



DETECÇÃO DE *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* EM SEMENTES DE CANOLA

Nilvanira Donizete Tebaldi¹, Lara Caroline Borges Moreira Mota², Flavia Andrea Nery Silva³, Gilberto Omar Tomm⁴

¹Dra. em Fitopatologia, Professora Adjunto do Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia MG, Brasil. E-mail: nilvanira@iciag.ufu.br

²Mestranda em Fitopatologia, Técnica de Laboratório do Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia MG, Brasil.

³Dra. em Agronomia, Professora do Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia MG, Brasil. E-mail: flavianery@iciag.ufu.br

⁴Pesquisador, EMBRAPA Trigo, Passo Fundo RS, Brasil. E-mail: gilberto.tomm@embrapa.br

RESUMO

A podridão negra das crucíferas, causada pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xac) é a doença mais importante das brássicas, manifestando-se em qualquer idade das plantas. O patógeno pode infectar sementes internamente, constituindo na principal fonte de inóculo primário. O presente trabalho teve como objetivo a detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* em sementes de canola. O experimento foi conduzido no Instituto de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), usando duas amostras de sementes de canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) oriundas de Giruá-RS. Em erlenmeyer foram colocadas 1000 sementes (= 3g) e adicionados 6 mL de solução salina (0,85%) estéril, incubados na geladeira por 18h. O extrato das sementes foi diluído em série e plaqueado em meio de cultura 523, NSCAA com e sem antibiótico cicloheximida, com 3 repetições cada e incubados a 28°C. Após quatro dias foi quantificado o número de UFC.mL⁻¹ por diluição e os isolados caracterizados cultural e bioquimicamente. Foi possível a detecção e identificação de Xac em todos os meios de cultura, variando de 20 à 330 UFC.mL⁻¹ em 1000 g de sementes de canola. Os isolados foram caracterizados como Gram negativos, oxidação/fermentação: aeróbia estrita, colônias amarela em meio YDC, asparagina negativo, HR positivo em plantas de alface, feijão e fumo, patogenicidade positiva em plantas de couve. O isolado encontra-se depositado na coleção de fitobactérias do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia, com o código UFU F43.

Palavras-chaves: *Brassica napus* L. var. *oleifera*, bactéria, doença, podridão negra das crucíferas.

INTRODUÇÃO

A canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) selecionada de cultivares de colza (*Brassica napus*) é uma oleaginosa pertencente à família das crucíferas e ao gênero brássica (TOMM et al., 2009). Canola é um termo genérico internacional, cuja descrição oficial é um óleo com menos de 2% de ácido erúico e menos de 30 micromoles de glucosinolatos por grama de matéria seca da semente (CANOLA, 1999). A oleaginosa desempenha importante papel na produção de óleo vegetal comestível em nível mundial. Essa crucífera possui de 40 a 45% de óleo no grão e 35% de proteína. Além disso, o óleo obtido é de excelente qualidade pela composição de ácidos graxos, onde 65% são monoinsaturados, 5% são saturados e 29% são polinsaturados, além de não conter colesterol (CARDOSO et al., 1996).

A canola é a terceira oleaginosa mais produzida no mundo, com uma produção 60.332,00 mil toneladas na safra de 2011/2012 de, sendo os maiores produtores Estados Unidos (31,65%), Canadá (23,47%) e China (21,54%). No Brasil houve um expressivo incremento na produção da cultura, no período 1980-1997, com área média colhida de 11.400 hectares, para 32.300 hectares no período 2002-2007. Na safra de 2011/2012 foram produzidos 52 mil toneladas, em uma área de 42,4 mil ha, com rendimento médio de 1226 kg ha⁻¹. A região Sul representa 95,4% da produção nacional, sendo o Rio Grande do Sul o maior produtor (95,4%). A canola é cultivada nos sistemas de rotação de culturas para produção de grãos, constituindo excelente opção de cultivo de inverno, por reduzir problemas fitossanitários de leguminosas, como a soja e o feijão, e das gramíneas, como o milho, trigo e outros cereais (CONAB, 2012; IBGE, 2008).

A cultura está sujeita a várias doenças, como a podridão negra das crucíferas, causada pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, doença de maior importância, manifestando-se em qualquer idade das plantas (WILLIAMS, 1980). A doença não prejudica a qualidade do grão, nem afeta o óleo ou o farelo, mas acaba reduzindo a produtividade da cultura (TOMM, 2011). O patógeno pode infectar sementes internamente, constituindo na principal fonte de inóculo primário.

