

SENSIBILIDADE DE *XANTHOMONAS AXONOPODIS* PV. *PASSIFLORAE* A COBRE

SENSITIVITY OF XANTHOMONAS AXONOPODIS PV. PASSIFLORAE TO COPPER

Mário Machaim FRANCO¹; Armando TAKATSU²

RESUMO: O cultivo de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) é de grande importância para as regiões do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba. A bacteriose causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* é o principal fator limitante para a cultura do maracujazeiro. A sensibilidade de isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* a cobre foi avaliada, *in vitro*, nas dosagens de 0, 50, 100, 200, 300, 500 e 1000 ppm. Foram avaliados 38 isolados, provenientes dos estados de Minas Gerais e São Paulo. Dos 38 isolados testados, 3 apresentaram resistência até 300 ppm de cobre, 13 até 200 ppm, 25 até 100 ppm e somente 12 a 50 ppm. Não houve diferença de comportamento entre isolados de Minas Gerais e São Paulo. O uso intensivo de produtos cúpricos para o controle da doença pode levar, a longo prazo, à ocorrência de formas cada vez mais resistentes do patógeno.

UNITERMOS: *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, Bacteriose, Resistência, Cobre

INTRODUÇÃO

As regiões do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba se destacam como as principais áreas produtoras de maracujá amarelo no estado de Minas Gerais, com grande poder de expansão. Entre outros fatores favoráveis, se destacam as condições edafoclimáticas e o fato de estarem localizadas na região as principais indústrias processadoras de suco, com grande capacidade instalada ainda por ser explorada.

A bacteriose causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* é, atualmente, o principal fator limitante ou de risco para a cultura do maracujazeiro (RUGGIERO, 2000). Grandes investimentos foram feitos até agora para o estudo desta doença e, especialmente, do patógeno, mas poucos resultados objetivos e práticos têm sido obtidos quanto ao seu controle. Todas as medidas integradas de controle preconizada vêm sendo pouco eficientes devido à alta suscetibilidade da grande maioria dos materiais cultivados no Brasil.

Produtos a base de cobre são utilizados, há bastante tempo, no controle dessa doença. Uma das causas da severidade da bacteriose, pode estar relacionada com

a existência de variantes ou mutantes com elevada resistência ao cobre. Caso esta hipótese seja confirmada, as estratégias de controle precisam ser redirecionadas, considerando-se mais estes fatores.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a sensibilidade ao cobre dos isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* das regiões do Triângulo Mineiro, Alto Paranaíba e do estado de São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

Os 28 isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*, utilizados nos experimentos de laboratório, foram coletados, em diferentes localidades do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba; em lavouras infectadas e apresentando os sintomas típicos da doença. Dois isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* foram utilizados como referência de susceptibilidade, por não ser a cultura da mandioca, tratada com produtos químicos no campo, não sofrendo, portanto, nenhuma pressão de seleção para resistência a produtos cúpricos. Outros 10 isolados de *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, foram recebidos do Instituto Biológico de São Paulo, em forma de cul-

¹ Mestre em Fitopatologia, Universidade Federal de Uberlândia.

² Doutor em Agronomia, Universidade de São Paulo, Pesquisador visitante do CNPq.

Received 07/08/03

Accept 04/03/04

turas liofilizadas em ampolas de vidro.

Após a constatação da presença de bactéria, através de exame de fluxo nos materiais coletados, foi realizado o isolamento, diluindo-se os extratos macerados em

placas de Petri, contendo meio de cultura 523 (KADO; HESKETT, 1970) e incubando-as a 28-30°C, por 72 horas. Os isolados identificados foram preservados através do método de dessecação em papel de filtro (TAKATSU,

Quadro 1. Crescimento dos isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* submetidos à diferentes concentrações de CuSO₄.

Isolado	Procedência	0 ppm	50 ppm	100 ppm	200 ppm	300 ppm	500 ppm	1000 ppm
120	TM*	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
94	TM	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
1536	SP	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
112	TM	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
444	SP	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
960	SP	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
996	SP	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
110	TM	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
113	TM	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
81	TM	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
428	SP	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
111	TM	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
83	TM	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
122	SP	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
148	SP	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
445	SP	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
89	TM	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
61	TM	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
114	TM	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
116	TM	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
996	SP	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
79	TM	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
53	TM	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
92	TM	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
941	SP	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
44	TM	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
55	TM	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
78	TM	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
80	TM	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
117	TM	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
1151	SP	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
12	TM	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
115	TM	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
129	SP	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
68	TM	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
121	SP	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
90	TM	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
118	TM	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Xcm.27	BR	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Xcm.37	BR	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

* Procedência : TM = Triângulo Mineiro; SP = estado de São Paulo; BR = Brasília

1980) e fazem parte da Coleção de Bactérias Fitopatogênicas da Universidade Federal de Uberlândia para intercâmbio com outras instituições de pesquisa.

Para o teste de sensibilidade ao cobre, foram utilizados 40 isolados e meio de cultura especial (caseína hidrolisada ácida, 3g; extrato de levedura, 0,6g; glicerina, 3ml; volume final de 1,5 litros de água destilada; pH ajustado para 7,0 e agar bacteriológico, 18g).

