

OCORRÊNCIA DE *Dickeya dadantii* EM ARROZ IRRIGADO E POTENCIAIS DANOS NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES

Klaus Konrad Scheuermann¹, Gabriela Neves Martins², Moacir Antônio Schiocchet², Bernardo Scarabelot Pazini³, Henri Stucker², Moacir Warmling⁴.

Palavras-chave: *Erwinia chrysanthemi*, podridão do pé

INTRODUÇÃO

O gênero *Dickeya* foi estabelecido pela reclassificação de *Pectobacterium* (*Erwinia*) *chrysanthemi* e *Brenneria paradisiaca* como *D. chrysanthemi* e *D. paradisiaca*, respectivamente e para acomodação de quatro novas espécies, entre as quais *D. dadantii*. A reclassificação foi baseada em análises de sequências do gene que codifica para rRNA 16S, cinética de reassociação de DNA e características fenotípicas (SAMSON et al., 2005).

A incidência de bactérias pectolíticas em arroz data de 1977 quando Goto (1979) descreveu no Japão a ocorrência de *E. chrysanthemi* causando podridão do pé ou da coroa. Desde então, sua ocorrência tem sido esporádica e localizada, sem prejuízos significativos para a cultura. Os sintomas da doença manifestam-se, principalmente, durante a fase de perfilhamento, evidenciados pela presença de plantas cloróticas, as quais apresentam escurecimento das bainhas foliares, associado a um apodrecimento da região basal do colmo e também das raízes. Em estágios avançados exala odor fétido, típico de infecções bacterianas (SAICHUK, s.d.) Bactérias do gênero *Dickeya* sobrevivem epifiticamente na filosfera de plantas hospedeiras, como saprófitas no solo, em restos culturais infectados, em associação com plantas daninhas ou na rizosfera de plantas cultivadas, sendo essas as principais fontes de inóculo primário (Goto, 1992).

Em Santa Catarina, o arroz é produzido em sistema irrigado de cultivo, por isso, patógenos desta natureza podem ser facilmente disseminados pela água de irrigação, o que é agravado pela ocorrência de enchentes frequentes nestas áreas. Na safra 2011/2012 foram identificadas plantas de arroz com sintomas típicos de bacteriose na região do alto vale catarinense. Diante disso, este trabalho teve por objetivo identificar o agente etiológico da doença observada e determinar seu potencial de dano a sementes de arroz empregadas naquela área.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de arroz da cultivar SCS 114 Andosan apresentando sintomas de clorose na parte aérea e podridão na região do colo, foram coletadas no município de Agronômica-SC (27°16'15,15"S, 49°43'30,06"W) em 10/01/2012. A partir das bordas das lesões, na região interna do colmo, foram retirados fragmentos de tecido para o isolamento indireto da bactéria em meio de cultura 523 de Kado e Heskett (1970). Para realização dos Postulados de Koch, colônias isoladas foram repicadas para meio 523 líquido e incubado a 28°C por 18-24h, sob agitação, até que a suspensão de células atingisse a $DO_{550} = 1,0$. Plantas de arroz da cultivar SCS 114 Andosan foram inoculadas aos 35 dias após a semeadura (DAS) por atomização, e um segundo grupo inoculado por infiltração na região do colo. Foram atomizadas também plantas na fase de início do florescimento (R3). Os postulados foram realizados duas vezes com quatro repetições em cada tratamento.

Para a confirmação da espécie, uma alíquota da suspensão de células foi enviada ao

¹ Eng. Agr. Dr. Epagri – Estação Experimental de Itajaí, C.P. 277, Itajaí-SC CEP: 88318-112. klaus@epagri.sc.gov.br

² Eng. Agr. Dr. Epagri – Estação Experimental de Itajaí

³ Eng. Agr. Epagri – Estação Experimental de Itajaí

⁴ Eng. Agr. Cooperativa Regional Agropecuária Vale do Itajaí

Laboratório de Diagnóstico Fitossanitário e Consultoria – Agrônômica, situado na cidade de Porto Alegre-RS. Foram realizados testes de catalase e oxidase, coloração de Gram, PCR com os oligonucleotídeos específicos fliC-1 e fliC-2 (Vaerenbergh et al., 2012) e sequenciamento da região amplificada.

Para avaliar os potenciais danos de *D. dadantii*, sementes de arroz foram inoculadas por imersão em uma suspensão de células da bactéria preparada tal como descrito anteriormente. O teste de germinação foi realizado de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), utilizando quatro repetições de 50 sementes. As contagens foram realizadas no décimo quarto dia após a semeadura e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais, anormais e sementes não germinadas. Aos sete dias após a instalação do teste de germinação foi realizada a avaliação de vigor, medindo-se o comprimento da radícula e parte aérea de 20 plântulas tomadas ao acaso. O experimento foi conduzido duas vezes, em delineamento inteiramente casualizado, totalizando 400 sementes analisadas. Como tratamento testemunha as sementes foram imersas no meio de cultura 523. Os dados obtidos das avaliações de vigor foram submetidos ao teste *t* e os dados de germinação analisados pelo teste de qui-quadrado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir das amostras coletadas, isolou-se uma colônia de bactérias que apresentava coloração creme, opaca, com bordo irregular. A inoculação por atomização de plantas de arroz aos 35 DAS resultou em necrose na região da lígula, tal como sintoma de *E. chrysanthemi* descrito por Goto (1979). A inoculação das bainhas foliares por infiltração permitiu a reprodução dos sintomas observados no campo, de necrose das bainhas foliares e apodrecimento na região do colo da planta.

