

Capítulo 22

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* (Xanthomonadales: Xanthomonadaceae)

MÁRCIO ELIAS FERREIRA, PAULO HIDEO NAKANO RANGEL

Identificação da praga

Nome científico:

- *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Ishiyama, 1922) Swings et al. (1990).

Posição taxonômica:

- Classe: Gammaproteobacteria.
- Ordem: Xanthomonadales.
- Família: Xanthomonadaceae.

Sinonímias:

- *Pseudomonas oryzae* Ishiyama.
- *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* (Ishiyama) Dye.

- *Xanthomonas itoana* (Tachinai) Dowson.
- *Xanthomonas kresek* Schure.
- *Xanthomonas oryzae* (Ishiyama) Dowson.
- *Xanthomonas translucens* f.sp. *oryzae* (Ishiyama) Pordesimo.

Nome comum:

- Crestamento ou murcha bacteriana (Português).
- Enfermedad bacteriana de las hojas del arroz (Espanhol).
- Bacterial leaf blight (BLB), Kresek disease, bacterial blight (BB) (Inglês).
- Maladie bactérienne des feuilles du riz (Francês).

Abreviação: Xoo**Hospedeiros**

A principal espécie agrícola infectada por *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) é o arroz (*Oryza sativa* L.). A bactéria causa doença também em várias outras gramíneas, como *Cynodon dactylon*, *Cyperus* spp., *Leersia* spp., *Leptochloa* spp., *Panicum maximum*, *Paspalum scrobiculatum*, *Zizania* spp., *Zoysia* spp., e espécies silvestres de arroz (*Oryza* spp.) (Ou, 1985; Mew, 1987). Muitas outras gramíneas apresentam compatibilidade com a bactéria quando inoculadas artificialmente (Bradbury, 1970a; 1970b). O nível de suscetibilidade varia bastante entre as espécies submetidas a inoculação.

Distribuição geográfica da praga

O crestamento bacteriano do arroz é endêmico da Ásia e África Ocidental. A doença foi também descrita na Austrália e em vários países da América Latina e do Caribe (Mew et al., 1993). A bactéria foi detectada nas regiões destacadas na Figura 1:

- **América do Norte:** México.
- **América Central e Caribe:** Costa Rica, El Salvador, Honduras, Nicarágua, Panamá.
- **América do Sul:** Bolívia, Equador, Venezuela.
- **África:** Nigéria, Camarões, Madagascar, Benin, Togo, Egito, Burquina Faso, Gabão, Mali, Gambia, Senegal.
- **Ásia:** China, Japão, Índia, Irã, Paquistão, Bangladesh, Coreia do Sul, Coreia do Norte, Vietnã, Camboja, Indonésia, Filipinas, Laos, Malásia, Nepal, Tailândia, Taiwan, Birmânia, Ceilão.
- **Eurásia:** Rússia, Ucrânia.
- **Oceania:** Austrália.

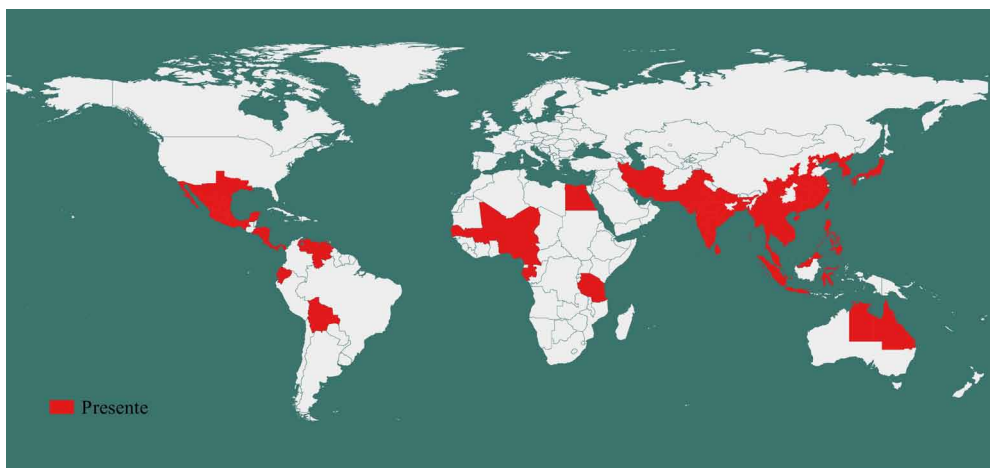


Foto: Marcelo Negrini

Figura 1. Países onde a bactéria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* foi detectada infectando arroz e outras gramíneas.

Biologia da praga

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* é responsável por uma das mais importantes doenças de arroz. O potencial destrutivo e o impacto econômico da doença inclui o seu agente causal entre os dez mais importantes patógenos bacterianos de plantas (Mansfield et al., 2012). A doença foi descrita

inicialmente no Japão em 1889 (Gnanamanickam et al., 1999) em áreas que registraram forte epidemia com os sintomas típicos da doença. Desde então o agente etiológico vem sendo estudado e classificado em diferentes gêneros e espécies até atingir a classificação atual (Swings et al., 1990).

Trata-se de uma bactéria em forma de bastão, grã-negativa, com células individuais medindo 0,7 a 2,0 μm de comprimento e 0,4 a 0,7 μm de largura. A bactéria se desloca em meio líquido por movimento de um único flagelo em sua extremidade (Ou, 1985; Mew, 1987). As colônias em meio sólido exsudam o pigmento amarelado conhecido como xantomonadina ou EPS (*extracellular polysaccharide*), típico do gênero, que auxilia a sua propagação e a protege de dessecação. As colônias são circulares, convexas e lisas. A bactéria é aeróbica obrigatória e não forma esporos. A temperatura ideal de crescimento varia entre 25 a 30 °C.

