

# Inibição do Crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* por Sanitizantes

Growth Inhibition of *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* by Sanitizing

---

Rafaela Rosa Rodrigues<sup>1</sup>, Carine Naue<sup>2</sup>, Valéria Sandra de Oliveira Costa<sup>3</sup>, Diógenes da Cruz Batista<sup>4</sup>, Maria Angélica Guimarães Barbosa<sup>5</sup>

## Resumo

O cancro bacteriano é uma das principais doenças da videira no Vale do São Francisco e uma das estratégias de controle que vem sendo utilizada pelos produtores da região é o uso de sanitizantes. No entanto, não se conhece a real eficiência desses produtos no controle dessa bacteriose. Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a eficiência de sanitizantes na inibição in vitro de isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Xcv). Foram testados quatro sanitizantes clorados em diferentes dosagens: cloreto de dodecildimetil amônio, cloreto de benzalcônio, hipoclorito de sódio e dicloroisocianurato de sódio frente a três isolados de Xcv. O antibiograma foi realizado em meio NYDA semissólido, acrescido da suspensão do patógeno e deposição de discos de papel embebidos nas diferentes soluções dos sanitizantes. As avaliações foram realizadas com a medição do diâmetro do halo de inibição em dois sentidos opostos, calculando-se a média. Os isolados de Xcv foram

---

<sup>1</sup>Estudante de Biologia – UPE, bolsista Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

<sup>2</sup>Bióloga, Universidade Federal Ruaral de Pernambuco – UFRPE, Recife, PE.

<sup>3</sup>Engenheira-agrônoma, D.Sc. em Fitopatologia, bolsista DCR CNPq/Facepe.

<sup>4</sup>Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

<sup>5</sup>Engenheira-agrônoma, D. Sc. em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, [angelica.guimaraes@embrapa.br](mailto:angelica.guimaraes@embrapa.br).

medianamente sensíveis aos sanitizantes cloreto de dodecildimetil amônio e hipoclorito de sódio e pouco sensíveis ao cloreto de benzalcônio, enquanto o dicloroisocianurato de sódio não causou inibição em nenhum dos isolados testados.

**Palavras-chave:** *Vitis* spp., bacteriose, manejo.

## Introdução

Um dos problemas que mais ameaça a estabilidade fitossanitária do Vale do São Francisco é o cancro-bacteriano da videira, causado pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Xcv). Além de por em risco a competitividade da região em termos de produtividade, essa doença impede o trânsito de material vegetal de videira a partir dos estados onde a bactéria foi detectada e pode limitar o acesso da uva da região aos mercados interno e externo, já que a bactéria causadora da doença é considerada uma praga quarentenária (A2), sujeita a controle oficial (BRASIL, 2008).

Medidas preventivas devem ser utilizadas em parreirais de variedades suscetíveis que ainda não apresentam a doença e naqueles que estão em fase de implantação. No entanto, nem todas as medidas recomendadas são adotadas por todos os produtores de uva da região; muitas vezes, por causa dos custos extras que elas acarretam ou pela dificuldade prática de adotá-las.

Nas últimas safras, o cancro se espalhou e, atualmente, considera-se que está presente em toda a região do Vale do São Francisco. O estabelecimento de estratégias para o seu controle é dificultado pela falta de informações referentes à sobrevivência do patógeno na planta, no ambiente, sua variabilidade, bem como a suscetibilidade de variedades de porta-enxertos e copa à bactéria, além da baixa eficiência dos defensivos agrícolas, inclusive dos antibióticos.

Uma estratégia que está sendo utilizada pelos produtores de uva do Vale do São Francisco, no campo, é a pulverização com produtos sanitizantes. Esses produtos são compostos clorados de origem orgânica, como o dicloro isocianurato de sódio (MACEDO, 2004). Os compostos clorados possuem amplo espectro de atividade biocida contra bactérias, fungos e vírus (RIBEIRO et al., 2008). No entanto, existe a preocupação quanto aos efeitos negativos que esses produtos podem causar ao ambiente e ao ser humano. Segundo Ribeiro et al. (2008), deve-se ter cuidado quanto às concentrações utilizadas

desses produtos para que os mesmos eliminem os micro-organismos patogênicos sem agredir o ambiente e a saúde humana. O emprego de sanitizantes na agricultura vem sendo realizado para a desinfestação de material propagativo em viveiros e para a redução de inóculo de Xcv e de patógenos pós-colheita no campo, visto que esses produtos não deixam resíduos e podem ser aplicados até próximo à colheita. No entanto, não se conhece a real eficiência desses produtos no controle dessa bacteriose. Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a eficiência de sanitizantes na inibição in vitro de isolados de Xcv.

