

BACTÉRIAS FITOPATOGÊNICAS PECTINOLÍTICAS DOS GÊNEROS *Pectobacterium* E *Dickeya*

ROSA DE LIMA RAMOS MARIANO^{1*}
ELINEIDE BARBOSA DA SILVEIRA²
INDIRA DEL CARMEN MOLO ALVARADO¹
ADRIANO MÁRCIO FREIRE SILVA¹

¹Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

²Departamento de Biologia, Área de Microbiologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

* Academia Pernambucana de Ciência Agronômica, Recife, Pernambuco;
Pesquisador Bolsista CNPq; e-mail:rmariano@truenet.com.br.

RESUMO

BACTÉRIAS FITOPATOGÊNICAS PECTINOLÍTICAS DOS GÊNEROS *Pectobacterium* E *Dickeya*

Bactérias fitopatogênicas pectinolíticas dos gêneros *Pectobacterium* e *Dickeya*, causadoras de podridões-moles em diversas espécies hospedeiras são revisitadas comentando-se sua controversa taxonomia e nomenclatura, além de detecção e identificação, gama de hospedeiros e distribuição geográfica, ciclo de vida, fisiologia do parasitismo, sintomatologia, ecologia, epidemiologia e controle.

Termos para indexação: *Erwinia*, *Pectobacterium* spp., *Dickeya* spp., pectinolítica, podridão-mole.

ABSTRACT

PECTINOLYTIC PLANT PATHOGENIC BACTERIA, GENERA *Pectobacterium* AND *Dickeya*

Pectinolytic plant pathogenic bacteria, genera *Pectobacterium* and *Dickeya* which causes soft rots on several host species are revisited and their controversial taxonomy and nomenclature are discussed, besides detection and identification, host range and geographical distribution, life cycle, plant-pathogen relationship, symptomatology, ecology, epidemiology and control.

Index terms: *Erwinia*, *Pectobacterium* spp., *Dickeya* spp., pectinolytic, soft-rot.

1. INTRODUÇÃO

Esta revisão tratará dos dois mais importantes gêneros de bactérias fitopatogênicas pectinolíticas, *Pectobacterium* e *Dickeya*, com ênfase em algumas espécies. Estas bactérias são patógenos radiculares e induzem sintomas de murcha, podridão mole, canela-preta, talo-oco e tombamento de plântulas. Ocorrem praticamente em todo mundo, infectando uma variada gama de hospedeiros de diversas famílias botânicas, no campo ou nas fases de armazenamento e comercialização.

A importância econômica das perdas causadas por esses patógenos pode ser muito grande, dependendo do valor da cultura, severidade do ataque, subespécie envolvida, condições ambientais, potencial de inóculo e manejo da cultura.

2. ASPECTOS TAXONÔMICOS

Os seres vivos são classificados atualmente em três domínios (Archaea, Bacteria e Eucarya) e 25 reinos, com base respectivamente no sequenciamento do RNA ribossomal e critérios polifásicos. As bactérias fitopatogênicas são encontradas no domínio Bactéria e nos reinos Proteobacteria e Firmicutes (Luz, 2000). As espécies de *Pectobacterium* e *Dickeya* pertencem ao reino Proteobacteria.

De acordo com a 9ª edição do Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, as bactérias causadoras de podridão-mole são do Reino Procariota, Divisão Eubacteria, categoria I (eubactérias Gram-negativas com parede celular), grupo 5 (bastonetes Gram negativos, aeróbicos facultativos), sub-grupo 1, Família Enterobacteriaceae (Holt *et al.*, 1994).

O gênero *Pectobacterium* foi inicialmente denominado de *Erwinia* por Winslow *et al.* em 1917 em homenagem a um dos fundadores da fitobacteriologia, Erwin F. Smith (Pérombelon, 1992).

O gênero *Erwinia* Winslow *et al.* foi proposto para agrupar as bactérias Gram-negativas, não formadoras de esporos, peritríquias, fermentativas, com forma de bastonete, incluídas na família *Enterobacteriaceae*. Este gênero reuniu as bactérias associadas a plantas como patógenos, saprófitas e endófitas (Kwon *et al.*, 1997; 2000; Toth *et al.*, 2001). O gênero *Erwinia*, inicialmente era formado pelos grupos: *Amylovora*, *Carotovora* e *Herbicola* (Dye, 1969). Em 1945, Waldee propôs que as espécies pectinolíticas (grupo *Carotovora*) fossem transferidas para o novo gênero *Pectobacterium* Waldee (Dye, 1969; Robbs, 1981). Inicialmente, a idéia de separar as *Erwinias* pectinolíticas das *Erwinias* necrotróficas (grupo *Amylovora*) teve alguns

seguidores, sendo posteriormente enfraquecida pelo surgimento de espécies intermediárias entre *Erwinia* e *Pectobacterium* e pela descoberta de patógenos com características análogas às de *Pectobacterium carotovorum* (Jones) Hauben *et al.*, exceto a capacidade de produzir enzimas pectinolíticas (Robbs, 1981). Proposta similar para colocar as *Erwinias* pectinolíticas em gênero separado (*Pectobacterium*) foi feita também por Brenner *et al.* (1973), embora não tenha sido aceita entre os fitobacteriologistas.

Hauben *et al.* (1998) analisando a posição de 29 isolados de bactérias associadas a plantas, representada pelos gêneros *Erwinia*, *Pantoea* Gavini *et al.* e *Brenneria* Hauben *et al.*, e outras espécies da família *Enterobacteriaceae*, através da sequência do rDNA 16s separou o gênero *Erwinia* em quatro grupos filogenéticos.

O primeiro grupo foi formado pelas erwinias verdadeiras incluindo: *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow *et al.*, *Erwinia mallotivora* Goto, *Erwinia persicinus* Hao *et al.*, *Erwinia psidii* Neto *et al.*, *Erwinia rhapontici* (Millard) Burkholder e *Erwinia tracheiphila* (Smith) Bergey *et al.*

O segundo grupo, das erwinias pectinolíticas (Tabela 1) incluía *Erwinia cacticida* Alcorn *et al.*, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (van Hall) Dye, *Erwinia carotovora* subsp. *betavasculorum* Thomson *et al.*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones) Bergey *et al.*, *Erwinia carotovora* subsp. *odorifera* Gallois *et al.*, *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae* Goto and Matsumoto, *Erwinia chrysanthemi* Burkholder *et al.* e *Erwinia cypripedii* (Hori) Bergey *et al.* Neste grupo, o gênero foi mudado para *Pectobacterium* com as seguintes modificações: *P. cacticidium* Hauben *et al.*, *P. carotovorum* subsp. *atrosepticum* (van Hall) Hauben *et al.*, *P. carotovorum* subsp. *betavasculorum* (Thomson *et al.*) Hauben *et al.*, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (Jones) Hauben *et al.*, *P. carotovorum* subsp. *odoriferum* (Gallois *et al.*) Hauben *et al.*, *P. carotovorum* subsp. *wasabiae* (Goto and Matsumoto) Hauben *et al.*, *P. chrysanthemi* (Burkholder *et al.*) Brenner *et al.* e *P. cypripedii* (Hori) Brenner *et al.*

O terceiro grupo incluindo *Erwinia alni* Surico *et al.*, *Erwinia nigrifluens* Wilson *et al.*, *Erwinia paradisiaca* Fernandez-Borrero and Lopez-Duque, *Erwinia quercina* Hildebrand and Schroth, *Erwinia rubrifaciens* Wilson *et al.* e *Erwinia salicis* (Day) Chester, foi renomeado de *Brenneria*, com as modificações que seguem: *B. alni* (Surico *et al.*) Hauben *et al.*, *B. nigrifluens* (Wilson *et al.*) Hauben *et al.*, *B. paradisiaca* (Fernandez-Borrero and Lopez-Duque) Hauben *et al.*, *B. quercina* (Hildebrand and Schroth) Hauben *et al.*, *B. rubrifaciens* (Wilson *et al.*) Hauben *et al.* e *B. salicis* (Day) Hauben *et al.*

Um quarto grupo é formado por *Erwinia stewartii* (Smith) Dye, *Erwinia ananatis* (Serrano), *Erwinia milletiae* (Kawakami & Yoshida) Magrou e *Erwinia herbicola* (Lohnis)

Tabela 1. - Evolução da nomenclatura de bactérias fitopatogênicas pectinolíticas pertencentes ao gênero *Erwinia* (Lelliot & Dickey, 1984; Hauben *et al.*, 1998; Gardan *et al.*, 2003; Samson *et al.*, 2005)