Ciclo biológico da praga

A infecção da planta com a bactéria pode ser iniciada de diferentes formas. O material de plantio infectado é a principal fonte potencial de inóculo da bactéria. Contudo, ferramentas agrícolas, hospedeiros alternativos, palha e restos culturais, também são fontes comuns de inóculo inicial. A penetração da bactéria geralmente ocorre nas aberturas naturais nas folhas das plantas, como estômatos e hidatódios (Tabei, 1977). No estômato é comum a multiplicação inicial do patógeno na região das células-guarda, onde se inicia o processo de infecção. Nos hidatódios, a exsudação de fluido (gutação) durante a noite também facilita a movimentação da bactéria para outras partes da planta. Ao amanhecer, à medida em que a temperatura aumenta e o fluido de gutação reflui para os hidatódios e é absorvido pela planta, a bactéria penetra na folha de forma passiva. É comum a detecção de células bacterianas no fluido de exsudação dos hidatódios de plantas doentes, que serve de fonte secundária de inóculo. Condições ambientais favoráveis, principalmente alta temperatura e humidade, facilitam o desenvolvimento da doença.

Estratégias reprodutivas da praga

A infecção se instala pela multiplicação bacteriana nas camadas externas do parênquima foliar até atingir o xilema, quando se espalha sistemicamente

do sistema vascular para outras áreas da folha. Em interações compatíveis, observa-se a multiplicação da bactéria dentro da planta, seguida de infecção dos tecidos.

A movimentação da bactéria na planta é realizada de forma passiva pelo fluxo de fluidos e, também, pelo movimento flagelar. Em poucos dias, células bacterianas e o polissacarídeo que elas produzem preenchem os vasos xilemáticos e exsudam dos hidatódios, colonizando a superfície foliar. Este é um sinal claro do estabelecimento da doença e de fonte de inóculo secundário (Niño-Liu et al., 2006). As folhas infectadas ou o exsudato podem atingir a água de irrigação e possibilitar a dispersão da bactéria. A movimentação de material infectado pela água de um campo para outro maximiza o alcance do patógeno e propicia o desenvolvimento de epidemias.

Tipo de dispersão

A bactéria é disseminada pelo vento, pela chuva e água de irrigação, persistindo em restos culturais de safras anteriores (Dath; Devadath, 1983). É comum também a disseminação por ação humana através da movimentação de pessoas nas áreas de plantio (Niño-Liu et al., 2006).

A estação de chuva é o período mais propício para a dispersão da doença pela ação do vento e da água. A ocorrência de granizo facilita a dispersão pelo grande número de lesões causadas na planta. Epidemias severas geralmente ocorrem após chuvas com ventos fortes. No campo, a movimentação da bactéria ocorre em pequenas distâncias, em geral através da água. A água de irrigação é considerada a forma mais comum de disseminação da doença em grandes áreas. As folhas infectadas ou o exsudato podem atingir a água de irrigação e possibilitar a dispersão da bactéria. A movimentação de material infectado pela água de um campo para outro maximiza o alcance do patógeno e propicia o desenvolvimento de epidemias.

Restos culturais também possuem relevante papel na dispersão do patógeno e são considerados importante fonte de inóculo primário (Mew et al., 1993). Xoo pode ser isolada de sementes de plantas artificialmente infectadas (Xie; Mew, 1998), mas a importância da transmissão por sementes na disseminação da doença e o tempo de sobrevivência da bactéria no grão

ainda são pontos de controvérsia (Kauffman; Reddy, 1975; Devadath; Thri Murty, 1984; Mew; Misra, 1994; Sakthivel et al., 2001; Vera Cruz et al., 2013). A transmissão por insetos or por pássaros não parece importante, embora relatos desse modo de disseminação estejam registrados na literatura. Hospedeiros alternativos, por outro lado, têm papel importante na disseminação da doença, especialmente em regiões tropicais.

Mecanismos de sobrevivência em condições adversas

A bactéria não produz esporos ou estruturas de sobrevivência de longo prazo. Mas pode sobreviver por períodos curtos no solo ou em sementes infectadas. A bactéria sobrevive na água de irrigação por algum tempo nas regiões tropicais, mas por período curto, geralmente não mais do que 15 dias (Gnanamanickam et al., 1999).

A sobrevivência em restos culturais é bem documentada, especialmente em touceiras e raízes de plantas infectadas. A sobrevivência em soca ou palha seca também foi demonstrada extensivamente. Dependendo das condições de umidade e acidez do solo, a bactéria pode sobreviver em folhas infectadas em decomposição no solo por alguns meses, apesar do solo não ser considerado como fonte importante de inóculo (Ou, 1985).

Xoo sobrevive e pode ser facilmente isolada de sementes de plantas infectadas. O tempo de sobrevivência em sementes é controverso, com evidências de que diminui após poucos meses (Mew, 1987). É comum a multiplicação da bactéria em hospedeiros alternativos do gênero *Cyperus*, *Zizania* e *Leersia*, considerados uma das principais formas de manutenção de fontes de inóculo no campo.

A combinação de mecanismos alternativos de sobrevivência justifica o cuidado que se deve ter com a supressão de fontes de inóculo da bactéria para minimizar epidemias e, conseqüentemente, os danos causados pela doença.

Condições edafoclimáticas ideais para o desenvolvimento

O crestamento bacteriano é favorecido por temperaturas elevadas (25 a 30 °C), alta umidade, chuva e plantio irrigado. A doença é também favorecida

por ventanias capazes de causar ferimentos na planta e pela aplicação de nitrogênio em excesso (Gnanamanickam et al., 1999).

Alguns estudos indicam que o solo e a adubação pode ter efeito no desenvolvimento do crestamento bacteriano. Plantas cultivadas em solos com alto conteúdo de potássio (>180 ppm) apresentam maior tolerância à bactéria (Gnanamanickam et al., 1999). Adubação complementar com fósforo aparentemente também diminui o desenvolvimento da doença, assim como plantas adubadas com nitrogênio durante o perfilhamento apresentam mais vigor e aparente tolerância. Estas observações, contudo, não são suficientes para adotar tais procedimentos como medida de controle.

