resíduos; e) área abaixo da curva do progresso da severidade da doença (AACPSD), calculada pela expressão: $AACPSD = \sum (y_i + y_{i+1}) / 2 \cdot d_{ii}$, onde y_i e y_{i+1} são os valores de severidade observados em duas avaliações consecutivas e d_{ii} o intervalo entre as avaliações (SHANER & FINNEY, 1977). Nenhuma transformação testada (exponencial, monomolecular, logística e Gompertz) propiciou o ajuste satisfatório das curvas de severidade na maioria das situações, motivo pelo qual foi calculada a AACPSD (CAMPBELL & MADDEN, 1990).

As análises foram conduzidas em duas etapas: inicialmente, foi realizada a análise univariada, considerando cada variável separadamente. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise multivariada, considerando as variáveis em conjunto. Para a análise univariada, os dados foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$ e submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de agrupamento de Scott-Knott ($P=0,05$). Adicionalmente, foi avaliada a correlação entre as variáveis pela análise de correlação de Pearson ($P=0,05$). Estas análises foram efetuadas com o auxílio do programa SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, 2003). Considerando o conjunto de variáveis para variedades de copa e porta-enxerto – análise multivariada, empregou-se a análise de agrupamento baseado nos níveis de similaridade utilizando a distância Euclidiana estimada com base no algoritmo de UPGMA. Esta análise foi efetuada com o auxílio do programa STATISTICA for Windows (StatSoft Inc., Tulsa - OK, USA, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas de todas as variedades de videira apresentaram sintomas do cancro bacteriano. Foram constatadas diferenças significativas ($P=0,05$) entre as variedades quando considerados os diferentes componentes epidemiológicos, sendo que o número de agrupamentos de similaridade variou conforme o componente epidemiológico (Tabela 2). Com relação ao período de incubação (PI), as variedades foram distribuídas em dois grupos de similaridade pelo teste de Scott-Knott. O período de incubação médio para o grupo A, contendo as variedades Isabel e Paulsen 1103, foi de 39,5 dias, enquanto para o grupo B, contendo 18 variedades, foi de apenas 11,2 dias. O período de incubação pode demonstrar os diferentes níveis de resistência das plantas, sendo diretamente influenciado pelo genótipo da cultivar, ou seja, cultivares suscetíveis tendem a ter períodos de incubação mais curtos (KONG et al., 1997), como verificado para as variedades de videira incluídas no grupo B. Diferenças no período de incubação refletem diferenças na taxa de crescimento do patógeno no hospedeiro, e, conseqüentemente, na taxa de progresso da epidemia, sendo um importante componente de resistência (PARLEVLIET, 1979). Entretanto, o período de incubação pode sofrer influências de fatores como temperatura, umidade do ar, idade da planta e concentração de inóculo do patógeno (KONG et al., 1997).

Os reduzidos períodos de incubação observados na maioria das variedades indicam que o método de inoculação utilizado foi eficiente, que as condições de temperatura ($28,5 \pm 5^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa do ar ($75,4 \pm 6\%$) na casa de vegetação foram favoráveis ao desenvolvimento da doença e que as variedades apresentaram elevada sensibilidade ao patógeno. Esses resultados assemelham-se aos constatados por LIMA et al. (1999), que ao inocularem mudas da variedade Red Globe com isolados de *X. campestris* pv. *viticola*, observaram o aparecimento dos primeiros sintomas entre 12 e 14 dias após a inoculação. No entanto, ao inocular mudas da variedade Anab-e-Shahi com o patógeno, NAYUDU (1972) constatou o aparecimento dos sintomas do cancro bacteriano no sexto dia após a inoculação.

Essa variação no tempo de aparecimento dos sintomas pode estar relacionada às diferenças nas constituições genótípicas dos materiais utilizados e nos métodos de inoculação empregados, uma vez que as condições de incubação das plantas inoculadas (temperatura e umidade) foram similares em todos os estudos.

Quando considerada a incidência de folhas com sintomas (INC), 17 variedades de videira apresentaram valores iguais ou superiores a 80%, sendo incluídas no grupo A (Tabela 2). O grupo B incluiu as variedades Paulsen 1103 (8%), Isabel (40%) e SO4 (52%), que apresentaram níveis significativamente inferiores de incidência de folhas com sintomas.

