



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DE PERNAMBUCO**
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM FITOPATOLOGIA**

TESE DE DOUTORADO

**Tratamento de bacelos, sobrevivência de
Xanthomonas campestris pv. *viticola* em tesouras
de raleio, desinfestação desta ferramenta e de
água utilizada na produção de mudas de videira**

Carine Rosa Naue

Recife-PE

2013

CARINE ROSA NAUE

Tratamento de bacelos, sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em tesouras de raleio, desinfestação desta ferramenta e de água utilizada na produção de mudas de videira

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

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientadora: Dra. Rosa de Lima Ramos Mariano - Orientadora

Co-Orientadoras: Dra. Maria Angélica Guimarães Barbosa

Dra. Elineide Barbosa de Souza

**RECIFE-PE
FEVEREIRO – 2013**

**TRATAMENTO DE MATERIAL PROPAGATIVO DE VIDEIRA E
DESINFESTAÇÃO DE FERRAMENTAS DE CULTIVO E ÁGUA CONTAMINADAS
COM *Xanthomonas campestris* pv. *viticola***

CARINE ROSA NAUE

Tese defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 22/02/2013

ORIENTADORA:

Dra. Rosa de Lima Ramos Mariano (UFRPE)

EXAMINADORES:

Dr.^a Maria Angélica Guimarães Barbosa (CPTSA/EMBRAPA)

Prof. Dr. Delson Laranjeira (UFRPE)

Prof. Dr. Prof. Dr. Gilvan Pio Ribeiro (UFRPE)

Dr. Adriano Márcio Freire Silva

Aos meus pais Irio Naue e Maristé! Rosa e aos meus padrinhos Mauro e Ireni Becker por darem sentido a minha vida, serem pessoas exemplares e mostrarem-me o caminho profissional a ser trilhado, *DEDICO*.

AGRADECIMENTOS

“Agradecer é admitir que houve um momento em que se precisou de alguém; é reconhecer que o homem jamais poderá lograr para si o dom de ser auto-suficiente. Ninguém e nada cresce sozinho; sempre é preciso um olhar de apoio, uma palavra de incentivo, um gesto de compreensão, uma atitude de amor.” (Autor Desconhecido)

Ao Curso de Pós-Graduação em Fitopatologia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco e a Embrapa Semiárido, pela oportunidade e infra-estrutura para realização do presente estudo;

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do estado de Pernambuco (FACEPE) pela concessão da bolsa de doutorado;

À minha orientadora Dra. Rosa Lima de Ramos Mariano, pela orientação, dedicação, paciência, apoio durante os trabalhos e pelos exemplos e ensinamentos frente às responsabilidades profissionais, os quais contribuiram para minha formação profissional;

À minha co-orientadora Dra. Maria Angélica Guimarães Barbosa, pela amizade, pelo carinho, pelas discussões científicas ou de assuntos aleatórios, pelo agradável ambiente de trabalho que fizeram meus dias execução de tese serem prazerosos, pela disponibilidade de infra-estrutura, por incentivar e oportunizar atividades as quais foram essenciais para meu crescimento profissional.

À minha co-orientadora, Elineide Barbosa de Souza, pela constante colaboração e correção da tese.

Ao pesquisador Diógenes da Cruz Batista, por ter realizado as análises estatísticas deste trabalho;

Aos funcionários e bolsistas do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Semiárido, Edna Barros, Yandra Ribeiro Nunes, José do Espírito Santo Silva, Cícero Barbosa Filho, Valéria Costa, Carlos Luciano, Cristiane Lima e Rafaela Rosa pela amizade e auxílio durante a realização deste trabalho. Em especial ao funcionário Francisco (Chiquinho), pela valiosa amizade, dedicação e disposição em auxiliar-me nos trabalhos conduzidos;

Aos meus queridos amigos, Marília Marques, Nelson Bernardi, Josiclêda Galvêncio e Kátia Félix pela amizade, companheirismo e momentos de alegria, risadas e descontração;

Ao meu pai Irio Inácio Naue pelo exemplo de responsabilidade e profissionalismo. A minha mãe Maristél Rosa pelo amor, carinho e apoio em todas as minhas realizações...

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	viii
GENERAL ABSTRACT.....	x
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUÇÃO GERAL	2
1. Importância da videira no Vale do Submédio São Francisco	2
2. Cancro bacteriano da videira no Brasil.....	3
2.1 <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>viticola</i>	4
2.2 Sintomatologia	5
2.3 Ecologia e Epidemiologia	7
2.4 Diagnose.....	8
2.5 Controle	9
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	12
CAPÍTULO II.....	17
EFEITO DO TRATAMENTO DE BACELOS DE VIDEIRA ‘RED GLOBE’ NO CONTROLE DO CANCRO BACTERIANO.....	19
RESUMO	19
ABSTRACT	20
INTRODUÇÃO.....	21
MATERIAL E MÉTODOS.....	22
RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
CONCLUSÕES	29
AGRADECIMENTOS	30
REFERÊNCIAS	30
CAPÍTULO III	39
SOBREVIVÊNCIA DE <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>viticola</i> E DESINFESTAÇÃO DE FERRAMENTAS DE CULTIVO DA VIDEIRA E DE ÁGUA CONTAMINADA.....	40

RESUMO	40
INTRODUÇÃO.....	41
MATERIAL E MÉTODOS.....	43
RESULTADOS	47
DISCUSSÃO.....	49
AGRADECIMENTOS	52
REFERÊNCIAS	52
CONCLUSÕES GERAIS	61

RESUMO GERAL

A introdução e a disseminação do cancro bacteriano da videira causado por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (*Xcv*) ocorre, dentre outras formas, por meio de mudas, bacelos e ferramentas de cultivo. Este trabalho teve como objetivos: avaliar a eficiência dos tratamentos de bacelos de videira para erradicação de *Xcv* utilizando termoterapia, bactericidas e sanitizantes; comprovar a sobrevivência de *Xcv* em tesouras de raleio; e selecionar sanitizantes eficientes para a desinfestação destas ferramentas e da água utilizada na produção de mudas. No primeiro trabalho, os isolados de *Xcv* foram testados quanto à patogenicidade e realizado o teste de sensibilidade “*in vitro*” a bactericidas e sanitizantes (oxitetraciclina+estreptomicina, oxitetraciclina+sulfato de cobre, casugamicina e oxitetraciclina; cloreto de dodecildimetil amônio, hipoclorito de sódio e cloreto de benzalcônio) em diferentes concentrações. A erradicação de *Xcv* em bacelos de videira foi testada em experimentos com termoterapia (50°C por 30 e 40 min; 53°C por 5 e 10 min); bactericidas [oxitetraciclina+sulfato de cobre (150+2000, 165+2200, 180+2400 e 195+2600 mg L⁻¹ de H₂O) e oxitetraciclina (600, 700, 800 e 900 mg L⁻¹); e sanitizantes [cloreto de dodecildimetil amônio (600, 1200, 1800, 2400, 3000 µL L⁻¹); hipoclorito de sódio (5000, 10000, 20000, 30000, 40000 µL L⁻¹) e cloreto de benzalcônio (125, 167, 250, 334, 500 µL L⁻¹)]. O bactericida oxitetraciclina e os sanitizantes cloreto de dodecildimetil amônio e hipoclorito de sódio proporcionaram os maiores halos de inibição, *in vitro*. No entanto, não foi possível recomendar um tratamento termoterápico, bactericida ou sanitizante, dentre os testados, capaz de erradicar *Xcv* de bacelos de videira infectados. No segundo trabalho, a sobrevivência foi avaliada de 0 a 42 h após imersão das tesouras em suspensão do patógeno. Teste de sensibilidade de *Xcv in vitro* e seleção inicial em tesouras foram realizados com os sanitizantes cloreto de dodecildimetil amônio (1200 µL L⁻¹), hipoclorito de sódio (20000 µL L⁻¹), cloreto de benzalcônio (250 µL L⁻¹), dicloroisocianurato de sódio (16,25 mg L⁻¹), hipoclorito de cálcio (130 mg L⁻¹), oxiclloreto de cálcio (97,5 mg L⁻¹) e dióxido de cloro (25 µL L⁻¹). Para validação da eficiência dos sanitizantes na desinfestação de tesouras, os dois primeiros produtos foram testados nas mesmas concentrações, sendo realizados 50 cortes sequenciais, em folhas de videira. A testemunha com *Xcv* permitiu verificar a capacidade de disseminação de *Xcv* a partir da fonte de inóculo. A viabilidade dos sanitizantes foi estudada de 0 a 8 h após o preparo das soluções. Para desinfestação de água contaminada com *Xcv* foram testados 2 bactericidas e três sanitizantes. *Xcv* sobreviveu 24 h em tesouras de raleio. Hipoclorito de sódio (20000 µL L⁻¹) e cloreto de dodecildimetil amônio (1200 µL L⁻¹) proporcionaram os maiores halos de inibição e desinfestaram tesouras contaminadas com *Xcv*.

As soluções destes sanitizantes mantiveram-se viáveis por 8 h. *Xcv* foi disseminada por tesouras de raleio contaminadas, em média, até o 24º corte. A desinfestação da água contaminada com *Xcv* utilizada na produção de mudas foi obtida pelo uso de cloreto de dodecildimetil amônio ($600 \mu\text{l L}^{-1}$), hipoclorito de sódio ($5000 \mu\text{l L}^{-1}$) e cloreto de benzalcônio ($250 \mu\text{l L}^{-1}$).

Palavras-chaves: *Vitis* sp., antibióticos, cancro bacteriano da videira, controle, sanitizantes, termoterapia.

GENERAL ABSTRACT

The introduction and spread of grapevine bacterial canker caused by *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (*Xcv*) occurs, among other ways, through plantlets, grapevine cuttings and farming tools. This study aimed to: evaluate the effectiveness of treatments of cuttings to eradicate *Xcv* using thermotherapy, bactericides and sanitizers; prove the survival of *Xcv* into thinning shears; and select efficient sanitizers for disinfection of these tools and water used in the production of plantlets. In the first study, the *Xcv* isolates were tested for pathogenicity and "in vitro" sensitivity to bactericides and sanitizers (streptomycin+oxytetracycline, oxytetracycline+copper sulfate, kasugamycin and oxytetracycline; dodecyldimethyl ammonium chloride, sodium hypochlorite and benzalkonium chloride) at different concentrations. The eradication of *Xcv* on cuttings was tested in experiments with thermotherapy (50°C for 30 and 40 min; 53°C for 5 and 10 min); bactericides [oxytetracycline+copper sulphate (150+2000, 165+2200, 180+2400 and 195+2600 mg L⁻¹ of H₂O) and oxytetracycline (600, 700, 800 and 900 mg L⁻¹)] and sanitizers [dodecyldimethyl ammonium chloride (600, 1200, 1800, 2400, 3000 µl L⁻¹) sodium hypochlorite (5000, 10000, 20000, 30000, 40000 µl L⁻¹) and benzalkonium chloride (125, 167, 250, 334, 500 µl L⁻¹)]. The bactericidal oxytetracycline and sanitizers dodecyldimethyl ammonium chloride and sodium hypochlorite provided the largest zones of inhibition, *in vitro*. However, it was not possible to recommend an efficient treatment of temperature/time, and concentrations of bactericides or sanitizers, among those tested, capable of eradicating *Xcv* of infected grapevine cuttings. In the second study, survival was evaluated 0-42 h after dipping the scissors in pathogen suspension. *In vitro* susceptibility test and initial selection in scissors were performed with the sanitizers dodecyldimethyl ammonium chloride (1200 µl L⁻¹), sodium hypochlorite (20000 µl L⁻¹), benzalkonium chloride (250 µl L⁻¹), sodium dichloroisocyanurate (16.25 mg L⁻¹), calcium hypochlorite (130 mg L⁻¹), calcium oxychloride (97.5 mg L⁻¹) and chlorine dioxide (25 µl L⁻¹). To validate the efficiency of sanitizers for disinfection of scissors the first two products were tested at the same concentrations, and 50 cuts were sequentially made in vine leaves. The controls only with *Xcv* allow verifying the dissemination ability of *Xcv* from an inoculum source. The viability of the same sanitizers was studied 0-8 h after solution preparation. Disinfection of water contaminated with *Xcv* was tested with two bactericidal and three sanitizers. *Xcv* survived 24 h in thinning shears. Sodium hypochlorite (20000 µl L⁻¹) and dodecyldimethyl ammonium chloride (1200 µl L⁻¹) provided the greatest inhibition halos and disinfested scissors contaminated with *Xcv*. Solutions of

these sanitizers remained viable for 8 h. *Xcv* was spread by contaminated thinning shears, on average, until the 24th cut. Disinfestation of the water contaminated with *Xcv* utilized in the plantlets production was obtained by dodecyldimethyl ammonium chloride ($600 \mu\text{l L}^{-1}$), sodium hypochlorite ($5000 \mu\text{l L}^{-1}$) and benzalkonium chloride ($250 \mu\text{l L}^{-1}$).

Keywords: *Vitis* sp., antibiotics, bacterial canker of grapevine, control, sanitizers, thermotherapy.

CAPÍTULO I

Introdução Geral

Tratamento de bacelos, sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em tesouras de raleio, desinfestação desta ferramenta e de água utilizada na produção de mudas de videira

INTRODUÇÃO GERAL

1. Importância da videira no Vale do Submédio São Francisco

A videira pertence à família Vitaceae que está dividida em várias subfamílias compreendendo um grande número de gêneros e espécies. No Brasil, dentre as espécies mais cultivadas, devido às características que apresentam, destacam-se a *Vitis vinifera* L. e *Vitis labrusca* L. (TEIXEIRA; AZEVEDO, 1996). As uvas finas de mesa são em sua maioria variedades de *V. vinifera*, de origem européia, que apresentam bagas grandes e polpa carnosa, enquanto as uvas comuns são compostas por variedades ou híbridos de *V. labrusca*, de origem americana, que apresentam bagas médias a grandes com polpa mucilaginosa.

A viticultura brasileira ocupa atualmente uma área de 80 mil hectares (AGRIANUAL, 2011), que se estende desde o extremo Sul até regiões próximas à Linha do Equador. Duas regiões produtoras se destacam: o Rio Grande do Sul e o Vale do Submédio São Francisco (MAPA, 2012).

No Vale do Submédio São Francisco essa cultura começou a se intensificar na década de 1950, com um aumento significativo de produção a partir da década de 1990. A expansão da viticultura nessa região deve-se ao clima predominantemente quente e seco durante grande parte do ano, a infraestrutura de irrigação e a mão de obra disponível (FREIRE; OLIVEIRA, 2001; CAMARGO, 2003). A aceleração dos processos fisiológicos e o sucesso do manejo com o uso da irrigação garantem rápido crescimento dos vinhedos. O ciclo de produção gira em torno de 120 dias permitindo 2,5 safras por ano com produtividade acima da média nacional (CORREIA, 2000; SILVA; CORREIA, 2000).

A região do Vale do Submédio São Francisco se destaca como grande produtora e exportadora de uvas finas de mesa de alta qualidade e, mais recentemente, na produção de uvas viníferas. A participação da produção dessa região responde atualmente por 99% das exportações brasileiras anuais da fruta, tanto em volume quanto em valores de produção (VALEXPOR, 2011). O Vale do Submédio São Francisco também responde por mais de 15% da produção brasileira de vinhos, distribuída entre seis vinícolas em 700 hectares de vinhedos. A cultura da videira ainda desempenha um papel social importante, pois gera em torno de 30 mil empregos diretos e indiretos na região (SILVA; CORREIA, 2000).

Apesar do alto potencial para produção de uvas finas de mesa, existem problemas fitossanitários que, se não contornados, podem ocasionar sérios prejuízos e diminuir a vida útil dos parreirais instalados a médio/longo prazo. Várias doenças incitadas por bactérias, fungos, nematoides e vírus comprometem a parte aérea e o sistema radicular das plantas, causando perdas expressivas na produtividade dessa cultura. No Brasil, ocorrem apenas duas bacterioses na videira, a galha da coroa e o cancro bacteriano, que é a mais importante.

2. Cancro bacteriano da videira no Brasil

Até 1969, o cancro bacteriano não havia ainda sido relatado, porém neste ano na Índia, Nayudu observou em plantios de videiras da variedade Anab-e-Shahi manchas foliares escuras de 1 a 2 mm de diâmetro, lesões nas nervuras, que mesmo depois de secas não se destacavam da haste e cancrios alongados de 1 a 2 cm nos ramos e pecíolos (NAYUDU, 1972). A partir da observação destes sintomas, de testes bioquímicos e de patogenicidade, o agente causal foi classificado como *Pseudomonas viticola* sp. nov. Nayudu (1972), sendo posteriormente reclassificado por Dye (1978) como *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Nayudu) Dye (*Xcv*). Os danos causados por este patógeno no período da descoberta foram poucos e epidemias mais severas foram observadas apenas nos anos 80, em áreas plantadas com uvas sem sementes das variedades Thompson Seedless e Sonaka, entre outras (NAYUDU, 1972; CHAND; KISHUM, 1990). Kishum e Chand (1987) relataram perdas entre 60 a 80% de produção em parreirais severamente infectados na Índia.

Lesões características do cancro bacteriano foram detectadas pela primeira vez no Brasil, no ano de 1998, na região do Vale do Submédio São Francisco em plantas de *V. vinifera* da variedade Red Globe. O patógeno foi identificado, através de isolamento, testes bioquímicos, culturais, fisiológicos e de patogenicidade como *Xcv* (MALAVOLTA Jr. et al., 1998; LIMA et al., 1999).

Provavelmente, essa doença foi introduzida em material propagativo contaminado trazido da Índia (MALAVOLTA Jr. et al., 1999). Segundo Freire e Oliveira (2001), produtores do Vale do Submédio São Francisco foram os responsáveis pela introdução deste patógeno, devido ao transporte indevido de bacelos infectados da variedade Red Globe. Trindade, Lima e Ferreira (2005) estudando a variabilidade genética de isolados de *Xcv* brasileiros e o isolado tipo NCPPB 2475, da Índia, verificaram que os mesmos possuem perfis genômicos semelhantes, o que suporta a hipótese para essa via de introdução.

Os primeiros focos da doença foram observados em plantios novos, de 2 a 3 anos de idade, com incidência de até 100% em plantas de 'Red Globe' e em variedades de uvas sem sementes (LIMA et al.,1999). Durante os anos de 1998 e 1999, um levantamento para detecção de *Xcv* foi realizado pelo Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Semiárido, no qual das 358 amostras de videira, 208 eram da 'Red Globe'. A bactéria foi detectada em 197 (55%) amostras, das quais 127 eram de 'Red Globe' (LIMA et al., 2000).

Em 1999, na época chuvosa, observou-se a disseminação da doença para novas áreas de produção. No início de 2004, período que foi bastante favorável para ocorrência da doença, devido às chuvas fortes acompanhadas de vento, Lopes e Nascimento (2004) realizaram um levantamento e verificaram que em 17 das 18 propriedades visitadas, a incidência variou de 10 a 100% e de 92 a 100% nas parcelas com 'Sugraone' e 'Red Globe', respectivamente. O cancro bacteriano também foi observado na variedade Itália, mas causando poucos danos e não foi detectado em 'Benitaka'.

Desde o aparecimento do cancro bacteriano no Vale do Submédio São Francisco, muitos parreirais de 'Red Globe' foram destruídos, diminuindo consideravelmente a área plantada. Devido à alta suscetibilidade dessa variedade, muitos produtores da região optaram por erradicá-la. Nas áreas remanescentes a produção é concentrada, quase sempre, em apenas um ciclo, no segundo semestre, quando a ausência ou ocorrência esparsa de chuvas desfavorece a doença.