Adaptabilidade: plasticidade

Xoo adapta-se facilmente a condições ambientais que facilitam o seu desenvolvimento (alta temperatura e alta humidade). A doença foi descrita em condições ambientais bastante variáveis na Ásia, África, Eurásia e Américas, o que indica que possui uma capacidade de adaptação muito grande a variações ambientais.

Há uma grande diversidade de raças fisiológicas do patógeno. O número total de raças atinge dezenas em diferentes países. A classificação racial é baseada em um conjunto de linhagens com o mesmo *background* genético (linhagens quase-isogênicas) que diferem para genes de resistência à doença (genes *Xa*) (Mew, 1987; Ogawa et al., 1991). Alguns dos genes de resistência a Xoo foram introgrididos na cultivar IR24 (suscetível, tipo *indica*) para o desenvolvimento de linhagens quase-isogênicas com diferentes genes de resistência (Ogawa et al., 1991; Brar; Khush, 1997). Essas linhagens fazem parte da série de linhagens quase-isogênicas denominadas IR-BB (*International Rice-Bacterial Blight*). Cada linhagem contém um gene de resistência a uma raça específica da doença (ex. IR-BB 1 apresenta resistência à raça 1 do patógeno). Linhagens quase-isogênicas de arroz *japonica* também foram desenvolvidas para uso na diferenciação racial de isolados de Xoo (Noda et al., 1996; Lee et al., 1999; Jeung et al., 2006). Essas linhagens quase-isogênicas têm sido usadas para desenvolver estudos básicos da interação patógeno-hospeiro, e empregadas como fonte de genes de resistência ao patógeno pelos programas de melhoramento genético.

Novas raças de Xoo vêm constantemente sendo descritas em diferentes países, associadas à quebra de resistência genética em cultivares comerciais. Conhecer a composição racial das epidemias de Xoo é importante para definir o emprego dos genes de resistência conhecidos no desenvolvimento de novos cultivares. A adoção de um painel internacional de linhagens quase-isogênicas para diferenciação de raças de Xoo em diferentes países e utilizando a mesma metodologia seria importante para caracterizar e estudar a interação patógeno-hospedeiro em uma escala global.

A capacidade da bactéria de se adaptar ao hospedeiro e quebrar resistência é um dos grandes desafios do controle da doença. A severidade da doença depende da virulência do isolado presente e da compatibilidade com o hospedeiro.

Sintomas, sinais e danos

O crestamento bacteriano resulta de uma infecção sistêmica do sistema vascular da planta de arroz, causando lesões que variam do amarelo-acinzentado ao branco, visíveis nas nervuras das folhas (Figura 2). Sintomas claros de infecção são tipicamente observados na fase de perfilhamento, quando pequenas manchas aquosas são detectadas nas margens e nas pontas das folhas mais desenvolvidas, que coalescem formando manchas maiores, inicialmente cloróticas e mais tarde necróticas (Mew, 1987; Niño-Liu et al., 2006). A exsudação de fluido bacteriano pode ser observada em lesões jovens causadas pela bactéria. Por fim, lesões contínuas que se estendem da ponta da folha na direção da base, geralmente pelas margens da folha, apresentam coloração amarelo ou branco-acinzentadas e aspecto opaco, que caracterizam a infecção pela bactéria. Tais lesões podem ser co-colonizadas por fungos saprofíticos oportunistas. Quando a bactéria atinge os internódios ou coroa da planta, mas as folhas ainda não foram infectadas, é comum a observação de coloração levemente amarelada das folhas das plantas atingidas. A ocorrência de listras amareladas nas folhas com este tipo de infecção também é comum. Glumas infectadas apresentam lesões circulares com bordas aquosas em epidemias severas. A infecção do sistema radicular pela bactéria causa o entupimento do xilema e leva à murcha da planta. Sementes mal-desenvolvidas, apresentando descoloração da epiderme, baixo peso e baixa qualidade, são observadas em plantas infectadas.



Foto: Donald Groth, Louisiana State University AgCenter; Bugwood.org

Figura 2. Sintomas da infecção causada por *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* em plantas de arroz.

A inoculação artificial de plantas com a bactéria em condições controladas desenvolve sintomas similares aos descritos acima. A inoculação artificial é geralmente realizada com pulverizador ou vaporizador, produzindo uma nuvem de inóculo na superfície inferior da folha para facilitar a penetração pelos estômatos. Os estômatos são encontrados em maior densidade na superfície inferior da folha. São comuns ainda os ensaios de avaliação de resistência ao patógeno utilizando corte de folhas com tesoura molhada em inóculo (Kauffman et al., 1973), ou a imersão das folhas em solução de inóculo.

Lesões causadas pelo vento, por impacto ou por insetos também são pontos propícios de penetração na planta. A síndrome de “kresek” ou murcha bacteriana, por exemplo, é geralmente associada com infecção de plântulas por ferimentos causados durante as operações de transplântio. Neste caso, a infecção ocorre através de raízes danificadas quando as plântulas são retiradas do viveiro para efetuar o transplântio no campo. Além disso, é comum no transplântio o agricultor podar a ponta das folhas para diminuir

a perda d'água e o estresse hídrico, provocando aberturas propícias à infecção bacteriana. As folhas infectadas apresentam uma coloração acinzentada, enrolam em si mesmas e toda a planta murcha. A maioria das plantas acaba morrendo, levando à perda total da lavoura.

É importante notar que Xoo pode estar presente em tecido que não apresenta qualquer sintoma inicial até o patógeno atingir concentração suficiente para iniciar o processo de infecção (Barton-Willis et al., 1989; Zhao et al., 2011; He et al., 2010; Verdier et al., 2012), a depender da resistência ou suscetibilidade do hospedeiro.

Métodos de controle

Medidas de controle da doença vêm sendo testadas há décadas. Práticas culturais como desinfecção de sementes, eliminação de ervas daninhas e restos culturais, drenagem adequada na produção de mudas ou remoção de plantas infectadas no campo, são adotadas em vários países onde a bactéria é endêmica. Estas práticas contribuem para minimizar os danos causados pelo patógeno, mas não são suficientes para evitar as quebras de produção.

