

# Sobrevivência de *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* no solo, agente etiológico da queima bacteriana do alho

Leandro Luiz Marcuzzo<sup>1</sup> , Andrei Hang Vanderlinde<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Instituto Federal Catarinense – IFC/Campus Rio do Sul, CP 441, 89.163-356, Rio do Sul, SC, Brasil

Autor para correspondência: Leandro Luiz Marcuzzo (leandro.marcuzzo@ifc.edu.br)

Data de recebimento: 06/06/2019 Data de aceite: 23/09/2022

10.1590/0100-5405/224923

A queima bacteriana do alho causada por *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* (Brown, 1918) Stevens, 1925 (sin. *Pseudomonas fluorescens* biótipo II) é caracterizada como uma das principais doenças na cultura (2,3,6). Os sintomas podem se manifestar em qualquer estágio de desenvolvimento da planta e inicialmente as folhas apresentam uma descoloração parcial ou total e posteriormente a formação de estrias amareladas alongadas e com a evolução da doença, ocorre um encharcamento de cor marrom e amolecimento na nervura central. O restante do limbo pode permanecer verde e firme, porém, tende a ocupar todo o limbo foliar apresentando, ao final, uma coloração marrom e ressequida com aspecto de maturação fisiológica da planta. Os sintomas podem progredir para o pseudocaule e bulbo podendo ocorrer o seu apodrecimento (5). Um dos locais de sobrevivência de bactérias fitopatogênicas é o solo (9) e trabalhos ligados a epidemiologia do inóculo primário da doença exigem o conhecimento prévio das condições de sobrevivência para o início da epidemia, já que pesquisas relacionadas à queima bacteriana ainda são escassas. Para tanto, o conhecimento da sobrevivência do patógeno é de grande importância para compreender o desenvolvimento da doença no campo e o seu manejo. Este trabalho teve como objetivo avaliar em condições de campo a longevidade de *P. marginalis* pv. *marginalis* em diferentes profundidades de solo. O trabalho foi realizado no Instituto Federal Catarinense - IFC/Campus Rio do Sul de novembro de 2018 a junho de 2019. Nesse período a precipitação mensal foi de 45,5; 168,5; 211; 241,5; 143; 117,5 e 207 milímetros. O isolado do patógeno foi obtido de plantas de alho com sintoma característico em meio de cultura nutriente-ágar (NA). A identificação foi confirmada pela produção de fluorescência em luz negra em meio de King-B e também sua patogenicidade em inoculação de bulbilho de alho através da técnica de Moura & Romeiro (7). Para diferenciar das bactérias fluorescentes que há no solo esse isolado foi transformado em mutante em meio King-B contendo 150 µg.mL<sup>-1</sup> de rifampicina e repicada por três vezes consecutivas, para manutenção da resistência ao antibiótico. Uma suspensão em solução salina (NaCl 0,85%) da bactéria mutante com 48 horas de crescimento com concentração ajustada em espectrofotômetro em OD<sub>550</sub>=0,5 (4,2x10<sup>8</sup> UFC/mL) foi vertida na superfície do solo contido em dois conjuntos de duas armações sobrepostas de madeira de 0,5 X 0,5 m<sup>2</sup> com 10 cm de altura cada, contendo telado de sombrite (0,1 mm) no fundo de uma delas para separar as alturas de 0 a 10 e de 10 a 20 cm. O solo utilizado foi um cambissolo Háplico, com os seguintes atributos químicos: pH em água de 6,0; matéria orgânica de 2,8%; teores de Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup>, Al<sup>+3</sup> e CTC de 4,2; 1,8; 0,0 e 9,54 cmolc.dm<sup>-3</sup>, respectivamente; saturação por bases de 66,49%, teor de argila de 30 %