Lelliot & Dickey (1984)	Hauben <i>et al.</i> (1998)	Gardan <i>et al.</i> (2003)	Samson <i>et al.</i> (2005)
<i>Erwinia cacticida</i> Alcorn <i>et al.</i>	<i>Pectobacterium cacticidium</i> Hauben <i>et al.</i>		
<i>E. carotovora</i> (Jones) Bergey <i>et al.</i>	<i>P. carotovorum</i> (Jones) Hauben <i>et al.</i>		
<i>E. carotovora</i> subsp. <i>atroseptica</i> (van Hall) Dye	<i>P. carotovorum</i> subsp. <i>atrosepticum</i> (van Hall) Hauben <i>et al.</i>	<i>P. atrosepticum</i> (van Hall) Gardan <i>et al.</i>	
<i>E. carotovora</i> subsp. <i>betavasculatorum</i> Thomson <i>et al.</i>	<i>P. carotovorum</i> subsp. <i>betavasculatorum</i> (Thomson <i>et al.</i>) Hauben <i>et al.</i>	<i>P. betavasculatorum</i> (Thomson <i>et al.</i>) Gardan <i>et al.</i>	
<i>E. carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i> (Jones) Bergey <i>et al.</i>	<i>P. carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i> (Jones) Hauben <i>et al.</i>		
<i>E. carotovora</i> subsp. <i>odorifera</i> Gallois <i>et al.</i>	<i>P. carotovorum</i> subsp. <i>odoriferum</i> (Gallois <i>et al.</i>) Hauben <i>et al.</i>		
<i>E. carotovora</i> subsp. <i>wasabiae</i> Goto & Matsumoto	<i>P. carotovorum</i> subsp. <i>wasabiae</i> (Goto e Matsumoto) Hauben <i>et al.</i>	<i>P. wasabiae</i> (Goto & Matsumoto) Gardan <i>et al.</i>	
<i>E. chrysanthemi</i> Burkholder <i>et al.</i>	<i>P. chrysanthemi</i> (Burkholder <i>et al.</i>) Brenner <i>et al.</i>		<i>Dickeya chrysanthemi</i> (Burkholder <i>et al.</i>) Samson <i>et al.</i>
<i>E. cypripedii</i> (Hori) Bergey <i>et al.</i>	<i>P. cypripedii</i> (Hori) Brenner <i>et al.</i>		

Dye. As duas primeiras espécies foram transferidas para o gênero *Pantoea*, *P. stewartii* (Smith) Mergaert *et al.*, *P. ananatis* (Serrano) Mergaert *et al.*, por Mergaert *et al.* (1993), enquanto as duas últimas foram renomeadas como *Pantoea agglomerans* (Ewing and Fife 1972) Gavini *et al.* (Toth *et al.*, 2003). Este grupo não foi modificado por Hauben *et al.* (1998).

Uma segunda mudança na taxonomia do gênero *Pectobacterium* foi feita por Gardan *et al.* (2003) (Tabela 1), analisando uma coleção de 42 isolados pertencentes a cinco subespécies de *P. carotovorum*, *P. carotovorum* subsp. *atrosepticum* (van Hall) Hauben *et al.*, *P. carotovorum* subsp. *betavasculatorum*, (Thomson *et al.*) Hauben *et al.*, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (Jones) Hauben *et al.*, *P. carotovorum* subsp. *odoriferum* (Gallois *et al.*) Hauben *et al.* e *P. carotovorum* subsp. *wasabiae* (Goto and Matsumoto) Hauben *et al.* e

onze isolados de referência e isolados tipos dos biovares de *Pectobacterium chrysanthemi*, *Pectobacterium cacticidium* e *Brenneria paradisiaca*, através da hibridação de DNA-DNA, taxonomia numérica de 120 características fenóticas, sorologia e análise filogenética de seqüências do rDNA 16s previamente depositadas no Genbank. Assim, foi proposta a elevação ao nível de espécie de *P. atrosepticum* (van Hall) Gardan et al., *P. betavasculatorum* (Thomson et al.) Gardan et al. e *P. wasabiae* (Goto and Matsumoto) Gardan et al. Permaneceram como subespécies de *P. carotovorum*, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* e *P. carotovorum* subsp. *odoriferum* (Tabela 1).

Segundo De Boer (2003), uma mudança na nomenclatura das erwinias pectinolíticas em nível taxonômico, tem suporte mais confiável no estudo da hibridação DNA-DNA (Gardan et al., 2003) do que na caracterização fenotípica e a análise de um único fragmento de DNA (Hauben et al., 1998). No entanto, esta nova taxonomia ainda não é amplamente aceita e existem controvérsias na comunidade científica, principalmente entre os pesquisadores que trabalham com *Pectobacterium* (Pérombelon, 2002; Yap et al., 2004).

Um terceiro trabalho relacionado à taxonomia de *Pectobacterium* foi realizado por Samson et al. (2005) (Tabela 1) que estudou uma coleção de 75 isolados de *Pectobacterium chrysanthemi* (incluindo todos os biovares e patovares) e isolados tipos de *B. paradisiaca* e *P. cypripedii*, através da hibridação de DNA-DNA, taxonomia numérica de 121 características fenóticas, sorológicas e análise filogenética do rDNA 16s. Com base na seqüência do rDNA 16s, foi deduzido que os isolados de *P. chrysanthemi* e *B. paradisiaca* formavam um grupo diferente do gênero *Pectobacterium* e *Brenneria*, sendo transferidas para o novo gênero *Dickeya* Samson et al. e denominadas *D. chrysanthemi* (Burkholder et al.) Samson et al., *D. dadantii* Samson et al., *D. dianthicola* Samson et al., *D. dieffenbachiae* Samson et al., *D. paradisiaca* (Fernandez-Borrero and Lopez-Duque) Samson et al. e *D. zae* Samson et al.

3. DETECÇÃO E IDENTIFICAÇÃO

Uma vez que a maioria das pectobactérias causadoras de podridão-mole não têm especificidade, é freqüente isolar mais de um tipo a partir de uma planta doente. Batatas são frequentemente infectadas com *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* e *P. atrosepticum* (De Boer & Kelman, 1975) e apenas, ocasionalmente, com *D. chrysanthemi* (De Lindo et al., 1978).

Pectobactérias podem ser detectadas pelo plaqueamento em meio seletivo contendo pectato (Cuppels & Kelman, 1974) ou por vários processos sorológicos

(Allan & Kelman, 1977). Pequeno número destas bactérias pode ser detectado no solo, se amostras são enriquecidas anaerobicamente em meios com pectato (Meneley & Stanghellini, 1976; Burr & Schroth, 1977). Um outro tipo de enriquecimento é a transferência de material infectado por podridão-mole para uma outra planta ou parte da planta. Em condições assépticas, fatias de tubérculos de batata ou de raízes de cenoura são frequentemente utilizadas para este propósito. Logo após o aparecimento dos sintomas, o material das lesões é repicado para um meio seletivo contendo pectato. O método de isolamento parcialmente seletivo em fruto de pimentão é prático e eficiente para *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*. Consiste na introdução de palito de dente autoclavado no material decomposto e depois, no fruto de pimentão verde, devendo este ser mantido à temperatura de 25 a 30°C em saco plástico com alta umidade. A bactéria deve ser isolada em meio de ágar antes que as lesões coalesçam, ou seja, entre 24 e 30 horas (Takatsu *et al.*, 1981).

Existem diferentes metodologias para detectar infecção latente de pectobactérias em tubérculos, tais como incubação (De Boer & Kelman, 1975), amostragem de lenticelas (De Boer & Kelman, 1975) e semeadura direta de diluições de extrato de casca de tubérculos em meio cristal violeta pectato com e sem eritromicina (Pérombelon *et al.*, 1987).

O método mais preciso para determinação da patogenicidade de espécies de *Pectobacterium* é a inoculação em tubérculos de batata. Outro método utilizado é a inoculação de caule de plantas jovens de batata, ou de outras hospedeiras suscetíveis (Dickey & Kelman, 1988).

O Centro Internacional da Batata (CIP, Lima - Peru) tem selecionando alguns métodos para avaliar a resistência a podridão-mole e canela-preta em caule e tubérculos, e resistência a canela-preta em plântulas. A avaliação da resistência em tubérculo se faz em nível do parênquima e da periderme, utilizando para o primeiro caso os métodos de microinjeção e inoculação com micropipeta e para o segundo, a técnica de infiltração a vácuo. Outro método também permite a busca de resistência em caules e plântulas, as quais são transplantadas para perlita infestada com uma suspensão bacteriana (De Lindo & French, 1993).

Haygood & Strider (1981) citam como métodos de inoculação de *D. chrysanthemi* em plantas ornamentais em casa de vegetação: injeção de palito umedecido no crescimento bacteriano no caule das plantas; pulverização de suspensão bacteriana ou aplicação direta do crescimento bacteriano no centro do limbo foliar de folhas feridas e não feridas, na própria planta ou destacadas, e nesse caso colocadas em

bandejas contendo areia; e inoculação em folhas feridas e não feridas em placas de Petri contendo papel de filtro umedecido.

Para obtenção de culturas puras de *Pectobacterium* e sua manutenção provisória, a utilização dos meios 523 de Kado e Heskett e/ou extrato de levedura, dextrose e carbonato de cálcio (YDC), tem possibilitado excelentes resultados (Jabuonski *et al.*, 1986). Já através do método de dessecação em tiras de papel de filtro, *P. carotovorum* pode ser preservada por um período de 18 meses (Bassel *et al.* modificado por Takatsu, 1980).

Diversos métodos têm sido utilizados para a identificação de *Pectobacterium* (espécies/subespécies): testes bioquímicos, moleculares, sorológicos, bacteriófagos, eletroforese de proteínas, ácidos graxos e crescimento em meio de cultura seletivo.

A identificação de isolados de *P. carotovorum* baseada em características bioquímicas e fenotípicas é muito utilizada (Pérombelon & Kelman, 1980; Toth *et al.*, 2001), embora limitada pelo longo tempo despendido e pouca precisão dos resultados, e como consequência alguns isolados podem não ser caracterizados e consequentemente considerados como atípicos, ou seja apresentando características intermediárias entre as espécies (Toth *et al.*, 2001).