O emprego de produtos químicos para a desinfecção de sementes ou o tratamento de campos infectados, embora adotado por alguns países, não tem efeito prático. Vários produtos foram testados ao longo do tempo (ex. calda bordalesa, cloranfenicol, carbamatos, entre outros), mas nenhum deles é até agora reconhecido como efetivo no controle da bacteriose.

Antibióticos, como derivados de estreptomicina, foram analisados no controle da doença e, em alguns casos, recomendados para controle. Contudo, o controle efetivo da doença por antibióticos esbarra em dúvidas sobre a eficácia e custo-benefício comprovado para a diminuir o dano causado pela bactéria em campos comerciais. O mesmo se aplica ao emprego de controle biológico para diminuir as perdas causadas pela bactéria, apesar dos esforços de pesquisa com diferentes agentes de controle, como *Pseudomonas fluorescens* e diferentes isolados de *Bacillus* (Gnanamanickam et al., 1999; Johri et al., 2003).

A maneira mais eficiente de controlar a doença é através do emprego de genes de resistência pelos programas de melhoramento genético. O desafio

é grande pois o surgimento de novas raças do patógeno é constante, conforme comentado anteriormente. A diversidade racial do patógeno dificulta o desenvolvimento de resistência durável ao patógeno.

A resistência a Xoo tem sido tipificada como gene-a-gene (Flor, 1971), onde o produto de um gene de resistência do hospedeiro (gene R) interage com o produto do gene de avirulência (gene Avr) do patógeno. Este modelo tem sido usado para a identificação e caracterização de um número significativo de raças e de genes de resistência e de avirulência na interação entre o arroz e a bactéria (Song et al., 1997; Yoshimura et al., 1998; Meyers et al., 1999; Iyer; McCouch, 2004; Sun et al., 2004; Gu et al., 2005; Chu et al., 2006). Genes ou locos de efeito quantitativo (QTLs – *quantitative trait loci*) também foram identificados (Koch; Parlevliet, 1991; Li et al., 2006).

O estudo da genética da interação da bactéria com o arroz possibilitou até o momento a identificação de mais de 30 genes de resistência ao patógeno (Niño-Liu et al., 2005; Corral et al., 2013). A grande maioria destes genes é dominante (ex. *Xa1*, *Xa21* e *Xa26*), isto é, a sua presença em apenas uma cópia em uma cultivar é suficiente para estabelecer uma reação de resistência a isolado(s) do patógeno. Contudo, alguns genes recessivos também foram descritos (ex. *xa5*, *xa13*). O estágio de desenvolvimento em que os genes de resistência são expressos é variável, alguns apresentando expressão somente na fase adulta (ex. *Xa21*) e outros durante todo o desenvolvimento da planta (ex. *Xa1*, *xa5*). O espectro de resistência também é diverso, sendo alguns genes raça-específicos ou efetivos contra um número limitado de raças (ex. *Xa1*), enquanto outros são reconhecidamente de amplo espectro (ex. *Xa21*, *Xa26*).

A estrutura de cada gene de resistência é bem variada, assim como a localização do produto gênico na célula de arroz. Alguns genes de resistência pertencem à família de quinases receptoras de proteína, com um domínio rico em leucina extra-celular (LRR – *Leucine Rich Repeat*), um domínio trans-membrana, e um domínio quinase na porção citoplasmática (ex. *Xa21*). Outros não têm ainda um produto protéico previsto com base na sequência do gene, mas se sabe que resistência ou suscetibilidade são causados por mutação observada na região promotora do gene (ex. *Xa27*). Um dos genes de resistência, *xa5*, por sua vez, codifica uma sub-unidade de um fator de transcrição.

Grandes avanços no conhecimento da interação patógeno-hospedeiro foram observados desde a clonagem de alguns dos genes de resistência à bactéria [ex. *Xa21* (Song et al., 1997), *Xa1* (Yoshimura et al., 1998), *xa5* (Iyer; McCouch, 2004), *Xa26* (Sun et al., 2004), *Xa27* (Gu et al., 2005) e *xa13* (Chu et al., 2006)]. A clonagem de genes de avirulência do patógeno também vem contribuindo para o aprofundamento do conhecimento em nível molecular e fisiológico da interação. Exemplos de genes de avirulência de Xoo já clonados incluem *avrXa7* e *avrXa10* (Hopkins et al., 1992).

Através de retrocruzamento convencional, retrocruzamento assistido por marcadores moleculares ou engenharia genética (Wang et al., 1996; Huang et al., 1997; Davierwala et al., 2001; Kottapalli et al., 2010), algumas linhagens de arroz resistentes a Xoo foram desenvolvidas com sucesso. Quando linhagens quase-isogênicas foram utilizadas para pirimidizar genes de resistência ao patógeno, observou-se um aparente efeito sinérgico da presença de vários genes no mesmo *background* genético, com um espectro de resistência maior do que a resistência observada na linhagem doadora do gene de resistência (Wang et al., 1996).

O efetivo controle da doença inclui o emprego de métodos eficientes de detecção e diagnóstico, monitoramento das raças e da variabilidade do patógeno, bem como o desenvolvimento de cultivares resistentes à bactéria. Em caso de introdução do patógeno e após a confirmação do diagnóstico, medidas de contenção devem ser tomadas imediatamente para a erradicação da doença, incluindo a remoção e destruição do hospedeiro. Medidas regulatórias que impeçam a movimentação de material biológico contaminado para outras áreas dentro ou entre os estados devem ser adotadas em sincronia por autoridades municipais, estaduais e federais.

Métodos de produção de material propagativo

O tratamento de sementes infectadas com água quente e/ou produtos químicos, embora recomendado em alguns países, não tem efeito prático significativo. O emprego de sementes sadias de cultivares resistentes é a maneira mais eficaz de produzir material propagativo de alta qualidade para plantio.