## Material e Métodos

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

Foram testados quatro sanitizantes clorados em diferentes dosagens: cloreto de dodecildimetil amônio (1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL e 5 mL/200 mL), cloreto de benzalcônio (250  $\mu$ L, 334  $\mu$ L, 500  $\mu$ L, 667  $\mu$ L e 1000  $\mu$ L/200 mL), hipoclorito de sódio (0,25%, 0,5%, 0,75%, 1,0% e 1,25%), dicloroisocianurato de sódio (0,02 g, 0,04 g, 0,06 g, 0,08 g e 0,1 g /200 mL) frente a três isolados de Xcv (Xcv05, Xcv83 e Xcv113) oriundos da coleção de bactérias fitopatogênicas do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Semiárido.

As bactérias fitopatogênicas foram cultivadas em placas de Petri contendo meio NYDA (PULSEY; WILSON, 1984) inclinado e transferidas para placas de Petri contendo o mesmo meio e incubadas a 28 °C por 48 horas. Após o período de incubação, foi feita uma suspensão bacteriana, em água destilada esterilizada, de cada isolado e ajustada para  $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>, utilizando-se fotocolorímetro a 570 nm de comprimento de onda e 0,4 de absorbância.

Para a realização do antibiograma, adaptou-se a metodologia descrita por Romeiro (2005). Primeiramente, ágar-água foi vertido em placas de Petri descartáveis, formando uma camada básica com cerca de 1 mm de espessura. Posteriormente, verteu-se uma sobrecamada de meio NYDA semissólido, acrescido da suspensão do patógeno ( $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>), na proporção de 200  $\mu$ L/10 mL. Após a solidificação da sobrecamada, os discos de papel foram embebidos nas diferentes soluções dos sanitizantes a serem testados e colocados sobre a superfície do meio. Em cada placa, foram colocados quatro discos de papel, com a mesma concentração, dispostos de maneira equidistante e a testemunha no

centro da placa. A testemunha consistiu em discos embebidos em água destilada esterilizada. As placas foram colocadas em incubadora a 28 °C e após 48 horas, com o auxílio de uma régua milimetrada, mediu-se o diâmetro do halo de inibição, em dois sentidos opostos, calculando-se a média.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 4 x 3 (quatro sanitizantes x três isolados), com cinco repetições por tratamento, sendo cada repetição representada por uma placa de Petri. Os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão.

## Resultados e Discussão

Os isolados de Xcv foram medianamente sensíveis aos sanitizantes cloreto de dodecildimetil amônio e hipoclorito de sódio, e pouco sensíveis ao cloreto de benzalcônio (Figura 1). Entretanto, o dicloroisocianurato de sódio não causou inibição em nenhum dos isolados nas doses testadas.

Cloreto de dodecildimetil amônio e hipoclorito de sódio foram os que proporcionaram os maiores halos de inibição, medindo 13,15 mm e 13,12 mm, respectivamente, nas maiores dosagens testadas. Entretanto, a dosagem de 0,25% de hipoclorito de sódio não inibiu nenhum dos isolados testados. Os sanitizantes à base de compostos clorados são utilizados em larga escala para a desinfestação de superfícies de alimentos, ferramentas e tratamento de água. O cloreto de dodecildimetil amônio é um detergente utilizado na pós-colheita para a lavagem de frutas e hortaliças, com efeito bactericida e tem capacidade de reduzir o desenvolvimento de patógenos na pré e na pós-colheita. Nascimento e Azevedo (2006) utilizaram o cloreto de dodecildimetil amônio para o controle de *Penicillium digitatum* em citros e verificaram que esse sanitizante teve melhor efeito somente quando foi testado o dobro da dosagem recomendada pelo fabricante.

O hipoclorito de sódio é uma das fontes de cloro mais utilizadas para esterilização de ferramentas. Vida et al. (2004) testaram esse sanitizante para desinfestação de ferramentas de poda com o objetivo de controlar a podridão gomosa do meloeiro e observaram que a desinfestação da tesoura foi eficiente em reduzir a disseminação do patógeno.