Isolados de *Pectobacterium* são anaeróbicos facultativos, Gram negativos, não formadores de esporos e móveis por flagelos peritríquios (Brenner *et al.*, 1972; Pérombelon & Kelman, 1980; Kwon *et al.* 2000; Schaad *et al.*, 2001). Apresentam crescimento ótimo entre 28-30°C, todas as espécies são oxidase negativas e catalase positivas, embora muitas não reduzam nitratos. Fermentam glucose, produzem β -galactosidase e H_2S , utilizam L-arabinose, D-galactose, D-glucose, glicerol, D-manose, D-ribose e sacarose, mas não produzem urease ou ácido a partir de adonitol (Schaad *et al.*, 2001; Pérombelon *et al.*, 2002).

A identificação preliminar das espécies de *Pectobacterium* pode ser feita pelas características das colônias incubadas a 24°C no meio caseína ácida-peptona-glicose (CPG). Neste meio, sob iluminação oblíqua, as colônias jovens de pectobactérias apresentam um aspecto de “vidro quebrado”. Esta característica distingue as colônias de *Pectobacterium* de *Pseudomonas* e de outras bactérias presentes no solo (Kelman & Dickey, 1995).

Posteriormente, outros testes (Figura 1) permitem a separação das principais pectobactérias (Schaad *et al.*, 2001). Além destes, a determinação da atividade pectinolítica em meio Cristal violeta-pectato (CVP) é um critério auxiliar. Neste meio, após incubação por 48 horas, isolados de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*

formam cavidades a 27 e 33,5 °C mas não a 37 °C; *P. atrosepticum* forma cavidades apenas a 27 °C e *D. chrysanthemi* forma cavidades a 27, 33,5 e 37 °C (Perombelon & Van Der Wolf, 2002).

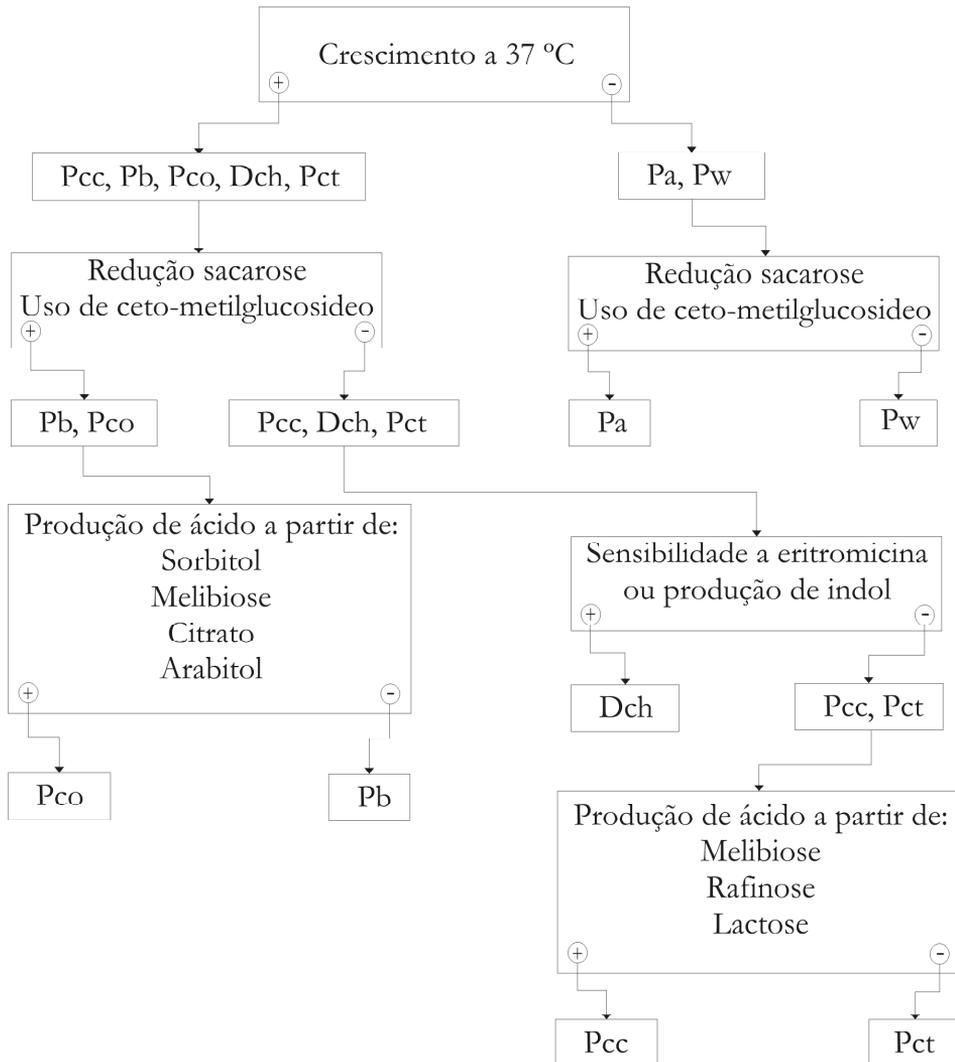


Figura 1. — Esquema para diferenciação das principais pectobactérias (Adaptado de Schaad *et al.*, 2001) (Pcc = *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*; Pb = *Pectobacterium betavasculorum*; Pco = *Pectobacterium carotovorum* subsp. *odoriferum*; Dch = *Dickeya chrysanthemi*; Pct = *Pectobacterium cacticida*; Pa = *Pectobacterium atrosepticum* e Pw = *Pectobacterium wasabiae*)

No entanto, Pierce & McCain (1992) comparando o meio CVP com o meio Miller-Schroth, concluíram que este permitiu recuperar um maior número de pectobactérias, com base na coloração rosa e no tipo de depressão formado e ainda permitiu distinguir essas bactérias de *Pseudomonas*, as quais não cresceram ou apresentaram colônias de coloração verde e formaram uma depressão superficial.

Atualmente, para diferenciação em nível de espécie/subespécie utiliza-se o crescimento a diferentes temperaturas. *P. atrosepticum* cresce bem a 27°C.; *P. carotovorum*, cresce de 27°C a 33.5°C. No entanto, este tipo de diferenciação consome muito tempo e, em muitos casos, pode não ser definitivo na identificação, por existirem isolados com capacidade de crescer além da temperatura limite (Pérombelon & Kelman, 1980; Toth et al., 2001).

Oliveira et al. (2003) realizaram levantamento da incidência de pectobactérias em 22 lavouras de batata do estado de Rio Grande do Sul. Com base em características bioquímicas e PCR com primers específicos para *P. atrosepticum*, foram identificadas as seguintes espécies e subespécies relacionadas à canela preta, *D. chrysanthemi*, *P. atrosepticum* e *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*. Oito isolados não foram identificados por não se ajustarem às características bioquímicas tradicionais. Igualmente, Seo et al. (2003) dividiu nove isolados obtidos de amoreira (*Morus* spp.) em dois grupos com base em características bioquímicas. O grupo 1 foi formado pelos isolados com características típicas de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* e o grupo 2, por isolados com características diferentes, tais como, crescimento a 36°C e produção de ácido a partir de á-metil glucosídeo, sendo esta última característica relevante na identificação de *P. atrosepticum*, sendo que o último grupo de isolados apresentaram características intermediárias entre as duas espécies *P. carotovorum* e *P. atrosepticum*.

Duarte et al. (2004) relataram isolados atípicos de *P. atrosepticum*, os quais por crescerem a 36°C foram denominados *P. carotovorum* subsp. *brasiliensis*, fato não reportado para aqueles isolados (Pérombelon & Kelman, 1980).

A identificação por ácidos graxos da parede celular permite a classificação taxonômica de bactérias fitopatogênicas (Moss, 1981). Alguns grupos de bactérias têm perfis suficientemente característicos para permitir a diferenciação com base em poucos cálculos paramétricos, como é o caso da porcentagem individual de ácidos graxos (Seo et al., 2002). Segundo De Boer & Sasser (1986), *P. carotovorum* e *P. atrosepticum* provenientes de batata tem composição de ácidos graxos qualitativamente similar, mas diferem na sua quantidade e proporção.

A biologia molecular e biotecnologia vêm sendo aplicadas no desenvolvimento de ferramentas de detecção de patógenos de plantas que sejam rápidas, específicas e sensíveis (Miller & Martin, 1988).

As três pectobactérias são sorologicamente relacionadas, existindo uma maior similaridade entre *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* e *P. atrosepticum* do que com *D. chrysanthemi*. Isolados de *P. atrosepticum* formam um grupo mais homogêneo que *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* que apresentam grande heterogeneidade, respectivamente com 2 e 18 sorogrupos (Pérombelon & Kelman, 1980). No entanto, a maioria dos isolados de *P. atrosepticum* obtidos de plantas com canela-preta, na maioria dos países, pertencem ao sorogrupo I. *Dickeya chrysanthemi* é também sorologicamente heterogênea e não foi encontrada correlação entre sorogrupos baseado nos antígenos O e H, e também biovares ou patovares (Samson *et al.*, 1990). De acordo com Kang *et al.* (2003) a identificação de subespécies de *P. carotovorum* usando sorologia é problemática devido à complexidade da espécie. Uma alternativa é o uso de hibridação de DNA e técnicas de PCR, devido à sensibilidade e rapidez na detecção e identificação dos isolados. Toth *et al.* (2001) usaram as técnicas ITS-PCR e ITS-RFLP reputando-as como mais simples, precisas e rápidas que outras técnicas moleculares e caracterização fenotípica, para a identificação de espécies e subespécies de *Pectobacterium*. ERIC-PCR foi empregada para diferenciar isolados de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* de *P. atrosepticum* provenientes de batata, provando ser uma alternativa segura e sensível a ser usada como rotina em conjunto com testes bioquímicos (Seo & Takanami, 2002). Já Seo *et al.* (2004) analisaram isolados de *P. carotovorum* provenientes de batata e de couve-chinesa utilizando testes bioquímicos, 16s-23s IGS e 16s rDNA. Esta última técnica possibilitou a identificação dos isolados de couve-chinesa como *P. carotovorum* subsp. *odoriferum* e de batata como *P. wasabiae*.