Processo pós-colheita/transformação primária

A bactéria diminui a produtividade e afeta a qualidade do grão. Mas não há produção de toxina ou metabólitos secundários pela bactéria em plantas infectadas que inviabilizem os grãos produzidos para consumo humano ou animal. Não há necessidade de tratamento específico pós-colheita para consumo humano ou de animais domésticos.

Condicionamento e transporte

O transporte de isolados do patógeno é restrito e deve seguir as recomendações internacionais para condicionamento, importação e movimentação de material biológico quarentenário. A importação de material biológico de regiões onde a doença é endêmica deve seguir a legislação de defesa sanitária e as diretrizes internacionais de controle quarentenário.

Vias de ingresso

O intercâmbio de mudas e partes de arroz entre países é muito limitado. As sementes infectadas com a bactéria são a principal via de ingresso da doença em um país. Na semente, a bactéria pode ser encontrada na superfície externa, bem como no endosperma. Métodos uniformes adotados internacionalmente para a detecção e diagnóstico da bactéria, além de infraestrutura e recursos humanos adequados, devem estar disponíveis para a contenção, tratamento e erradicação da doença em caso de suspeita de introdução.

Inspeção e detecção

A identificação da bactéria é realizada através de um conjunto de métodos diretos e indiretos. Anticorpos monoclonais são há muito empregados na detecção através de ensaios ELISA (*Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay*) pela análise de imunofluorescência das colônias que reagem com anticorpos (Gnanamanickam et al., 1999). O ensaio apresenta evidência da presença da bactéria na amostra biológica testada, mas pode não ser sensível o suficiente para pequenas quantidades da bactéria e pode também apresentar reação cruzada com outras espécies de *Xanthomonas* (Souza Junior et al., 2015).

O emprego da reação de polymerase em cadeia (PCR) com primers que amplificam regiões específicas da bactéria é o método mais recomendado em casos de contaminação incipiente (Lang et al., 2010; Vera Cruz et al., 2013), assim como o emprego de qPCR na detecção e identificação da bactéria (Zhao et al., 2007; Souza Junior et al., 2015).

Há grande confusão na literatura entre *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) e *X. oryzae* pv. *oryzicola* (Xoc), o agente causal da *estria bacteriana da folha* (*bacterial leaf stripe*). Xoc é também considerada praga quarentenária no Brasil. Os sintomas das duas bactérias, no entanto, são bem distintos nos estágios iniciais da doença, consequência dos diferentes modos de infecção de cada patógeno. Os sintomas de estria bacteriana em geral iniciam com pequenas manchas aquosas em diferentes partes da folha, entre as nervuras. As manchas se espalham ao longo das nervuras, que agem como barreiras. A junção das manchas causa a formação de listras longitudinais de aspecto retilíneo ao longo da folha. As listras são geralmente amareladas e translúcidas, e mais tarde acinzentadas. Com o progresso da doença, no entanto, os sintomas das causados pelos dois patovares se assemelham. A ocorrência simultânea das duas doenças é comum no campo, dificultando a identificação dos sintomas. Contudo, os dois patovares podem ser facilmente separados utilizando diferentes metodologias, como características fenotípicas, eletroferogramas protéicos, anticorpos monoclonais, hibridização DNA-DNA, perfil de ácidos graxos e polimorfismo de DNA (Swings et al., 1990). O sequenciamento do genoma dos dois patovares permitiu o desenvolvimento de ensaio PCR baseado em painéis de marcadores específicos para o diagnóstico e detecção de Xoo e Xoc (Lang et al., 2010; Wonni et al., 2011; Triplet et al., 2011). O emprego desses marcadores moleculares, no entanto, não permite a diferenciação das raças fisiológicas do patógeno.

Situação regulatória no mundo

Medidas quarentenárias importantes foram adotadas pelos países onde Xoo ainda não foi relatada, como o Brasil. A bactéria é classificada com A1 (ausente no país) e de alto risco para a orizicultura brasileira, com potencial de grande impacto negativo na produção de arroz.

Xoo é uma bactéria ainda ausente nas regiões produtoras de arroz da Europa, classificada como praga quarentenária EPPO A1 pela *European and Mediterranean Plant Protection Organization* (OEPP/EPPO, 1979; 1980) e praga quarentenária significativa para o *Comite Regional de Sanidad Vegetal para el Cono Sul* (COSAVE), *Caribbean Plant Protection Commission* (CPPC), *Inter African Phytosanitary Council* (IAPSC) and *North American Plant Protection Organization* (NAPPO). Normas da OEPP/EPPO sugerem que os países livres da doença proibam a importação de sementes de arroz de países onde a doença foi detectada (OEPP/EPPO, 1990). Contudo, adota-se como medida alternativa a importação de sementes após inspeção *in loco* durante a estação de plantio e subsequente teste para a presença da bactéria antes e após a importação. Este procedimento tem sido seguido por vários países, inclusive o Brasil.

A bactéria foi relatada nos Estados Unidos na década de 1980 (Jones et al., 1989). Contudo, este relato não foi comprovado posteriormente e a bactéria associada com a doença analisada na ocasião não foi confirmada como Xoo (Ryba-White et al., 1995). Portanto, *X. oryzae* pv *oryzae* é considerada ausente nos Estados Unidos (Corral et al., 2013). Existe ainda um terceiro grupo de *X. oryzae*, conhecido como Xo-USA, comumente encontrado em Louisiana e no Texas, que causa uma doença com sintomas bem fracos que se assemelham ao crestamento, mas que é geneticamente distinto de *X. oryzae* pv. *oryzae*. Atualmente não há designação de patovar para este grupo (Corral et al., 2013). Xoo está incluída na lista de agentes seletos e de toxinas do FSAP (*Federal Select Agent Program*), um programa coordenado pelo CDC (*Center for Disease Control*) e APHIS (*Animal and Plant Health Inspection Service*). O programa regula nos Estados Unidos a posse, uso e transferência de agentes biológicos e toxinas que têm o potencial de causar ameaça severa à saúde da população, de animais, de plantas, ou de produtos vegetais e animais. Na lista encontram-se outros organismos de alta periculosidade, como os que causam a peste bubônica, sarampo, antrax, além de outras doenças e toxinas.