Quando presente, essa doença coloca em risco a competitividade da região em termos de produtividade, impede o trânsito de material vegetal de videira a partir dos estados onde a bactéria foi detectada (Pernambuco, Bahia, Piauí, Ceará, Roraima, São Paulo, Goiás e Paraná) e pode limitar o acesso da uva da região aos mercados interno e externo, já que a bactéria é considerada uma praga quarentenária presente (A2), nos estados de Pernambuco, Bahia e Ceará (INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 52/2007), sujeita a controle oficial (BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2008).

2.1 *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*

Esta bactéria está classificada dentro do Domínio *Bacteria*, Classe *Gammaproteobacteria*, Ordem *Xanthomonadales*, Família *Xanthomonadaceae* e Gênero *Xanthomonas* Dowson (GARRITY et al., 2001).

Estudos evidenciam que a taxonomia de *Xcv*, ainda não está bem definida. Espécies do gênero *Xanthomonas* foram estudadas por Vauterin; Kersters e Swings (1995), sugerindo-se

que somente os isolados de crucíferas pertenceriam à espécie *X. campestris* (Pammell) Dowson. Os demais isolados de outras espécies, incluindo *Xcv* seriam classificados temporariamente como *Xanthomonas* spp. Neste mesmo sentido, Takita et al. (2004) analisando a região *rpf* (Regulação de Fatores de Patogenicidade) de 21 isolados pertencentes a diferentes patovares de *X. campestris* verificaram que o patovar *viticola* teve maior similaridade com *X. axonopodis* pv. *citri* (Hasse) Dye, sugerindo que *Xcv* fosse agrupada na espécie *axonopodis* do gênero *Xanthomonas*. Estes autores concluíram que *Xcv* não pertence ao grupo de patovares de *X. campestris*. Até o momento, a nomenclatura *X. campestris* pv. *viticola* permanece em uso, devido à ausência de estudos taxonômicos com o agente causal do cancro bacteriano.

A bactéria *Xcv* apresenta células em forma de bastonete, não capsuladas, uniflageladas, medindo de 1,2 a 2,5 μm (NAYUDU, 1972). É Gram negativa, não apresenta pigmento fluorescente em meio King's B nem atividade de urease e oxidase. Não utiliza asparagina como única fonte de carbono e nitrogênio, não possui inclusões de poli- β -hidroxibutirato e não tolera concentrações de 1 a 2% de NaCl. Produz ácidos a partir de glucose, manose, galactose, trehalose, frutose e celobiose (LIMA et al., 1999). Forma colônias arredondadas, convexas, brilhantes e bordos lisos, com coloração creme-esbranquiçada. Apesar de pertencer ao gênero *Xanthomonas*, *Xcv* não produz o pigmento amarelo xantomonadina, comum a esse gênero. Tem crescimento ótimo em pH 7,5 e temperatura entre 27 e 29°C, não crescendo a 0°C e a 40°C (NASCIMENTO; MARIANO; GAMA, 2005). A reação de hipersensibilidade é geralmente negativa em folhas de fumo (*Nicotiana tabacum* L.) cv. White Burley, mas positiva em folhas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) var. Santa Clara (MALAVOLTA Jr. et al., 1999). Alguns isolados caracterizados até o momento, apresentam tolerância ao cobre até a dosagem de 350 $\mu\text{g mg}^{-1}$ devido à presença do gene *copA* (MARQUES, 2007). Os melhores métodos de preservação de culturas de *Xcv* são dessecação em papel de filtro e preservação em água destilada esterilizada (NASCIMENTO; MARIANO; GAMA, 2005).

2.2 Sintomatologia

Os sintomas do cancro bacteriano nas folhas são caracterizados inicialmente por pequenas lesões necróticas, escuras e angulares, distribuídas de forma esparsa, que coalescem causando o crestamento e a destruição de extensas áreas foliares (Figura 1A). Nas nervuras (Figura 1B) e pecíolos das folhas (Figura 1A), nos ramos (Figura 1C) e raquis (Figura 1D)

dos frutos, formam-se manchas escuras e alongadas, que evoluem para fissuras longitudinais de coloração negra, conhecidas como cancrios (NASCIMENTO; MARIANO, 2004). Nos ramos, nas regiões dos cancrios, pode-se observar descoloração da região vascular (MALAVOLTA Jr. et al., 1999). As bagas apresentam tamanho e cor desuniforme, podendo apresentar lesões necróticas (Figura 1E) (NAYUDU, 1972).

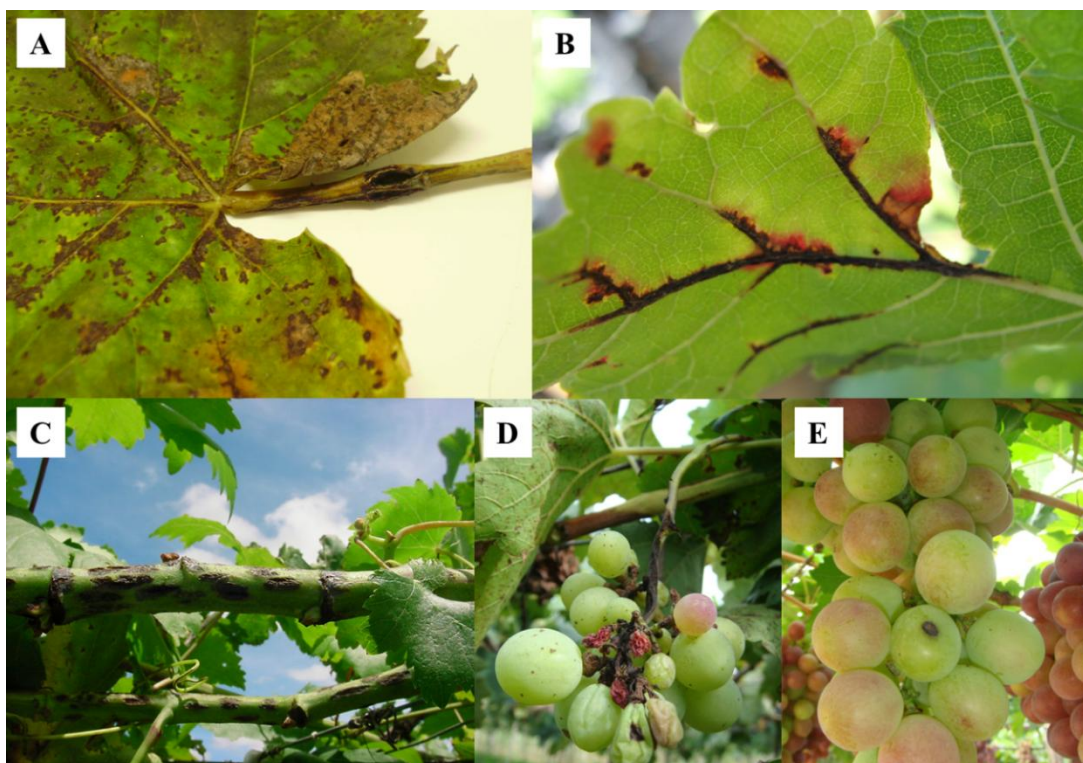


Figura 1. Sintomas do cancro bacteriano da videira: (A) manchas escuras e angulares distribuídas de forma esparsa e lesões escuras e alongadas no pecíolo, que evoluem para fissuras longitudinais de coloração negra, conhecidas como cancrios; (B) nervuras com lesões escuras e alongadas (C) ramos com lesões escuras, alongadas e cancrios (D) raquis dos frutos com lesões escuras, alongadas e cancrios; (E) bagas com lesão necrótica.

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

No Vale do Submédio São Francisco, a doença apresenta maior severidade em épocas de chuvas, alta umidade relativa e temperatura elevada. Estes fatores propiciam a exsudação de pus bacteriano a partir dos cancrios presentes em ramos, favorecendo a disseminação do patógeno (LOPES; NASCIMENTO, 2004).

2.3 Ecologia e Epidemiologia

A bactéria sobrevive de um ciclo para o outro em plantas infectadas, como epífita no limbo de folhas sem sintomas, com maior adesão sobre nervuras e tricomas (ARAUJO, 2001), hospedeiros alternativos (PEIXOTO et al., 2007) e restos culturais (SILVA et al., 2012).

Além da videira, esse patógeno infecta naturalmente plantas de neem (*Azadirachta indica* A. Juss *Phyllanthus maderaspatensis* L. (NAYUDU, 1972). Espécies de *Alternanthera tenella* Colla, *Amaranthus* sp., *Glycine* sp. e *Senna obtusifolia* L., foram coletadas em parreirais com sintomas de cancro bacteriano no Vale do Submédio São Francisco e apresentaram infecção natural, comportando-se como hospedeiros alternativos de *Xcv*. As plantas invasoras *Chamaesyce hirta* L. Millsp., *Dactyloctenium aegyptium* L. P. Beauv., *Eragrostis pilosa* P. Beauv. e *Pilea* sp., inoculadas artificialmente com *Xcv*, também desenvolveram sintomas típicos da doença (PEIXOTO et al., 2007). Araujo et al. (1999) também inocularam artificialmente *Xcv* em plantas da família Anacardiaceae que ocorrem no Vale do Submédio São Francisco e verificaram sintomas característicos de cancro em mangueira (*Mangifera indica* L.), cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), cajá-manga (*Spondias dulcis* Arruda) e aroeira (*Schinus terebenthifolius* Radii), apesar de infecções naturais não terem sido registradas nessas espécies. Neste mesmo sentido, Braga e Ferreira (2000) realizaram inoculação artificial da bactéria em fumo cebola (*Allium cepa* L.), tomate beterraba (*Beta vulgaris* L.), cenoura (*Daucus carota* L.), repolho (*Brassica oleracea* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), soja (*Glycine max* L. Merrill), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e alface (*Lactuca sativa* L.), sem, no entanto, observarem sintomas da doença.

A disseminação de *Xcv* pode ocorrer a longas distâncias, principalmente por material propagativo infectado. Estes bacelos poderão ser provenientes de plantas infectadas ou serem contaminados por ferramentas utilizadas sem desinfestação. Dentro de um mesmo talhão, a disseminação ocorre por respingos de água de chuva e irrigação do tipo sobrecopa. O vento seco não dissemina a bactéria, sendo sempre necessária a presença de água. Apesar da curta estação chuvosa da região do Vale do Submédio São Francisco, nesse período a disseminação de *Xcv* ocorre mais rapidamente e a doença pode se apresentar com maior intensidade. A pequenas distâncias, a bactéria pode ser disseminada através dos restos culturais espalhados pelo pomar e por veículos, roupas, contentores, luvas, canivetes e tesouras, não desinfestadas, durante os tratamentos culturais como, desbrota, poda, raleio de bagas, colheita, capina, gradagem, roçagem e pulverizações (NASCIMENTO; MARIANO, 2004). A disseminação de *Xcv*

também pode ocorrer durante o preparo das mudas pela água de imersão dos bacelos, uma vez que a bactéria já foi detectada nesta água (FERREIRA, 2012)¹.

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

2.4 Diagnose

A diagnose do cancro bacteriano pode ser realizada pelos métodos tradicionais através da avaliação dos sintomas, isolamento em meio de cultura e testes de patogenicidade.

O isolamento deste patógeno em meio de cultura foi facilitado quando Peixoto, Mariano e Viana (2006) formularam um meio semi-seletivo NYDAM (NYDA + ampicilina) que inibe o crescimento de outras bactérias fitopatogênicas e bactérias saprófitas. Porém, os métodos tradicionais podem ser limitantes em função do tempo gasto e da dificuldade de diagnose precoce de plantas assintomáticas.

Métodos mais rápidos para o diagnóstico precoce do cancro bacteriano da videira em plantas assintomáticas estão sendo desenvolvidos e/ou aperfeiçoados, a exemplo do método imunológico com anticorpos policlonais altamente reativos contra *Xcv* (ARAUJO et al., 2005). A partir do sequenciamento parcial do gene *hrpB*, Trindade et al. (2007) desenvolveram oligonucleotídeos iniciadores (“primers”) para uso em PCR. Apesar do sucesso da ferramenta na detecção de *Xcv*, pode haver falhas em tecidos infectados, principalmente assintomáticos.

Em prosseguimento, Freitas et al. (2011) adotaram a BIO-PCR associada a nested-PCR e os resultados mostraram a presença da bactéria na superfície de cachos, com limite de detecção variando de 10^2 a 10^3 UFC/mL.

¹Informação fornecida por FERREIRA da Universidade de Brasília, em maio 2012.

2.5 Controle

O cancro bacteriano da videira tem ocorrência recente no Brasil, havendo deficiência em pesquisas relacionadas ao controle desta bacteriose.

Além da evasão, ou seja, poda de produção em períodos de baixa precipitação pluviométrica, o controle mais utilizado pelos produtores ainda é o químico, embora o uso indiscriminado tenha ocasionado resistência do patógeno. Isolados de *Xcv* já se mostraram resistentes ao cobre, oxitetraciclina, sulfato de gentamicina, kasugamicina e estreptomicina (CHAND et al., 1994; NASCIMENTO et al., 2000; SILVA et al., 2000; ARAUJO, 2001; ARAUJO et al., 2004;). A resistência a fungicidas e bactericidas tem impacto negativo sobre o controle químico do cancro e enfatiza a necessidade do emprego de outros métodos de controle.

Outra alternativa de controle para o cancro bacteriano da videira é a resistência genética que varia conforme a variedade utilizada e já foi demonstrada em diferentes trabalhos. Chand (1992), na Índia, classificou as variedades sem sementes de *V. vinifera* em suscetíveis e altamente suscetíveis e as *V. labrusca* em resistentes e moderadamente resistentes. No Brasil, Malavolta e Almeida (2003) mostraram que as variedades Niágara Rosada e Niágara Branca apresentam os menores índices de severidade da doença, enquanto que Red Globe, Itália, Benitaka e Rubi apresentam os maiores índices. Nascimento et al. (2006) verificaram os menores índices de doença em 'Isabel' e 'Paulsen1103' enquanto que os clones de *V. vinifera* foram os mais suscetíveis. De acordo com a Instrução Normativa nº 9, de 20 de abril de 2006 (MAPA), 'Red Globe' possui alta suscetibilidade; 'Thompson', 'Benitaka', 'Sugraone', 'Sonaka', 'Itália' e 'Rubi' possuem grau médio, enquanto 'Niágara Rosada', 'Niágara Branca' e 'Princês' possuem baixa suscetibilidade.

Poucas pesquisas relacionadas ao controle preventivo, através do uso de material propagativo livre de infecção e a práticas de manejo que possam limitar a sobrevivência e disseminação de *Xcv*, foram realizadas no Brasil. Silva (2009) utilizou cultura de tecidos e obteve plantas micropropagadas livres de *Xcv* e com boa regeneração. Resultados preliminares envolvendo o tratamento de bacelos com termoterapia, bactericidas e sanitizantes para erradicação do patógeno foram publicados (LIMA; MASHIMA, 2000).

Sabendo que microrganismos fitopatogênicos podem sobreviver em restos de cultura e buscando uma alternativa para este problema, Silva et al. (2012) verificaram que *Xcv* pode sobreviver em altas populações, por pelo menos 80 dias em tecidos infectados de videira na

superfície do solo e que a compostagem é capaz de eliminar essa bactéria dos tecidos infectados em 10 dias.

Com base nas informações geradas pela pesquisa e na Instrução Normativa 9, de 20 de abril de 2006, as medidas de controle recomendadas são: utilizar mudas e materiais propagativos sadios e com Certificado Fitossanitário de Origem – CFO; restringir o trânsito de equipamentos de áreas infectadas para áreas sem ocorrência da praga, sem as devidas medidas profiláticas; desinfestar, após cada utilização, as ferramentas com produtos sanitizantes; eliminar todo o material resultante das podas, por meio de compostagem, uso de lança-chamas ou enterrio, para as variedades suscetíveis e sintomáticas; realizar inspeção visual, periodicamente, de ramos, folhas, inflorescências e cachos; retirar e incinerar, todo material com sintomas; durante o período chuvoso, nos talhões plantados com variedades suscetíveis, deverá ser realizado o controle químico a partir do início das brotações; evitar a realização de podas nos meses de maiores índices pluviométricos, para as variedades suscetíveis e eliminar as plantas hospedeiras alternativas (MAPA, 2006).

Diante das recomendações para o controle do cancro bacteriano, a utilização de material propagativo livre de *Xcv* é uma necessidade no manejo da doença, para que não haja a introdução e/ou disseminação deste patógeno para novas áreas e regiões. Atualmente, a única forma de se obter plantas livres de *Xcv* é através da cultura de tecidos (SILVA, 2009), porém, quando comparado com outras práticas, essa requer mais tempo para a obtenção do material pronto para plantio.

O tratamento de bacelos com erradicação do patógeno pode ser uma alternativa eficiente e mais rápida para a produção de material propagativo isento da doença. O tratamento de órgãos propagativos pela técnica de termoterapia foi utilizado para erradicação de bactérias fitopatogênicas em cana-de-açúcar (FERNANDES JÚNIOR et al., 2010) e videira (MAHMOODZADEH et al., 2003); e termoterapia aliada a fungicidas para o tratamento de estacas de videira, visando o controle de fungos fitopatogênicos (GRAMAJE et al., 2009a; GRAMAJE et al., 2009b). Em videira, tratamento de bacelos para o controle do cancro bacteriano utilizando termoterapia (água quente 48-50°C/15 min), bactericidas/fungicidas (oxitetraciclina 250 g, sulfato de cobre 100g, cloranfenicol 100 mL e cobre líquido 500 mL/100 L de água) e sanitizantes (amônia quarternária 100 mL/100 L de água) não foram eficientes, embora os tratamentos com agrimicina e amônia quarternária tenham resultado em maiores porcentagens de brotação dos bacelos (LIMA; MASHIMA, 2000).

O uso de sanitizantes para desinfestação de ferramentas contaminadas por patógenos é uma prática recomendada como medida de controle preventiva para diferentes culturas e têm apresentado grande valor prático, tornando-se eficiente (VIDA et al., 2004; YAKABE et al., 2012), principalmente em doenças transmitidas por contato mecânico (VENTURA; COSTA, 2002; ZAMBOLIM et al., 2002). Apesar da recomendação de produtos sanitizantes para desinfestação do material, como medida preventiva na cultura da videira, ainda não se tem dados experimentais de sobrevivência e disseminação de *Xcv* nesses materiais e pouco se sabe sobre a ação de sanitizantes a serem utilizados nessa prática (SOUZA et al.; 2010; NAUE et al., 2011; RODRIGUES et al., 2012), pois a sanitização de ferramentas de cultivo ainda é pouco praticada pelos produtores de uva.

O uso de sanitizantes vem sendo empregado, para desinfestação de água de irrigação, em substituição aos fungicidas, pois estes últimos podem proporcionar o desenvolvimento de isolados resistentes, além de acarretarem impacto ao ambiente. Desde que em 2012 *Xcv* foi detectada em água de imersão de bacelos e também por não existirem recomendações de produtos para desinfestação de água contaminada com este patógeno, a avaliação dos sanitizantes com esta finalidade torna-se necessária. Dentre os químicos utilizados na desinfestação da água de irrigação, o cloro é empregado em grande escala há muitos anos, uma vez que é ativo contra vários patógenos (RAUDALES et al., 2011), tais como bactérias (THOMPSON, 1965; LACY; LAMBE; BERG, 1981), fungos (HONG et al., 2003) e vírus (ROSNER et al., 2006). No entanto, para cada cultura há a necessidade de se verificar qual a dosagem efetiva contra o patógeno e não fitotóxica ao hospedeiro, uma vez que, a dosagem ideal é geralmente fitotóxica a planta (PONCET et al., 2001; HONG et al., 2003).