Jabuonski *et al.* (1986), realizando estudos bioquímicos e fisiológicos com isolados de *P. carotovorum*, consideraram como pertencente a este grupo bactérias com colônias pigmentadas, opacas, circulares ou amebóides, com bordos irregulares e de aproximadamente 1,5 a 3,0 mm de diâmetro em meio de NDA (nutriente-dextrose-ágar) a 28-30 °C, causadoras de podridão mole, anaeróbicas facultativas, Gram negativas, bastonetiformes e altamente móveis. A bactéria *P. betavascularum*, apresenta células isoladas e forma arredondada. As colônias são brancas com o centro amarelo a laranja e margens onduladas cor de coral, semelhantes a ovo frito (Whitney, 1986).

Lacroix *et al.* (1995) visando identificar espécies de *Pectobacterium* causadoras de podridão-mole em várias espécies de plantas, utilizaram métodos de caracterização

fisiológica, sistemas API 20E, API NFT e Biolog, e análise do perfil eletroforético de proteínas. O sistema API 20E foi considerado como o mais eficiente e confiável para identificação de espécies de *Pectobacterium*.

4. GAMA DE HOSPEDEIROS E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Espécies de *Pectobacterium* ocorrem praticamente em todo mundo, causando murchas ou podridões em espécies de uma vasta lista de famílias botânicas (Agrios, 1996).

No Brasil, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, *P. atrosepticum* e *D. chrysanthemi* podem ocorrer em várias plantas hospedeiras, no campo ou pós-colheita (Jabuonski *et al.*, 1988; Takatsu, 1993), sendo que as duas últimas espécies têm círculo de hospedeiros mais restritos (Takatsu, 1980). A variação da gama de hospedeiros reflete as características de temperatura e distribuição geográfica (Pérombelon & Kelman, 1980). Na Tabela 2 encontra-se a ocorrência das espécies de *Pectobacterium* no Brasil.

Isolados de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* estão distribuídos em regiões temperadas e tropicais e são patogênicos a ampla gama de plantas (Graham, 1964; Pérombelon, 1992). Em contraste, *D. chrysanthemi* é patogênica a muitos hospedeiros em regiões tropicais e subtropicais (Dickey, 1979) e pode também afetar plantas cultivadas em estufa em regiões temperadas, tais como violeta, cravo, filodendron e dieffenbachia, bem como cultivos de milho (Hoppe & Kelman, 1969) e arroz (Goto, 1979) em campo. A gama de hospedeiros de *P. atrosepticum* é restrita geralmente a batata, cultura de clima frio, embora isolados idênticos ou relacionados possam ser encontrados, ocasionalmente, em outras culturas (Dickey, 1979). *Pectobacterium betavasculorum* causa doença prevalente e destrutiva em áreas não muito quentes em Arizona, Califórnia, Washington, Idaho e Texas, principalmente em beterraba açucareira (Whitney, 1986).

As espécies *P. wasabiae*, *P. cacticidium*, *P. cyripedii* e *P. carotovorum* subsp. *odoriferum* têm distribuição geográfica e gama de hospedeiros restritas. *Pectobacterium wasabiae* induz descoloração interna e podridão-mole em rizomas de rábano japonês (*Eutrema wasabiae* Maxim.) (Duarte & El-Tassa, 2003; Duarte *et al.*, 2004). *Pectobacterium cacticidium* causa podridão em cactus como *Carnegia gigantea* e *Opuntia* sp. (Alcorn *et al.*, 1991) *Pectobacterium cyripedii* (não é pectinolítica) infecta *Cyripedium* spp., *Phalaenopsis* spp. e outras orquídeas causando uma podridão marrom nas folhas e caule (Bradbury, 1986). *Pectobacterium carotovorum* subsp. *odoriferum* causa podridão-mole com odor típico

Tabela 2. - Ocorrência de espécies de bactérias fitopatogênicas pectinolíticas no Brasil (Adaptado de Michereff & Mariano, 1993; Takatsu, 1993; Marques *et al.*, 1994; Lopes & Quezado-Soares, 1997)

Hospedeiro	Nome científico	Espécie ¹ /Subespécie
Abobrinha	<i>Curcubita pepo</i>	Pa, Pcc
Acelga	<i>Beta vulgaris</i> var. <i>cicla</i>	Pa, Pcc
Acelga chinesa	<i>Brassica campestris</i> var. <i>sinensis</i>	<i>Pectobacterium</i> spp.
Alcachofra	<i>Cynara scolymus</i>	Pcc
Alface	<i>Lactuca sativa</i>	Pa, Pcc
Alho	<i>Allium sativum</i>	Pcc
Amaranto	<i>Amaranthus spinosus</i>	Pcc
Banana	<i>Musa</i> spp.	Pcc
Batata	<i>Solanum tuberosum</i>	Pa, Pcc, Dch
Batata-doce	<i>Ipomoea batatas</i>	Pcc
Batata baroa	<i>Arracacia xanthorrhiza</i>	Pa, Pcc, Dch
Beterraba	<i>Beta vulgaris</i> var. <i>hortensis</i>	Pcc
Brócolos	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>	Pcc
Cebola	<i>Allium cepa</i>	Pcc
Cebolinha	<i>Allium fistulosum</i>	Pa, Pcc, Dch
Cenoura	<i>Daucus carota</i>	Pa, Pcc
Chicória	<i>Cichorium endivia</i>	Pa, Pcc
Coentro	<i>Coriandrum sativum</i>	Pcc
Couve	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>acephala</i>	Pcc
Couve-flor	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>	Pa, Pcc
Cravo	<i>Dianthus caryophyllus</i>	Dch
Crisântemo	<i>Chrysanthemum</i> spp.	Dch
Erva picão	<i>Bidens pilosa</i>	Pa
Ervilha	<i>Pisum sativum</i>	<i>Pectobacterium</i> spp.
Espinafre	<i>Spinacea oleraceae</i>	Pcc
Espinafre de Nova Zelândia	<i>Tetragonia expansa</i>	<i>Pectobacterium</i> spp.
Fumo	<i>Nicotiana tabacum</i>	Pcc
Girassol	<i>Helianthus annuus</i>	Pa, Pcc, Dch
Jiló	<i>Solanum gilo</i>	<i>Pectobacterium</i> spp.
Mamão	<i>Carica papaya</i>	Pa
Mandioca	<i>Manihot esculenta</i>	Pa, Pcc
Manga	<i>Mangifera indica</i>	Pcc
Maracujá	<i>Passiflora edulis</i>	Pcc

¹ Pa = *Pectobacterium atrosepticum*; Pcc = *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*; Dch = *Dickeya chrysanthemi*

Tabela 2. - Continuação...

Hospedeiro	Nome científico	Espécie ¹/Subespécie
Melão	<i>Cucumis melo</i>	Pcc
Milho-doce	<i>Zea mays</i>	Dch
Mostarda	<i>Sinapsis arvensis</i>	Pcc
Nabo	<i>Brassica napus</i> var. <i>napobrassica</i>	Pcc
Orquídia	<i>Cattleya</i> spp.	Pcc, Dch
Palma forrageira	<i>Opuntia</i> sp.	Pcc
Pepino	<i>Cucumis sativus</i>	Pca, Pcc
Picão	<i>Bidens pilosa</i>	<i>Pectobacterium</i> spp.
Pimenta	<i>Capsicum frutescens</i>	Pcc
Pimentão	<i>Capsicum annuum</i>	Pa, Pcc, Dch
Prímula	<i>Primula</i> sp.	Pcc
Quiabo	<i>Abelmoschus esculentus</i>	Pcc
Rabanete	<i>Raphanus sativus</i>	Pa, Pcc
Repolho	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>	Pa, Pcc
Rúcula	<i>Eruca sativa</i>	Pcc, Dch
<i>Strapelia variegada</i>	<i>Strapelia variegada</i>	Pcc
Salsa	<i>Petroselinum crispum</i>	Pa
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i>	Pa, Pcc, Dch

¹ Pa = *Pectobacterium atrosepticum*; Pcc = *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*; Dch = *Dickeya chrysanthemi*

de banana em chicória (*Cichorium intybus* L.), alho-porró (*Allium porrum* L.) e aipo (*Apium graveolens* L.) (Duarte & El-Tassa, 2003).

