

## Crestamento bacteriano em áster no Brasil, causado por *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*

VALDEMAR ATILIO MALAVOLTA JR.<sup>(1)</sup>, IRENE MARIA GATTIALMEIDA<sup>(2)</sup>, LUÍS OTÁVIO SAGGION BERIAM<sup>(2)</sup> e MARGARIDA FUMIKO ITO<sup>(1)</sup>

### RESUMO

No ano de 2002, em plantios comerciais de áster (*Aster* sp.) localizados em Atibaia (SP), foram observadas plantas envasadas com lesões foliares de cor pardacenta, iniciando-se normalmente a partir dos bordos foliares, podendo atingir todo o limbo, depreciando o produto para comercialização. A partir de folhas com esses sintomas, foram isoladas bactérias caracterizadas como *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. Esse é o primeiro relato dessa doença em áster no Brasil. Cultura bacteriana encontra-se depositada na Coleção de Culturas de Fitobactérias do Instituto Biológico (IBSBF) sob nº 1662.

**Palavras-chave:** doença bacteriana, etiologia, *Aster* sp.

### ABSTRACT

#### **Bacterial blight of aster caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* in Brazil.**

A natural occurrence of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* causing leaf spot symptoms in nursery plants of *Aster* sp. was observed in a commercial plantation located at Atibaia, State of São Paulo, Brazil, in 2002. The pathogen was identified through biochemical, physiological, serological and pathogenicity tests. This bacterial strain was deposited at Phytobacteria Culture Collection of Instituto Biológico (IBSBF) under access number 1662.

**Keywords:** bacterial disease, etiology, *Aster* sp.

## 1. INTRODUÇÃO

Plantas envasadas de áster mostrando lesões foliares necróticas de cor pardacenta foram observadas, em plantios comerciais de áster (*Aster* sp.) localizados em Atibaia (SP), no ano de 2002. As manchas eram observadas inicialmente nos bordos das folhas e, com a evolução, coalesciam, podendo causar extensas áreas crestadas, depreciando e/ou inutilizando o produto para comercialização. Exames ao microscópio óptico, de tecidos com esses tipos de sintomas, revelaram a ocorrência de fluxo bacteriano. Com o objetivo de se caracterizar o agente causal da doença, foi desenvolvido o presente trabalho.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

**Isolamento** - Porções de tecidos com sintomas foram macerados em água destilada esterilizada e a suspensão resultante foi semeada em placas de Petri, contendo meio nutriente agar (NA), conforme LEVINE (1954) e em meio BK (KING et al., 1954). Após 48 horas de incubação a 28°C, as colônias bacterianas predominantes foram selecionadas, purificadas e multiplicadas para serem utilizadas nos testes de patogenicidade e de caracterização do agente causal.

**Testes de patogenicidade** - As inoculações foram feitas por aspersão de suspensão bacteriana (ca. 10<sup>8</sup> ufc/mL) em mudas de áster. As plantas inoculadas foram mantidas em condições de câmara úmida por 72 horas. Nas plantas testemunhas, o inóculo foi substituído por água esterilizada.

**Caracterização dos isolados** - Empregaram-se testes bioquímicos, culturais e fisiológicos relacionados por BRADBURY (1986), YOUNG & TRIGGS (1994) e por SCHAAD et al. (2001).

**Testes serológicos** - Suspensões bacterianas (ca. 10<sup>9</sup> ufc/mL) obtidas a partir de cultivo do isolado IBSBF\*-1662 em meio NA (48 h, 28°C), bem como proteínas do complexo protéico da membrana (CPM) foram utilizadas como antígenos. Lâminas de microscopia foram preparadas em 3mL de agar a 1%, em tampão fosfato salino (0,1M, pH 7), contendo 200µg/mL de azida sódica. Os antígenos foram testados por dupla difusão em ágar, com antissoros contra isolados de *P. s. pv. syringae* (AS-375) e *P. s. pv. tabaci* (AS-761), pertencentes à Coleção de Antissoros do Laboratório de Bacteriologia Vegetal, Instituto Biológico. Tanto as suspensões bacterianas como CPM foram testados contra o soro normal, controle negativo das reações serológicas.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os isolamentos efetuados mostraram, após 48-72 horas de incubação, colônias bacterianas circulares, lisas, convexas, de coloração branca a creme. As bactérias eram Gram negativas, oxidativas e produziram pigmento esverdeado, difusível em meio BK de King fluorescente sob luz ultravioleta, a 380 nm de comprimento de onda. Nos testes de patogenicidade efetuados no hospedeiro homólogo, os primeiros sintomas começaram a ser visualizados cinco dias após as inoculações como

<sup>(1)</sup> Instituto Agrônomo, Caixa Postal 28, 13.001-970 - Campinas(SP); e-mail: malavolt@iac.sp.gov.br

<sup>(2)</sup> Instituto Biológico, Caixa Postal 70, 13001-970 - Campinas(SP).

pequenas regiões anasarcadas que aumentavam de tamanho, tornavam-se escurecidas e evoluíam para necrose e crestamento foliar, reproduzindo os sintomas observados em condições naturais (figura 1). As plantas testemunhas permaneceram assintomáticas. Re-isolamentos efetuados a partir das plantas inoculadas permitiram recuperar a bactéria.

Os resultados dos testes LOPAT (+ - - - +) permitiram caracterizar os isolados em estudo como pertencentes à espécie *Pseudomonas syringae*.