A incidência de folhas com cancro (IFC) variou de 0 a 72% (Tabela 2). Os maiores valores foram observados nas variedades Benitaka, Brasil, Red Globe, Catalunha, Thompson Seedless e 420 A, que não diferiram significativamente entre si, indicando que nestes materiais a bactéria colonizou rapidamente os vasos condutores, demonstrando alta sensibilidade ao patógeno. Por outro lado, não foram observados cancros nas nervuras das folhas da variedade Paulsen 1103, evidenciando elevada resistência à colonização.

A severidade do cancro bacteriano, aos 42 dias após a inoculação, variou de 0,08 a 23,24% e as variedades foram distribuídas em quatro grupos de similaridade (Tabela 2). O grupo A incluiu as variedades Benitaka, Brasil, Catalunha e Thompson Seedless, que apresentaram elevada severidade da doença, diferindo significativamente das demais. As variedades dos grupos B e C apresentaram severidades variando de 4,48% a 9,14% e de 2,27% a 3,70%. O grupo D incluiu as variedades Paulsen 1103 e Isabel, que apresentaram menor severidade. ‘Paulsen 1103’ é um porta-enxerto resultante do cruzamento de *V. berlandieri* Planchon, *V. rupestris* Scheele e *V. riparia* Michaux e ‘Isabel’ pertence à espécie *V. labrusca* L. Estes resultados assemelham-se aos constatados por CHAND (1992), que testou 14 espécies de *Vitis*, sete outras vitáceas e 73 cultivares de *V. vinifera* em relação ao cancro bacteriano. Este autor verificou que entre as espécies de *Vitis* analisadas, *V. vinifera* foi altamente suscetível, *Vitis labrusca* se mostrou resistente (em condições de campo) ou moderadamente resistente (sob inoculação artificial), *V. rupestris* e *V. berlandieri* foram

resistentes e *V. riparia* altamente resistente. MALAVOLTA et al. (2003) também observaram elevada severidade do cancro bacteriano nas variedades Red Globe, Itália, Benitaka e Rubi, todas pertencentes à espécie *V. vinifera*. Já nas variedades Niágara branca (hibridação entre *V. labrusca* e *V. vinifera*) e Niágara rosada (mutação natural de Niágara branca), os autores observaram baixos níveis de severidade da doença, supondo que a resistência destes híbridos tenha vindo de *V. labruska*, cujo genótipo deve conter os genes para esta característica.

A taxa de progresso de incidência da doença (TPID) variou entre as variedades de $<0,0001$ a $0,0062$ monit/dia (Tabela 2), sendo a maior taxa constatada na variedade Brasil, que diferiu significativamente das demais. As variedades Isabel e Paulsen 1103 apresentaram taxas inferiores a $0,0001$ monit/dia, mas não diferiram significativamente de outras 14 variedades, todas incluídas no mesmo grupo de similaridade.

Os valores da área abaixo da curva do progresso da severidade da doença (AACPSD) variaram de $0,96$ a $477,04$, indicando diferenças em susceptibilidade entre as variedades (Tabela 2). Os menores valores foram apresentados pelas variedades Paulsen 1103 e Isabel, que formaram o grupo de similaridade D, enquanto a variedade Brasil apresentou o valor mais elevado, constituindo isoladamente o grupo A.

Foram constatadas correlações significativas ($P=0,05$) entre as variáveis PI, INC, IFC, SEV, TPID e AACPSD (Tabela 3), demonstrando que qualquer uma pode ser utilizada em pesquisas envolvendo reação de cultivares ao cancro bacteriano da videira. No entanto, a avaliação da severidade aos 42 dias (SEV), com o auxílio da escala diagramática (NASCIMENTO et al., 2005) propiciou níveis elevados de correlação com as demais variáveis, além de propiciar elevada precisão, acurácia e repetibilidade nas estimativas. Com base no conjunto dos componentes epidemiológicos do cancro bacteriano da videira, a análise da distância Euclidiana por UPGMA permitiu a distinção de três grupos de similaridade entre as variedades de copa e porta-enxerto, quando considerado 50% da distância total verificada (Figura 1). Entre as variedades de copa, um grupo foi formado somente pela variedade Brasil,

