

HISTOLOGIA DA PODRIDÃO NEGRA (*Xanthomonas campestris* (Pammel) Dows DA COLZA (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) Metzg\*

Histopathology of Black Rot Disease (*Xanthomonas campestris* (Pammel) Dows of Rape (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) Metzg

Elocy Minussi\*\* e Vanoli J. X. Lopes\*\*\*

## OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho foi estudar a histopatologia da podridão negra causada por *Xanthomonas campestris* (Pammel) Dows.

No preparo das lâminas utilizou-se o terço médio das folhas da cultivar CTC-4 atacada e não atacadas pela bactéria. A fixação foi feita com FAA e FPA e os cortes foram feitos com 15 micrômetros de espessura, no sentido transversal, utilizando-se a técnica de dupla coloração com safranina e fast-green. Dos resultados são tiradas as seguintes conclusões:

1. A bactéria *X. campestris* está presente nas nervuras principais e secundárias das folhas de colza atacadas.
2. A bactéria é mais frequente nas câmaras sub-estomáticas que nos meatos intercelulares.
3. A técnica de coloração usada é adequada para evidenciar a presença da bactéria nos tecidos atacados.

## SUMMARY

The objective of this experiment was to study the histopathology of black rot disease (*Xanthomonas campestris* (Pammel) Dows of rape (*Brassica napus* L. var. *oleifera*).

Diseased and healthy leaves of the variety CTC-4 were used for microscope slides preparation.

The microscope slides fixation was carried out with FAA and FPA. The cuts were 15 micrometers thick and done transversally utilizing double staining with safranin and fast green.

The conclusions were:

1. The bacteria *X. campestris* (Pammel) Dow is found in the main and secondary veins of the diseased leaves.

\* Trabalho apresentado na Reunião Anual de Programação de Pesquisa e de Assistência Técnica da Cultura da Colza, Passo Fundo, RS, de 5 a 7 de abril de 1983.

\*\* Engenheiro Agrônomo, Professor Adjunto do Departamento de Defesa Fitossanitária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. 97100-Santa Maria, RS.

\*\*\* Engenheiro Agrônomo, Professor Adjunto do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria. 97100-Santa Maria, RS.

2. The bacteria is more frequent inside the sub-stomated chambers than in the spaces between cells.

3. The staining technique used was adequate to show the presence of the bacteria in diseased tissues.

## INTRODUÇÃO

A podridão negra da colza causada pela bactéria *Xanthomonas campestris* (Pammel) Dows constitui-se um sério problema para a cultura. Sua incidência tem sido generalizada, em todos os ensaios e cultivares.

A literatura estrangeira apresenta poucas referências sobre esta doença em colza. Isto se deve ao fato das condições climáticas no hemisfério norte não serem favoráveis ao desenvolvimento de *X. campestris* (SCHUCK, 5).

Segundo COOK et alii (1e2) a podridão negra é uma típica doença vascular cujos sintomas variam de acordo com os hospedeiros e as condições ambientais.

As plantas podem ser atacadas em qualquer estágio de desenvolvimento, desde o estágio de plântulas até o estágio adulto com manifestações nos cotilédones, folhas, brotos, pedúnculos, siliquis e sementes.

De acordo com VALIELA (8), os sintomas em plântulas se caracterizam pelo escurecimento nos bordos dos cotilédones que logo se enrugam e caem.

Em plantas adultas o sintoma inicial é um amarelecimento em forma de "V" nas margens das folhas, em correspondência com os estômatos aquíferos que estão localizados nos seus bordos. À medida que a superfície atacada aumenta, as nervuras tomam uma cor castanho escuro a negro característica. Este escurecimento progride para baixo afetando também o pecíolo e os elementos vasculares do caule. A causa deste escurecimento é o acúmulo de melaninas entre as células colapsadas. As regiões internervais perdem turgescência e eletrólitos e aparecem cloróticas, exceto em condições de alta umidade relativa que permanecem verdes e túrgidas (SUTTON & WILLIAMS, 6 e 7).

VALIELA (8) citou que em repolho os sintomas aparecem depois da floração passando após para a semente. Nesse momento a infecção é do tipo sistêmico, nos tecidos vasculares dos brotos, em pedicelos e siliquis. O funículo frequentemente seca e permanece aderido a semente.

A respeito da função dos insetos na difusão da enfermidade, existem contradições entre os autores. WALKER (9) afirmou que os mesmos são muito importantes, mas Stapleton & McDermont, citados por VALIELA (8), concluíram que a doença não se transmite por inseto, não conseguindo reproduzi-la com os pulgões *Brevicoryne brassicae* e *Myzus persicae*.

A penetração da bactéria pode ser diretamente através dos estômatos aquíferos das folhas ou feridas.