Devido à importância da cultura da videira e do cancro bacteriano para região do Vale do Submédio São Francisco e a existência de poucos estudos sobre o controle desta doença, este trabalho teve como objetivos: avaliar a eficiência de tratamentos de bacelos de videira para erradicação de *Xcv* utilizando termoterapia, bactericidas e sanitizantes; verificar a sobrevivência de *Xcv* em tesouras de raleio; e selecionar sanitizantes eficientes para desinfestação destas ferramentas de cultivo de videira e da água utilizada na produção de mudas.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL 2011: **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: AgraFNP, 2011. p. 472 - 482.

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. 121 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

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

ARAÚJO, J. S. P.; REIS JUNIOR, F. B.; CRUZ, G. B.; OLIVEIRA, B. C.; ROBBS, C. F.; RIBEIRO, R. L. D.; POLIDORO, J. C. Produção e caracterização de anticorpos policlonais contra *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 3, p. 305-309, 2005.

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.

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

BRAGA, J. P.; FERREIRA, M. A. S. V. Caracterização bioquímica e círculo de hospedeiros de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, agente causal do cancro bacteriano da videira (*Vitis vinifera* L.). In: Congresso de Iniciação Científica da Universidade de Brasília, 2000, Brasília. **Anais...** Brasília: Universidade de Brasília.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa Nº 20 de 27 de setembro de 2001. Aprova as diretrizes para a produção integrada de frutas –DGPIF e as normas técnicas gerais para a produção integrada de frutas. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=3915>> Acesso em: 03 nov. 2009.

CAMARGO, U. A. Melhoramento genético: variedades de uvas sem sementes para o Brasil. **X Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia**, 2003. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=16772>> Acesso em: 20 nov. 2012.

CHAND, R. Sources of resistance to grapevine bacterial canker disease in *Vitis*. **Vitis**, Siebeldingen, v. 31, p. 83-86, 1992.

CHAND, R.; KISHUN, R. Outbreak of grapevine bacterial canker disease in India. **Vitis**, Siebeldingen, v. 29, n. 3, p. 183-188, 1990.

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.

CORREIA, R. C. **Alterações na agricultura irrigada**, 2000. Disponível em: <http://www.agr.feis.unesp.br/gaz_ne291200.htm> Acesso em: 01 mar. 2010.

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

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

FREITAS, A. C.; MIRANDA, T. D.; BARBOSA, M. A. G.; FERREIRA, M. A. S. V. **Limite de detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* por nested-PCR em frutos assintomáticos de videiras**. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 36, Suplemento, p. 1039, 2011.

GARRITY, G. M.; WINTERS, M.; SEARLES, D. B. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Michigan State University. 2nd Ed. 2001.

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

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

HONG, C. X.; RICHARDSON, R. A.; KONG, P.; BUSH, E. A. Efficacy of chlorine on multiple species of *Phytophthora* in recycled nursery irrigation water. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 87, n. 10, p. 1183–1189. 2003.

INSTRUÇÃO NORMATIVA nº 52, 2007. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (Disponível em: http://www.cidasc.sc.gov.br/defesasanitariavegetal/files/2012/08/INSTRU%C3%87%C3%83O_NORMATIVA_N%C2%BA_9_DE_20_DE_ABRIL_DE_2006_Cancro_da_videira.pdf). Acesso em 10 de janeiro de 2011.

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 9, DE 20 DE ABRIL DE 2006. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=18212>). Acesso em 01 de janeiro de 2010.

KISHUM, R.; CHAND, R. Studies on germoplasm resistance and chemical control of Citrus canker. **Indian Journal of Horticulture**, New Delhi, v. 44, n. 1 e 2, p. 126-132, 1987.

LACY, G. H.; LAMBE, R. C.; BERG, C. M. Iris soft rot caused by *Erwinia chrysanthemi* associated with overhead irrigation and its control by chlorination. **Combined proceedings / International Plant Propagators' Society, Lake Alfred**, v. 31, p. 626-634. 1981.

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. SPF: Campinas, SP. **Programa e Resumos...**2000. p. 283.

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

LIMA, M.F.; MASHIMA, C. Tratamento químico e térmico de bacelos de videira infectados com *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. In: XXXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 23. SPF: Belém, PA. **Resumos...**2000. p. 324.

LIMA, M. F.; MOREIRA, W. A. (ed) **Uva de mesa: Fitossanidade**. Doenças causadas por bactérias. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 75p.

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

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

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

MALAVOLTA 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. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, Suplemento, p. 211, 1998.

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. 262-264, 1999.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Uva**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/noticias>>. Acesso em: 23 out. 2012.

MARQUES, E. **Variabilidade e tolerância ao cobre em *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, agente causal do cancro-bacteriano da videira (*Vitis* spp.)**. 2007, 129 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília. 2007.

- 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.; GAMA, M. A. S. Métodos de preservação e crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em meio de cultura variando temperatura, pH e concentração de NaCl. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 6, p.650-654, 2005.
- NASCIMENTO, A. R. P.; MASHIMA, C. H.; LIMA, M. F. **Cancro bacteriano: nova doença da videira no submédio São Francisco**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2000. 22 p. (Embrapa Semi-Árido. Circular Técnica, 58).
- NASCIMENTO, A. R. P.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. M.; VIANA, I. O. Reação de clones de videira a *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, baseada nos componentes epidemiológicos do cancro bacteriano. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 1, 2006.
- NAUE, C. R.; MARQUES, M. W.; BARROS, E. S.; BARBOSA, M. A. G.; SILVEIRA, E. B.; MARIANO, R. L. R. inibição do crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* por sanitizantes. In: XI Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFRPE, 2011, Recife. **Resumos...** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco.
- 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.
- PEIXOTO, A. R.; MARIANO, R. L. R.; MOREIRA, J. O. T.; VIANA, I. O. Hospedeiros alternativos de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 161-164, 2007.
- PEIXOTO, A. R.; MARIANO, R. L. R.; VIANA, I. O. Meio semi-seletivo para isolamento de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p.1317-1320, 2006.
- PONCET, C.; OFFROY, M.; BONNET, G.; BRUN, R. Disinfection of recycling water in rose cultures. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 547, p. 121–127. 2001.
- RAUDALES, E. R., FISHER, P. R., HARMON, C. L., MACKAY, B. R. Review of efficacy tests for chlorination of irrigation systems. **Proceedings Florida State Horticultural Society**, Lake Alfred, v. 124, p. 285–288. 2011.
- ROBBS, C. F.; RODRIGUES NETO, J. Enfermidades causadas por bactérias em frutíferas tropicais no Brasil. VIDEIRA. Cancro bacteriano dos ramos e bagas ou crestamento das folhas. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 51-52. 1999.
- RODRIGUES, R. R.; NAUE, C. R.; COSTA, V. S. O.; BATISTA, D. C.; BARBOSA, M. A. G. Inibição do crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* por sanitizantes. In: VII Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Semiárido. Setembro, 2012. Petrolina: Embrapa Semiárido. (Documento 248).

ROSNER, A.; LACHMAN, O.; PEARLSMAN, M.; FEIGELSON, L.; MASLENIN, L.; ANTIGNUS Y. Characterization of *Cucumber leaf spot virus* isolated from recycled irrigation water of soil-less cucumber cultures. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 149, n. 3, p. 313–316. 2006.

SILVA, A. M. F. **Limpeza clonal de videira com cancro-bacteriano e sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em tecidos infectados**. 2009, 89 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

SILVA, V. A. V.; AGUIAR, I. F.; CASTRO, G. S. S.; NASCIMENTO, A. R. P.; PAZ, C. D. Ação in vitro de produtos químicos em relação a *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, Suplemento, p. 331, 2000.

SILVA, P. C. G.; 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.

SILVA, A. M. F.; MENEZES, E. F.; SOUZA, E. B.; MELO, N. F.; MARIANO, R. L. R. Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em tecido infectado de videira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 3, p. 757-765, 2012.

SOUZA, L. J. N.; ALVES, A. O.; GAMA, M. A. S.; SANTOS, L. A.; OLIVEIRA, M. M. S.; BARBOSA, M. A. G.; MARIANO, R. L. R. . Efeito do ácido peracético no crescimento in vitro de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. In: X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFRPE, 2010, Recife. **Resumos...** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco.

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.

TEIXEIRA, A. H. de C.; AZEVEDO, P. V. Zoneamento agroclimático para a videira europeia no estado de Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 4, n. 1, p. 139-145, 1996.

THOMPSON, D. L. Control of bacterial stalk rot of corn by chlorination of water in sprinkler irrigation. **Crop Science**, Madison, v. 5, n. 4, p. 369-370. 1965.

TRINDADE, L. C.; LIMA, M. F.; FERREIRA, M. A. S. V. Molecular characterization of Brazilian strains of *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* by rep-PCR fingerprinting. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 1, p. 46-54, 2005.

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

VALEXPOR. **Exportações de uvas no Vale do São Francisco**. Petrolina, 2011. Np.

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

VENTURA, J. A.; COSTA, H. Manejo integrado das doenças de fruteiras tropicais: abacaxi, banana e mamão. In: Zambolim, L. (Ed.) **Manejo Integrado, Fruteiras Tropicais: Doenças e Pragas**. Viçosa: UFV. 2002. p. 279-350.

VIDA, J. B.; TESSMANN, D. J.; ZAMBOLIM, L.; VERZIGNASSI, J. R.; BRANDÃO FILHO, J. U. T. Controle da podridão gomosa em melão rendilhado em cultivo protegido por sanitização de ferramenta de poda. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 6, p. 626-630. 2004.

YAKABE, L. E.; PARKER, S. R.; KLUEPFEL, D. A. Cationic surfactants: Potential surface disinfectants to manage *Agrobacterium tumefaciens* biovar 1 contamination of grafting tools. **Plant Disease**, v. 96, n. 3, p. 409-415. 2012.

ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; VENTURA, J. A.; VALE, F. X. R. Controle de doenças em pós-colheita de fruteiras tropicais. In: Zambolim, L. (Ed.) **Manejo Integrado, Fruteiras Tropicais: Doenças e Pragas**. Viçosa: UFV. 2002. p. 443-511.

CAPÍTULO II

EFEITO DO TRATAMENTO DE BACELOS DE VIDEIRA 'RED GLOBE' NO CONTROLE DO CANCRO BACTERIANO

1 **EFEITO DO TRATAMENTO DE BACELOS DE VIDEIRA ‘RED GLOBE’ NO**
2 **CONTROLE DO CANCRO BACTERIANO**

3
4 CARINE ROSA NAUE¹, MARIA ANGÉLICA GUIMARÃES BARBOSA², DIÓGENES
5 DA CRUZ BATISTA³, ELINEIDE BARBOSA DE SOUZA⁴, ROSA DE LIMA RAMOS
6 MARIANO⁵

7 **RESUMO** - A disseminação do cancro bacteriano da videira causado por *Xanthomonas*
8 *campestris* pv. *viticola* (*Xcv*) ocorre, dentre outras formas, por meio de mudas e bacelos
9 infectados. Foi estudada a obtenção de material propagativo livre do patógeno testando a
10 eficiência do tratamento de bacelos com termoterapia, bactericidas e sanitizantes. Os isolados
11 de *Xcv* foram obtidos, testados quanto à patogenicidade e realizado o teste de sensibilidade *in*
12 *vitro* a bactericidas e sanitizantes: oxitetraciclina+estreptomicina, oxitetraciclina+sulfato de
13 cobre, casugamicina e oxitetraciclina; cloreto de dodecildimetil amônio; hipoclorito de sódio
14 e cloreto de benzalcônio, em diferentes concentrações. A erradicação de *Xcv* em bacelos de
15 videira foi testada em experimentos com termoterapia (50°C por 30 e 40 min; 53°C por 5 e 10
16 min); bactericidas [oxitetraciclina+sulfato de cobre (150+2000, 165+2200, 180+2400 e
17 195+2600 mg L⁻¹ de H₂O) e oxitetraciclina (600, 700, 800 e 900 mg L⁻¹); e sanitizantes
18 [cloreto de dodecildimetil amônio (600, 1200, 1800, 2400, 3000 µL L⁻¹); hipoclorito de sódio

19
20 ¹ Bióloga, Doutoranda Departamento de Agronomia/ Área Fitossanidade, Universidade
21 Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife-PE.
22 CEP: 52171-900. E-mail: crnaue@yahoo.com.br

23 ² Eng. Agr. Dra. Embrapa Semiárido, C. P. 23, Petrolina-PE. CEP: 56302-970. E-mail:
24 angelica.guimaraes@embrapa.br

25 ³ Eng. Agr. Dr. Embrapa Semiárido, C. P. 23, Petrolina-PE. CEP: 56302-970. E-mail:
26 diogenes.batista@embrapa.br

27 ⁴ Eng. Agr. Prof. Departamento de Biologia/Área de Microbiologia, Universidade Federal
28 Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife-PE. CEP:
29 52171-900. E-mail: elineidebs@yahoo.com.br

30 ⁵ Eng. Agr. Prof. Departamento de Agronomia/ Área Fitossanidade, Universidade Federal
31 Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife-PE. CEP:
32 52171-900. E-mail: rrbac@gmail.com

33 (5000, 10000, 20000, 30000, 40000 $\mu\text{L L}^{-1}$) e cloreto de benzalcônio (125, 167, 250, 334, 500
 34 $\mu\text{L L}^{-1}$]. Foram avaliados período de incubação, incidência e severidade da doença. O
 35 bactericida oxitetraciclina e os sanitizantes cloreto de dodecildimetil amônio e hipoclorito de
 36 sódio proporcionaram os maiores halos de inibição de *Xcv in vitro*. No entanto não foi
 37 possível recomendar tratamento termoterápico ou produto que erradicasse *Xcv* de bacelos
 38 infectados.

39 **Termos para Indexação:** *Vitis* sp., cancro bacteriano da videira, controle, erradicação,
 40 *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*.

41

42 **EFFECT OF TREATMENT OF 'RED GLOBE' VINE CUTTINGS ON THE**
 43 **CONTROL OF BACTERIAL CANCKER**

44

45 **ABSTRACT-** The spread of grapevine bacterial canker caused by *Xanthomonas campestris*
 46 pv. *viticola* (*Xcv*) occurs, among other ways, through infected plantlets and grapevine
 47 cuttings. It was studied how to obtain propagation material free of *Xcv* testing the
 48 effectiveness of treatments of cuttings using thermotherapy, bactericides and sanitizers. The
 49 *Xcv* isolates were tested for pathogenicity and "in vitro" sensitivity to bactericides and
 50 sanitizers (streptomycin+oxytetracycline, oxytetracycline+copper sulfate, kasugamycin and
 51 oxytetracycline; dodecyldimethyl ammonium chloride, sodium hypochlorite and
 52 benzalkonium chloride) at different concentrations. The eradication of *Xcv* on cuttings was
 53 tested in experiments with thermotherapy (50°C for 30 and 40 min; 53°C for 5 and 10 min);
 54 bactericides [oxytetracycline+copper sulphate (150+2000, 165+2200, 180+2400 and
 55 195+2600 mg L⁻¹ of H₂O) and oxytetracycline (600, 700, 800 and 900 mg L⁻¹)] and sanitizers
 56 [dodecyldimethyl ammonium chloride (600, 1200, 1800, 2400, 3000 $\mu\text{l L}^{-1}$) sodium
 57 hypochlorite (5000, 10000, 20000, 30000, 40000 $\mu\text{l L}^{-1}$) and benzalkonium chloride (125,
 58 167, 250, 334, 500 $\mu\text{l L}^{-1}$)]. We evaluated the incubation period, the incidence and severity of
 59 disease. The bactericidal oxytetracycline and sanitizers dodecyldimethyl ammonium chloride
 60 and sodium hypochlorite provided the largest zones of inhibition, *in vitro*. However, it was
 61 not possible to recommend an efficient condition of temperature/time, and concentrations of
 62 bactericides or sanitizers, among those tested, capable of eradicating *Xcv* of infected
 63 grapevine cuttings.

64 **Index terms:** *Vitis* sp., grapevine bacterial canker, control, eradication, *Xanthomonas*
 65 *campestris* pv. *viticola*.

66 INTRODUÇÃO

67

68 A viticultura brasileira ocupa atualmente uma área de 80 mil hectares, sendo o Brasil o
69 15^o produtor mundial de uva. Na safra brasileira de 2011, foram produzidas 1,4 milhões de
70 toneladas, sendo os estados do Rio Grande do Sul e Pernambuco os maiores produtores, com
71 aproximadamente 978 e 274 mil toneladas (AGRIANUAL, 2011). O Brasil também é o
72 quarto maior produtor de uvas de mesa (AGRIANUAL, 2011), sendo o Vale do Submédio
73 São Francisco (Petrolina-PE/Juazeiro-BA), responsável por 99% das exportações
74 (VALEXPORT, 2011).

75 A rápida expansão da viticultura no Vale do Submédio São Francisco originou
76 problemas fitossanitários dentre os quais o cancro bacteriano da videira, causado por
77 *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Nayudu) Dye. (*Xcv*), que é a bacteriose mais
78 importante no Brasil para essa cultura. Essa bactéria é uma praga quarentenária presente (A2),
79 encontrada nos estados da Bahia, Pernambuco e Ceará, mas detectada e erradicada dos
80 estados do Piauí, Roraima, São Paulo, Goiás e Paraná (FREIRE; OLIVEIRA, 2001;
81 HALFELD-VIEIRA; NECHET, 2006; JUNQUEIRA et al., 2006; RODRIGUES NETO et al.,
82 2011; TOMAZ et al., 2011). Nas folhas, os sintomas do cancro bacteriano iniciam-se por
83 pequenas lesões necróticas, angulares, esparsas, que coalescem causando crestamento e
84 destruindo amplas áreas foliares. Manchas necróticas alongadas, que formam os cancrios,
85 podem aparecer nas nervuras e também nos pecíolos. Nos ramos, ocorre externamente o
86 escurecimento de extensas áreas, geralmente acompanhado de necrose, formação de cancrios e
87 colonização sistêmica, que causa descoloração na região vascular. Os sintomas ainda podem
88 ser observados nas inflorescências, causando nas ráquis manchas necróticas e cancrios; e nas
89 bagas lesões escuras arredondadas, com diâmetro de 1 a 3 mm (NAYUDU, 1972;
90 MALAVOLTA et al., 1999).

91 Essa bactéria sobrevive de um ciclo para o outro em plantas infectadas, como epifítica
92 em plantas sadias (ARAUJO, 2001), em plantas hospedeiras (PEIXOTO et al., 2007) e em
93 restos culturais (SILVA et al., 2012). A disseminação de *Xcv* pode ocorrer a longas distâncias,
94 principalmente através de mudas e bacelos contaminados. Dentro de um mesmo talhão, a
95 disseminação acontece a partir de fontes de inóculo tais como videiras infectadas; videiras
96 sem sintomas; restos culturais espalhados pelo pomar durante os tratamentos culturais de desbrota,
97 poda, raleio de bagas, colheita, capina, gradagem e roçagem. Esta disseminação é realizada
98 por respingos de água de chuva e irrigação; pulverizações; tesouras, luvas, canivetes e
99 contentores não desinfestados; roupas e veículos (NASCIMENTO; MARIANO, 2004).

100 Atualmente, no Vale do Submédio São Francisco, a grande maioria dos parreirais de
101 ‘Red Globe’ está infectada com *Xcv*. O princípio de controle mais utilizado pelos produtores é
102 a evasão, ou seja, evitar a poda de produção durante o período chuvoso. No entanto, há
103 produtores que podam na época em que o clima é favorável a ocorrência da doença,
104 incorrendo na utilização de grande quantidade de fungicidas cúpricos, sozinhos ou em
105 combinação com ditiocarbamatos, aumentando o custo de produção.