um segundo grupo pela variedade Isabel e enquanto as demais variedades constituíram o terceiro grupo de similaridade. Para as variedades de porta-enxerto, um grupo foi formado somente pela variedade Paulsen 1103, um segundo grupo pela variedade SO4 e as demais variedades constituíram o terceiro grupo de similaridade. Esses resultados confirmam a existência de variabilidade entre as variedades, tanto de copa como porta-enxerto, quanto à sensibilidade a *X. campestris* pv. *Viticola*, considerando os componentes epidemiológicos da doença.

CONCLUSÕES

As variedades de *V. vinifera* foram muito suscetíveis a *X. campestris* pv. *viticola*. Por outro lado, variedades pertencentes a outras espécies, como Isabel e Paulsen 1103, mostraram grande potencial para utilização em programas de melhoramento genético e de manejo integrado do cancro bacteriano da videira, por apresentarem reduzidos níveis de doença em todos os componentes epidemiológicos avaliados. No entanto, a variedade Isabel, que apesar de ser a mais cultivada no Brasil como uva de mesa (POMMER et al., 2003), não é plantada em grande escala na região do Submédio São Francisco, e a variedade Paulsen 1103, por ser porta-enxerto, só poderá ser utilizada como tal. Contudo, testes devem ser realizados em condições de campo para observação do comportamento destas variedades sob infecção natural pelo patógeno, bem como devem ser incluídas outras espécies de *Vitis* nos testes.

AGRADECIMENTOS

Os autores expressam seus agradecimentos a Dra. Patrícia Coelho de Souza Leão, da Embrapa Semi-Árido (Petrolina – PE), pela concessão das mudas de videira utilizadas neste trabalho, ao Engenheiro Agrônomo Gleydson Silva Castro Sousa, pela colaboração na execução desse trabalho e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley & Sons, 1990. 532p.

CHAND, R. Grapevine bacterial canker disease and its management. **Drakshavritta Souvenir**, Pune, v. 6, p. 74-78, 1989.

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

IAMSUPASIT, N. et al. Components of quantitative resistance to anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in tetraploid accessions of the pasture legume *Stylosanthes hamata*. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Sydney, v. 33, p. 855-860, 1993.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2002. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 19 nov. 2004.

KONG, G.A.. et al. Components of quantitative resistance in sunflower to *Alternaria helianthi*. **Annals of Applied Biology**, London, v. 130, p. 439-451, 1997.

KRANZ, J. **Comparative epidemiology of plant diseases**. Berlin: Springer-Verlag, 2002. 206p.

LIMA, M.F. et al. Bacterial canker of grapevine in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.24, n. 3, p. 440-443, 1999.

MALAVOLTA JR., V.A. et al. Ocorrência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em videira no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 262-264, 1999.

MALAVOLTA JR., V.A et al. Resistência de variedades de videira a *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 3, p. 373-376, 2003.

NASCIMENTO, A.R.P.; MARIANO, R.L.R. Cancro bacteriano da videira: etiologia, epidemiologia e medidas de controle. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 301-307, 2004.

NASCIMENTO, A.R.P. et al. Elaboração e validação de escala diagramática para cancro bacteriano da videira. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.31, n.1, p.56-61, 2005.

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

PARLEVLIEET, J.E. Componentes of resistance that reduce the rate of epidemic developmente. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 17, p. 203-222, 1979.

POMMER, C.V. et al. Cultivares, melhoramento e fisiologia. In: POMMER, C.V. (Ed.). **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. p. 109-294.

SHANER, G., FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v.67, n.8, p.1051-1056, 1977.

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

Tabela 1. Características das variedades de videira (POMMER et al., 2003) avaliadas quanto a reação a *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, em condições de casa de vegetação, Recife, PE.