Na América do Sul há relatos da presença de crestamento bacteriano em vários países que fazem fronteira com o Brasil ou estão próximos, como Bolívia, Colômbia, Venezuela e Equador. É interessante observar que mesmo

em países onde Xoo ocorre há medidas quarentenárias em vigor para impedir a entrada de novas raças virulentas do patógeno, que podem causar grandes prejuízos econômicos ao se instalar em áreas produtivas de arroz.

Antecedentes de intercepções

No Brasil há relatos de intercepção quarentenária do patógeno em veículos de imprensa (Hamm, 2007) e de detecção de *Xanthomonas* (mas não de Xoo) em amostras de sementes de arroz oriundas de outros países (Souza Junior et al., 2015). Há carência, contudo, de relatos oficiais de intercepção feitos diretamente pelos órgãos responsáveis. Os dados de intercepção são importantes para a formulação de políticas públicas que visam minimizar o risco de introdução de organismos quarentenários no país (Silva et al., 2016).

Probabilidade de introdução e dispersão no Brasil

Apesar das medidas quarentenárias em vigor no país, o fato da bactéria ser encontrada em vários países vizinhos do Brasil indica que cedo ou tarde o patógeno será detectado em território nacional. Nesta situação, o estabelecimento de um plano de contingência para a contenção do patógeno assim como a disponibilidade de material genético resistente e adaptado às condições de produção do país poderá ter alto impacto no controle da doença e na minimização do seu dano econômico.

É possível que a eventual introdução tenha maior impacto imediato na produção de arroz irrigado do que arroz de sequeiro, visto que a água é um dos modos mais importantes de dispersão da bactéria. As condições edafoclimáticas das maiores regiões de plantio de arroz irrigado no Brasil (Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Tocantins) são favoráveis ao crescimento de Xoo. Apesar de não haver um estudo sistemático de simulação do risco de dispersão da bactéria no Brasil, é possível supor com base em dados da literatura científica coletados em diferentes países que a doença encontraria condições favoráveis ao seu desenvolvimento no país.

Potenciais consequências econômicas para o Brasil

A produção de arroz tem grande importância no Brasil pois é alimento diário e uma das principais fontes de carboidratos dos brasileiros. A cadeia produtiva de arroz, pelo impacto social e econômico, é uma das mais importantes da agricultura brasileira. O arroz é o segundo cereal mais plantado no Brasil (atrás apenas do milho), com uma área anual de 2,5 milhões de hectares (IBGE, 2016). Os danos causados por Xoo podem ser muito significativos se a bactéria for introduzida no Brasil, especialmente em áreas de arroz irrigado onde a abundância de água favorece o desenvolvimento da doença. Cerca de 70% do arroz produzido no Brasil é oriundo de sistemas irrigados, especialmente no Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Tocantins. Cultivares modernos de arroz de sequeiro, com baixa estatura e responsivos à adubação nitrogenada, também podem favorecer o desenvolvimento da doença, visto que o nitrogênio em abundância estimula o desenvolvimento do crestamento bacteriano. Perdas por epidemias de Xoo em países que convivem com a doença variam de 20% a 30% da produção (Ou, 1985), mas se a infecção ocorrer logo após o transplante em arroz irrigado, as perdas podem atingir 60%-75% da produção (Ou, 1985; Reddy et al., 1979). É importante mencionar que além das perdas em produtividade, a bacteriose também afeta a qualidade do grão, reduzindo o valor do que sobra da produção após uma epidemia.

Referências

BARTON-WILLIS, P. A.; ROBERTS, P. D.; GUO, A.; LEACH, J. E.; Growth dynamics of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* in leaves of rice differential cultivars.

Phytopathology, v. 79, p.573-578, 1989

BRADBURY, J. F. ***Xanthomonas oryzae*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 239**. Wallingford, UK: CAB International,. 1970a

BRADBURY, J. F. ***Xanthomonas oryzicola*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 240**. Wallingford, UK: CAB International, 1970b

BRAR, D. S.; KHUSH, G. S. Alien introgression in rice. **Plant Molecular Biology**, v. 35, p. 35-47, 1997.

CHU, Z.; YUAN, M.; YAO, J.; GE, X.; YUAN, B.; XU, C.; LI, X.; FU, B.; LI, Z.; BENNETZEN, J. L.; ZHANG, Q.; WANG, S. Promoter mutations of an essential gene for pollen development result in disease resistance in rice. **Genes & Development**, v. 20, p. 1250-1255, 2006.

CORRAL, R.; LEACH, J. E.; VERDIER, V.; VERA CRUZ, C. M. Recovery Plan for *Xanthomonas oryzae* causing Bacterial Blight and Bacterial Leaf Streak of Rice. Bulletin, NPDRS, 2013, 22.

DATH, A. P.; DEVADATH, S. Role of inoculum in irrigation water and soil in the incidence of bacterial blight of rice. **Indian Phytopathology**, v. 36, p. 142-144, 1983

DAVIERWALA, A. P.; REDDY, A. P.; LAGU, M. D.; RANJEKAR, P. K.; GUPTA, V. S. Marker assisted selection of bacterial blight resistance genes in rice. **Biochemical Genetics**, v. 39, n. 7-8, p. 261-78, Aug., 2001.

DEVADATH, S.; THRI MURTY, V. S. Role of seed in survival and transmission of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* causing bacterial blight of rice. **Journal of Phytopathology** v. 110, p. 15-19, 1984.

FLOR, H.H. Current status of the gene-for-gene concept. **Annual Review of Phytopathology**, v. 9, p. 275-296, 1971.

GNANAMANICKAM, S. S.; PRIYADARISINI, V. B.; NARAYANAN, N. N.; VASUDEVAN, P.; KAVITHA, S. An overview of bacterial blight disease of rice and strategies for its management. **Current Science**, v. 77, n. 11, p. 1435-1444, 1999.