A podridão-mole causada por *Pectobacterium* spp. pode ocorrer durante o crescimento da planta, na colheita, no armazenamento, transporte e comercialização. A importância econômica das perdas causadas por estas bactérias pode ser muito grande, dependendo do valor da cultura, da severidade do ataque (Pérombelon & Kelman, 1980), das condições de temperatura, umidade e/ou subespécies da bactéria envolvida, potencial de inóculo, condições de cultivo das plantas, armazenamento, transporte e comercialização dos produtos (Jabuonski *et al.*, 1988). Grandes perdas ocorrem em plantas reproduzidas vegetativamente, tal como batata, cravo e crisântemo (Otazu & Secor, 1981).

5. CICLO DE VIDA

Pectobacterium carotovorum e *D. chrysanthemi* sobrevivem epifiticamente na filosfera de plantas hospedeiras, como saprófitas no solo, em restos culturais infectados, em material de plantio, em associação com ervas daninhas ou na rizosfera de plantas cultivadas, sendo essas as principais fontes de inóculo primário destas bactérias (Goto, 1992; Pérombelon & Kelman, 1980).

Em tubérculos de batata sadios, as bactérias estão localizadas na superfície ou nas lenticelas (De Boer & Kelman, 1975; Burr & Schroth, 1977), e raramente estão presentes no sistema vascular, exceto em tubérculos colhidos de plantas com canela-preta. Durante o armazenamento, são encontradas nas lenticelas dos tubérculos ou na periderme e córtex em pequenas rachaduras (Pérombelon, 1973; Pérombelon & Kelman, 1980) e batatas-semente certificadas (De Boer & Kelman, 1975).

Implemento agrícola contaminado é um grande meio de disseminação de podridão mole, especialmente em culturas reproduzidas vegetativamente tal como batata, onde o patógeno pode ser transmitido quando as sementes são cortadas antes do plantio. O processo de lavagem de frutos e tubérculos favorece a disseminação da bactéria em larga escala.

Possível movimento de *P. carotovorum* no solo foi indicado pela sua presença em amostras coletadas nas proximidades de plantas de batata infectadas, onde a bactéria não havia sido detectada antes do plantio (De Boer *et al.*, 1978). Embora a bactéria seja móvel e possa ser transportada pela microflora do solo, como larvas de certas moscas (Leach, 1940), nematóides (Chantanao & Jensen, 1969) e minhocas (Pérombelon & Lowe, 1975), o movimento de grande número de bactérias dentro do solo a distâncias de vários metros pode apenas ocorrer pela água de solo (Graham & Harper, 1967). Água de irrigação também pode dispersar efetivamente a bactéria do foco de infecção no campo, como foi demonstrado no caso de *D. chrysanthemi* causando podridão do pé de arroz (Goto, 1979). A transmissão de pectobactérias a longa distância pode ocorrer também por aerossóis (Pérombelon & Kelman, 1980). A disseminação aérea pode conduzir a uma infecção latente nos tubérculos novos sob condições de campo, porém raramente ocasiona sintomas, a não ser que um tecido ferido seja infectado e as condições sejam altamente favoráveis ao desenvolvimento da doença (Elphinsthorne, 1993).

Pectobacterium spp. podem ser disseminadas por insetos, que aparentemente são atraídos pelos tecidos de caule danificados e podem introduzir a bactéria causadora

da podridão-mole dentro do tecido ferido, resultando em sintomas de murcha e canela-preta sob condições favoráveis (Graham *et al.*, 1979).

O ciclo da doença podridão-mole da couve chinesa causada por *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* é mostrado na Figura 2.

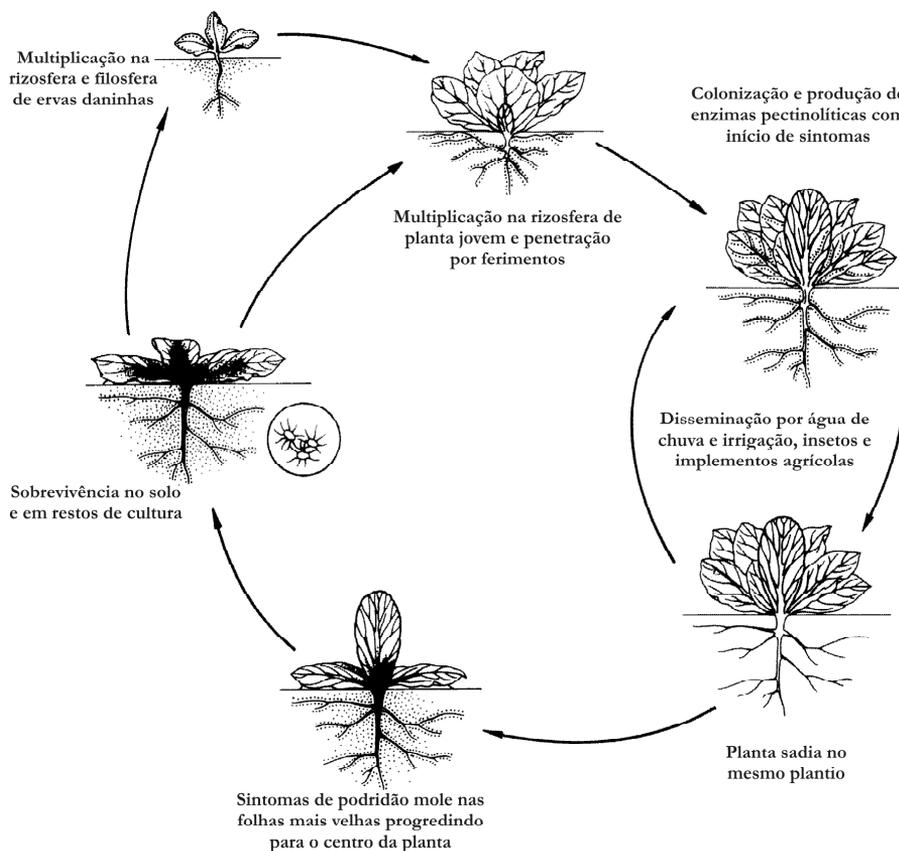


Figura 2. — Ciclo da podridão-mole da couve-chinesa.

Pectobacterium carotovorum subsp. *carotovorum* penetra na planta através de ferimentos e aberturas naturais, localizando-se nos espaços intercelulares de tecidos parenquimatosos e eventualmente no tecido vascular (Pérombelon & Kelman, 1980; Pérombelon & Salmond, 1995; Pérombelon, 2002). Devido ao tipo de penetração, a incidência da doença aumenta marcadamente quando as hospedeiras são feridas em função de práticas culturais, ventos fortes, contato de plantas e insetos (Goto, 1992). Após a penetração a bactéria coloniza o órgão vegetal, ocasionando os sintomas de

podridão-mole (Goodman *et al.*, 1986). Subsequentes fermentações e concomitante invasão do tecido em colapso por saprófitas ocasionam o desprendimento de gases com odor desagradável (Romeiro, 1995).

6. FISILOGIA DO PARASITISMO

Após a penetração, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* permanece nos espaços intercelulares de tecidos parenquimatosos e eventualmente no tecido vascular, até que as condições ambientais, incluindo água livre, temperatura e concentração de oxigênio, tornam-se favoráveis ao desenvolvimento da doença (Pérombelon & Kelman, 1980; Pérombelon & Salmond, 1995; Pérombelon, 2002).

A presença de água livre conduz rapidamente à anaerobiose dentro do órgão, dependendo da temperatura (Burton & Wigginton, 1970). A anaerobiose tem pouco efeito sobre a multiplicação da bactéria, mas prejudica o sistema de defesa do hospedeiro dependente de oxigênio (produção de fitoalexinas, compostos fenólicos e radicais livres, entre outros), inibe a lignificação e suberização da parede celular (proteção à degradação por enzimas pectinolíticas) (Pérombelon, 2002) e aumenta a turgidez das células vegetais afetando a integridade da membrana (Pérombelon & Lowe, 1975). Em consequência, a bactéria coloniza os tecidos e produz enzimas que degradam a parede celular da planta (Grimault *et al.*, 1997), as quais têm a regulação afetada pela temperatura (Nguyen *et al.*, 2002). Estas exoenzimas, incluindo pectinases, celulases, proteases e xilases, liberam nutrientes para o crescimento da bactéria (Collmer & Keen, 1986; Pérombelon, 2002). O tecido vegetal perde sua rigidez, tornando-se mole (Goodman *et al.*, 1986). Subsequentes fermentações e concomitante invasão do tecido em colapso por saprófitas, ocasionam o desprendimento de gases com odor desagradável (Romeiro, 1995).

As enzimas pectinolíticas produzidas por *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* causam degradação das substâncias pécticas da lamela média da parede celular dos vegetais (propectina, ácido péctico, ácido pectínico, pectina e pectina de ligação) que variam quanto às características físicas e químicas, dependendo da espécie da planta, órgão, tecido ou idade, o que determina maior ou menor degradação enzimática (Goto, 1992; Pérombelon, 2002). Estas enzimas são responsáveis pela maceração do tecido e, indiretamente, morte da célula. Os quatro principais tipos de enzimas pectinolíticas produzidas por *Pectobacterium* são: pectato liase (Pel), pectina liase (Pnl), pectina metil esterase (Pme) e poligalacturonase (Peh) (Collmer & Keen, 1986). *P. carotovorum*

subsp. *carotovorum* também produz cinco isoenzimas da endopectato liase (Pl1 a Pl5) relacionadas a patogenicidade (Hayward & Mariano, 1997).