Variedade	Tipo	Coloração da baga	Espécie
Benitaka	Copa, com semente	Rosada-escura	Vitis vinifera
Brasil	Copa, com semente	Roxa-escura	V. vinifera (mutação somática da uva Benitaka)
Cabernet	Copa, com semente	Preta	V. vinifera
Isabel	Copa, com semente	Preta-azulada	V. labrusca
Itália	Copa, com semente	Verde-amarelada	V. vinifera
Moscatel	Copa, com semente	Preto-avermelhada	Cruzamento de V. labrusca X híbridos com V. vinifera
Patrícia	Copa, com semente	Preta	Híbrido de IAC de 3a. geração
Petit Sirah	Copa, com semente	Rosada	-
Red Globe	Copa, com semente	Rosada	V. vinifera
Catalunha	Copa, sem semente	Verde	Variedade não identificada
Crimson Seedless	Copa, sem semente	Rosada	-
Superior Seedless	Copa, sem semente	Verde	Obtida em programa privado de melhoramento na Califórnia, EUA
Thompson Seedless	Copa, sem semente	Verde	Originária da Ásia Menor
Courdec 1613	Porta-enxerto	-	Cruzamento de V. berlandieri , V. rupestris e V. riparia
Harmony	Porta-enxerto	-	Cruzamento de V. riparia , V. rupestris , V. candicans com V. champini
IAC 572	Porta-enxerto	-	Cruzamento de V. caribaea e V. riparia com V. rupestris
IAC 766	Porta-enxerto	-	Cruzamento de V. riparia , V. rupestris , V. cordifolia com V. caribaea
Paulsen 1103	Porta-enxerto	-	Cruzamento de V. berlandieri , V. rupestris e V. riparia
SO4	Porta-enxerto	-	Cruzamento de V. berlandieri com V. riparia
420 A	Porta-enxerto	-	Cruzamento de V. berlandieri com V. riparia

Tabela 2. Reação de variedades de videira a *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, baseada nos componentes epidemiológicos do cancro bacteriano: período de incubação (PI), incidência de folhas com sintomas (INC), incidência de folhas com cancro (IFC), severidade da doença aos 42 dias (SEV), taxa de progresso de incidência da doença (TPID) e área abaixo da curva do progresso da severidade da doença (AACPSD).

Tipo	Variedade	PI (dias) ¹	INC (%) ²	IFC (%) ³	SEV (%) ⁴	TPID (monit/dia) ⁵	AACPSD ⁶
Copa - com semente	Benitaka	8,00 b ⁷	100,00 a	64,00 a	15,20 a	0,0038 b	281,22 b
	Brasil	8,00 b	100,00 a	72,00 a	23,24 a	0,0062 a	477,04 a
	Cabernet	9,60 b	84,00 a	44,00 b	4,48 b	0,0008 c	83,76 c
	Isabel	37,40 a	40,00 b	20,00 b	0,28 d	<0,0001 c	2,18 d
	Itália	9,40 b	100,00 a	32,00 b	8,60 b	0,0016 c	144,74 c
	Moscatel	8,00 b	88,00 a	28,00 b	8,52 b	0,0020 c	145,38 c
	Patrícia	9,60 b	92,00 a	28,00 b	6,54 b	0,0012 c	133,27 c
	Petit Sirah	10,80 b	84,00 a	20,00 b	3,70 c	0,0010 c	76,48 c
	Red Globe	9,40 b	100,00 a	52,00 a	9,14 b	0,0022 c	182,61 b
Copa - sem semente	Catalunha	9,40 b	100,00 a	56,00 a	14,44 a	0,0032 b	221,49 b
	Crimson Seedless	11,00 b	84,00 a	32,00 b	4,82 b	0,0010 c	93,14 c
	Superior Seedless	21,40 b	80,00 a	24,00 b	5,14 b	0,0012 c	64,62 c
	Thompson Seedless	8,00 b	100,00 a	72,00 a	17,80 a	0,0046 b	269,41 b
Porta-enxerto	Courdec 1613	12,60 b	92,00 a	44,00 b	3,28 c	0,0010 c	66,26 c
	Harmony	16,80 b	80,00 a	40,00 b	6,10 b	0,0016 c	110,48 c
	IAC 572	12,20 b	96,00 a	28,00 b	6,18 b	0,0014 c	118,48 c
	IAC 766	9,40 b	80,00 a	24,00 b	2,56 c	0,0004 c	58,62 c
	Paulsen 1103	41,60 a	8,00 b	0,00 b	0,08 d	<0,0001 c	0,96 d
	SO4	13,60 b	52,00 b	24,00 b	2,27 c	0,0002 c	36,56 c
	420 A	14,00 b	100,00 a	56,00 a	7,20 b	0,0016 c	113,44 c
C. V. (%)	18,18	10,18	46,35	22,08	0,12	27,20	

¹Período de incubação, representado pelo tempo entre a inoculação e o aparecimento dos sintomas. Plantas que não apresentaram sintomas da doença tiveram o período de incubação ajustado para 43 dias, correspondendo ao período de avaliação total acrescido de um dia (IAMSUPASIT et al., 1993).