GU, K. Y.; YANG, B.; TIAN, D. S.; WU, L. F.; WANG, D. J.; SREEKALA, C.; YANG, F.; CHU, Z. Q.; WANG, G. L.; WHITE, F. F.; YIN, Z. C. R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. **Nature**, v. 435, p.112-1125, 2005.

HAMM, S. Fiscalização encontra carga de arroz com sementes contaminadas. **Agência Estado**, 18 dez. 2007. Disponível em: <https://www.planetaarroz.com.br/noticias/4713/Fiscalizacao_encontra_carga_de_arroz_com_sementes_contaminadas>. Acesso em: 11 nov. 2018.

HE, Y. W.; WU, J.; CHA, J. S.; ZHANG, L. H. Rice bacterial blight pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* produces multiple DSF-family signals in regulation of virulence factor production. **BMC Microbiology**, v. 10, p. 187, 2010.

HOPKINS, C. M.; WHITE, F. F.; CHOI, S. H.; GUO, A. LEACH, J. E. Identification of a family of avirulence genes from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 5, p. 451-459, 1992.

HUANG, N.; ANGELES, E. R.; DOMINGO, J.; MAGPANTAY, G.; SINGH, S.; ZHANG, G.; KUMARAVADIVEL, N.; BENNETT, J.; KHUSH, G. S. Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice: markers assisted selection using RFLP and PCR. **Theoretical Applied Genetics**, v. 95, p. 313-320, 1997.

IBGE. **Anuário Estatístico do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2016. v. 76.

IYER, A. S.; MCCOUCH, S. R. The rice bacterial blight resistance gene *xa5* encodes a novel form of disease resistance. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 17, p. 1348-1354, 2004.

JEUNG, J. U.; HEU, S. G.; SHIN, M. S.; VERA CRUZ, C. M.; JENA, K. K. Dynamics of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* populations in Korea and their relationship to known bacterial blight resistance genes. **Phytopathology**, v. 96, p. 867-875, 2006.

JOHRI, B. N.; SHARMA, A.; VIRDI, J. S. Rhizobacterial diversity in India and its influence on soil and plant health. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**, p. 49–89, 2003.

JONES, R. K.; BARNES, L. W.; GONZALEZ, C. F.; LEACH, J. E.; ALVAREZ, A. M.; BENEDICT, A. A. Identification of low virulence strains of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* from rice in the United States. **Phytopathology**, v. 79, p. 984-990, 1989.

KAUFFMAN, H.; REDDY, A.; HSIEK, S.; MERCA, S. An improved technique for evaluating resistance of rice varieties to *Xanthomonas oryzae*. **Plant Disease Reporter**, v. 57, p. 537-541, 1973.

KAUFFMAN, H. E.; REDDY, A. P. K. Seed transmission studies of *Xanthomonas oryzae* in rice. **Phytopathology**, v. 65, n. 6, p. 663-666, 1975.

KOCH, M.; PARLEVIET, J. E. Genetic analysis of, and selection for, factors affecting quantitative resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* in rice. **Euphytica**, v. 53, p. 235-245, 1991.

KOTTAPALLI, K. R., LAKSHMI NARASU, M. JENA, K. K. Effective strategy for pyramiding three bacterial blight resistance genes into fine grain rice cultivar, Samba Mahsuri, using sequence tagged site markers. **Biotechnology Letters**, v. 32, n. 7, p. 989-96, Jul. 2010.

LANG, J. M.; HAMILTON, J. P.; DIAZ, M. G. Q.; VAN SLUYS, M. A.; BURGOS, M. R. G.; CRUZ, C. M. V.; BUELL, C. R.; TISSERAT, N. A.; LEACH, J. E. Genomics-based diagnostic marker development for *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and *X. oryzae* pv. *oryzicola*. **Plant Disease**, v. 94, p. 311-319, 2010.

LEE, S. W.; CHOI, S. H.; HAN, S. S.; LEE, D. G.; LEE, B. Y. Distribution of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains virulent to *Xa21* in Korea. **Phytopathology**, v. 89, p.928-933, 1999.

LI, Z. K.; ARIF, M.; ZHONG, D. B.; FU, B.Y.; XU, J. L.; DOMINGO-REY, J.; ALI, J.; VIJAYAKUMAR, C. H. M.; YU, S. B.; KHUSH, G. S. Complex genetic networks underlying the defensive system of rice (*Oryza sativa* L.) to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 21, p.7994-7999, 2006.

MANSFIELD, J.; GENIN, S.; MAGORI, S.; CITOVSKY, V.; SRIARIYANUM, M.; RONALD, P.; DOW, M.; VERDIER, V.; BEER, S. V.; MACHADO, M. A.; TOTH, I.; SALMOND, G.; FOSTER, G. D. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 6, p. 614-629, 2012.

MEW, T. W. Current status and future prospects of research on bacterial blight of rice. **Annual Review of Phytopathology**, v. 25, p.359-382, 1987.

MEW, T. W.; ALVAREZ, A. M.; LEACH, J. E.; SWINGS, J. Focus on bacterial blight of rice. **Plant Disease**, v. 77, p.15-12, 1993.

MEW, T. W.; MISRA, J. K. **A Manual of Rice Seed Health Testing**. Philippines: International Rice Research Institute, 1994.

MEYERS, B. C.; DICKERMAN, A. W.; MICHELMORE, R. W.; SIVARAMAKRISHNAN, S.; SOBRAL, B. W.; YOUNG, N. D. Plant disease resistance genes encode members of an ancient and diverse protein family within the nucleotide-binding superfamily. **Plant Journal**, v. 20, p. 317-332, 1999.

NIÑO-LIU, D.; RONALD, P. C.; BOGDANOVA, A. J. *Xanthomonas oryzae* pathovars: model pathogens of a model crop. **Molecular Plant Pathology**, v. 7, n. 5, p. 303-324, 2005.