De acordo com YOUNG et al. (1996), *P. syringae* causa doenças em um grande número de hospedeiros e essa espécie inclui mais de 50 patovares. Embora os patovares sejam determinados com base no círculo de hospedeiros, YOUNG & TRIGGS (1994) propuseram alguns testes fisiológicos e bioquímicos que permitem diferenciar diversos patovares de *P. syringae*.

Os resultados dos testes bioquímicos, fisiológicos e culturais efetuados segundo YOUNG & TRIGGS (1994) permitiram caracterizar os isolados obtidos como *P. syringae* pv. *tabaci* (tabela 1).

Segundo BRADBURY (1986), soja, fumo, feijão e ervilha são os hospedeiros mais importantes para *P. syringae* pv. *tabaci*, pelas perdas ocasionadas na produção. Entretanto, essa bactéria já foi descrita numa gama muito grande de hospedeiros, incluindo as recentes constatações em mamoeiro e em cafeeiro (BERIAM et al., 2006; RODRIGUES NETO et al., 2006).

De acordo com LELLIOTT et al. (1966), *P. syringae* pv. *tabaci* causa, em folhas de fumo, lesões necróticas que surgem alguns dias após a infiltração da suspensão do patógeno, provavelmente por ser o fumo seu hospedeiro natural, não se caracterizando como reação de hipersensibilidade. Entretanto, BILLING (1970) cita que reação positiva de hipersensibilidade pode ocorrer. No caso do presente trabalho, em que a bactéria foi isolada de áster, também como para o mamão e o café, foram observadas reações positivas de hipersensibilidade em fumo.

Nos testes de dupla difusão em agar, foram observadas linhas de precipitação apenas entre os antígenos e o antissoro contra *P. syringae* pv. *tabaci* (AS-761). Todos esses resultados reforçam a identificação dos isolados de áster como *P. syringae* pv. *tabaci*.

Esse é o primeiro relato dessa bactéria ocorrendo em áster no Brasil. Cultura encontra-se depositada na Coleção de Culturas de Fitobactérias do Instituto Biológico

(IBSBF) sob nº 1662.

## REFERÊNCIAS

- BERIAM, L.O.S.; ALMEIDA, I.M.G; DESTÉFANO, S.A.L.; GRABERT, E.; BALANI, D.M.; FERREIRA, M.; RODRIGUES NETO, J. *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* in papaya seedlings. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 1, p. 21-26, 2006.
- BILLING, E. *Pseudomonas viridiflava* (Burkholder, 1930; Clara, 1934). **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 33, p. 492-500, 1970.
- BRADBURY, J.F. **Guide to plant pathogenic bacteria**. Kew: CAB International, 1986. 332p.
- KING, E.O.; WARD, M.K.; RANEY, D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, St. Louis, v. 44, p. 301-307, 1954.
- LELLIOTT, R.A.; BILLING, E.; HAYWARD, A.C. A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic *Pseudomonads*. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 29, n. 3, p. 470-489, 1966.
- LEVINE, M. **An introduction to laboratory technique in bacteriology**. New York: The Macmillan Co., 1954. p. 68-79.
- RODRIGUES NETO, J.; SILVA, C.H.D.; BERIAM, L.O.S.; PATRÍCIO, F.R.A.; RODRIGUES, L.M.R.; THOMAZIELLO, R.A. Mancha bacteriana em folhas do cafeeiro causada por *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, supl., p. S85, 2006 (resumo).
- SCHAAD, N.W.; JONES, J.B.; CHUN, N. (Ed). **Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria**. St. Paul: APS Press, 2001. 373p.
- YOUNG, J.M. & TRIGGS, C.M. Evaluation of determinative tests for pathovars of *Pseudomonas syringae* van Hall 1902. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v.77, p.195-207, 1994.
- YOUNG, J.M.; SADDLER, G.S.; TAKIKAWA, Y.; DE BOER, S.H.; VAUTERIN, L.; GARDAN, L.; GVOZDYAK, R.I.; STEAD, D.E. Names of plant pathogenic bacteria 1864-1995. **Review of Plant Pathology**, Palo Alto, v.75, p.721-763, 1996.



**Figura 1.** Sintomas causados por *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* em plantas de áster  
*Figure 1.* Symptoms caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* in aster

**Tabela 1.** Resultados dos testes bioquímicos das linhagens bacterianas de áster, comparados com os de *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* (IBSBF\* 761)Table 1. Determinative tests for the bacterial isolates of aster and for *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*

Testes	Isolados de áster	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tabaci</i> (IBSBF 761)
O/F	Oxid.	Oxid.
Reação de Gram	- <sup>1</sup>	-
Produção de catalase	+	+
Produção de levan	+	+
Oxidase	-	-
Podridão mole em batata	-	-
Arginina dihidrolase	-	-
Hipersensibilidade em fumo	+	+
Redução de nitrato a nitrito	-	-
Produção de aesculina	+	+
Produção de indol	-	-
Hidrólise de gelatina	+	+
Produção de ácidos dos carboidratos:		
L(+)-arabinose, eritritol, D-frutose,	+	+
D-galactose, m-inositol, D(+)-manose	+	+
sacarose, D(-)-sorbitol		
adonitol, D(-)-arabinose,	-	-
celobiose, inulina, D(+)-maltose	-	-
salicina, D(+)-trealose	+	+
Utilização de ácidos orgânicos (sais sódicos) e aminoácidos:		
gluconato, malonato, succinato	+	+
benzoato, DL-lactato	-	-
D(-)-tartarato	-	-
L(+)-tartarato	+	+
betaína	+	+

<sup>1</sup> + positivo; - negativo

\*IBSBF= Coleção de Culturas de Fitobactérias do Instituto Biológico