²Incidência de folhas com sintomas da doença, aos 42 dias após a inoculação do patógeno.

³Incidência de folhas com cancro, aos 42 dias após a inoculação do patógeno.

⁴Severidade da doença aos 42 dias após a inoculação, estimada com o auxílio de escala diagramática variando de 2 a 91% de área foliar com sintomas (NASCIMENTO et al., 2005).

⁵Taxa de progresso da incidência da doença, estimada pelo parâmetro *b* da equação de regressão linear simples, tendo a proporção da incidência de folhas doentes linearizada pela transformação monomolecular [$y = \ln[1/(1-y)]$] (CAMPBELL & MADDEN, 1990) como variável dependente e o tempo em dias após a inoculação como variável independente.

⁶Área abaixo da curva do progresso da severidade da doença, calculada conforme SHANER & FINNEY (1977).

⁷Dados originais. Para efeito de análise, todos os dados foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$. Médias seguidas da

mesma na coluna não diferem significativamente (P=0,05) entre si pelo teste de Scott-Knott.

Tabela 3. Coeficientes de correlações entre os componentes epidemiológicos do cancro bacteriano da videira: período de incubação (PI), incidência de folhas com sintomas (INC), incidência de folhas com cancro (IFC), severidade aos 42 dias (SEV), taxa de progresso de incidência da doença (TPID) e área abaixo da curva do progresso da severidade da doença (AACPSD).

	INC	IFC	SEV	TPID	AACPSD
PI	0,88*	-0,59*	-0,54*	-0,49*	-0,54*
INC	-	0,72*	0,63*	0,59*	0,61*
IFC		-	0,85*	0,85*	0,82*
SEV			-	0,99*	0,98*
TPID				-	0,98*

*Coeficientes de correlação de Pearson significativos a 5% de probabilidade.