e teores de P e K de 14 e 134 mg.dm<sup>-3</sup> respectivamente. Foi adicionado uma proporção de 250 µL de suspensão bacteriana por grama de solo, conforme análise prévia da capacidade de campo do solo. A avaliação da sobrevivência constou de três repetições contendo sub-amostras de 1 grama de solo de 0-10cm e de 10-20 cm. Essas sub-amostras foram colocadas em tubo de ensaio contendo 10 mL de solução salina (NaCl 0,85%), e homogeneizadas, com auxílio de um agitador de tubos, durante 15 segundos. Em seguida foram feitas diluições em série até a concentração de 10<sup>-8</sup> e plaqueadas, com auxílio de alça de Drigalski, em meio de cultura King-B acrescido de rifampicina a 150 µg.mL<sup>-1</sup> e uma suspensão de 100 µL de Clorotalonil (1,3 g/L) espalhada em sua superfície para a não proliferação de fungos. Após a incubação a 28°C por 48 horas, foi contado o número de colônias bacterianas emergentes em câmara de luz negra para confirmar a emissão de fluorescência e mensalmente a população de bactérias (UFC/g de solo) encontradas em cada profundidade do solo. Constatou-se um decréscimo acentuado de mais de 99% da população original colocada nas duas camadas de solo, porém, na de 10-20 cm apresentou maior população, provavelmente devido às condições estáveis de temperatura e umidade (Tabela 1). Não foi constatado colônias em fevereiro na camada superficial e durante os dois meses seguintes manteve-se estável (Tabela 1). A curva de sobrevivência da bactéria foi representada por uma função polinomial expressa em  $y = 0,239x^2 - 39994x + 82218$  (R<sup>2</sup>=0,817). Na profundidade de 10-20 cm houve um decréscimo da população (5,33x10<sup>2</sup> UFC/g de solo) em março, provavelmente devido à condição de pouca precipitação, mas que voltou a se elevar a população (7,3x10<sup>3</sup> UFC/g de solo) no mês seguinte devido o incremento da umidade no solo. A sobrevivência da bactéria na camada de 10-20 cm foi ajustada pela equação polinomial  $y = 16694x^2 - 1E+06x + 3E+06$  (R<sup>2</sup>=0,771). No entanto, em ambas as profundidades não foram recuperadas colônias a partir do quinto mês. No ciclo de vidas das fitobactérias, o solo é sítio de sobrevivência em maior ou menor proporção, dependendo de sua interação e das condições com o ambiente e com o hospedeiro. Graham et al. (4) constataram que *Xanthomonas phaseoli* var. *sojensis*, *Pseudomonas glycinea* e *Pseudomonas tabaci* podem sobreviver de 3 a 9 meses em solo esterilizado e de 1 a 9 meses em solo não esterilizado, enquanto que *Xanthomonas vesicatoria* permaneceu viável por 2 semanas em solo não estéril (8). Alippi (1) constatou que *Xanthomonas campestris* pv. *malvacaerum* foi detectada superficialmente no solo durante 50 dias e *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* de 10 a 24 dias conforme o tipo do solo (10). Mediante os resultados obtidos, *P. marginalis* pv. *marginalis* consegue sobreviver até 5 meses indiferente da profundidade que se encontra no solo.

**Tabela 1.** População bacteriana (UFC/g de solo) de *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* em diferentes profundidades de solo. IFC/Campus Rio do Sul, 2018-2019

Mês/Ano	Profundidade (cm)	
	0-10	10-20
Dezembro/2018	5,67x10 <sup>3</sup>	1,93x10 <sup>5</sup>
Janeiro/2019	6,7x10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>3</sup>
Fevereiro/2019	0	1,33x10 <sup>3</sup>
Março/2019	4,67x10 <sup>2</sup>	5,33x10 <sup>2</sup>
Abril/2019	1,33x10 <sup>2</sup>	7,3x10 <sup>3</sup>
Mai/2019	0	0
Junho 2019	0	0

### REFERÊNCIAS

1. Allipi, A.M. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* in soil. **Turrialba**, San Jose, v.39, n.176, p.178, 1989.
2. Becker, W. F. **Doenças do alho: sintomatologia e controle**. Florianópolis: Epagri, 2004, 53p. (Boletim técnico 126).
3. Becker, W. F. Queima bacteriana do alho. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.4, n.3, p.14-19, 1991.
4. Graham, J.H.; Mcguire, R.G.; Miller, J.W. Overwintering of three bacterial pathogens of soybean. **Phytopathology**, St. Paul, v.43, n.2, p.189-192, 1953.
5. Lopes, C.A. Quezado-Soares, A.M. **Doenças bacterianas das hortaliças: Diagnóstico e controle**. Brasília: EMBRAPA CNPH, 1997, 70p.
6. Marcuzzo, L.L. Queima bacteriana em alho. *Cultivar hortaliças e frutas*, Pelotas, v.112, p.5-7. 2018.
7. Moura, A.B.; Romeiro, R.S. Garlic bulbils as biological baits for detection an diagnosis of *Pseudomonas marginalis*. **Summa phytopathologica**, Jaguariuna, v.23, n.3/4, p.252-254, 1997.
8. Peterson, G.H. Survival of *Xanthomonas vesicatoria* in soil and diseased tomato plants. **Phytopathology**, St. Paul, v.53, n.6, p.765-767, 1963.
9. Romeiro, R.S. Doenças causadas por bactérias em alho. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.17, n.183, p.46-49, 1995.
10. Silva, J.C **Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no solo, no filoplano e na rizosfera de plantas daninhas**. 2015. 62f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – proteção de plantas) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.