Após a penetração, a bactéria passa aos espaços intercelulares e chega as nervuras, vasos espiralados e outros, se multiplica rapidamente e se desloca até alcançar o eixo principal. O avanço no parênquima é lento e muitas vezes

freado pela acidez própria do tecido atacado. Dos espaços intercelulares, a bactéria ataca a lâmina média, dissolvendo-a e separando as células. As paredes se tornam cada vez mais finas e finalmente desaparecem formando cavidades.

Embora VALIELA (8) descreva com detalhes o desenvolvimento da doença em crucíferas, não faz qualquer referência a histopatologia em colza. A maioria dos trabalhos consultados se referem a ocorrência da doença, sintomatologia e medidas de controle.

O presente trabalho teve por objetivo determinar a localização da bactéria *X. campestris* nos tecidos e alterações provocadas pela mesma em folhas de colza.

## MATERIAL E MÉTODOS

No preparo das lâminas utilizou-se o terço médio das folhas, as quais foram colhidas da parte mediana de cada planta.

A fixação foi feita com os fixadores FAA e FPA, conforme JOHANSEN (3).

Os cortes foram feitos com 15 micrômetros de espessura no sentido transversal, utilizando-se o processo de dupla coloração, ou seja, safranina e fast-green, de acordo com SASS (4). Na montagem definitiva utilizou-se Entellan.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presença da bactéria *Xanthomonas campestris* (Pammel) Dows foi evidenciada pela safranina, uma vez que as regiões atacadas apresentaram coloração vermelha de intensidade variada. A infecção ocorreu em 100% das nervuras principais e secundárias das lâminas observadas. Devido a intensa coloração vermelha, tanto o xilema como o floema apresentaram-se bastante difusos, sendo praticamente impossível distinguir-se elementos de vasos, fibras, células parenquimáticas, elementos de tubos crivados e células companheiras. Isto se deve ao fato da bactéria obstruir os vasos com o acúmulo de ácido mucopolisacárico (VALIELA, 8) (Figuras 1, 2 e 3).

Observou-se a presença da bactéria em cerca de 30% das câmaras sub-estomáticas e ainda esporadicamente em alguns meatos intercelulares localizados logo abaixo da epiderme abaxial, onde os estômatos foram mais frequentes (Figura 4). Também foi esporádica a infecção na região do mesófilo, pois algumas células, principalmente do parênquima lacunoso, apresentaram coloração vermelha de diferente intensidade (Figura 5). Segundo VALIELA (8) isto deve-se ao fato do avanço da bactéria no parênquima ser lento e muitas vezes freado pela acidez do tecido atacado.

Ocorreram, ainda, algumas cavidades no mesófilo, que segundo VALIELA (8) seriam formados pela dissolução e separação das células.

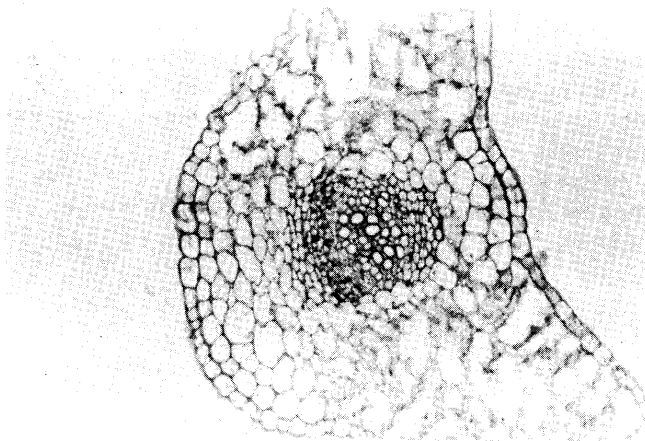


FIGURA 1. Corte transversal da folha de colza (cv CTC-4) sadia na região da nervura principal.

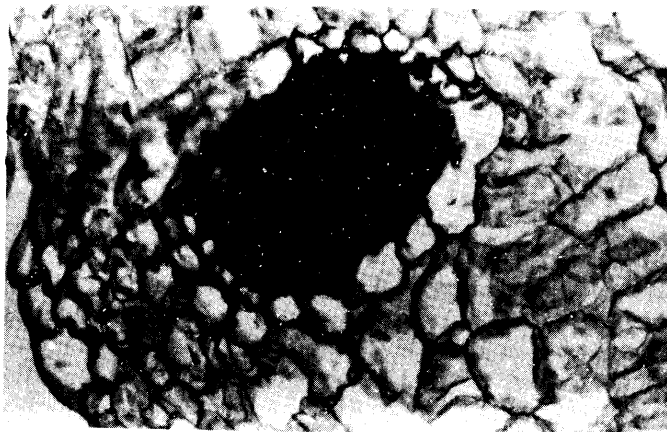


FIGURA 2. Corte transversal da folha de colza (cv CTC-4) atacada por *X. campestris* (Pammel) Dow na região da nervura principal.