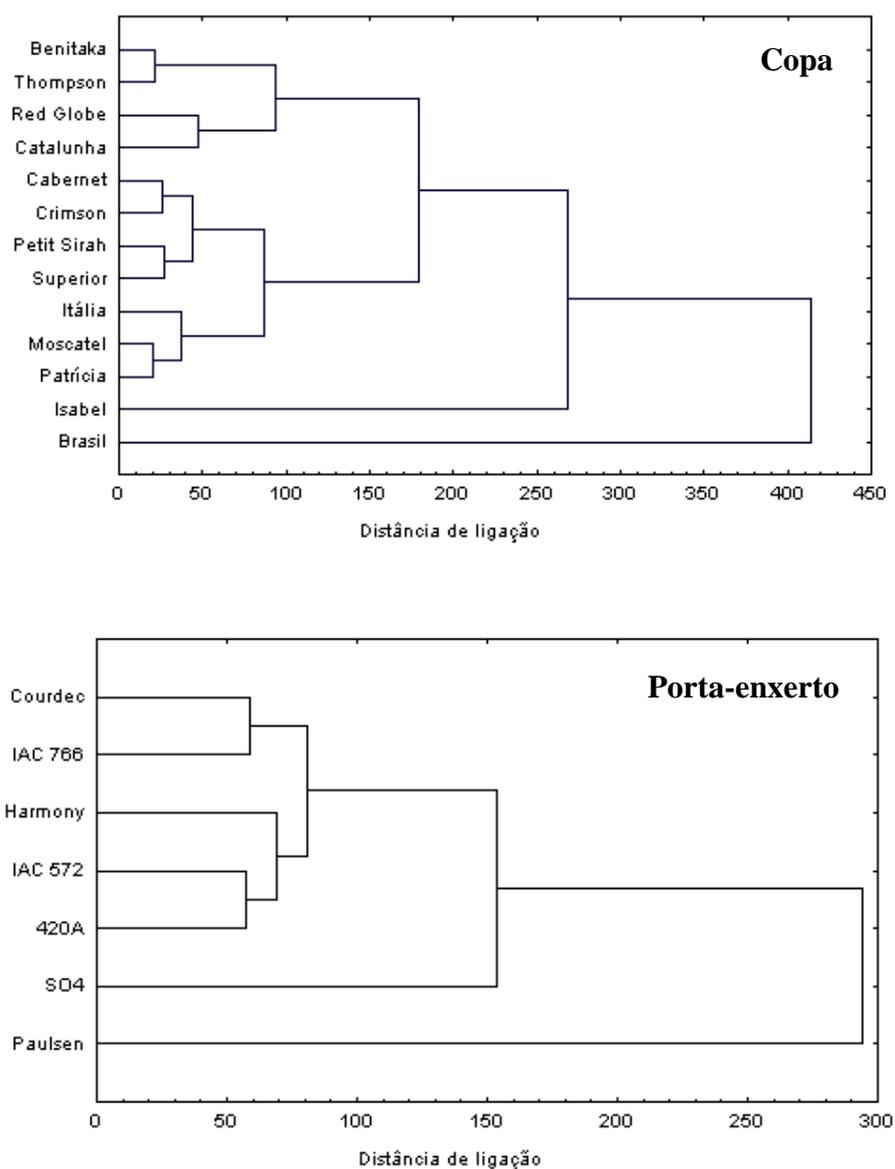


Figura 1. Agrupamento de 13 variedades de copa e 7 variedades de porta-enxerto de videira, baseado na análise da distância Euclidiana por UPGMA, considerando os componentes epidemiológicos do cancro bacteriano: período de incubação (PI), incidência de folhas com sintomas (INC), incidência de folhas com cancro (IFC), severidade da doença aos 42 dias (SEV), taxa de progresso de incidência da doença (TPID) e área abaixo da curva do progresso da severidade da doença (AACPSD).

Conclusões gerais

CONCLUSÕES GERAIS

- 1 - A dessecação em papel de filtro e água destilada esterilizada foram os métodos mais eficientes com relação à viabilidade e manutenção da patogenicidade para *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*.
- 2 - Um crescimento ótimo de *X. campestris* pv. *viticola* ocorreu no intervalo de temperatura de 27 a 29 °C, enquanto que, as temperaturas mínima e máxima para o crescimento foram respectivamente 5 e 39 °C. *X. campestris* pv. *viticola* não cresce a 0 e 40 °C.
- 3 - A faixa de pH ótima para o crescimento de *X. campestris* pv. *viticola* foi 7,0 a 7,5.
- 4 - *X. campestris* pv. *viticola* cresceu nos meios contendo 1 a 5% de NaCl e teve o crescimento reduzido a partir de 2,5%, sendo NaCl a 6,0 % letal para essa bactéria.
- 5 - A escala diagramática para avaliação do cancro bacteriano da videira proporcionou boa acurácia e precisão das estimativas, mostrando-se de fácil utilização, capaz de fornecer uma rápida estimativa da doença e aplicável a várias situações.
- 6 - Todas as variedades de videira inoculadas com *X. campestris* pv. *viticola* apresentaram sintomas do cancro bacteriano.

- 7 - Os componentes epidemiológicos: período de incubação, incidência, incidência de folhas com cancro, severidade, taxa de progresso da incidência da doença e área abaixo da curva de progresso da severidade da doença podem ser utilizados em pesquisas envolvendo reação de variedades de videira ao cancro bacteriano.

- 8 - Considerando os componentes epidemiológicos da doença, observou-se variabilidade entre as variedades de copa e porta-enxerto de videira quanto à sensibilidade a *X. campestris* pv. *viticola*.

- 9 - A variedade Brasil apresentou os maiores níveis de doença para todas as variáveis testadas.

- 10 - As variedades Isabel e Paulsen 1103 destacaram-se por apresentarem os menores níveis de doença, indicando o potencial dessas para utilização em programas de melhoramento genético e manejo integrado do cancro bacteriano da videira.