Foi preparada uma suspensão a 10% de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e, posteriormente, volumes definidos dessa solução foram adicionados ao meio de cultura fundido a fim de se obterem as concentrações de: 0ppm (testemunha), 50ppm, 100ppm, 200ppm, 300ppm, 500ppm e 1000ppm. Culturas de cada isolado da bactéria foram cultivadas durante 72 horas, em meio de cultura 523, e, posteriormente, suspensões foram preparadas em água destilada e ajustadas em colorímetro para absorvância de 0,3 (comprimento de onda de 520 nm). Cada placa de Petri, em cada concentração de cobre, foi dividida em 4 partes, sendo utilizada para testar 4 isolados, com 3 repetições, em delineamento inteiramente casualizado.

As suspensões foram riscadas nas placas com alça de níquel-cromo e colocadas para incubar durante 72 horas à 28-30°C. A leitura das placas foi feita para observar se houve crescimento bacteriano (+) ou não (-). Observou-se, também, a concentração máxima de cobre em que houve crescimento bacteriano.

RESULTADOS

Pelos dados obtidos no QUADRO 1, pode-se verificar que, dos 38 isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* testados, 12 apresentaram resistência a até 50 ppm de concentração de CuSO_4 ; 25 a até 100 ppm; 13, a até 200 ppm e, somente, 3 apresentaram resistência a até 300 ppm. Somente um isolado não cresceu na concentração (50 ppm) mínima de cobre. Os dois isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* apresentaram resistência somente a 50 ppm de cobre.

DISCUSSÃO

Pode-se verificar que a ocorrência de formas mais resistentes estavam tanto no Triângulo Mineiro, como

no estado de São Paulo. A expectativa de que a alta severidade da bacteriose, naquele Estado, poderia ser devido à predominância de formas resistentes ao cobre, resultante da pressão de seleção pelo uso mais intenso de fungicidas cúpricos, não se confirmou neste trabalho.

Entretanto, a constatação da presença de *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, com resistência a 300 ppm de CuSO_4 , indica a ocorrência de processo de pressão de seleção para formas mais resistentes ao cobre. Com o uso intensivo de tratamentos com fungicidas cúpricos, a tendência esperada é, a longo prazo, a ocorrência de formas cada vez mais resistentes, comprometendo, ainda mais, a eficiência desses produtos no controle da doença.

Isolados de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* apresentaram diferenças de crescimento na presença de cobre, de acordo com o meio utilizado, devido à capacidade que os meios possuem de complexar cobre. Isso torna difícil estabelecerem-se concentrações de cobre que distingam bactérias sensíveis e resistentes, sendo necessário a escolha de um meio de cultura mais adequado e padronizado para que os diferentes trabalhos sigam a mesma metodologia e os resultados possam ser comparados (SILVA; LOPES, 1995). Bird et al. (1985) demonstraram que o cobre é modificado na presença de agar.

CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos pode-se concluir que está havendo pressão de seleção em direção a formas mais resistentes do patógeno ao cobre, tendo em vista a constatação de alguns isolados com resistência até 300 ppm de CuSO_4 . Com o uso intensivo de tratamentos com fungicidas cúpricos, a tendência esperada é, a longo prazo, a ocorrência de formas cada vez mais resistentes, comprometendo a eficiência desses produtos no controle da bacteriose do maracujazeiro.

AGRADECIMENTOS

O trabalho contou com a colaboração de Rafael José da Silva (Viveiro Flora Brasil / Araguari-MG) e Hércules José de Oliveira (Kraft Foods / Araguari-MG) que enviaram materiais enfermos para o isolamento da bactéria.

ABSTRACT: Yellow passion fruit is an important fruit crop in Triângulo Mineiro and Alto Paranaíba regions. The bacteriosis caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* is the major limiting factor to production of this crop. The sensitivity of *X. axonopodis* pv. *passiflorae* strains was evaluated, in 0 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 500 ppm and 1000 ppm of copper sulfate. Thirty eight *X. axonopodis* pv. *passiflorae* strains from Minas Gerais and São Paulo were evaluated. Three strains showed resistance up to 300 ppm of copper, thirteen strains up to

200 ppm, twenty five up to 100 ppm and twelve up to 50 ppm. No difference was detected among strains from Minas Gerais and São Paulo. The intensive use of cupric products to control the disease may lead to the occurrence of more resistant forms of the pathogen.

UNITERMS: *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, Bacteriosis, Resistance, Copper

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIRD, N. P.; CHAMBERS, J. G.; LEECH, R. W.; CUMMIND, D. A note on the use of metal species in microbiological tests involving growth media. **Journal and Applied Bacteriology**, v.59, p.353-355, 1985.

KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Seletive media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* e *Xanthomonas*. **Phytopathology**, v. 60, p. 969-979, 1970.

RUGGIERO, C. Situação da cultura do maracujazeiro no Brasil. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 21, n. 206, p. 05-09, set/out. 2000.

SILVA, V. L.; LOPES, C. A. Isolados de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* resistentes a cobre em tomateiros pulverizados com fungicidas cúpricos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 1, p.85-89. 1995.

TAKATSU, A. Preservação das bactérias fitopatogênicas pelo método de dessecação. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 5, n. 2, p.461, 1980.