106 Tentando minimizar os prejuízos causados pela doença e desconhecendo-se um
107 método único eficiente de controle, recomenda-se um conjunto de medidas, incluindo as que
108 interferem na introdução e disseminação do patógeno, a exemplo do uso de material
109 propagativo livre de *Xcv*. Atualmente, a técnica de cultura de tecidos é muito utilizada para
110 propagação de plantas livre de patógenos. A micropropagação de explantes de videira
111 possibilita a obtenção de plantas com boa regeneração e livres de *Xcv* (SILVA, 2009), porém
112 requer mais tempo, quando comparada a outras práticas. Desta forma, o tratamento de bachelos
113 pode ser uma alternativa eficiente e mais rápida para a produção de material propagativo
114 isento da doença.

115 A termoterapia foi utilizada para tratamento de órgãos propagativos de cana-de-açúcar
116 (FERNANDES JÚNIOR et al., 2010) e videira (MAHMOODZADEH et al., 2003) visando a
117 erradicação de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* e *Agrobacterium vitis*, respectivamente; e a
118 termoterapia aliada a fungicidas foi testada para o tratamento de estacas de videira, visando o
119 controle de doenças fúngicas (GRAMAJE et al., 2009a; GRAMAJE et al., 2009b). No caso
120 do controle do cancro bacteriano, o tratamento de bachelos de videira tem sido raramente
121 testado, sempre com poucos tratamentos e concentrações (LIMA; MASHIMA, 2000).

122 Diante do exposto e sabendo-se da importância da utilização de material propagativo
123 sadio no controle do cancro bacteriano, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência
124 dos tratamentos de bachelos de videira para erradicação de *Xcv* utilizando termoterapia,
125 bactericidas e sanitizantes.

126

127 MATERIAL E MÉTODOS

128

129 Os experimentos *in vitro* foram realizados no Laboratório de Fitopatologia da
130 Embrapa Semiárido e os *in vivo*, foram conduzidos em três locais diferentes: viveiro de mudas
131 do Laboratório de Biotecnologia; viveiro de mudas da Estação Experimental de Bebedouro; e

132 casa de vegetação do Laboratório de Fitopatologia, todos da Embrapa Semiárido, Petrolina-
133 PE, no período de janeiro a maio de 2012.

134 **Preparo das suspensões de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* e concentração do**
135 **inóculo**

136 O isolado de *Xcv* foi reativado e testado quanto à patogenicidade pelo método de
137 picada na haste e no pecíolo, em mudas da variedade Red Globe e as culturas foram mantidas
138 em meio NYDA (dextrose 10, extrato de carne 3, extrato de levedura 5, peptona 5 e ágar 18 g
139 L⁻¹). Para o preparo do inóculo, o isolado foi transferido para placas de Petri contendo o
140 mesmo meio durante 48 h a 28°C. A suspensão bacteriana foi preparada em água destilada
141 esterilizada (ADE), sendo a concentração ajustada em fotocolorímetro para A₅₇₀ = 0,4 que
142 corresponde a 10⁸ UFC mL⁻¹. O isolado utilizado pertence à Coleção de Bactérias
143 Fitopatogênicas do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Semiárido.

144 **Sensibilidade *in vitro* de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* a bactericidas e**
145 **sanitizantes**

146 Foram testados quatro bactericidas e três sanitizantes. Para os bactericidas foram
147 realizados dois ensaios. Primeiramente foram testados os bactericidas em diferentes dosagens:
148 oxitetraciclina+estreptomicina nas concentrações (18+180, 30+300, 36+360 e 45+450 mg L⁻¹;
149 oxitetraciclina+sulfato de cobre nas concentrações (45+600, 90+1200, 120+1600 e 150+2000
150 mg L⁻¹); casugamicina, na concentração 60 µL L⁻¹ e oxitetraciclina nas concentrações (400,
151 480, 600 mg L⁻¹), frente a *Xcv*. Devido à inexistência de bactericidas registrados para o
152 controle do cancro bacteriano da videira, as dosagens utilizadas foram àquelas recomendadas
153 nos rótulos dos produtos para o controle de outras fitobacterioses. Todas as soluções dos
154 produtos foram feitas em água destilada ou ADE.

155 Para o segundo ensaio foram testados os dois bactericidas mais eficientes, porém em
156 dosagens superiores às utilizadas anteriormente: oxitetraciclina+sulfato de cobre nas
157 concentrações (150+2000, 165+2200, 180+2400, 195+2600 e 210+2800 mg L⁻¹) e
158 oxitetraciclina nas concentrações (600, 700, 800, 900 e 1000 mg L⁻¹) frente a *Xcv*.

159 Para os sanitizantes foram testados três produtos e cinco diferentes dosagens, a saber:
160 cloreto de dodecildimetil amônio, nas concentrações 600, 1200, 1800, 2400, 3000 µL L⁻¹,
161 hipoclorito de sódio nas concentrações, 2500, 5000, 7500, 10000 e 12500 µL L⁻¹ e cloreto de
162 benzalcônio nas concentrações 125, 167, 250, 334, 500 µL L⁻¹, frente a *Xcv*.

163 A metodologia utilizada foi a do antibiograma descrita por Romeiro (2005)
164 modificada. Em placas de Petri foi vertida uma camada básica de ágar-ágar sólido (1,8% de
165 ágar) com aproximadamente 1 mm de espessura. Posteriormente verteu-se uma sobrecamada

166 de meio NYDA semi-sólido (0,9% de ágar), acrescido da suspensão de *Xcv* (10^8 UFC mL⁻¹),
167 na proporção de 200 µL 10 mL⁻¹. Após a solidificação da sobrecamada, os discos de papel de
168 filtro foram embebidos nas diferentes concentrações dos produtos testados e colocados sobre
169 a superfície do meio. Em cada placa foram colocados quatro discos, com a mesma
170 concentração, dispostos de uma maneira equidistante. A testemunha foi realizada da mesma
171 forma e consistiu de discos embebidos em ADE. As placas foram incubadas a 28°C e após 48
172 h, com o auxílio de uma régua milimetrada mediu-se o diâmetro do halo de inibição, em dois
173 sentidos opostos, estabelecendo-se a média.

174 O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco
175 repetições, sendo cada uma constituída de uma placa de Petri contendo quatro discos. A
176 análise dos dados foi realizada no programa The SAS System version 9.0 (SAS Institute Inc.
177 Cary, NC, 27513, USA, 2002), cujas médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de
178 significância.

179 **Tratamento de bacelos de videira com termoterapia, bactericidas e sanitizantes** 180 **visando a erradicação de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola***

181 No mês de janeiro de 2012 foram realizadas as coletas de ramos da variedade de uva
182 de mesa, Red Globe, com sintomas da doença em áreas produtoras no Projeto de Irrigação de
183 Bebedouro, Petrolina-PE. Imediatamente após a coleta, os ramos foram reduzidos a bacelos,
184 com tamanho de 15 a 20 cm de comprimento, contendo três gemas e um diâmetro médio de 6
185 mm. Em seguida, os bacelos foram imersos verticalmente em uma lâmina de água de torneira
186 de aproximadamente 10 cm por 48 horas, para facilitar o enraizamento, e após este período,
187 os mesmos foram submetidos aos tratamentos.

188 Os tratamentos de termoterapia realizados foram: 50°C por 30 minutos (T1); 50°C por
189 40 minutos (T2); 53°C por 5 minutos (T3) e 53°C por 10 minutos (T4). Em um aparelho de
190 banho-maria (Cien Tec 268) com termostato, os bacelos foram imersos de acordo com cada
191 tratamento. Dois bactericidas foram testados em quatro diferentes concentrações:
192 oxitetraciclina+sulfato de cobre (150+2000, 165+2200, 180+2400 e 195+2600 mg L⁻¹) e
193 oxitetraciclina (600, 700, 800 e 900 mg L⁻¹). Os três sanitizantes testados em cinco diferentes
194 concentrações foram: cloreto de dodecildimetil amônio (600, 1200, 1800, 2400, 3000 µL L⁻¹);
195 hipoclorito de sódio (2500, 5000, 7500, 10000 e 12500 µL L⁻¹) e cloreto de benzalcônio (125,
196 167, 250, 334, 500 µL L⁻¹). Em bandejas plásticas (40 x 28 x 10 cm) os bacelos foram imersos
197 nas suspensões dos diferentes tratamentos por 60 minutos. A testemunha, para todos os
198 tratamentos, consistiu de bacelos imersos em água de torneira pelo tempo respectivo.

199 Logo após os tratamentos, os bacelos foram levados para os viveiros e casa de
200 vegetação com temperatura controlada e plantados em sacos de polietileno (10 x 20 cm)
201 contendo solo. Todos os experimentos foram irrigados com auxílio de mangueira; a
202 temperatura e a umidade relativa foram registradas, e as médias foram calculadas.

203 As avaliações dos componentes epidemiológicos tiveram início a partir da brotação
204 dos bacelos. A erradicação do patógeno foi avaliada pela presença ou ausência de sintomas
205 nas plantas. Os componentes epidemiológicos observados foram: a) período de incubação,
206 representado pelo número de dias entre a brotação do bacelo e o surgimento dos sintomas da
207 doença. Plantas que não apresentaram sintomas tiveram o período de incubação ajustado para
208 o período de avaliação total acrescido de um dia, conforme proposto por Iamsupasit et al.
209 (1993); b) incidência da doença, calculada ao final do experimento, pelo percentual de folhas
210 com sintomas em relação ao número total de folhas da planta; e c) severidade, estimada com o
211 auxílio de escala diagramática (Nascimento et al., 2005) para cada folha infectada da planta
212 ao final do experimento. As avaliações foram realizadas durante 15 semanas, diariamente,
213 para o período de incubação e ao final deste período foram avaliadas incidência e severidade.
214

215 Os experimentos com termoterapia, bactericidas e sanitizantes foram realizados em
216 viveiro e casa de vegetação. O experimento com termoterapia foi realizado duas vezes em
217 casa de vegetação e quatro vezes em viveiro; de bactericidas foi realizado duas vezes em casa
218 de vegetação e duas em viveiro; enquanto aquele com sanitizantes foi realizado duas vezes em
viveiro e uma em casa de vegetação.

219 O delineamento experimental para todos os experimentos foi inteiramente casualizado.
220 Os experimentos com termoterapia, antibióticos e sanitizantes foram constituídos por cinco,
221 nove e dezesseis tratamentos, respectivamente. Todos os tratamentos tiveram sete repetições,
222 sendo cada repetição representada por um bacelo.

223 Os dados foram submetidos ao teste de homogeneidade de variâncias (teste de
224 Levene), submetidos a análise de variância (ANOVA) e quando significativa, comparação das
225 médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Quando houve homogeneidade, os
226 resultados foram analisados em conjunto durante a análise de variância. Empregou-se o
227 programa SAS System v. 9.0 em todas as análises estatísticas.

228

229

230

231 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

232

233 No primeiro experimento *in vitro*, *Xcv* foi sensível aos bactericidas oxitetraciclina e
234 oxitetraciclina+sulfato de cobre (dados não apresentados). No segundo experimento,
235 oxitetraciclina proporcionou os maiores halos de inibição de *Xcv*, sendo que as cinco
236 concentrações testadas, inclusive a menor delas (600 mg L⁻¹) diferiram estatisticamente da
237 maior concentração de oxitetraciclina+sulfato de cobre (210+2800 mg L⁻¹) (Tabela 1). Esses
238 resultados concordam com os de Nascimento et al. (2000) que relataram a oxitetraciclina
239 como o terceiro melhor produto dentre diferentes químicos testados na inibição de *Xcv* sendo
240 inferior apenas a misturas deste produto com sulfato de gentamicina e bioestimulante. Já a
241 mistura oxitetraciclina+sulfato de cobre não se destacou na inibição de *Xcv in vitro* quando
242 testada por Silva et al. (2000).

243 Os sanitizantes cloreto de dodecildimetil amônio e hipoclorito de sódio apresentaram
244 maior eficácia na inibição de *Xcv*, a exceção da concentração 2500 µL L⁻¹ de hipoclorito de
245 sódio. O patógeno não foi inibido pelas três menores concentrações testadas do cloreto de
246 benzalcônio (125, 167 e 250 µL L⁻¹) (Tabela 2).

247 Nos três locais anteriormente citados onde os experimentos *in vivo* foram realizados,
248 as condições climáticas durante o período de janeiro a maio de 2012 foram adequadas ao
249 desenvolvimento do cancro bacteriano. As médias das variáveis climáticas desses meses para
250 os viveiros foram: temperatura média de 27,37°C; temperatura máxima de 33,43°C;
251 temperatura mínima de 21,92; umidade relativa média de 52,72%; umidade relativa máxima
252 de 76,2%; umidade relativa mínima de 31,11%; e precipitação de 0,34 mm. Para casa de
253 vegetação, foram: temperatura média de 25,65°C; temperatura máxima de 31,50°C;
254 temperatura mínima de 19,8°C; umidade relativa média de 57%; umidade relativa máxima de
255 80%; umidade relativa mínima de 34%.

256 Sintomas do cancro bacteriano da videira foram observados em plantas obtidas de
257 bacelos submetidos a todos os tratamentos dos experimentos com termoterapia, bactericidas e
258 sanitizantes.

259 No experimento com termoterapia, tanto no viveiro quanto na casa de vegetação, não
260 houve diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre a testemunha e os tratamentos, 50°C por 30
261 minutos; 50°C por 40 minutos; 53°C por 5 minutos; e 53°C por 10 minutos, para todas as
262 variáveis observadas, período de incubação, incidência e severidade (dados não apresentados)
263 (Figura 1). As temperaturas e os tempos testados não interferiram no desenvolvimento das
264 mudas, ou seja, não houve fitotoxicidade.

265 O tratamento térmico de bacelos de videira tem sido utilizado com eficiência para
266 erradicação de diferentes fitopatógenos. Mahmoodzadeh et al. (2003) testando diferentes
267 binômios temperatura/tempo para erradicação de *Rhizobium vitis* de bacelos de videira
268 variedade. Thompson Seedless e porta-enxerto NAZ3 (*Vitis vinifera* x *Vitis rupestris*)
269 verificaram que 50°C/30min, erradicou ou reduziu o patógeno a níveis abaixo da detecção,
270 sem prejudicar o desenvolvimento das mudas. No entanto, a sensibilidade de bactérias
271 fitopatogênicas a elevadas temperaturas varia conforme a bactéria estudada. Hao et al. (2012)
272 avaliando o crescimento das espécies *Agrobacterium tumefaciens* (sin. *Rhizobium*
273 *radiobacter*), *Erwinia carotovora* (sin. *Pectobacterium caratovororum*), *Erwinia amylovora*,
274 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Ralstonia solanacearum* e *X. campestris* frente a
275 diferentes temperaturas de água, verificaram que os gêneros *Ralstonia* e *Xanthomonas* foram
276 os mais resistentes, sendo inativados apenas por 48°C durante 24 h.

277 No presente trabalho, fatores que podem ter interferido na eficiência das temperaturas
278 e tempos testados, para erradicar as células bacterianas do interior dos tecidos dos bacelos são
279 o diâmetro e consistência lenhosa dos mesmos. O primeiro foi também mencionado por
280 Mahmoodzadeh et al. (2003), como elevando o tempo que os tecidos internos levam para
281 atingir as temperaturas testadas. Talvez a eficiência desta metodologia possa ser melhorada
282 testando-se maiores tempos de exposição ou usando-se a termoterapia em conjunto com
283 outras práticas, tais como os sanitizantes. Fernandes Junior et al. (2010) avaliando diferentes
284 tratamentos térmicos no controle do raquitismo das soqueiras em cana-de-açúcar verificaram
285 que a melhor combinação foi 52°C/2 h, obtendo-se 100% de controle da bacteriose. No
286 entanto, a adição de sanitizantes a este tratamento teve um controle significativamente maior,
287 quando comparado ao tratamento convencional mais utilizado 52°C/30 min, diminuindo o
288 tempo de exposição do material ao tratamento térmico.

289 Em relação ao tratamento de bacelos com bactericidas, em casa de vegetação, não foi
290 verificada diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis analisadas
291 (dados não apresentados), o que foi observado no viveiro (Tabela 3).

292 O tratamento dos bacelos com oxitetraciclina nas concentrações 600 e 700 mg L⁻¹ e
293 oxitetraciclina+sulfato de cobre na concentração 150+2000 mg L⁻¹ elevaram
294 significativamente o período de incubação em relação a testemunha (Tabela 3). A incidência
295 da doença só foi significativamente menor que a testemunha, quando os bacelos foram
296 tratados com oxitetraciclina na dosagem de 700 mg L⁻¹. A severidade da doença não foi
297 reduzida pelos antibióticos testados; e ainda bacelos tratados com oxitetraciclina+sulfato de

298 cobre na concentração $165+2200 \text{ mg L}^{-1}$ apresentaram aumento significativo da severidade
299 (Tabela 3).

300 O período de incubação de *Xcv* em mudas de videira ‘Red Globe’, originadas de
301 bacelos com infecção natural tratados com bactericidas, variou entre 83,1 a 102,3 dias. Essa
302 variável epidemiológica tem influência no número de ciclos das relações patógeno-hospedeiro
303 e consequentemente na severidade. Quanto maior o período de incubação, menor será o
304 número de ciclos da doença e menor será a severidade (PARLEVLIET, 1975). No entanto,
305 este fato não apresentou relevância estatística para os tratamentos que apresentaram o período
306 de incubação significativamente maior em relação à testemunha, mas que não diferiram desta
307 quanto à severidade (Tabela 3).

308 A redução significativa da incidência da doença com oxitetraciclina (700 mg L^{-1}) não
309 significou a erradicação do patógeno no interior dos bacelos de videira, uma vez que neste
310 tratamento 20% das mudas expressaram sintomas da doença. Antibióticos foram muito
311 utilizados na agricultura para o controle de fitobacterioses. No entanto, pesquisas mais
312 recentes têm demonstrado a eficiência duvidosa destes produtos. Um das explicações, além da
313 existência de isolados resistentes, é a rápida colonização da videira pelo patógeno (ARAUJO
314 et al., 2004), ausência de absorção dos produtos pelos órgãos vegetais e lixiviação dos
315 produtos pela água de irrigação ou chuva, uma vez que, são solúveis em água (ROMEIRO,
316 2005). Além disso, nem sempre ocorre correlação entre os resultados obtidos *in vitro* e *in*
317 *vivo*, a exemplo do presente trabalho, onde os bactericidas *in vitro* foram eficientes na
318 inibição de *Xcv* (Tabela 1) e não reduziram a severidade da doença. Sugere-se ainda que os
319 bactericidas não tenham alcançado o parênquima xilemático infectado por *Xcv*, ou que as
320 dosagens testadas não tenham sido suficientes para a erradicação das células bacterianas neste
321 ambiente.

322 Dos sanitizantes testados, o hipoclorito de sódio a 10000 e $12500 \mu\text{L L}^{-1}$ causou
323 fitotoxicidade as mudas de videira. No experimento em casa de vegetação as plantas
324 cultivadas não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos para as variáveis
325 analisadas (dados não apresentados), ao contrário do que foi observado no experimento do
326 viveiro (Tabela 4). O período de incubação não foi aumentado significativamente pelo
327 tratamento dos bacelos com os sanitizantes, e, além disso, as plantas originadas de bacelos
328 tratados com cloreto de benzalcônio em quatro das cinco concentrações testadas apresentaram
329 períodos de incubação significativamente menores, em comparação com a testemunha (Tabela
330 4). As variáveis incidência e severidade da doença não foram reduzidas pelos tratamentos
331 testados. Em contraposição, plantas originadas dos bacelos tratados com cloreto de

332 benzalcônio (250, 334, 500 $\mu\text{L L}^{-1}$) apresentaram aumento na incidência da doença e na
333 concentração 167 $\mu\text{L L}^{-1}$, aumento na severidade da doença (Tabela 4). Esse produto testado
334 no controle preventivo da seca dos ponteiros da goiabeira não reduziu significativamente nem
335 tampouco aumentou a porcentagem de ramos infectados por *Erwinia psidii* (REZENDE et al.,
336 2008). O Cloreto de Benzalcônio é uma amônia quaternária que atua internamente na planta
337 através da indução de mecanismos de defesa como o aumento do teor de compostos fenólicos,
338 além da síntese de β -1,3-glucanase e quitinases no tecido vegetal, conferindo uma proteção
339 local, não sistêmica (MARTINS; SILVEIRA; FURTADO, 2008).