As enzimas pectinolíticas produzidas como mecanismos de ataque dessas bactérias podem ser constitutivas ou induzíveis e podem ser divididas em dois grupos: hidrolases e transferases. As principais hidrolases envolvidas no processo são endopoligalacturonases (EnPG) e exopoligalacturonases (ExPG). EnPGs seccionam a cadeia pectica ao meio ou internamente, ao passo que as ExPGs a seccionam na extremidade. A pectino-metil-esterase, uma transferase, desmetila as cadeias. As hidrolases fracionam a cadeia em fragmentos menores, que o patógeno consegue utilizar. A transferase, desmetilando as cadeias, torna-as mais suscetíveis ao ataque enzimático das hidrolases (Romeiro, 1995).

As celulases são responsáveis pela degradação da celulose, principal componente estrutural da parede celular do vegetal. Pelo menos quatro celulases já foram identificadas em bactérias pectinolíticas, sendo Celz e Cely em *D. chrysanthemi* e CelV e CelS em *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*. Dentre elas, a CelV é relatada como fator de virulência de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* em batata, possivelmente com sinergismo com pectinases (Pérombelon & Salmond, 1995).

As proteases agem, provavelmente, sobre glicoproteínas da parede celular, proteínas de defesa elicidadas ou quitinases com atividade similar a lisozima. No entanto, seu papel na patogenicidade é duvidoso (Dahler *et al.*, 1990; Kyöstiö *et al.*, 1991).

A síntese das enzimas extracelulares pectato liases, poligalacturonases, celulases e proteinases é controlada por um sistema regulador global dependente da densidade celular (quorum-sensing). Os genes *expl* e *carl* produzem uma pequena molécula difusível chamada N-(3-oxohexanoil)-L-homoserina lactona (HSL), a qual é expressa constitutivamente em baixo nível por pectobactérias (Jones *et al.*, 1993). Quando a densidade populacional aumenta dentro da planta a uma concentração de 10^6 cels/mL, a HSL alcança um nível crítico dentro da população, suficiente para ativar completamente os genes *expR* (produção das exoenzimas) e *carl* (produção do antibiótico carbepenem). Estes genes têm também um efeito auto-indutor acelerando a produção de fatores de patogenicidade (McGowan *et al.*, 1995; Nasser *et al.*, 1998). HSL é instável em pH alcalino e isto pode explicar a reação de plantas ao ataque de *Pectobacterium*, quando ocorre a alcalinização do sítio de infecção a um pH > 8,2 (Byers *et al.*, 2002).

Não só a produção das enzimas que degradam a parede celular, mas também sua secreção é fator de virulência. Os genes *out* são responsáveis pelo aparelho secretor de proteínas de *D. chrysanthemi* e *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*. Mutantes deficientes em *out* ainda produzem as enzimas pectato liases, poligalacturonases, e celulases, que ficam presas no espaço periplásmico sem serem excretadas, fazendo com que estes mutantes não sejam virulentos, pois não são capazes de crescer rapidamente e macerar o tecido da planta. Já as proteases são excretadas independentemente das celulases e enzimas pectolíticas (Murata *et al.*, 1990).

Além das enzimas, outros fatores de virulência podem ser encontrados nas pectobactérias habitantes do solo, as quais presumivelmente conhecem a limitação de ferro dentro do nível de oxigênio e variação de pH presentes em muitos solos agrícolas (Bossier *et al.*, 1988). Visando reduzir a limitação deste nutriente, *Dickeya chrysanthemi* produz um sideróforo catecol, chamado crisobactina (Pesmark *et al.*, 1989), o qual contribui para a virulência sistêmica desse patógeno (Enard *et al.*, 1991).

7. SINTOMATOLOGIA

Os sintomas produzidos pelas bactérias pectinolíticas, sob certas condições de campo, podem ser indistinguíveis e não inteiramente definidos. Fatores como patógeno envolvido, condições ambientes, níveis de inóculo, espécie hospedeira, grau de resistência da cultivar, nutrição da planta e manejo da semente, dentre outros, influem na sintomatologia (Jabuonski *et al.*, 1986).

Os sintomas iniciais da podridão-mole são pequenas lesões encharcadas, que aumentam rapidamente e causam extensa maceração e apodrecimento do tecido parenquimatoso do órgão afetado (Goto, 1992). No entanto, sintomas iniciais podem ser completamente diferentes, dependendo do hospedeiro. Em batata, alface e outras culturas, as folhas podem murchar e amarelecer em estágios adiantados do ataque, quando a água é abundante. Observa-se deterioração da batata-semente antes da emergência ou infecção e morte dos brotos após emergência (Stanghellini & Meneley, 1975). Talo-oco e canela-preta ocorrem, freqüentemente, ao mesmo tempo, em batata e tomate como consequência de infecção por *P. atrosepticum* e *P. carotovorum*. No caso do talo-oco, o caule fica literalmente vazio, com aspecto tubular, uma vez que a bactéria encontra mais facilidade de exercer sua atividade pectinolítica na região central não lenhosa. O sintoma da canela-preta é consequência da colonização da

casca com produção e acúmulo de melanina e de outros pigmentos escuros na base do caule (Romeiro, 1995).

Uma característica muito particular de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, *P. atrosepticum* e *D. chrysanthemi* é que elas podem estar presentes na planta sem causar distúrbios em sua morfologia, produzindo infecções assintomáticas tanto nos tubérculos como na folhagem, de maneira tal que no momento da colheita, tubérculos aparentemente sadios são infectados lentamente (De Lindo & French, 1993).

Em alface, a podridão-mole aparece inicialmente como uma murcha nas folhas externas, sendo que plantas próximas à colheita são mais susceptíveis (Figura 3A). A murcha é causada por um colapso dos tecidos vasculares (Figura 3B), com o desenvolvimento de uma descoloração rosa a marrom (Figura 3C). Com o progresso da doença, a medula do caule torna-se encharcada, macerada e esverdeada. Em estágios avançados toda a planta pode tornar-se apodrecida. Durante a pós-colheita as folhas externas tornam-se murchas, descoloridas e, toda a planta pode apodrecer (Raid, 1997). Já em couve-chinesa a maceração dos tecidos ocorre inicialmente na base das folhas em contato com o solo infestado, progredindo rapidamente para o caule principal (Figura 3D), resultando no colapso de toda a planta (Ren *et al.*, 2001). É importante salientar que em ambas as culturas os sintomas da doença podem ocorrer no campo, durante a pós-colheita, transporte e estocagem.

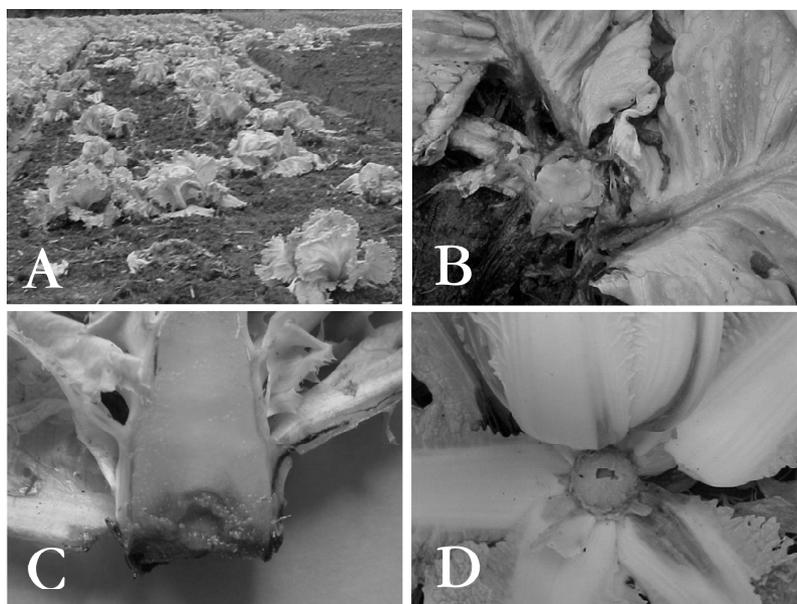


Figura 3. – Podridão-mole em alface (A, B, C) e couve-chinesa (D) em Pernambuco.

No caso da necrose vascular e podridão da beterraba açucareira (*P. betavasculatorum*), as raízes podem apresentar uma podridão seca a mole e o tecido vascular necrosado. Nos pecíolos ocorrem estrias escuras. Quando uma beterraba é cortada expondo o tecido vascular doente, a área ao redor do tecido necrótico torna-se róseo a avermelhada. Quando a raiz é severamente atacada, algumas plantas não morrem, mas suas raízes apresentam cavidades internas (Whitney, 1986).

A podridão bacteriana do colmo do milho, causada por *D. zae* apresenta o sintoma característico de tombamento súbito das plantas. A seca prematura de plantas também pode ser outro sintoma. A podridão do colmo pode ocorrer em um ou em vários internódios acima da superfície do solo. Os sintomas nos internódios atacados são o encharcamento dos tecidos e a perda de firmeza ou rigidez dos tecidos do colmo, que provoca o tombamento das plantas. Em fases mais adiantadas de infecção, o tecido necrosado no internódio atacado apresenta-se marrom-claro. O patógeno pode atingir as espigas e causar podridão mole. Os tecidos afetados exalam odor desagradável característico (Pereira, 1997).