O sequenciamento do produto da PCR (261 nucleotídeos) e a comparação com sequências depositadas no GenBank, indicou 93% de similaridade com a sequência CP001836.1 de *D. dadantii*, o que corroborou com os resultados dos testes bioquímicos realizados. A espécie de *Dickeya*, comumente relatada em arroz, é *D. zeae* (Li et al., 2012). Entretanto, essas duas espécies são, filogeneticamente, muito próximas, ambas pertencendo a biovar 3 (Samson et al., 2005). Além disso, são conhecidos vários hospedeiros comuns às duas espécies como é o caso da batata (*Solanum tuberosum*), abacaxi (*Ananas comosus*), banana (*Musa spp.*) e milho (*Zea mays*), sendo todas cultivadas no Estado de Santa Catarina, e as duas últimas, encontradas nas proximidades de onde *D. dadantii* foi identificada em arroz.

A avaliação dos danos provocados por *D. dadantii* em sementes de arroz revelou reduzido vigor das sementes, evidenciado por uma redução no comprimento da radícula e da parte aérea (Tabela 1). O teste de germinação demonstrou também haver uma redução significativa no percentual de sementes germinadas. As plântulas consideradas anormais apresentavam subdesenvolvimento, em alguns casos, ausência de radícula ou necrose da radícula e/ou parte aérea, como ilustrado na Figura 1.

Tabela 1. Danos provocados em sementes de arroz decorrente da infecção da bactéria *Dickeya dadantii*. Itajaí – SC.

Variáveis		Não Inoculada	Inoculada
Vigor (média em cm) *	Comprimento da raiz	11,1	0,4
	Comprimento da parte aérea	3,3	1,4
Teste de germinação (%) **	Plântulas normais	88	0
	Plântulas anormais	4,0	54
	Sementes não germinadas	8,0	46

* Significativo pelo teste *t* $p < 0,001$

** Significativo pelo teste qui-quadrado $p < 0,001$

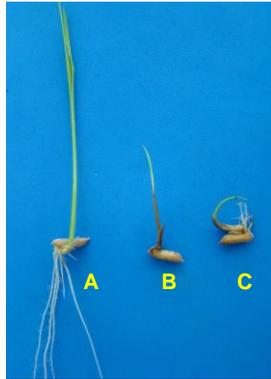


Figura 1- Sintomas em plântulas de arroz oriundas de sementes infectadas por *Dickeya dadantii*. A – testemunha não inoculada, B e C sementes inoculadas.

A inoculação das plantas na fase de início do florescimento resultou na infecção de 100% das espiguetas, as quais grande parte não formaram grãos, e quando formaram-se, estes apresentavam manchas de coloração castanha.

Apesar da ocorrência da podridão do pé ser pouco comum em áreas comerciais de arroz irrigado, o resultado deste trabalho mostra que a doença apresenta um elevado potencial destrutivo, quando a infecção ocorre ainda na fase de germinação das sementes. Assim, considerando que a bactéria sobrevive no solo e em restos de cultura infectados, é importante que seja feito o monitoramento da sua incidência em áreas onde a doença foi observada. Como medidas de controle recomendam-se a destruição dos restos de cultura e combate de *Oryzophagus oryzae* (bicheira da raiz), cujos danos provocados ao sistema radicular servem de porta de entrada para a bactéria.

CONCLUSÃO

A infecção de sementes de arroz por *Dickeya dadantii* observada em plantas de arroz no Estado de Santa Catarina tem elevado potencial de dano para esta cultura.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina – Fapescc.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 399 p.
- GOTO, M. Bacterial foot rot of rice caused by a strain of *Erwinia chrysanthemi*. **Phytopathology**, v.69, p.213-216, 1979.
- GOTO, M. **Fundamentals of bacterial plant pathology**. San Diego: Academic Press, 1992. 342 p.
- KADO, E.I.; HESKETT, M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, v.60:969-976, 1970.
- LI, B.; SHI, Y.; IBRAHIM, M. et al. Genome sequence of the rice pathogen *Dickeya zeae* Strain ZJU1202. **Journal of Bacteriology**, v.194, p. 4452– 4453, 2012.

SAICHUK, J. **Louisiana Rice Production Handbook**. LSU Ag Center Research And Extension: s.d., s.d., 128p.

SANSON, R.; LEGENDRE, J.; CHRISTEN, R. et al. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) Brenner et al. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zeae* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.55, p.1415-1427, 2005.

VAERENBERGH, J.V.; BAEYEN, S.; DE VOS, P., et al. Sequence diversity in the *Dickeya fliC* gene: phylogeny of the *Dickeya* genus and taqman® pcr for '*D. solani*', new biovar 3 variant on potato in Europe. **PLoS ONE**, v.7, p.1-9, 2012.