340 Em campo, a pulverização de sanitizantes como protetores contra o cancro bacteriano
341 da videira é uma estratégia que está sendo utilizada pelos produtores de uva do Vale do
342 Submédio São Francisco (RODRIGUES et al., 2012) uma vez que o sanitizante clorado
343 possui amplo espectro biocida contra bactérias, fungos e vírus (RIBEIRO et al., 2008).
344 Contudo, sanitizantes e fungicidas já foram testados para o controle de outros fitopatógenos
345 em bacelos de videira. Gramaje et al. (2009b) avaliaram diferentes fungicidas e sanitizantes
346 para controle da doença de Petri (*Phaeomoniella chlamydospora* e *Phaeoacremonium* spp.)
347 em estacas durante a fase de hidratação, verificando que, consistentemente, o cloreto de
348 dodecildimetil amônio foi o melhor desinfetante. Alaniz et al. (2011) avaliaram 14 fungicidas
349 e sanitizantes como protetores de ferimentos na fase de propagação para o controle do pé
350 preto da videira (*Cylindrocarpum liriodendri* e *C. macrodidymum*) e relataram que todos os
351 produtos testados reduziram a severidade da doença, mas somente quatro, dentre eles o
352 cloreto de dodecildimetil amônio, reduziram significativamente a porcentagem de
353 reisolamento dos patógenos. Desta forma o cloreto de dodecildimetil amônio foi indicado para
354 ser incluído em programas de manejo integrado para controle das duas doenças fúngicas
355 (ALANIZ et al., 2011). Com relação a fitobacterioses, *Xanthomonas* spp. agentes causais da
356 mancha bacteriana do tomateiro foram inibidos por cloreto de dodecildimetil amônio *in vitro*,
357 no entanto, os resultados não se mantiveram *in vivo*. Este fato foi relacionado à alta
358 volatilidade, fácil degradação ou baixa aderência à superfície vegetal, concluindo-se que
359 quando o produto tem um baixo poder residual na planta, a eficiência de controle da doença
360 pode ser comprometida (PONTES et al., 2012).

361 Assim como os bactericidas, os sanitizantes testados não foram eficientes para a
362 erradicação de *Xcv* em bacelos de videira, o que pode ser explicado por estes produtos não
363 terem atuado como sistêmicos, não conseguindo atingir *Xcv* que coloniza o xilema da videira,
364 ou pelas concentrações não terem sido suficientemente altas para a erradicação.

365

366 **CONCLUSÃO**

367

368 Não é possível recomendar um tratamento termoterápico, bactericida ou sanitizante,
369 dentre os testados, capaz de erradicar a bactéria fitopatogênica *X. campestris* pv. *viticola* de
370 bacelos de videira infectados.

371

372 **AGRADECIMENTOS**

373

374 Aos produtores de uva do Vale do Submédio São Francisco; à Dra. Valéria Sandra de
375 Oliveira Costa da Embrapa Semiárido, pelo apoio nos experimentos; a FACEPE pela
376 concessão da bolsa de Doutorado e Auxílio Mobilidade Discente-AMD; e ao CNPq pelas
377 bolsas de Produtividade em Pesquisa e apoio Financeiro - Proc. 472.555/2009-0.

378

379 **REFERÊNCIAS**

380

381 AGRIANUAL 2011: **anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: AgraFNP, 2011. p. 472 -
382 482.

383

384 ALANIZ, S.; ABAD-CAMPOS, P.; GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; ARMENGOL, J. Evaluation of
385 fungicides to control *Cylindrocarpon liriodendri* and *Cylindrocarpon macrodidymum* in vitro,
386 and their effect during the rooting phase in the grapevine propagation process. **Crop**
387 **Protection**, Oxford, v. 30, n. 4, p. 489-494, 2011.

388

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

393

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

397

- 398 FERNANDES JR. A. R.; GANEM JR E. J.; MARCHETTI L. B. L.; URASHIMA A. S.
399 Avaliação de diferentes tratamentos térmicos no controle do raquitismo-da-soqueira em cana-
400 de-açúcar. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, n. 1, p. 60-64, 2010.
401
- 402 FREIRE, F. das C. O.; OLIVEIRA, A. D. S. de. **Ocorrência do cancro bacteriano da**
403 **videira no estado do Ceará**. Comunicado Técnico-EMBRAPA. Fortaleza-CE, Ministério da
404 Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2001. 2p.
405
- 406 GRAMAJE, D.; ARMENGOL, J.; SALAZAR, D.; LOPEZ-CORTE, I.; GARCIA-JIMENEZ,
407 J. Effect of hot-water treatments above 50°C on grapevine viability and survival of Petri
408 disease pathogens. **Crop Protection**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 280–285, 2009a.
409
- 410 GRAMAJE, D.; AROCA, A.; RAPOSO, R.; GARCIA-JIMENEZ, J.; ARMENGOL, J.
411 Evaluation of fungicides to control Petri disease pathogens in the grapevine propagation
412 process. **Crop Protection**, Oxford, v. 28, n. 12, p. 1091–1097, 2009b.
413
- 414 HALFELD-VIEIRA, B. A; NECHET, K. L. Bacterial Canker of Grapevine in Roraima,
415 Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, Suplemento, p. 6098, 2006.
416
- 417 HAO, W.; AHONSI, M. O.; VINATZER, B. A.; HONG, C. Inactivation of *Phytophthora*
418 and bacterial species in water by a potential energy-saving heat treatment. **European**
419 **Journal of Plant Pathology**, v. 134, p. 357–365. 2012.
420
- 421 IAMSUPASIT, N.; CHAKRABORTY, S.; CAMERON, D. F. Components of quantitative
422 resistance to anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in tetraploid accessions of the
423 pasture legume *Stylosanthes hamata*. **Australian Journal of Experimental Agriculture**.
424 Sydney, v.33, n. 7, p. 855-860, 1993.
425
- 426 JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNQUEIRA, K. P.; BRAGA, M. F.; VAZ, C. F.; SANTOS, E. C.;
427 JUNQUEIRA, L. P.; SOUZA, L. S.; LIMA, C. A. Ocorrência do Cancro Bacteriano da
428 Videira na Região do Entorno do Distrito Federal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE
429 FRUTICULTURA, 19., 2006, Cabo Frio. Frutas do Brasil: Saúde para o Mundo. **Palestras e**
430 **Resumos...** Cabo Frio-RJ: SBF/UENF/UFRural RJ, 2006, p.323.
431

- 432 LIMA, M.F.; MASHIMA, C. Tratamento químico e térmico de bacelos de videira infectados
433 com *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. In: XXXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE
434 FITOPATOLOGIA, 23. SPF: Belém, PA. **Resumos...**2000. p. 324.
- 435
- 436 MAHMOODZADEH, H.; NAZIMEH, A.; MAJIDI, I.; PAYGAMI, I.; KHALIGHI, A.
437 Effects of thermotherapy treatments on systemic *Agrobacterium vitis* in dormant grape
438 cutting. **Journal of Phytopathology**. Berlin, v. 151, n. 9, p. 481-484, 2003.
- 439 MALAVOLTA JR., V. A., ALMEIDA, I. M. G., SUGIMORI, M. H., RIBEIRO, I. J. A.,
440 RODRIGUES NETO, J., PIRES, E. J. P.; NOGUEIRA, E. M. C. Ocorrência de *Xanthomonas*
441 *campestris* pv. *viticola* em videira no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 25, n.
442 3, p. 262-264, 1999.
- 443
- 444 MARTINS, A. N.; SILVEIRA, A. P.; FURTADO, E. L. Avaliação do cloreto de benzalcônio
445 no controle da ferrugem (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) do cafeeiro (*Coffea arabica* L..
446 **Summa Phytopathologica**. v. 35 n. 2 Botucatu, 2009.
- 447
- 448 NASCIMENTO, A. R. P.; MARIANO, R. L. R. Cancro bacteriano da videira: etiologia,
449 epidemiologia e medidas de controle. **Ciência Rural**, v.34, n. 1, p.301-307, 2004.
- 450
- 451 NASCIMENTO, A. R. P.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R.; GOMES, A. M. A.
452 Elaboração e validação de escala diagramática para cancro-bacteriano da videira. **Summa**
453 **Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, n. 1, p. 56-61, 2005.
- 454
- 455 NAYUDU, M. V. *Pseudomonas viticola* sp. nov., incitant of a new bacterial disease of grape
456 vine. **Phytopathologische Zeitschrift**, Berlin, v. 73, p. 183-186, 1972.
- 457
- 458 PEIXOTO, A. R.; MARIANO, R. L. R.; MOREIRA, J. O. T.; VIANA, I. O. Hospedeiros
459 alternativos de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n.
460 2, p. 161-164, 2007.
- 461
- 462 PARLEVLIET, J. E. Partial resistance of barley to leaf rust. *Puccinia hordei* I. Effect of
463 cultivar and development stage on latent period. **Euphytica**, Pisa, v. 24, n. 12, p. 21-27, 1975.
- 464

- 465 PONTES, N. C.; NASCIMENTO, A. R.; VERDÚ, R. O. M.; QUEZADO-DUVAL, A. M.
466 Avaliação do cloreto de dodecil dimetil amônio para o controle da mancha bacteriana do
467 tomateiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 1, p. 43-47, 2012.
- 468
- 469 REZENDE, A. M. F. A.; TOMITA, C. K.; UESUGI, C. U. Fungicidas cúpricos, cloretos de
470 benzalcônio e composto bioativo líquido (Bokashi): fitotoxicidade e controle da seca dos
471 ponteiros causada por *Erwinia psidii* em goiabeiras. *Tropical Plant Pathology*. Brasília, v.
472 33 n. 4, p. 43-47, 2008.
- 473 RIBEIRO, J. M.; CANUTO, K. M.; VESCHI, J. L. A. **Compostos clorados: aspectos gerais**
474 **e sua utilização como agente sanitizante na agricultura, micropropagação e pecuária.**
475 Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2008. 26 p. (Embrapa Semiárido Documentos, 207).
- 476
- 477 RODRIGUES NETO, J.; DESTÉFANO, S. A. L.; RODRIGUES, L. M. R.; PELOSSO, D. S.;
478 OLIVEIRA JUNIOR, L. C. Grapevine bacterial canker in the State of São Paulo, Brazil:
479 detection and eradication. **Tropical Plant Pathology**. Brasília, v.36, n.1, p. 42-44. 2011.
- 480
- 481 RODRIGUES, R. R.; NAUE, C. R.; COSTA, V. S. O.; BATISTA, D. C.; BARBOSA, M. A.
482 G. Inibição do crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* por sanitizantes. In:
483 JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA SEMIÁRIDO, 7; JORNADA
484 DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA FACEPE/UNIVASF, 1., 2012. Petrolina. **Anais...**
485 Petrolina: Embrapa Semiárido, 2012. p. 307-312. (Embrapa Semiárido. Documentos, 248).
- 486
- 487 ROMEIRO, R. S. Antibióticos e seu emprego em pesquisa com bactérias fitopatogênicas. In:
488 Romeiro, R. S. (Ed.). **Métodos em Bacteriologia de Plantas**. Viçosa: UFV. p.127-162,
489 2005.
- 490
- 491 TOMAZ, R.; SCREMIN, R. M.; FERREIRA, M. A. S. V.; BARBOSA, M. A. G. Detecção e
492 erradicação de videiras com sintomas do cancro bacteriano no Estado do Paraná. **Tropical**
493 **Plant Pathology**, Brasília, DF, v. 36, 2011. p. 896 1 CD-ROM. Suplemento. Bento
494 Gonçalves, ago. 2011.
- 495
- 496 SILVA, A. M. F. **Limpeza clonal de videira com cancro-bacteriano e sobrevivência de**
497 ***Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em tecidos infectados.** 2009, 89 f. Tese (Doutorado
498 em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

499

500 SILVA, A. M. F.; MENEZES, E. F., SOUZA, E. B.; MELO, N. F.; MARIANO, R. L. M.
 501 Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em tecido infectado de videira.
 502 **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal , v. 34, n. 3, p. 757-765, 2012.

503

504 VALEXPOR. **Exportações de uvas no Vale do São Francisco**. Petrolina, 2011. Np.

505

506 **TABELA 1**– Efeito de bactericidas no crescimento *in vitro* de *Xanthomonas campestris* pv.
 507 *viticola*.

Bactericida (mg L ⁻¹ de H ₂ O)	Halo de inibição (mm)
Oxitetraciclina (1000)	17,35 a ¹
Oxitetraciclina (800)	16,71 ab
Oxitetraciclina (900)	16,64 ab
Oxitetraciclina (700)	16,24 bc
Oxitetraciclina (600)	15,68 c
Oxitetraciclina+sulfato de cobre (210+2800)	11,65 d
Oxitetraciclina+sulfato de cobre (195+2600)	11,43 de
Oxitetraciclina+sulfato de cobre (180+2400)	11,30 de
Oxitetraciclina+sulfato de cobre (165+2200)	10,74 e
Oxitetraciclina+sulfato de cobre (150+2000)	10,71 e
CV (%)	2,53

508

509

¹Média de cinco repetições. Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

510

511 **TABELA 2-** Efeito de sanitizantes no crescimento *in vitro* de *Xanthomonas campestris* pv.
 512 *viticola*.

Sanitizante ($\mu\text{L L}^{-1}$)	Halo de inibição (mm)
Cloreto de dodecildimetil amônio (3000)	13,10 ¹ a
Cloreto de dodecildimetil amônio (1800)	12,90 ab
Hipoclorito de sódio (7500)	12,90 ab
Cloreto de dodecildimetil amônio (2400)	12,40 ab
Hipoclorito de sódio (12500)	11,70 abc
Cloreto de dodecildimetil amônio (600)	10,60 bcd
Hipoclorito de sódio (10000)	9,90 cde
Cloreto de dodecildimetil amônio (1200)	9,40 cde
Hipoclorito de sódio (5000)	8,40 de
Cloreto de benzalcônio (500)	8,00 e
Cloreto de benzalcônio (334)	5,50 f
Cloreto de benzalcônio (125)	0,00 g
Cloreto de benzalcônio (167)	0,00 g
Cloreto de benzalcônio (250)	0,00 g
Hipoclorito de sódio (2500)	0,00 g
CV(%)	14,13

513 ¹Média de cinco repetições. Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem
 514 significativamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

515

516

517

518

519 **TABELA 3-** Efeito do tratamento de bacelos de videira ‘Red Globe’ com bactericidas no
 520 controle do cancro bacteriano, avaliado pelos componentes epidemiológicos da doença em
 521 plantas das 9 as 15 semanas, em condições de viveiro, Embrapa Semiárido, Petrolina-PE.

TRATAMENTO (mg L ⁻¹)	Período de incubação (dias)	Incidência (%)	Severidade (%)
Oxitetraciclina (700)	102,3 ¹ a	4,73 ² d	0,19 ² c ³
Oxitetraciclina (600)	101,4 a	7,70 cd	0,62 bc
Oxitetraciclina+sulfato de cobre (150+2000)	101,2 ab	11,87 bcd	1,07 bc
Oxitetraciclina+sulfato de cobre (180+2400)	97,8 abc	21,96 bcd	0,91 bc
Oxitetraciclina (800)	95,9 abc	20,50 bcd	1,05 bc
Oxitetraciclina+sulfato de cobre (195+2600)	95,6 abc	16,84 bcd	1,10 bc
Oxitetraciclina (900)	89,6 bcd	39,29 ab	1,66 ab
Testemunha	89,5 cd	27,27 abc	1,27 bc
Oxitetraciclina+sulfato de cobre (165+2200)	83,1 d	48,13 a	3,71 a
CV (%)	12,58	86,46	48,38

522 ¹Média de 21 repetições. Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste de
 523 Tukey a 5% de significância. ²Dados transformados em $\sqrt{x+0,01}$.

524

525

526

527

528

529

530

531

532

533

534

535

536 **TABELA 4-** Efeito do tratamento de bacelos de videira ‘Red Globe’ com sanitizantes no
 537 controle do cancro bacteriano, avaliado pelos componentes epidemiológicos da doença em
 538 plantas das 9 as 15 semanas, em condições de viveiro, Embrapa Semiárido, Petrolina-PE.

TRATAMENTO ($\mu\text{L L}^{-1}$)	Período de incubação (dias)		Incidência (%)		Severidade (%)	
Cloreto de dodecildimetil amônio (3000)	100,4 ¹	a	11,25 ²	f	0,72 ²	e ³
Hipoclorito de sódio (7500)	98,0	ab	15,90	f	1,02	de
Cloreto de dodecildimetil amônio (1800)	95,2	abc	22,35	ef	1,65	bcde
Hipoclorito de sódio (5000)	94,1	abc	34,59	cdef	2,27	bcde
Testemunha	93,0	abc	25,79	def	2,01	bcde
Hipoclorito de sódio (2500)	93,0	abc	17,45	f	1,23	cde
Cloreto de dodecildimetil amônio (2400)	92,6	abc	23,99	ef	1,94	bcde
Cloreto de dodecildimetil amônio (1200)	88,3	abcd	36,00	bcdef	1,91	bcde
Cloreto de dodecildimetil amônio (600)	82,7	bcd	47,89	abcde	2,64	abcde
Cloreto de benzalcônio (250)	78,9	cde	61,65	abcd	3,84	abc
Cloreto de benzalcônio (334)	74,4	de	67,49	abc	2,86	abcd
Cloreto de benzalcônio (500)	74,4	de	76,11	ab	4,08	ab
Cloreto de benzalcônio (125)	74,1	de	53,34	abcd	2,97	abcd
Cloreto de benzalcônio (167)	64,7	e	87,00	a	6,23	a
CV (%)	15,14		53,81		41,90	

539 ¹Média de 14 repetições. Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste de
 540 Tukey a 5% de significância. ²Dados originais transformados em $\sqrt{x+0,01}$ para efeito de análise.