Condições ambientais, especialmente umidade, determinam o tipo de sintoma: podridão mole tende a ocorrer sob condições de alta umidade, enquanto murcha e dessecação predominam sob condições de seca, independente da forma da *Erwinia* envolvida (Pérombelon & Kelman, 1987). Pode-se diferenciar a canela-preta da podridão aérea do caule; o primeiro sintoma é iniciado por pectobactérias em tubérculos-mãe enquanto o outro é originário de ferimentos no caule aéreo, sendo causado por pectobactérias disseminadas pelo ar ou por água de irrigação, sob condições de alta umidade. Esta distinção é relevante para certificação de sementes (Pérombelon, 1992).

8. ECOLOGIA E EPIDEMIOLOGIA

A maior ocorrência e severidade das podridões-moles acontecem em condições de alta temperatura (acima de 25°C) e alta umidade do solo e do ar provocadas por irrigação ou chuva excessiva. Os solos mal drenados favorecem o ataque das espécies de *Pectobacterium*, pois além de alta umidade ser favorável a seu desenvolvimento, estas bactérias podem sobreviver em ausência de oxigênio e sofrer menor competição de outros microrganismos presentes no solo, em condições de aeração deficiente (Lopes & Henz, 1998).

Temperaturas entre 25 e 35 °C, umidade relativa próxima a 100 %, alta precipitação pluviométrica são condições extremamente favoráveis ao desenvolvimento de infecção por *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (Robbs, 1964). Tempo frio, nublado, com elevada pluviosidade, seguido de elevação de temperatura, é bastante favorável à incidência de *P. atrosepticum*. A longevidade de *P. atrosepticum* foi maior em solo saturado com água do que em solo seco, porém o inverso foi encontrado para *D. chrysanthemi* (Anilkumar & Chakravarti, 1970).

As pectobactérias são aparentemente adaptadas para o crescimento em tecidos de plantas ricos em nutrientes, sendo pouco hábeis para uma competição com outros microrganismos em solos relativamente pobres, especialmente em alta temperatura (Pérombelon, 1992). As feridas e o stress fisiológico ocasionado por outros patógenos e os danos causados por insetos e nematóides também favorecem o desenvolvimento da podridão mole. As interações de *Pectobacterium* spp. com *Pythium splendens* H. Braun, *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich e *Fusarium solani* (Mart.) Appel & Wr. em tubérculos, sob condições tropicais têm efeito sinérgico, ou seja, causam perdas mais graves que a soma das perdas individuais de cada um desses patógenos (Elphinstone, 1993).

Estudos sobre a habilidade de pectobactérias sobreviverem no solo são contraditórios, o que é atribuído ao baixo nível de detecção das técnicas utilizadas (Pérombelon, 1973; Meneley & Stanghellini, 1976). Aparentemente estão localizadas na superfície das partículas de solo e podem ser facilmente dispersas pela água, embora sejam mais suscetíveis a condições de baixa umidade do solo e altas temperaturas. Quando o solo está molhado e existe alto potencial de água nos tubérculos de batata, as lenticelas tendem a abrir e as bactérias penetram através do filme de água contínuo das partículas do solo para células das lenticelas (Pérombelon & Kelman, 1980).

A temperatura do solo é aparentemente o principal fator na determinação de qual das duas bactérias, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* ou *P. atrosepticum*, poderá causar canela-preta no campo, já que a primeira predomina em solos quentes e a segunda em solos frios. Quando a temperatura é intermediária, ambos os organismos podem ser igualmente prevalentes (Molina & Harrison, 1977).

A contaminação de tubérculos-filhos ocorre depois da podridão do túberculo-mãe quando as bactérias são liberadas para o solo e transmitidas pela água. Em solos secos, poucos túberculos mãe apodrecem e existe pouca ou nenhuma transmissão da bactéria (Elphinstone & Pérombelon, 1986). É notável que o nível

de contaminação do solo e lenticelas dos tubérculos aumente gradualmente durante a estação de cultivo, embora possa flutuar. Ele é baixo durante o período seco e alto depois de chuvas pesadas (Pérombelon & Lowe, 1975).

Em condições de campo, o excesso de adubação nitrogenada, irrigações leves e constantes, bem como colheitas de tubérculos em solos com excesso de umidade, são citados dentre os fatores que favorecem o desenvolvimento de podridão-mole e canela-preta em batata (Lopes & Jabuonski, 1989). No armazenamento, o início da podridão de tubérculos de batata ocorre quando prevalecem baixa concentração de O₂ no ar (De Boer *et al.*, 1978) e altos níveis de CO₂ (Nielsen, 1968); água livre cobrindo a superfície dos tubérculos e temperatura acima da mínima requerida para crescimento do patógeno (Cromarty & Easton, 1973).

As populações localizadas na superfície dos tubérculos declinam rapidamente sob condições secas, ao passo que, no interior das lenticelas podem permanecer em concentrações mais baixas durante longos períodos de tempo (Pérombelon, 1973). A infecção latente se converte em ativa quando a temperatura mínima requerida para o desenvolvimento da bactéria é atingida e existe uma película contínua de água sobre a superfície dos tubérculos (De Lindo & French, 1993).

De acordo com Silva (2005), levantamentos da intensidade da podridão-mole em plantios de alface e couve-chinesa, nas mesorregiões da Zona da Mata e Agreste de Pernambuco, constataram prevalência de 45,2% em alface e de 100% em couve-chinesa, enquanto a incidência variou entre 0 a 22% na primeira cultura e 1 a 67% na segunda. Em alface, maior intensidade da podridão-mole foi constatada em áreas: com mais de 17 anos de plantio; plantadas com as cultivares Cacheada, Elba e Tainá; com solo argiloso; irrigadas pelo sistema de rega e com drenagem deficiente. Por outro lado, menor intensidade da doença foi observada em áreas: plantadas com as cultivares Verdinha e Salad Bowl; cultivadas anteriormente com coentro e quando as mudas foram produzidas em bandejas. Já em couve-chinesa, observou-se que a intensidade da podridão-mole foi maior em áreas: com mais de 10 anos de cultivo e em plantios com mais de 50 dias. A única subespécie encontrada causando podridão-mole em todas as áreas de cultivo de alface e couve-chinesa foi *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*.

9. CONTROLE INTEGRADO

As principais medidas preconizadas para o controle de podridões-moles incluem: evitar plantio em solos de baixada, mal drenados; erradicar plantas doentes; destruir

restos culturais; fazer rotação de culturas por 3 a 4 anos; não armazenar produto doente e sadio conjuntamente; armazenar produto em local ventilado, seco e frio; evitar fermentos durante tratamentos culturais; controlar insetos mastigadores; desinfestar depósitos e armazéns com sulfato de cobre; empregar água de irrigação livre de contaminação; evitar o excesso de umidade com o maior espaçamento possível entre plantas; efetuar adubação equilibrada e rica em cálcio e utilizar cloro na água de lavagem (Mariano *et al.*, 2001).

Diversos fungicidas, dentre os quais, oxiclreto de cobre, hidróxido de cobre, óxido cuproso, sulfato de cobre, sulfato de cobre + cal hidratada, e alguns antibióticos, como oxitetraciclina, oxitetraciclina + estreptomicina e cloreto de kasugamicina são recomendados para o controle de *Pectobacterium* spp. (Kimati *et al.*, 1997; Lopes & Quezado-Soares, 1997). Cefalotoxina sódica é indicada nos tratamentos de mudas em quarentenário e, paralelamente, na realização de limpeza clonal através da cultura de meristemas (Parente & Marques, 1990).

O controle da podridão-mole pode ser realizado através da infiltração a vácuo com $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (0,1; 0,6 e 1,2 %) em tubérculos de batata (McGuire & Kelman, 1984), e CaCl_2 (1,0 e 0,5%) em frutos de pimentão (Melo *et al.*, 1995). Segundo Gomes *et al.* (2005), a aplicação de CaCl_2 a 8% por infiltração a vácuo em frutos de tomate reduziu a severidade da podridão-mole em 69,5%. Foram avaliados também os microrganismos *Rhodotorula* sp. (LD-19) e *Pseudomonas* sp. fluorescente (P-2) isoladamente e associados ao CaCl_2 a 8%. Houve diferença significativa entre os tratamentos, destacando-se a combinação CaCl_2 a 8% + LD19, com RSD% de 93%. Os isolados P-2 e LD-19 aplicados isoladamente, apresentaram baixos percentuais de RSD. O mecanismo pelo qual o cálcio retarda o desenvolvimento das podridões pós-colheita pode ser similar ao efeito desse elemento sobre o processo que retarda o amadurecimento e o amolecimento do fruto. Este nutriente auxilia na regularização do metabolismo dos frutos e em concentrações adequadas mantém a consistência destes, diminuindo a incidência das doenças pela inibição da atividade da enzima poligalacturonase (Conway & Sams, 1983; Conway *et al.*, 1992).

Pectobactérias causadoras de podridão-mole em batata podem ser controladas biologicamente pela aplicação de espécies antagonistas de *Pseudomonas* às batatas-semente antes do plantio (Kloepper, 1983; Colyer & Mount, 1984; Xu & Gross, 1986) ou aos tubérculos antes do armazenamento (Colyer & Mount, 1984). Este controle biológico é determinado pela competição por ferro, mediada por sideróforos fluorescentes, chamados pioverdinas, produzidos por *Pseudomonas* spp. que sequestram

os íons ferro como complexos pioverdina-ferro, os quais são utilizados exclusivamente pelo antagonista em detrimento do patógeno (Leong, 1986).