Várias técnicas são utilizadas para detectar e identificar a bactéria nas sementes, como o uso de anticorpos mono e policlonais em combinação com a microscopia de fluorescência (FRANKEN, 1992, SCHAAD, 1978), ELISA (ALVAREZ, 1985) e o plaqueamento do extrato de sementes em meio de cultura semi seletivo (TEBALDI et al., 2007, RANDHAWA et al., 1984). Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo a detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* em sementes de canola.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Bacteriologia Vegetal, do Instituto de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), em maio de 2014, usando duas amostras de sementes de canola produzidas no estado de Mato Grosso.

Em erlenmeyer foram colocadas 1000 sementes (= 3g) e adicionados 6 mL de solução salina (0,85%) estéril, incubados na geladeira por 18h. O extrato das sementes foram diluídos em série e plaqueados em meio de cultura 523 (KADO & HESKETT, 1970), NSCAA (SCHAAD et al., 2001) com e sem o antibiótico cicloheximida, com 3 repetições cada e incubados a 28°C. Após quatro dias foi quantificado o número de UFC.mL⁻¹ por diluição e os isolados caracterizados cultural e bioquimicamente, pelos testes de Gram, oxidação/fermentação, meio YDC, asparagina, HR em plantas de alface, feijão e fumo, patogenicidade em plantas de couve.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível a detecção da *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* nas sementes de canola em todos os meios de cultura, variando de 20 à 330 UFC.mL⁻¹ em 1000 g de sementes.

As colônias foram caracterizadas com a forma circular, bordos lisos, convexas, opaca e coloração amarela, Gram negativas, oxidação/fermentação: aeróbia estrita, colônias amarela em meio YDC, asparagina negativo, HR positivo em plantas de alface, feijão e fumo, patogenicidade positiva em plantas de couve, confirmando ser a bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

A detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* em sementes usando meio de cultura é um método rápido, de fácil execução, mais seguro e sensível, do que os testes em plântulas (SCHAAD, 1983).

É importante salientar que a semente constitui fonte primária de inóculo, podendo a bactéria ser transportada a longas distâncias, levando a ocorrência de epidemias quando em condições ambientes favoráveis.

CONCLUSÕES

Foi possível a detecção e identificação de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* nas sementes de canola nos meios de cultura utilizados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ, A.M. Rapid identification of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* by Elisa. **Plant Disease**, St. Paul, v.69, n.12, p.1082-1086, 1985.

CANOLA council of Canada. **Canola**. Winnipeg, 1999, 23 p.

CARDOSO, R.M.L. **Doenças de canola no Paraná**. Boletim técnico, IAPAR Cascavel: COODETEC, n. 34, 1996, 32p.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Canola**. Brasília, 2012. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_05_22_10_10_28_conolaabril2012.pdf>. Acesso em: 04 jul. 2014.

FRANKEN, A.A.L.M. Application of polyclonal and monoclonal antibodies for the detection of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in crucifer seeds using immunofluorescence microscopy. **Netherlands Journal Plant Pathology**, Wageningen, v.98, n.2, p.95-106, 1992.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola: Rio Grande do Sul**. 2008. Disponível em: <<http://www1.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa02200506.htm>>. Acesso em: 04 jul. 2014.

KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.60, n.6, p.969-979, 1970.

RANDHAWA, P.S.; SCHAAD, N.W. Selective isolation of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* from crucifer seeds. **Phytopathology**, St. Paul, v.74, n.3, p.268-272, 1984.

SCHAAD, N.W. Correlation of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in crucifer seeds. **Seed Science Technology**, Zurich, v.11, n.3, p.573-578, 1983

SCHAAD, N.W. Use of direct and indirect immunofluorescence tests for identification of *Xanthomonas campestris*. **Phytopathology**, St. Paul, v.68, n.2, p.249-252, 1978.

SCHAAD, N.W.; JONES, J.B.; LACY, G.H. *Xanthomonas*. In: SCHAAD, N.W.; JONES, J.B.; CHUN, W. **Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria**. St. Paul, MA: APS Press, 2001. p.175-200.

TEBALDI, N.D, PANIZZI, R.de C, SADER, R. Detecção, transmissão e efeito de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* na qualidade fisiológica de sementes de brócolis. **Summa Phytopathologica**, v.33, n.4, p.416-418, 2007.

TOMM, G.O. **Susto com a canola**. Revista Globo Rural, Editora Globo. Nov/2011.

TOMM, G.O.; WIETHÖLTER, S.; DALMAGO, G.A.; SANTOS, H.P. dos. **Tecnologia para produção de canola no Rio Grande do Sul**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2009. 41 p. html. (Embrapa Trigo. Documentos Online, 113). Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do113.htm>. Acesso em: 04 jul. 2014.

WILLIAMS, P.H. Black rot: a continuing threat to world crucifers. **Plant Disease**, St. Paul, v.64, p.736- 742, 1980.