541

542

543

544

545

546

547

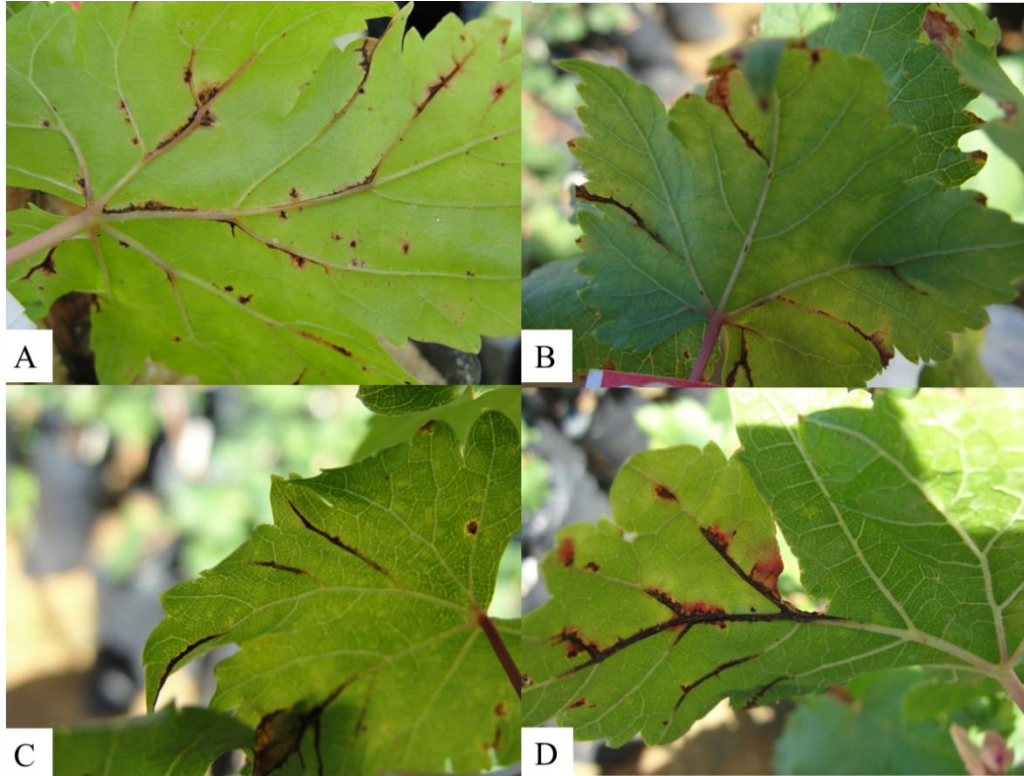
548

549

550

551

552



553 **Figura 1** – Sintomas em mudas da variedade Red Globe obtidas de bacelos no experimento
554 de termoterapia: (A) bacelos não tratados – testemunha; (B) tratados a 50°C/30 min; (C)
555 53°C/5 min e (D) 53C°/10 min.

CAPITULO III

SOBREVIVÊNCIA DE *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* E DESINFESTAÇÃO DE FERRAMENTAS DE CULTIVO DA Videira E DE ÁGUA CONTAMINADA

1 **SOBREVIVÊNCIA DE *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* E**
2 **DESINFESTAÇÃO DE FERRAMENTAS DE Videira E DE ÁGUA**
3 **CONTAMINADA UTILIZADA NA PRODUÇÃO DE MUDAS**

4
5 **C.R. Naue¹, V.S.O. Costa², M.A.G. Barbosa², D.C. Batista², E.B. Souza³, R.L.R.**
6 **Mariano¹**

7 ¹ *Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, 52171-900 Recife,*
8 *Pernambuco, Brasil*

9 ² *Embrapa Semiárido, 56302-970, Petrolina-Pernambuco, Brasil*

10 ³ *Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, 52171-900 Recife,*
11 *Pernambuco, Brasil*

12
13 **RESUMO** – Foi analisada a sobrevivência de *Xcv*^{2Rif} em tesouras de raleio e selecionados
14 sanitizantes para a desinfestação desta ferramenta de cultivo da videira, assim como da água
15 contaminada na produção de mudas. A sobrevivência foi avaliada de 0 a 42 h após imersão
16 das tesouras em suspensão do patógeno. Teste de sensibilidade de *Xcv* *in vitro* e seleção
17 inicial em tesouras foram realizados com os sanitizantes cloreto de dodecildimetil amônio
18 (1200 µl l⁻¹), cloreto de benzalcônio (250 µl l⁻¹), dicloroisocianurato de sódio (16,25 mg l⁻¹)
19 hipoclorito de sódio (20000 µl l⁻¹), hipoclorito de cálcio (130 mg l⁻¹), oxiclreto de cálcio
20 (97,5 mg l⁻¹) e dióxido de cloro (25 µl l⁻¹). Para validação da eficiência dos sanitizantes na
21 desinfestação de tesouras foram testados cloreto de dodecildimetil amônio (1200 µl l⁻¹) e
22 hipoclorito de sódio (20000 µl l⁻¹) sendo realizados 50 cortes sequenciais, em folhas de
23 videira. A viabilidade dos sanitizantes foi estudada de 0 a 8 h após o preparo das soluções.
24 Para desinfestação de água contaminada com *Xcv* foram testados dois bactericidas e três
25 sanitizantes. *Xcv* sobreviveu 24 h em tesouras de raleio. Hipoclorito de sódio (20000 µl l⁻¹) e
26 cloreto de dodecildimetil amônio (1200 µl l⁻¹) proporcionaram os maiores halos de inibição e
27 desinfestaram tesouras contaminadas com *Xcv*. As soluções destes sanitizantes mantiveram-se
28 viáveis por 8 h. *Xcv* foi disseminada por tesouras de raleio contaminadas, em média, até o 24º
29 corte. A desinfestação da água foi obtida pelo uso de cloreto de dodecildimetil amônio (600 µl
30 l⁻¹), hipoclorito de sódio (5000 µl l⁻¹) e

31
32

Corresponding author: R.L.R. MARIANO¹

33 Fax: +55-81-33206205

34 E-mail: rrbac@gmail.com

35 cloreto de benzalcônio (250 µl l⁻¹).

36

37 **Termos de Indexação:** *Vitis* sp., cancro bacteriano da videira, disseminação, ferramentas de cultivo,
38 manejo, sanitizantes

39

40 INTRODUÇÃO

41

42 No Brasil, o Vale do Submédio São Francisco vem se destacando como grande
43 produtor de uvas de alta qualidade. O manejo de podas, o controle hídrico, a aplicação de
44 defensivos, fertilizantes e agentes químicos reguladores de eventos fisiológicos garantem alta
45 produtividade e permitem até 2,5 safras por ano. O Vale é responsável por 99% das
46 exportações anuais brasileiras de uvas finas de mesa (Valexport, 2011).

47 A intensificação do cultivo da videira, o plantio de variedades suscetíveis, as
48 condições climáticas prevalentes no Vale e o intercâmbio de germoplasma propiciaram a
49 ocorrência de problemas fitossanitários, dentre os quais o cancro bacteriano da videira,
50 causado por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Nayudu) Dye (*Xcv*) (Tavares e Menezes,
51 1991; Tavares, 1995). Essa bactéria é uma praga quarentenária presente (A2), encontrada nos
52 estados da Bahia, Pernambuco e Ceará, mas detectada e erradicada dos estados do Piauí,
53 Roraima, São Paulo, Goiás e Paraná (Freire e Oliveira, 2001; Halfeld-Vieira e Nechet, 2006;
54 Junqueira *et al.*, 2006; Rodrigues Neto *et al.*, 2011; Tomaz *et al.*, 2011). O cancro bacteriano
55 coloca em risco a competitividade do Vale em termos de produtividade, impede o trânsito de
56 material vegetal de videira a partir dos estados onde a bactéria foi detectada e pode limitar o
57 acesso da uva do Vale aos mercados interno e externo.

58 Os sintomas do cancro bacteriano nas folhas iniciam-se por pequenas lesões necróticas
59 e angulares, esparsas, que coalescem causando crestamento e destruindo extensas áreas
60 foliares. Manchas necróticas alongadas, que formam os cancos, podem aparecer nas nervuras
61 e também nos pecíolos. Nos ramos, ocorre externamente o escurecimento de extensas áreas,
62 geralmente acompanhado de necrose, formação de cancos e colonização sistêmica, que causa
63 descoloração na região vascular. Os sintomas ainda podem ser observados nas inflorescências,
64 causando manchas necróticas e cancos nas ráquis; e lesões escuras arredondadas, com
65 diâmetro de 1 a 3 mm nas bagas (Nayudu, 1972; Malavolta Jr. *et al.*, 1999). A intensidade dos
66 sintomas do cancro bacteriano varia conforme as condições climáticas e o nível de tolerância
67 da variedade à doença (Lima, 2000). No Vale do Submédio São Francisco, a doença ocorre
68 com maior severidade em épocas de chuvas, alta umidade relativa e temperatura elevada.

69 A sobrevivência de *Xcv* de um ciclo para o outro ocorre em plantas infectadas, em
70 plantas sem sintomas como epifítica (Araujo, 2001), em restos culturais (Silva *et al.*, 2012) e
71 em hospedeiras alternativas (Peixoto *et al.*, 2007). O patógeno é introduzido em parreirais
72 principalmente através de mudas ou bacelos contaminados (Nascimento e Mariano, 2004).
73 Uma vez no vinhedo, a disseminação pode ocorrer por respingos de água de chuva ou
74 irrigação e adesão a veículos, roupas, contentores, luvas, canivetes e tesouras não
75 desinfestados. Estando *Xcv* presente tanto na superfície quanto no interior dos tecidos e vasos
76 condutores de órgãos de plantas infectadas (Araujo *et al.*, 2002), uma das principais formas de
77 disseminação dentro do parreiral ou entre parreirais é a utilização de tesouras infectadas
78 utilizadas nos tratos culturais. No Vale do Submédio São Francisco havia a suspeita de que a
79 água utilizada para imersão dos bacelos, com o objetivo de facilitar o enraizamento antes do
80 plantio, seria mais uma forma de disseminar *Xcv*, uma vez que em um mesmo recipiente
81 podiam estar bacelos infectados e não infectados. Em 2012, este fato foi comprovado, sendo o
82 patógeno detectado nesta água de imersão pela técnica de Bio-PCR (Ferreira, 2012)¹.

83 Por não haver um único método eficiente para o controle desta bacteriose recomenda-
84 se um conjunto de medidas de prevenção, controle e erradicação. Dentre as medidas de
85 prevenção de doenças de plantas está a utilização de produtos sanitizantes para desinfestação
86 de ferramentas, vários dos quais estão comercialmente disponíveis. Entre eles encontram-se
87 os compostos clorados, que possuem amplo espectro de atividade biocida contra bactérias,
88 fungos e vírus. São substâncias que contêm um átomo de cloro em sua composição, podendo
89 ser de origem inorgânica ou orgânica. A fonte de cloro inorgânico mais utilizada para
90 esterilização de superfícies, alimentos e água, é o hipoclorito de sódio, devido ao baixo custo.
91 Recentemente, fontes de cloro orgânico, como o dicloro isocianurato de sódio, vêm sendo
92 utilizadas, devido a sua maior estabilidade, alta eficácia e baixa corrosão (Ribeiro *et al.*,
93 2008).

94 A utilização de sanitizantes para desinfestação de ferramentas contaminadas por
95 patógenos é recomendada como medida de controle preventiva eficiente para diferentes
96 culturas e tem apresentado grande valor prático (Vida *et al.*, 2004; Yakabe *et al.*, 2012). Essa
97 técnica é eficaz para o controle de doenças transmitidas por contato mecânico, tornando-se
98 medida importante em programas de controle de doenças de plantas (Ventura e Costa, 2002;
99 Zambolim *et al.*, 2002).

100 A presença de *Xcv* em água de imersão de bacelos e a falta de recomendação de

101

102 ¹Informação fornecida por FERREIRA da Universidade de Brasília, em maio 2012.

103 produtos para desinfestação de água contaminada com este patógeno indicam a necessidade
104 deste estudo em água utilizada na produção de mudas de videira. Dentre os químicos
105 utilizados na desinfestação da água de irrigação, o cloro também é empregado em grande
106 escala há muitos anos, uma vez que é ativo contra vários patógenos (Hong *et al.*, 2003; Lacy
107 *et al.*, 1981; Raudales *et al.*, 2011, Rosner *et al.*, 2006; Thompson, 1965). No entanto, para
108 cada cultura há a necessidade de se verificar qual a dosagem efetiva contra o patógeno e não
109 fitotóxica ao hospedeiro, uma vez que, a dosagem ideal é geralmente fitotóxica a planta
110 (Hong *et al.*, 2003; Poncet *et al.*, 2001).

111 A despeito da importância da videira para o Vale do Submédio São Francisco, não
112 foram encontrados trabalhos científicos demonstrando que *Xcv* sobrevive em ferramentas de
113 cultivo, que estas ferramentas são eficientes agentes de disseminação do patógeno, e quais
114 produtos podem desinfestá-las ou a água contaminada com *Xcv*, além de testes de
115 concentração, viabilidade do produto em campo, ou outros detalhes de sua ação. Desta forma,
116 os objetivos deste trabalho foram: comprovar a sobrevivência de *Xcv* em tesouras de raleio; e
117 selecionar sanitizantes eficientes para a desinfestação destas ferramentas de cultivo de videira
118 e da água utilizada na produção de mudas.

119

120 MATERIAL E MÉTODOS

121

122 **Isolados, preparo do mutante e da suspensão bacteriana.** Para os experimentos de
123 sobrevivência de *Xcv*, desinfestação de tesouras de raleio e água, bem como de viabilidade
124 das soluções sanitizantes, utilizou-se o isolado *Xcv2*^{Rif}, mutante espontâneo e estável
125 resistente a 100 mg de rifampicina l⁻¹. Esse mutante apresenta taxa de crescimento em meio
126 de cultura líquido NYD e patogenicidade a videira similares ao isolado selvagem (Silva *et al.*,
127 2012). A identificação molecular do selvagem *Xcv2* e do mutante foi realizada através da
128 técnica de PCR utilizando-se os “primers” específicos *Xcv1F/Xcv3R*, cujo produto de
129 amplificação foi um fragmento de 243 pb do gene *hrpB* (Trindade *et al.*, 2005; Trindade *et*
130 *al.*, 2007).

131 Para o experimento de sensibilidade *in vitro* de *Xcv* a sanitizantes foram utilizados os
132 isolados *Xcv5*, *Xcv83* e *Xcv113*. Todos os isolados de *Xcv* são pertencentes à Coleção de
133 Bactérias do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Semiárido. Os isolados encontravam-
134 se preservados em água destilada esterilizada (ADE) e foram reativados em meio NYDA
135 (dextrose 10, extrato de carne 3, extrato de levedura 5, peptona 5 e ágar 18 g l⁻¹) para os

136 isolados selvagens e NYDAM^{Rif} (NYDA + 100 ppm de Ampicilina + 100 ppm de
137 rifampicina) para o mutante. Para o preparo das suspensões, os isolados foram cultivados em
138 meio NYDA ou NYDAM^{Rif} a 28°C por 48 h e a suspensão bacteriana em ADE teve a
139 concentração ajustada em fotocolorímetro ($A_{570} = 0,4$) para 10^8 ufc ml⁻¹.

140 **Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em tesouras de raleio.**

141 Levantamento sobre o tipo de material das ferramentas de cultivo utilizadas em parreirais do
142 Vale do Submédio São Francisco indicou o aço inox como prevalente. Visando a extrapolação
143 dos resultados aqui obtidos e pela maior praticidade de manuseio, em todos os experimentos
144 foram utilizadas tesouras de raleio da marca LIMMAT modelo 610, medindo 15 cm de
145 comprimento, com lâminas de aço inox. Todas as tesouras tiveram 2 cm das duas
146 extremidades das lâminas imersas na suspensão de *Xcv2*^{Rif} durante 30 segundos. Em seguida,
147 cada tesoura foi suspensa em um suporte e colocada em incubadora a 28°C sendo amostradas
148 0, 6, 12, 18, 24, 30, 36 e 42 h após imersão. Após cada tempo, a sobrevivência da bactéria na
149 tesoura de raleio foi avaliada pela imersão das pontas de cada tesoura em recipientes de vidro
150 contendo 20 ml de ADE, fazendo-se leve agitação com movimentos circulares durante 20
151 segundos. Em seguida foram realizadas diluições em série, utilizando tubos de ensaio com 4,5
152 ml de ADE, até a diluição de 10^{-4} . Alíquotas de 100 µL de cada diluição foram plaqueadas em
153 meio NYDAM^{Rif}, com três repetições cada. As placas foram incubadas por 72 h a 28°C,
154 quando foi realizada a contagem do número de colônias.

155 O experimento foi composto por oito tratamentos, representados pelos tempos 0, 6, 12,
156 18, 24, 30, 36 e 42 h de avaliação da sobrevivência após infestação. Cada tratamento teve três
157 repetições, representadas por uma tesoura. O delineamento foi inteiramente casualizado. O
158 experimento foi realizado duas vezes. Os resultados dos dois experimentos foram submetidos
159 ao teste de homogeneidade de variâncias (teste de Levene), após transformação dos dados
160 para $\log(x+1)$, onde x é a ufc (cm²)⁻¹. O valor médio foi definido e analisado estatisticamente
161 empregando-se a regressão não-linear e o modelo exponencial negativo, com auxílio do
162 programa SAS System version 9.0. (SAS Institute Inc. Cary, NC, 27513, USA, 2002).

163

164 **Sensibilidade *in vitro* de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* a sanitizantes.** Foram

165 testados sete sanitizantes clorados: cloreto de dodecildimetil amônio (1200 µl l⁻¹), cloreto de
166 benzalcônio (250 µl l⁻¹), dicloroisocianurato de sódio (16,25 mg l⁻¹), hipoclorito de sódio
167 (20000 µl l⁻¹), hipoclorito de cálcio (130 mg l⁻¹), oxiclreto de cálcio (97,5 mg l⁻¹), dióxido de
168 cloro (25 µl l⁻¹). A concentração utilizada para cada sanitizante foi aquela recomendada pelo
169 fabricante. Todas as soluções dos produtos foram feitas em ADE.

170 A metodologia de antibiograma utilizada foi a descrita por Romeiro (2005a)
171 modificada. Primeiramente, ágar-água foi vertido em placas descartáveis, formando uma
172 camada básica de mais ou menos 1 mm de espessura. Posteriormente, verteu-se uma
173 sobrecamada de meio NYDA semi-sólido, acrescido da suspensão dos isolados *Xcv5*, *Xcv83* e
174 *Xcv113* (10^8 ufc ml^{-1}), na proporção de 200 μl 10 ml^{-1} . Após a solidificação da sobrecamada,
175 discos de papel foram embebidos nas diferentes soluções dos sanitizantes a serem testados e
176 colocados sobre a superfície do meio. Em cada placa foram colocados quatro discos de papel,
177 com a mesma concentração, dispostos de uma maneira equidistante e a testemunha no centro
178 da placa. A testemunha consistiu em discos embebidos em ADE. As placas foram incubadas a
179 28°C e após 48 h, com o auxílio de uma régua milimetrada, mediu-se o diâmetro do halo de
180 inibição, em dois sentidos opostos, calculando-se a média. O delineamento utilizado foi
181 inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento. A análise dos dados foi
182 realizada no programa The SAS System version 9.0 (SAS Institute Inc. Cary, NC, 27513,
183 USA, 1999), e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

184

185 **Seleção de sanitizantes para desinfestação de tesouras de raleio contaminadas**
186 **com *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*.** Foram testados os sete sanitizantes e dosagens
187 utilizadas no teste de sensibilidade e as tesouras de raleio da marca LIMMAT já descritas.
188 Todas as tesouras tiveram 2 cm das duas extremidades das lâminas imersas na suspensão de
189 *Xcv2*^{Rif}, em seguida imersos nas soluções dos sanitizantes e, posteriormente, em 20 ml de
190 ADE, fazendo-se leve agitação com movimentos circulares durante 20 segundos. A partir
191 desta suspensão original foram realizadas diluições em série até 10^{-4} em ADE. Alíquotas de
192 100 μl de cada diluição foram plaqueadas em meio NYDAM^{Rif}, com três repetições cada. As
193 placas foram incubadas por 48 h a 28°C , quando foi realizada a contagem do número de
194 colônias de *Xcv2*^{Rif}. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado
195 com oito tratamentos, representados pelos sanitizantes mais a testemunha e quatro repetições,
196 representadas pelas tesouras. O experimento foi realizado quatro vezes. Os dados foram
197 submetidos ao teste de homogeneidade de variâncias (teste de Levene) e quando homogêneo
198 analisado em conjunto. Realizou-se a análise de variância (ANOVA) e quando significativa as
199 médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de significância. Para
200 atender os pressupostos da análise de variância foi realizada a transformação em log na base
201 10 dos dados de ufc (cm^2)⁻¹. O programa utilizado foi The SAS System version 9.0. O
202 experimento foi repetido quatro vezes.