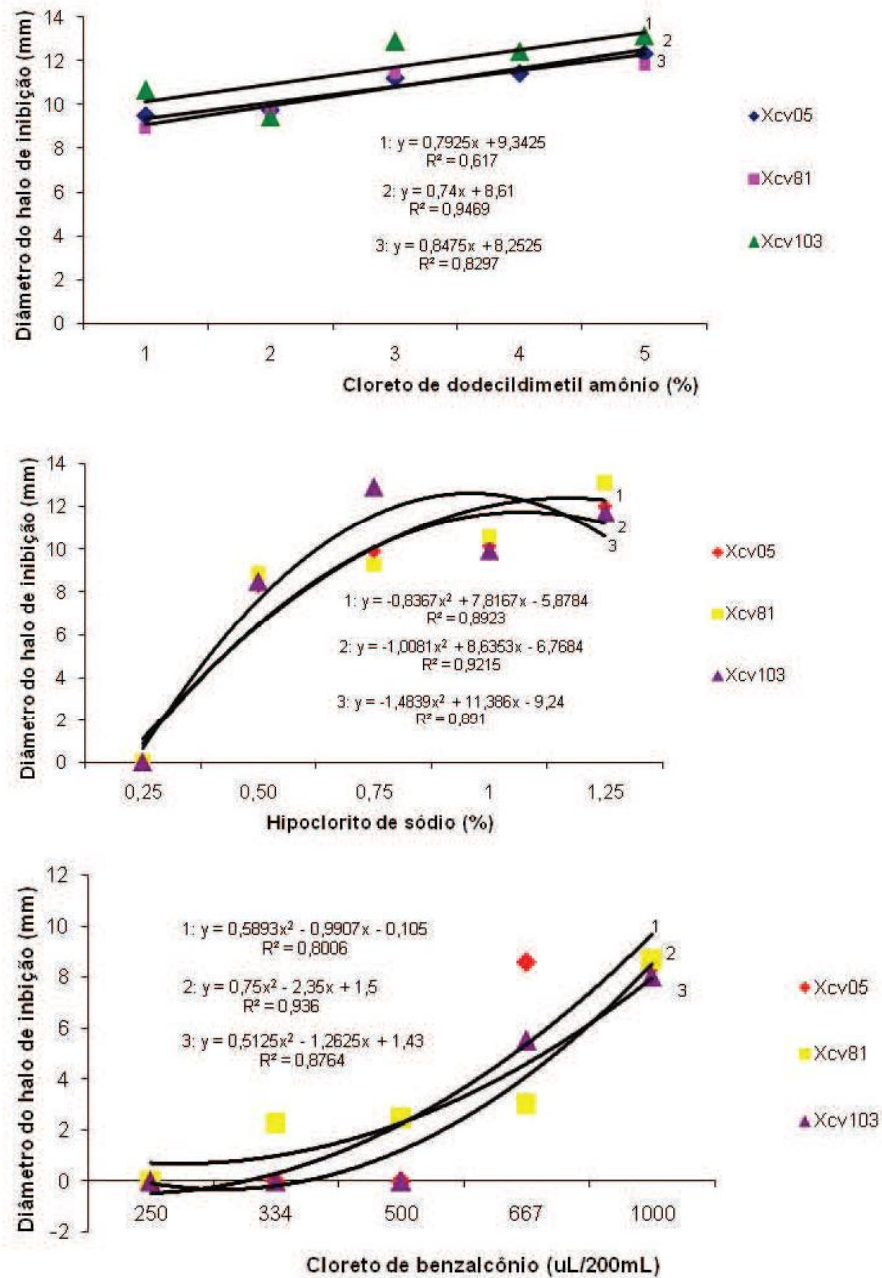


Figura 1. Efeito de diferentes sanitizantes sobre o crescimento in vitro de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*.

## Conclusão

O cloreto de dodecildimetil amônio e o hipoclorito de sódio são os sanitizantes que apresentam maior potencial para inibição de Xcv.

## Agradecimentos

À Embrapa Semiárido, pelo apoio às atividades de pesquisa.

## Referências

BRASIL. Instrução Normativa nº 41, de 1º de julho de 2008. Altera os Anexos I e II da Instrução Normativa nº 52, de 20 de novembro de 2007, que passa a vigorar na forma dos Anexos à presente Instrução Normativa. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2 jul. 2008. Seção 1, p. 8.

MACEDO, J. A. B. Uso de derivados clorados orgânicos no processo de desinfecção de água para abastecimento público. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 44., 2004, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Associação Brasileira de Química, 2004. 1 CD-ROM.

NASCIMENTO, L. M. do; AZEVEDO, F. A. de. Avaliação da eficiência da aplicação de diferentes doses de Sporikill em Tangor Murcott para o controle de *Penicillium digitatum*. **Revista Iberoamericana de Tecnologia Postcosecha**, México, v. 7, p. 93-103, 2006.

PUSEY, P. L.; WILSON, C. L. Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus subtilis*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 68, p. 753-756, 1984.

RIBEIRO, J. M.; CANUTO, K. M.; VESCHI, J. L. A. **Compostos clorados: aspectos gerais e sua utilização como agente sanitizante na agricultura, micropropagação e pecuária**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2008. 26 p. (Embrapa Semi-Árido. Documentos, 207).

ROMEIRO, R. S. Antibióticos e seu emprego em pesquisa com bactérias fitopatogênicas. In: ROMEIRO, R. S. (Ed.). **Métodos em bacteriologia de plantas**. Viçosa, MG: UFV, 2005. p. 127-162.

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