NODA, T.; YAMAMOTO, T.; KAKU, H.; HORINO, O. Geographical distribution of pathogenic races of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Japan in 1991 and 1993. **Annals of the Phytopathological Society of Japan (Japan)**, v. 62, 1996.

OGAWA, T.; YAMAMOTO, K.; KHUSH, G.; MEW, T. Breeding of near-isogenic lines of rice with single genes for resistance to bacterial blight pathogen (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*). **Japanese Journal of Breeding**, v. 41, p. 523-529, 1991.

OU, S. H. **Rice Diseases**. 2. ed. Surrey, England: Association Applied Biology, 1985.

REDDY, A. P. K.; MACKENZIE, D. R.; ROUSE, D. I.; RAO, A. V. Relationship of bacterial leaf-blight severity to grain-yield of rice. **Phytopathology**, v. 69, p. 967-969, 1979.

RYBA-WHITE, M.; NOTTEGHEM, J. L.; LEACH, J. E. Comparison of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains from Africa, North America, and Asia by restriction fragment length polymorphism analysis. **International Rice Research News**, v. 20, p. 25-26, 1995.

SAKTHIVEL, N.; MORTENSEN, C. N.; MATHUR, S. B. Detection of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in artificially inoculated and naturally infected rice seeds and plants by molecular techniques. **Applied & Environmental Microbiology**, v. 56, p. 435-441, 2001.

SILVA, M. L.; BENITO, N. P.; SANCHES, M. M.; MARQUES, A. S. A.; NÁVIA, D.; GONZAGA, V.; MENDES, M. A. S.; MARTINS, O. M.; URBEN, A. F.; FERNANDES, F. R. Interceptações de pragas quarentenárias e ausentes não regulamentadas em material vegetal importado. Pesquisa agropecuária. brasileira, v. 51, n. 5, p. 494-501, 2016.

SONG, W. Y.; WANG, G. L.; CHEN, L. L.; KIM, H. S.; PI, L.Y.; HOLSTEN, T.; GARDNER, J.; WANG, B.; ZHAI, W. X.; ZHU, L. H.; FAUQUET, C.; RONALD, P. C. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, *Xa21*. **Science**, v. 270, p. 1804-1806. 1995

SOUZA JÚNIOR, I. T.; SANTOS, M. O.; OLIVEIRA, A. M. R.; MORAES, M. G.; DUARTE, V. Caracterização de isolados de *Xanthomonas* sp. associados a sementes de arroz e diferenciação de estirpes de *Xanthomonas oryzae*. **Ciência Rural**, v. 45, n. 12, p. 2099-2105, 2015.

SUN, X.; CAO, Y.; YANG, Z.; XU, C.; LI, X.; WANG, S.; ZHANG, Q. *Xa26*, a gene conferring resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice encodes an LRR receptor kinase-like protein. **Plant Journal**, v. 37, p. 517-527, 2004.

SWINGS, J.; VAN DEN MOOTER, M.; VAUTERIN, L.; HOSTE, B.; GILLIS, M.; MEW, T. W.; KERSTERS, K. Reclassification of the causal agents of bacterial blight *Xanthomonas campestris* pathovar *oryzae* and bacterial leaf streak *Xanthomonas campestris* pathovar *oryzicola* of rice as pathovars of *Xanthomonas oryzae* new species Ex Ishiyama 1922 Revived Name. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 40, p. 309–311, 1990.

TABEI, H. Anatomical studies of rice plant affected with bacterial leaf blight, *Xanthomonas oryzae* (Uyeda et Ishiyama Dowson). **Bulletin Kyushu Agricultural Experimental Station**, v. 19, p. 193-257, 1977.

VERA CRUZ, C. M.; COTTYN, B.; NGUYEN, M. H.; MEW, T. W.; LEACH, J. E. Detection of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and *X. oryzae* pv. *oryzicola* in rice seeds. In: M'BAREK, F. (Ed.). **APS Manual on Detection of Plant Pathogenic Bacteria in Seed and Planting Material**. Minneapolis: APS Press, 2013.

- VERDIER, V.; VERA CRUZ, C.; LEACH, J. E. Controlling rice bacterial blight in Africa: needs and prospects. **Journal of Biotechnology**, v. 159, p. 320-328, 2012.
- WANG, G. L.; SONG, W. Y.; RUAN, D. L.; SIDERIS, S. RONALD, P. C. The cloned gene, *Xa21*, confers resistance to multiple *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates in transgenic plants. **Molecular Plant Microbe Interaction**, v. 9, p. 850-855, 1996.
- WONNI, I.; DETEMMERMAN, L.; DAO, S.; OUEDRAOGO, L.; SOUNGALO, S.; KOITA, O.; SZUREK, B.; KOEBNIK, R.; TRIPLETT, L.; COTTYN, B.; VERDIER, V. Genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* from West Africa. **Phytopathology**, v. 101, n. 6 p.S193-S193, 2011.
- XIE, G. L.; MEW, T.W. A leaf inoculation method for detection of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* from rice seed. **Plant Disease**, v. 82, p. 1007-1011, 1998.
- YOSHIMURA, S.; YAMANOUCHI, U.; KATAYOSE, Y.; TOKI, S.; WANG, Z. X.; KONO, I.; KURATA, N.; YANO, M.; IWATA, N. SASAKI, T. Expression of *Xa1*, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 95, p. 1663-1668, 1998.
- ZHAO, W. J.; ZHU, S. F.; LIAO, X. L.; CHEN, H. Y.; TAN, T. W. Detection of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in seeds using a specific TaqMan probe. **Molecular Biotechnology**, v. 35, n. 2, p. 119-127, 2007.
- ZHAO, Y.; QIAN, G.; YIN, F.; FAN, J.; ZHAI, Z.; LIU, C.; HU, B.; LIU, F. Proteomic analysis of the regulatory function of DSF-dependent quorum sensing in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*. **Microbial Pathogenesis**, v. 50, p. 48-55, 2011.