203

204 **Validação da eficiência de sanitizantes para desinfestação de tesouras de raleio**
205 **em mudas de videira.** As tesouras tiveram 2 cm das duas extremidades das lâminas imersas
206 em suspensão do mutante *Xcv2^{Rif}* (10^8 ufc ml⁻¹), e em seguida no cloreto de dodecildimetil
207 amônio (1200 µl l⁻¹) e hipoclorito de sódio (20000 µl l⁻¹), os dois sanitizantes mais eficientes
208 na desinfestação de ferramentas de cultivo, selecionados no experimento anterior. No
209 tratamento testemunha as tesouras foram imersas apenas na suspensão do mutante.
210 Imediatamente após a imersão no inóculo, 50 cortes sequenciais foram realizados com cada
211 tesoura, em folhas de videira ‘Red Globe’, sendo 10 cortes por planta e três por folha (um na
212 nervura principal e dois nas nervuras secundárias), ficando o 10º corte na quarta folha
213 (nervura principal). Todos os cortes foram devidamente enumerados. O tratamento
214 testemunha permitiu verificar a capacidade de disseminação de *Xcv* a partir da obtenção do
215 inóculo. As plantas foram mantidas em condições de viveiro de mudas e a avaliação foi
216 realizada após 30 dias, comprovando-se a presença de *Xcv* no tecido dos cortes através de
217 isolamentos em meio de cultura NYDAM^{Rif}. O experimento teve delineamento inteiramente
218 casualizado com três tratamentos, representados pelos dois sanitizantes mais a testemunha e
219 quatro repetições, representadas pelas tesouras.

220

221 **Manutenção da eficiência de soluções sanitizantes para desinfestação de tesouras**
222 **de raleio contaminadas com *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*.** O experimento foi
223 conduzido sobre bancada em área do viveiro de mudas da Embrapa Semiárido. Com o
224 objetivo de simular as condições de campo em relação à incidência solar, temperatura,
225 umidade e fragmentos de poda que caem no interior do recipiente contendo a solução
226 sanitizante. Teve início as 8:00 h e término as 16:00 h. Foram testados os sanitizantes cloreto
227 de dodecildimetil amônio (1200 µl l⁻¹) e hipoclorito de sódio (20000 µl l⁻¹).

228 Tesouras de raleio tiveram 2 cm das duas extremidades das lâminas flambadas e
229 imersas na suspensão de *Xcv2^{Rif}* simulando a obtenção do inóculo a partir de planta infectada,
230 sendo em seguida imersas nas soluções dos sanitizantes às 0, 2, 4, 6 e 8 h após o início do
231 experimento. Posteriormente, as extremidades das lâminas dessas tesouras de raleio foram
232 imersas em 20 ml de ADE, seguindo-se os mesmos procedimentos descritos para isolamento e
233 contagem das colônias de *Xcv2^{Rif}*. A testemunha constou de tesouras infectadas com *Xcv2^{Rif}*
234 imersas em ADE mantida nas mesmas condições de campo que as soluções de sanitizantes.

235 Para obter as soluções dos sanitizantes contendo fragmentos de poda, ramos de videira
236 foram cortados com tesouras de poda (marca Tramontina e lâmina de aço inox) a intervalos de
237 4 min (tempo, em média, para podar uma planta), sendo que após cada corte, as extremidades

238 das tesouras eram imersas nas soluções dos sanitizantes. As soluções das 08:00 h (início do
239 experimento) não receberam a imersão da tesoura de poda. As soluções das 10:00 h (2 h após
240 início) receberam 34 vezes a imersão da tesoura; das 12:00 h (4 h após início) receberam 68
241 vezes a imersão e assim sucessivamente 14:00 e 16:00 h (6 e 8 h após início do experimento).
242 O delineamento foi inteiramente ao acaso com três tratamentos (hipoclorito de sódio, cloreto
243 de dodecildimetil amônio e testemunha) com quatro repetições, cada uma com uma tesoura. O
244 experimento foi realizado três vezes.

245

246 **Seleção de bactericidas e sanitizantes para desinfestação de água utilizada na**
247 **produção de mudas de videira.** Foram testados dois bactericidas em cinco diferentes
248 concentrações: oxitetraciclina+sulfato de cobre (150+2000, 165+2200, 180+2400, 195+2600
249 e 210+2800 mg L⁻¹) e oxitetraciclina (600, 700, 800, 900 e 1000 mg L⁻¹); e três sanitizantes
250 em cinco diferentes concentrações: cloreto de dodecildimetil amônio (600, 1200, 1800, 2400,
251 3000 µL L⁻¹), hipoclorito de sódio (5000, 10000, 20000, 30000, 40000 µL l⁻¹) e cloreto de
252 benzalcônio (125, 167, 250, 334, 500 µL L⁻¹). Em tubos de ensaio contendo 9 mL das
253 soluções dos produtos testados, foram depositados 1 ml da suspensão do mutante, obtendo-se
254 o volume final de 10 ml e concentração bacteriana final de 10⁷ ufc ml⁻¹. Após incubação a
255 28°C por 30 min, os tubos foram agitados em vórtex e realizadas diluições em série até 10⁻⁴,
256 com três repetições. Alíquotas de 0,1 ml das suspensões foram plaqueadas em meio
257 NYDAM^{Rif}. As placas foram incubadas a 28°C por 72 h quando então determinou-se a
258 população bacteriana em ufc ml⁻¹ e calculada a redução dessa população. O experimento foi
259 repetido uma vez. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. Para
260 cada produto foram testadas cinco concentrações com quatro repetições, cada uma consistindo
261 de um tubo de ensaio. Os dados foram submetidos ao teste de homogeneidade de variâncias
262 (teste de Levene), submetidos a análise de variância (ANOVA) e quando significativa,
263 comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Quando houve
264 homogeneidade, os resultados foram analisados em conjunto durante a análise de variância.
265 Empregou-se o programa SAS System v. 9.0 em todas as análises estatísticas.

266

267 **RESULTADOS**

268

269 **Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em tesouras de raleio.** O
270 mutante *Xcv2*^{Rif} sobreviveu durante 24 h em tesouras de raleio (Fig. 1). Nas amostragens
271 realizadas imediatamente após a imersão da tesoura na suspensão bacteriana, a população

272 observada foi de aproximadamente 10^7 ufc (cm²)⁻¹ de tesoura. A partir das 6 h, a população foi
273 reduzida a menos da metade e estacionou entre 12 h e 24 h. Após 30 h a detecção de *Xcv2*^{Rif}
274 não foi mais possível, permanecendo assim até 42 h, quando o experimento foi encerrado.

275 **Sensibilidade *in vitro* de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* a sanitizantes.** Os
276 maiores halos de inibição de crescimento de *Xcv* foram proporcionados pelos sanitizantes
277 hipoclorito de sódio, cloreto de dodecildimetil amônio e cloreto de benzalcônio, sendo que os
278 três diferiram entre si (Tabela 1). Somente houve interação entre os isolados, para os
279 sanitizantes cloreto de dodecildimetil amônio e cloreto de benzalcônio, sendo o isolado *Xcv81*
280 resistente a este último. O patógeno foi resistente a dicloroisocianurato de sódio, oxiclreto de
281 cálcio, dióxido de cloro e hipoclorito de cálcio (Tabela 1).

282 **Seleção de sanitizantes para desinfestação de tesouras de raleio contaminadas**
283 **com *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*.** Dos sete sanitizantes testados, cinco reduziram
284 significativamente a população de *Xcv2*^{Rif} em tesouras de raleio, quando comparados com a
285 testemunha (Tabela 2). No entanto, apenas o hipoclorito de sódio (20000 µl l⁻¹) e o cloreto de
286 dodecildimetil amônio (1200 µl l⁻¹) promoveram a total desinfestação das tesouras tratadas
287 (Tabela 2).

288 **Validação da eficiência de sanitizantes para desinfestação de tesouras de raleio**
289 **em mudas de videira.** Tesouras de raleio imersas em suspensão de *Xcv2*^{Rif} foram capazes de
290 disseminar o patógeno em subsequentes cortes em folhas sadias de videira até o máximo de
291 42 cortes, com média de 24 cortes após o contato com o inóculo. Isto aconteceu de forma
292 descontínua, ou seja, em certos cortes a bactéria não foi isolada, mas em cortes subsequentes a
293 detecção foi possível. O tratamento da tesoura por imersão única nos sanitizantes cloreto de
294 dodecildimetil amônio (1200 µl l⁻¹) e hipoclorito de sódio (20000 µl l⁻¹) conseguiu desinfestar
295 esta ferramenta de cultivo, impedindo a disseminação do patógeno.

296 **Viabilidade das soluções sanitizantes para desinfestação de tesouras de raleio**
297 **contaminadas com *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*.** As soluções de cloreto de
298 dodecildimetil amônio (1200 µl l⁻¹) e hipoclorito de sódio (20000 µl l⁻¹) desinfestaram as
299 tesouras contaminadas pelo patógeno desde o tempo zero (sem exposição às condições de
300 campo) até o final do experimento (oito horas de exposição às condições de campo) (Fig. 02).
301 Isto foi comprovado pela ausência de crescimento bacteriano em meio de cultura,
302 demonstrando que a eficiência dos produtos foi mantida nas soluções por 8 horas mesmo sob
303 incidência solar, temperatura máxima de 35°C e mínima 27°C, umidade relativa máxima de
304 66% e mínima de 39% e presença de fragmentos de poda.

305 **Seleção de sanitizantes para desinfestação de água utilizada na produção de**
306 **mudas de videira.** A população de *Xcv2^{Rif}* em água foi reduzida em 100% por todas as
307 concentrações dos sanitizantes testados, bem como por oxitetraciclina (900 e 1000 mg l⁻¹) e
308 oxitetraciclina+sulfato de cobre (195+2600 e 210+2800 mg l⁻¹) (Tabela 3). Oxitetraciclina
309 (800 mg l⁻¹) foi a única concentração que diferiu significativamente (P≤0,05) dos demais
310 tratamentos testados exceto de oxitetraciclina (700 mg l⁻¹), eliminando em 99,84% a
311 população de *Xcv2^{Rif}* (Tabela 3).

312

313 **DISCUSSÃO**

314

315 Bactérias fitopatogênicas sobrevivem às condições adversas como radiação,
316 temperatura, dessecação, antagonismo microbiano, disponibilidade de oxigênio e potencial
317 hidrogeniônico associadas ou não ao hospedeiro. Para isto dispõem de diversos mecanismos
318 tais como cápsula, endósporo, latência, antagonismo, versatilidade bioquímica e fisiológica,
319 abrigo em nichos ecológicos e hospedeiros alternativos (Romeiro, 2005b), cuja presença e
320 eficiência dependem da interação bactéria-habitat-mecanismo. *Xcv* sobrevive em videiras
321 sadias ou infectadas, na fase epifítica (Araújo, 2001) ou endofítica; em hospedeiras
322 alternativas (Peixoto *et al.*, 2007) e restos culturais (Silva *et al.*, 2012), mas não existem
323 trabalhos científicos demonstrando sua sobrevivência em materiais inertes, principalmente
324 ferramentas de cultivo. Na presente pesquisa *Xcv* sobreviveu por pelo menos 24 h em tesouras
325 de raleio (Fig. 1) sem resíduos de matéria orgânica, sugerindo-se que este curto período de
326 sobrevivência pode ter ocorrido devido à indisponibilidade de nutrientes no material testado.
327 Uma vez que as lâminas das tesouras de raleio são de aço inox e foram escolhidas para a
328 pesquisa, por ser o material mais comumente encontrado em outras ferramentas de cultivo da
329 videira, tais como, tesouras de poda e canivetes, sugere-se que *Xcv* também poderá sobreviver
330 nestes outros tipos de ferramentas. Não se conhecem os mecanismos de sobrevivência deste
331 patógeno em ambientes com baixos níveis de nutrientes, mas a camada extrapolisacarídica
332 protege a célula contra a dessecação (Romeiro, 2005b) e ainda pode auxiliar na nutrição
333 (Sutherland, 1988). A comprovação da sobrevivência de *Xcv* em tesouras de raleio indica sua
334 importância como fonte de inóculo para introdução e disseminação do cancro bacteriano, uma
335 vez que, os produtores podem utilizar as mesmas ferramentas, não desinfestadas, para os
336 tratos culturais em áreas diferentes, dentro do período de 24 h. Provavelmente, este foi um dos
337 motivos para a rápida disseminação do cancro bacteriano da videira no Vale do Submédio São

338 Francisco, logo após a sua introdução em 1998. Portanto, a desinfestação desta ferramenta de
339 cultivo é importante para o manejo da videira visando o controle da doença.

340 No teste de sensibilidade *in vitro* de *Xcv* a sete sanitizantes, o hipoclorito de sódio
341 20000 $\mu\text{l l}^{-1}$ e cloreto de dodecildimetil amônio (1200 $\mu\text{l l}^{-1}$) apresentaram os maiores halos de
342 inibição (Tabela 1), sendo os únicos produtos que desinfestaram as tesouras contaminadas
343 com *Xcv* (Tabela 2). Uma suspensão de *Agrobacterium tumefaciens* (sin. *Rhizobium*
344 *radiobacter*) foi exposta a nove produtos por 30 min, nas concentrações de 100, 1.000 e
345 10.000 ppm, verificando-se que o cloreto de benzalcônio e o brometo de cetiltrimetilamônio
346 foram os únicos que reduziram 100% da população do patógeno nas três concentrações
347 testadas. Em outro experimento esses dois sanitizantes nas concentrações de 70, 100 e 500
348 ppm e 30 segundos de exposição reduziram 100% dessa população (Yakabe *et al.*, 2012).

349 Neste trabalho foi possível observar que *Xcv* é disseminada no tecido de folhas de
350 videira através de tesouras não desinfestadas e que o inóculo diminui progressivamente em
351 cortes subsequentes. Isto pode ser explicado pelo fato do inóculo ir sendo depositado nos
352 ferimentos realizados até o seu esgotamento. A redução da detecção também foi verificada
353 em *Datura stramonium* e nogueira var. Paradox, em respectivamente 10 e 6 cortes sequenciais
354 com bisturis contaminados com *A. tumefaciens*, sendo detectada até o oitavo e sexto cortes,
355 respectivamente (Yakabe *et al.*, 2012).

356 A desinfestação das tesouras de raleio pelo cloreto de dodecildimetil amônio e
357 hipoclorito de sódio impediu a disseminação de *Xcv* em mudas de videira. Esses produtos
358 também mostraram eficiência na desinfestação de ferramentas de cultivo em outras culturas.
359 Em *D. stramonium* a porcentagem de estacas com galhas de *A. tumefaciens* foi
360 significativamente reduzida quando as lâminas utilizadas para enxertia foram desinfestadas
361 com cloreto de benzalcônio, não havendo incidência de galhas quando utilizado na
362 concentração de 5000 ppm (Yakabe *et al.*, 2012). Já em melão, a desinfestação da tesoura de
363 poda com hipoclorito de sódio a 2%, em geral, reduziu a disseminação de *Didymella bryoniae*
364 em 72,5% (Vida *et al.*, 2004).

365 A partir dos resultados obtidos para viabilidade das soluções de hipoclorito de sódio e
366 cloreto de dodecildimetil é possível a recomendação destes produtos para desinfestação das
367 ferramentas de cultivo, pois a eficiência foi mantida por 8 horas mesmo sob condições
368 similares as de campo incluindo presença de fragmentos de poda (Fig. 2) A presença de
369 matéria orgânica é um dos fatores que pode interferir na ação dos compostos clorados, uma
370 vez que, a presença deste material consome parte do agente desinfetante, diminuindo a
371 concentração inicial (Ribeiro *et al.*, 2008). Os produtos hipoclorito de sódio (0,02 ppm),

372 cloreto de benzalcônio (2,5 ppm), brometo de cetiltrimetilamônio (2 ppm) e n-alkil dimetil
373 benzil cloreto de amônio- n-alkil etil benzil cloreto de amônio (0,80 ppm) tiveram sua eficácia
374 contra *A. tumefaciens* reduzida na presença de 0,7, 1,5, 2 e 3 g/ml de sólidos totais. O
375 hipoclorito de sódio foi o produto mais influenciado, tendo eficácia reduzida em 64% na
376 presença da menor concentração e 91% na maior concentração de sólidos totais. Os demais
377 produtos, na presença da maior concentração de sólidos totais tiveram eficácia reduzida em
378 21, 28 e 31%, respectivamente (Yakabe *et al.*, 2012).

379 Trabalhos relatam a importância dos sanitizantes para substituição dos fungicidas na
380 desinfestação de água de irrigação, pois estes últimos podem proporcionar o desenvolvimento
381 de isolados resistentes, além de acarretarem impacto ao ambiente (Cayanan *et al.*, 2009). Dos
382 cinco produtos testados para desinfestação da água contaminada com *Xcv*, somente os
383 sanitizantes em todas as concentrações avaliadas, foram eficientes (Tabela 3). As
384 concentrações de sanitizantes, utilizados para desinfestação de água, podem variar conforme o
385 gênero e espécie do patógeno (Hong *et al.*, 2003). *Erwinia carotovora* subsp. *zeae* (sin.
386 *Dickeya zeae*) foi eliminada da água com 1 mg l⁻¹ de cloro ativo (Thompson, 1965), já
387 *Erwinia chrysanthemi* (sin. *Dickeya chrysanthemi*) e *E. carotovora* subsp. *carotovora* (sin.
388 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*) foram menos sensíveis, sobrevivendo até
389 10 mg L⁻¹ (Lacy *et al.*, 1981). A concentração ideal para eliminação de *A. tumefaciens*
390 presente na água reciclada utilizada em culturas de roseira foi 4 mg l⁻¹ de cloro ativo (Poncet
391 *et al.*, 2001). A população de *Ralstonia solanacearum* foi reduzida em 45%, quando se
392 utilizou a concentração de 2,5 mg l⁻¹ de cloreto de dodecildimetil amônio, durante 10 min, não
393 sendo testada uma dosagem que eliminasse totalmente este patógeno da água (Bagnall, 2007).

394 O cloreto de benzalcônio, depois do hipoclorito de sódio e cloreto de dodecildimetil
395 amônio foi o produto que também inibiu o crescimento de *Xcv in vitro* (Tabela 1), mas não foi
396 eficiente para eliminar completamente o patógeno das tesouras de raleio (Tabela 2). Para isto,
397 o cloreto de benzalcônio deveria ter ação imediata na desinfestação das tesouras, o que não foi
398 observado. No entanto, este sanitizante foi eficiente na eliminação total de *Xcv* da água
399 contaminada (Tabela 3), provavelmente porque o tratamento foi mais longo, durando 30 min.
400 Desde que, hipoclorito de sódio, cloreto de dodecildimetil amônio e cloreto de benzalcônio
401 foram eficientes em todas as concentrações testadas, podem ser utilizados para desinfestação
402 de águas contaminadas com *Xcv* nas menores concentrações testadas, ou seja, 5000, 600 e 125
403 µl l⁻¹, respectivamente. Estudos posteriores fazem-se necessários para avaliar a interferência
404 da matéria orgânica, adquirida durante as 48 h de imersão dos bacelos, na eficiência dos

405 produtos, assim como menores tempos de exposição e concentrações dos produtos para
406 eliminação de *Xcv* da água.