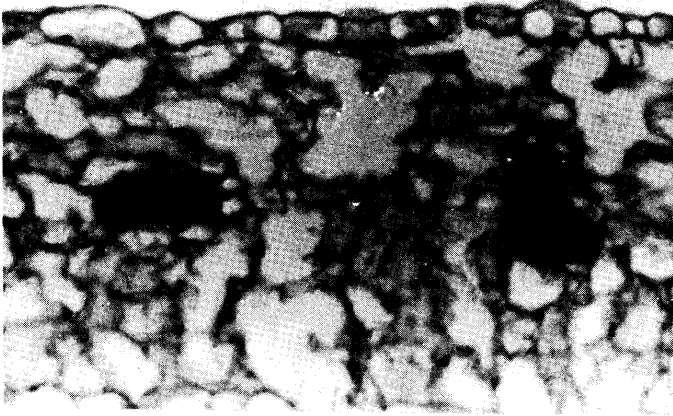


FIGURA 3. Corte transversal da folha de colza (cv CTC-4) com nervuras secundárias atacadas pela bactéria *X. campestris* (Pammel) Dows.



FIGURA 4. Corte transversal da folha de colza (cv CTC-4) com a presença de *X. campestris* na câmara sub-estomática.

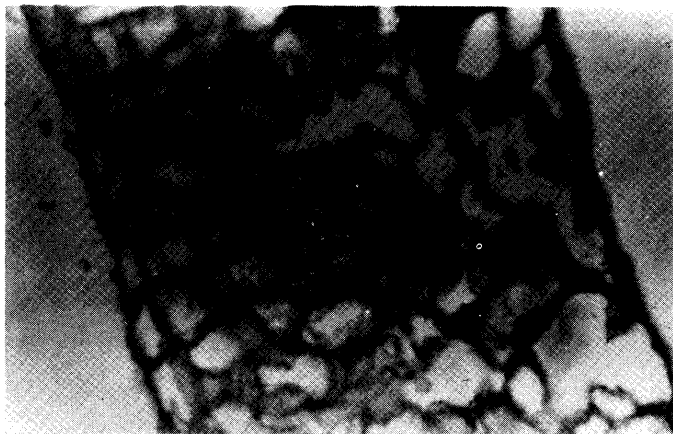


FIGURA 5. Corte transversal da folha de colza (cv CTC-4) com a presença de *X. campestris* no parênquima lacunoso.

#### CONCLUSÃO

Dos resultados obtidos, pode-se tirar as seguintes conclusões:

1. A bactéria *X. campestris* (Pammel) Dows está presente em todas as nervuras principais e secundárias das folhas de colza atacadas.
2. A bactéria é mais frequente nas câmaras sub-estomáticas que nos meatos intercelulares.
3. A técnica de coloração usada é adequada para evidenciar a presença de bactéria nos tecidos atacados.

#### LITERATURA CITADA

1. COOK, A. A.; LARSON, R. H. & WALKER, J. C. Studies on the disease cycle of black rot of crucifers. *Phytopathology*, 42:162-167, 1952.
2. COOK, A. A.; LARSON, R. H. & WALKER, J. C. Relation of the black rot pathogen to cabbage seed. *Phytopathology*, 42:316-320, 1952.
3. JOHANSEN, D. A. *Plant microtechnique*. New York, McGraw Hill Co., 1940. 523 p.
4. SASS, J. E. *Botanical microtechnique*. 2nd ed. Iowa, The Iowa State College, 1951. 228 p.
5. SCHUCK, E. Estudo sobre doenças mais comuns da colza. Porto Alegre, RS. *Correio do Povo*. Suplemento Rural, nº 1243 de 25.06.82. p. 5.

6. SUTTON, J. C. & WILLIAMS, P. H. Relation of xylem plugging to black rot lesion development in cabbage. *Canadian Journal of Botany*, 48:391-401, 1970.
7. SUTTON, J. C. & WILLIAMS, P. H. Comparison of extra-cellular polysaccharide of *Xanthomonas campestris* form culture and from infected cabbage leaves. *Canadian Journal of Botany*, 48:645-651, 1970.
8. VALIELA, M. U. F. *Introducción a la Fitopatología*. Vol. II. *Bacterias Fisiogénicas, Fungicidas, Nematodos*. 3ª ed. Buenos Aires, Argentina, 1975. 821 p. (Colección Científica del INTA).
9. WALKER, J. C. *Plant Pathology*. 3ª ed. New York, McGraw-Hill Book Co. 1969. 819 p.