407 Este trabalho comprovou que *Xcv* sobrevive por pelo menos 24 h em tesouras de
408 raleio, indicando que ferramentas de cultivo são fontes de inóculo para a introdução e
409 disseminação do cancro bacteriano. Portanto, recomenda-se a desinfestação destas
410 ferramentas com hipoclorito de sódio ($20000 \mu\text{l l}^{-1}$) e cloreto de dodecildimetil amônio (1200
411 $\mu\text{l l}^{-1}$). Este controle preventivo deverá ser realizado durante os tratos culturais da videira
412 entre plantas e ao final do dia de trabalho. As soluções destes sanitizantes permanecem
413 viáveis sob condições ambientais do parreiral e contendo fragmentos de poda durante, pelo
414 menos oito horas. Para desinfestação de água contaminada com *Xcv* podem ser utilizados os
415 sanitizantes cloreto de dodecildimetil amônio ($600 \mu\text{l l}^{-1}$), hipoclorito de sódio ($5000 \mu\text{l l}^{-1}$) e
416 cloreto de benzalcônio ($125 \mu\text{l l}^{-1}$).

417

418 **AGRADECIMENTOS**

419

420 A FACEPE pela concessão da bolsa de Doutorado e Auxílio Mobilidade Discente-
421 AMD a Carine Rosa Naue e ao CNPq pelas bolsas de Produtividade em Pesquisa a Elineide
422 B. Souza e Rosa L. R. Mariano e apoio Financeiro, Proc. 472.555/2009-0.

423

424 **REFERÊNCIAS**

425

426 Araujo, J.S.P., 2001. **Perfil epidemiológico e subsídios para o controle de *Xanthomonas***
427 ***campestris* pv. *viticola* (Nayudu) Dye, agente do cancro bacteriano da videira (*Vitis***
428 ***vinifera* L.) no Brasil.** Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,
429 Rio de Janeiro, Brasil.

430

431 Araujo, J.S.P., Olivares, F.L., Reis Junior, F.B; Robbs, C.F., 2002. Movimento sistêmico de
432 *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em videira. *Fitopatologia Brasileira* **27**: 53-54.

433

434 Bagnall, R., 2007. **Control of *Pythium* wilt and root rot of hydroponically grown lettuce**
435 **by means of chemical treatment of the nutrient solution.** Dissertation (Master).
436 University of Pretoria, Pretoria, South Africa.

437

- 438 Cayan, D.F., Zhang, P., Liu, W., Dixon, M., Zheng, Y., 2009. Efficacy of chlorine in
439 controlling five common plant pathogens. *HortScience* **44**: 157–163.
440
- 441 Freire, F.C.O.; Oliveira, A.D.S., 2001. **Ocorrência do cancro-bacteriano da videira no**
442 **Estado do Ceará.** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2p. (Comunicado Técnico,
443 62).
444
- 445 Halfeld-Vieira, B.A., Nechet, K.L., 2006. Bacterial canker of grapevine in Roraima, Brasil.
446 *Fitopatologia Brasileira* **31**: 6098.
447
- 448 Hong, C.X., Richardson, R.A., Kong, P., Bush, E.A., 2003. Efficacy of chlorine on multiple
449 species of *Phytophthora* in recycled nursery irrigation water. *Plant Disease* **87**:1183–1189.
450
- 451 Junqueira, N.T.V., Junqueira, K.P., Braga, M.F., Vaz, C.F., Santos, E.C., Junqueira, L.P.,
452 Souza, L.S., Lima, C.A., 2006. Ocorrência do Cancro Bacteriano da Videira na Região do
453 Entorno do Distrito Federal. In: CONGRESSO BRASILEIRO D, 19., 2006, Cabo Frio.
454 Frutas do Brasil: Saúde para o Mundo. Palestras e Resumos... Cabo Frio-RJ:
455 SBF/UENF/UFRural RJ, 323.
456
- 457 Lacy, G.H., Lambe, R.C., Berg, C. M., 1981. Iris soft rot caused by *Erwinia chrysanthemi*
458 associated with overhead irrigation and its control by chlorination. *Combined proceedings*
459 */ International Plant Propagators' Society*, **31**: 626-634.
460
- 461 Lima, M. F., 2000. Cancro bacteriano da videira causado por *Xanthomonas campestris* pv.
462 *viticola*: Epidemiologia e Manejo. Petrolina: Embrapa Semiárido, 22p. (Embrapa
463 Semiárido Circular Técnica, 54).
464
- 465 Malavolta Jr., V.A., Almeida, I.M.G., Sugimori, M.H., Ribeiro, I.J.A, Rodrigues Neto, J.,
466 Pires, E.J.P.; Nogueira, E.M.C., 1999. Ocorrência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*
467 em videira no Brasil. *Summa Phytopathologica* **25**: 262-264.
468
- 469 Nascimento, A.R.P.; Mariano, R.L.R., 2004. Cancro-bacteriano da videira: etiologia,
470 epidemiologia e medidas de controle. *Ciência Rural* **34**: 301-307.
471

- 472 Nayudu, M.V., 1972. *Pseudomonas viticola* sp. nov., incitant of a new bacterial disease of
473 grape vine. *Phytopathology Zeitschrift* **73**: 183-186.
474
- 475 Peixoto, A.R.P., Mariano, R.L.R., Moreira, J.O.T., Viana, I.O., 2007. Hospedeiros
476 alternativos de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Fitopatologia Brasileira* **32**: 161-
477 164.
478
- 479 Poncet, C., Offroy, M., Bonnet, G., Brun, R, 2001. Disinfection of recycling water in rose
480 cultures. *Acta Horticulturae* **547**: 121–127.
481
- 482 Raudales, E.R., Fisher, P.R., Harmon, C.L., Mackay, B.R, 2011. Review of efficacy tests for
483 chlorination of irrigation systems. *Proceedings Florida State Horticultural Society* **124**:
484 285–288.
485
- 486 Ribeiro, J.M.; Canuto, K.M.; Veschi, J.L.A. Compostos clorados: aspectos gerais e sua
487 utilização como agente sanitizante na agricultura, micropropagação e pecuária. Petrolina :
488 Embrapa Semi-Árido , 2008. 26 p. (Embrapa Semi-Árido . Documentos, 207).
489
- 490 Rodrigues Neto, J., Destéfano, S.A.L., Rodrigues, L.M.R.; Pelosso, D.S.; Oliveira Junior,
491 L.C., 2011. Grapevine bacterial canker in the State of São Paulo, Brazil: detection and
492 eradication. *Tropical Plant Pathology*. **36**: 42-44.
493
- 494 Romeiro, R. S., 2005a. Antibióticos e seu emprego em pesquisa com bactérias
495 fitopatogênicas. In: Romeiro, R. S. (Ed.). Métodos em Bacteriologia de Plantas. Viçosa:
496 UFV. pp. 127-162.
497
- 498 Romeiro, R.S., 2005b. Bactérias Fitopatogênicas. 2ª. ed. Viçosa: Editora UFV, 417p.
499
- 500 Rosner, A., Lachman, O., Pearlsman, M., Feigelson, L., Maslenin, L., Antignus Y., 2006.
501 Characterization of *Cucumber leaf spot virus* isolated from recycled irrigation water of
502 soil-less cucumber cultures. *Annals of Applied Biology* **149**: 313– 316.
503

- 504 Silva, A.M.F., Menezes, E.F., Souza, E.B., Melo, N. F., Mariano, R. L. M., 2012.
505 Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em tecido infectado de videira.
506 *Revista Brasileira de Fruticultura* **34**: 757-765.
- 507
- 508 Sutherland, I.W., 1988. Bacterial surface polysaccharides: structure and function.
509 *International Review of Cytology*, **113**: 187-231.
- 510
- 511 Tavares, S.C.C.H. **Principais Doenças das culturas de: manga, uva, acerola e banana.**
512 Petrolina, PE: EMBRAPA. CPATSA, 1995. 1v. Apostila do Curso de Atualização Técnica
513 para Engenheiros Agrônomos do Banco do Brasil, Petrolina, PE, 1995.
- 514
- 515 Tavares, S.C.C.H., Menezes, M., 1991. Processo de infecção de *Botryodiplodia theobromae*
516 em plantas de mangueira e videira no Trópico Semi-Árido brasileiro. *Fitopatologia*
517 *Brasileira* **16**: 55.
- 518
- 519 Thompson, D.L. 1965. Control of bacterial stalk rot of corn by chlorination of water in
520 sprinkler irrigation. *Crop Science* **5**: 369-370.
- 521
- 522 Tomaz, R., Scremin, R.M., Ferreira, M.A.S.V., Barbosa, M.A.G. Detecção e erradicação de
523 videiras com sintomas do cancro bacteriano no Estado do Paraná. *Tropical Plant*
524 *Pathology*, Brasília, DF, v. 36, 2011. p. 896 1 CD-ROM. Suplemento. Bento Gonçalves,
525 ago. 2011.
- 526
- 527 Trindade, L.C., Lima, M.F., Ferreira, M.A.S.V., 2005. Molecular characterization of brazilian
528 strains of *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* by rep-PCR fingerprinting. *Fitopatologia*
529 *Brasileira* **30**: 46-54.
- 530
- 531 Trindade, L.C., Marques, E., Lopes, D.B., Ferreira, M.A.S.V., 2007. Development of
532 molecular method for detection and identification of *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*.
533 *Summa Phytopathologica* **33**: 16-23.
- 534
- 535 Valexport. **Exportações de uvas no Vale do São Francisco.** Petrolina, 2011. Np.
- 536

- 537 Ventura, J.A., Costa, H., 2002. Manejo integrado das doenças de fruteiras tropicais: abacaxi,
538 banana e mamão. In: Zambolim, L. (ed.) Manejo Integrado, Fruteiras Tropicais: Doenças e
539 Pragas, pp. 279-350. Viçosa: UFV.
- 540
- 541 Vida, J.B., Tessmann, D.J., Zambolim, L., Verzignassi, J.R., Brandão Filho, J.U.T., 2004.
542 Controle da podridão gomosa em melão rendilhado em cultivo protegido por sanitização de
543 ferramenta de poda. *Fitopatologia Brasileira* **29**: 626-630.
- 544
- 545 Zambolim, L., Costa, H., Ventura, J.A.; Vale, F.X.R., 2002. Controle de doenças em pós-
546 colheita de fruteiras tropicais, pp. 443-511. In: Zambolim, L. (Ed.) Manejo Integrado,
547 Fruteiras Tropicais: Doenças e Pragas. Viçosa: UFV.
- 548
- 549 Yakabe, L.E., Parker, S.R., Kluepfel, D.A., 2012. Cationic surfactants: Potential surface
550 disinfectants to manage *Agrobacterium tumefaciens* biovar 1 contamination of grafting
551 tools. *Plant Disease* **96**: 409-415.
- 552
- 553
- 554
- 555
- 556
- 557
- 558
- 559
- 560
- 561
- 562
- 563
- 564
- 565
- 566
- 567
- 568
- 569

570 **Tabela 1.** Efeito de sanitizantes sobre o crescimento *in vitro* dos isolados Xcv05, Xcv81 e
 571 Xcv113 de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em meio Ágar-ágar + NYDA semi-sólido.

Tratamento	Halo de inibição (mm)					
	Xcv5		Xcv81		Xcv113	
Hipoclorito de sódio (20000 µl l ⁻¹)	13,40 ¹	aA	13,90	aA	14,52	aA
Cloreto de dodecildimetil amônio (1200 µl l ⁻¹)	11,33	bA	10,02	bB	11,10	bA
Cloreto de benzalcônio (250 µl l ⁻¹)	8,35	cA	0,00	cB	8,65	cA
Dicloroisocianurato de sódio (16,25 mg l ⁻¹)	0,00	dA	0,00	cA	0,00	dA
Oxicloreto de cálcio (97,5 g l ⁻¹)	0,00	dA	0,00	cA	0,00	dA
Dióxido de cloro (25 µl l ⁻¹)	0,00	dA	0,00	cA	0,00	dA
Hipoclorito de cálcio (130 mg l ⁻¹)	0,00	dA	0,00	cA	0,00	dA
Testemunha	0,00	dA	0,00	cA	0,00	dA
CV (%)	14,22					

572 ¹Média de cinco repetições. Médias nas linhas e nas colunas, seguidas respectivamente por letras
 573 minúsculas e maiúsculas iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05).

574

575 **Tabela 2.** Efeito de sanitizantes na desinfestação de tesouras de raleio contaminadas com
 576 *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* isolado Xcv2^{Rif}

Tratamento	Log ufc (cm ²) ⁻¹
Testemunha	13,00 ¹ a
Hipoclorito de cálcio (130 mg l ⁻¹)	12,60 a
Dióxido de cloro (25 µl l ⁻¹)	11,66 ab
Dicloroisocianurato de sódio (16,25 mg l ⁻¹)	10,45 b
Oxicloreto de cálcio (97,5 g l ⁻¹)	7,87 c
Cloreto de benzalcônio (250 µl l ⁻¹)	6,93 c
Cloreto de dodecildimetil amônio (1200 µl l ⁻¹)	0,00 d
Hipoclorito de sódio (20000 µl l ⁻¹)	0,00 d
CV (%)	22,58

577 ¹Média de dezesseis repetições. Médias na coluna, seguidas por letras minúsculas iguais não diferem
 578 significativamente entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05). Dados transformados em log (x+1).

579

580

581

582

583

584

585

586

587

588

589

590

591

592 **Tabela 3.** Efeito de sanitizantes na desinfestação de água contaminada com *Xanthomonas*
 593 *campestris* pv. *viticola*.

Tratamento	Redução da população de <i>Xcv</i> (%)
Cloreto de dodecildimetil amônio (600 µl l ⁻¹)	100 ¹ a
Cloreto de dodecildimetil amônio (1200 µl l ⁻¹)	100 a
Cloreto de dodecildimetil amônio (1800 µl l ⁻¹)	100 a
Cloreto de dodecildimetil amônio (2400 µl l ⁻¹)	100 a
Cloreto de dodecildimetil amônio (3000 µl l ⁻¹)	100 a
Hipoclorito de sódio (10000 µl l ⁻¹)	100 a
Hipoclorito de sódio (20000 µl l ⁻¹)	100 a
Hipoclorito de sódio (30000 µl l ⁻¹)	100 a
Hipoclorito de sódio (40000 µl l ⁻¹)	100 a
Hipoclorito de sódio (5000 µl l ⁻¹)	100 a
Cloreto de benzalcônio (125 µl l ⁻¹)	100 a
Cloreto de benzalcônio (167 µl l ⁻¹)	100 a
Cloreto de benzalcônio (250 µl l ⁻¹)	100 a
Cloreto de benzalcônio (334 µl l ⁻¹)	100 a
Cloreto de benzalcônio (500 µl l ⁻¹)	100 a
Oxitetraciclina (900 mg l ⁻¹)	100 a
Oxitetraciclina (1000 mg l ⁻¹)	100 a
Oxitetraciclina+sulfato de cobre (195+2600 mg l ⁻¹)	100 a
Oxitetraciclina+sulfato de cobre (210+2800 mg l ⁻¹)	100 a
Oxitetraciclina+sulfato de cobre (165+2200 mg l ⁻¹)	99.995 a
Oxitetraciclina+sulfato de cobre (180+2400 mg l ⁻¹)	99.995 a
Oxitetraciclina (600 mg l ⁻¹)	99.990 a
Oxitetraciclina+sulfato de cobre (150+2000 mg l ⁻¹)	99.988 a
Oxitetraciclina (700 mg l ⁻¹)	99.933 ab
Oxitetraciclina (800 mg l ⁻¹)	99.842 b
CV (%)	0,02

594 ¹Média de 8 repetições. Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste de
 595 Tukey a 5% de significância. Dados transformados em $\sqrt{x+0,01}$.

596

597

598

599

600

601

602

603

604

605

606

607

608

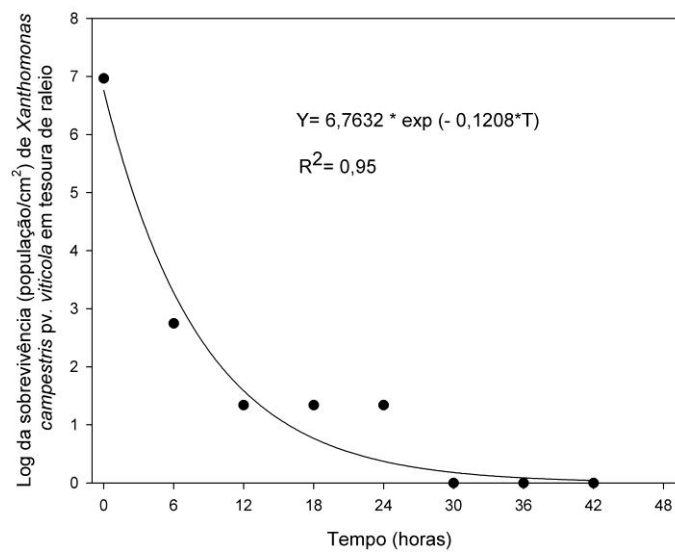
609

610

611

612

613



614

615 **Figura 1.** Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em tesouras de raleio de
616 videiras após imersão na suspensão bacteriana e armazenamento a 28°C.

617

618

619

620

621

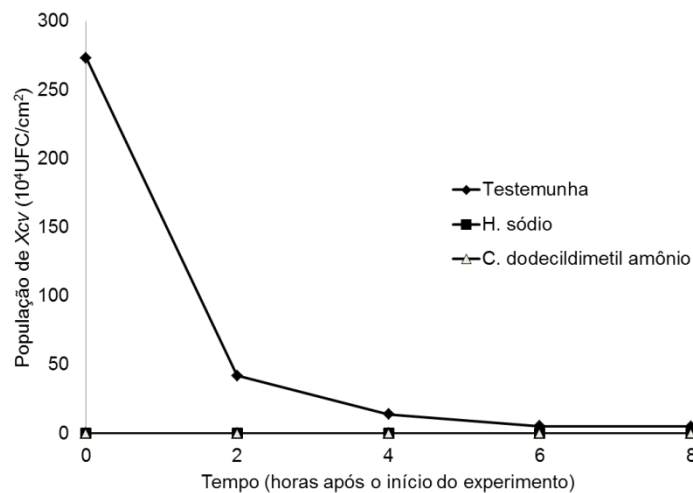
622

623

624

625

626



627

628

629 **Figura 2.** Manutenção da eficiência dos sanitizantes hipoclorito de sódio (20000 µl l⁻¹) e
630 cloreto de dodecildimetil amônio (1200 µl l⁻¹) na desinfestação de tesouras de raleio
631 contaminadas com *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, avaliada pela população bacteriana
632 remanescente na tesoura após o tratamento, em cada tempo de coleta (Média de três
633 experimentos).

CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES GERAIS

- Não é possível recomendar um tratamento termoterápico, bactericida ou sanitizante, dentre os testados, capaz de erradicar a bactéria fitopatogênica *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* de bacelos de videira infectados.
- Foi comprovada experimentalmente a sobrevivência de *Xcv* em tesouras de raleio;
- Os sanitizantes hipoclorito de sódio, cloreto de dodecildimetil amônio e cloreto de benzalcônio foram os mais eficientes em inibir o crescimento *in vitro* de *Xcv*;
- Os sanitizantes, hipoclorito de sódio e o cloreto de dodecildimetil amônio promovem a total desinfestação de tesouras de raleio contaminadas com *Xcv* e evitam a disseminação do patógeno;
- As soluções de cloreto de dodecildimetil amônio e hipoclorito de sódio, não perdem a viabilidade durante oito horas, quando expostas as condições similares as de campo, incluindo fragmentos de poda.
- Tesouras de raleio contaminadas com *Xcv* são capazes de disseminar o patógeno;
- Os sanitizantes cloreto de dodecildimetil amônio, hipoclorito de sódio e cloreto de benzalcônio são eficientes na desinfestação da água contaminada com *Xcv*.