O meio mais efetivo para controlar *P. betavascularum* é o uso de variedades resistentes. Práticas de cultivo que provoquem injúrias nas beterrabas devem ser evitadas e o espaçamento entre plantas deve ser de 6-8 polegadas, para reduzir as perdas em cultivares suscetíveis. Outro fator que pode diminuir o nível de doença é a fertilização nitrogenada, no início do plantio (Whitney, 1986).

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G.N. Plant pathology. 4nd ed. New York. Academic Press. 1996.

ALCORN, S.M., ORUM, T.V., STEIGERWALT, A.G., FOSTER, J.L., FOGLEMEN, J.C. & BRENNER, D.J. Taxonomy and pathogenicity of *Erwinia cacticida* sp. Nov. International Journal of Systematic Bacteriology 41:197-212. 1991.

ALLAN, E. & KELMAN, A. Immunofluorescent stain procedures for detection and identification of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*. Phytopathology 67:1305-1312. 1977.

ANILKUMAR, R.B. & CHAKRAVARTI, B.P. Factors affecting survival of *Erwinia carotovora*, causal organism of stalk rot of maize, in soil. Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae 5:330-340. 1970.

BOSSIER, P., HOFTE, M. & VERSTRAETE, W. Ecological significance of siderophores in soil. Advances in Microbial Ecology 10:385-414. 1988.

BRADBURY, J.F. Guide to plant pathogenic bacteria. Ferry Lane. CAB International Mycological Institute. 1986.

BRENNER, D.J., FANNING, G.R. & STEIGERWALT, A.G. Deoxyribonucleic acid relatedness among species of *Erwinia* and between *Erwinia* species and other *Enterobacteria*. Journal of Bacteriology 110:12-17. 1972.

BRENNER, D.J., STEIGERWALT, A.G., MIKLOS, G.V. & FANNING, G.R. Deoxyribonucleic acid relatedness among *Erwiniae* and other enterobacteria. The soft-rot organisms (genus *Pectobacterium* Waldee). International Journal of Systematics Bacteriology 23:205-216. 1973.

BURR, T.J. & SCHROTH, M.N. Occurrence of soft-rot *Erwinia* spp. in soil and plant material. Phytopathology 67:1382-1387. 1977.

BURTON, W.G. & WIGGINTON, M.J. The effect of a film of water upon the oxygen status of a potato tuber. Potato Research 13:150-186. 1970.

- BYERS, J.T., LUCAS, C., SALMOND, G.P.C. & WELCH, M. Nonenzymatic turnover of an *Erwinia carotovora* quorum sensing signaling molecule. *Journal of Bacteriology* 184:1163-1171. 2002.
- CHANTANAO, A. & JENSEN, H.J. Saprozoic nematodes as carriers and disseminators of plant bacteria. *Journal of Nematology* 1:216-218, 1969.
- COLLMER, A. & KEEN, N.T. The role of pectic enzymes in plant pathogenesis. *Annual Review of Phytopathology* 24:383-409. 1986.
- COLYER, P.D. & MOUNT, M.S. Bacterization of potatoes with *Pseudomonas putida* and its influence on postharvest soft rot diseases. *Plant Disease* 68:703-706. 1984.
- CONWAY, W.S. & SAMS, C.E. Calcium infiltration of Golden Delicious apples and its effect on decay. *Phytopathology* 73:1068-1071. 1983.
- CONWAY, W.S., SAMS, C.E., McGUIRE, R.G. & KELMAN, A. Calcium treatment of apples and potatoes to reduce postharvest decay. *Plant Disease* 76:329-334. 1992.
- CROMARTY, R.W. & EASTON, G.D. The incidence of decay and factors affecting bacterial soft rot of potatoes. *American Potato Journal* 50:398-407. 1973.
- CUPPELS, D. & KELMAN, A. Evaluation of selective media for isolation of soft-rot bacteria from soil and plant tissue. *Phytopathology* 64:468-475. 1974.
- DAHLER, G.S., BARRAS F. & KEEN, N.T. Cloning of genes encoding metalloproteases from *Erwinia chrysanthemi* EC16. *Journal of Bacteriology* 172:5803-5815. 1990.
- DE BOER S.H; SASSER M. Differentiation of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on the basis of cellular fatty-acid composition. *Canadian Journal of Microbiology* 32:796-800. 1986.
- DE BOER, S. H. Characterization of pectolytic *Erwinias* as highly sophisticated pathogens of plants. *European Journal of Plant Pathology* 109:893-899. 2003.
- DE BOER, S.H. & KELMAN, A. Evaluation of procedures for detection of pectolytic *Erwinia* spp. in potato tubers. *American Potato Journal* 52:117-123. 1975.
- DE BOER, S.H., CUPPELS, A. & KELMAN, A. Pectolytic *Erwinia* spp. in the root zone of potato plants in relation to infestation of daughter tubers. *Phytopathology* 68:1784-1790. 1978.
- DE BOER, S.H., VERDONCK, J., VRUGGINK, H., HARJU, P., BANG, H.O. & DE LEY, J. Serological and biochemical variation among potato strains of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and their taxonomic relationship to other *E. carotovora* strains. *Journal of Applied Bacteriology* 63:487-495. 1987.

DE LINDO, L. & FRENCH, E.R. Detecção de infecção latente de *Erwinia* spp. em papa. In: Lopes, C.A. & Espinoza, N. (Eds.) *Enfermedades bacterianas de la papa*. Brasília. EMBRAPA-CNPq. 1993. pp.87-90.

DE LINDO, L., FRENCH, E.R. & KELMAN, A. *Erwinia* spp. pathogenic to potato in Peru. *American Potato Journal* 55:383. 1978 (Abstract).

DICKEY, R.S. *Erwinia chrysanthemi*: A comparative study of phenotypic properties of strains from several hosts and other *Erwinia* species. *Phytopathology* 69:324-329. 1979.

DICKEY, R.S. & KELMAN, A. *Erwinia*: "carotovora" or soft rot group. In: Schaad, N.W. (Ed.) *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*. Saint Paul. American Phytopathological Society. 1988. pp.44-59.

DUARTE, V., DE BOER, S.H., WARD, L.J. & DE OLIVEIRA, A.M.R. Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. *Journal of Applied Microbiology* 96:535-545. 2004.

DUARTE, V. & EL TASSA, S.O.M. Taxonomia do gênero *Pectobacterium*. *Revisão Anual de Patologia de Plantas* 11:1-41. 2003.

DYE, D. W. A taxonomic study of the genus *Erwinia*. II. The "carotovora" group. *New Zealand Journal of Science* 12:81-97. 1969.

ELPHINSTHONE, J.G. & PÉROMBELON, M.C.M. Contamination of progeny tubers of potato plants by seed- and leaf-borne *Erwinia carotovora*. *Potato Research* 29:77-93. 1986.

ELPHINSTHONE, J.G. Ecología de especies pectolíticas de *Erwinia* causantes de pudrición blanda y pierna negra de la papa. In: Lopes, C.A. & Espinoza, N. (Eds.) *Enfermedades bacterianas de la papa*. Brasília. EMBRAPA-CNPq. 1993. pp.59-66.

ENARD, C., FRANZA, T., NEEMA, C., GILL, P.R., PERSMARK, M., NEILANDS, J.B. & EXPERT, D. The requirement of chrysoactin-dependent iron transport for virulence incited by *Erwinia chrysanthemi* on *Saintpaulia ionantha*. *Plant Soil* 130:263-271. 1991.

GARDAN, L., GOUY, C., CHRISTEN, R. & SAMSON, R. Elevation of three subspecies of *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp. nov., *Pectobacterium betavasculorum* sp. nov., *Pectobacterium wasabiae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53:381-391. 2003.

GOMES, A.M., SILVEIRA, E.B. & MARIANO, R.L.R. Tratamento pós-colheita com cálcio e microrganismos para controle da podridão-mole em tomate. *Horticultura Brasileira* 23:108-11. 2005.

GOODMAN, R.N., KIRALY, Z. & WOOD, K.R. *The biochemistry and physiology of plant disease*. Columbia. University of Missouri Press. 1986.

- GOTO, M. Bacterial foot rot of rice caused by a strain of *Erwinia chrysanthemi*. *Phytopathology* 69:213-217. 1979.
- GOTO, M. *Fundamentals of bacterial plant pathology*. San Diego. Academic Press. 1992.
- GRAHAM, D.C. Taxonomy of the soft rot coliform bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 2:13-42. 1964.
- GRAHAM, D.C. & HARPER, P.C. Potato blackleg and tuber soft rot. *Scott. Agric.* 46:68-74. 1967.
- GRAHAM, D.C., QUINN, C.E., SELLS, I.A. & HARRISON, M.D. Survival of strains of soft rot coliform bacteria on microbeads exposed in the laboratory and in the open air. *Journal of Applied Bacteriology* 46:367-376. 1979.
- GRIMAULT, V., VIAN, B., PERINO, C., REIS, D. & BERTHEAU, Y. Degradation patterns of pectic substrates related to the localisation of bacterial pectate lyases in the model *Erwinia chrysanthemi/Saintpaulia ionantha*. *Physiology and Molecular Plant Pathology* 51:45-62. 1997.
- HAUBEN, L., MOORE, E. R., VAUTERIN, L., STEENACKERS, M., MERGAERT, J., VERDONCK, L. & SWINGS, J. Phylogenetic position of phytopathogens within the *Enterobacteriaceae*. *Systematic and Applied Microbiology* 21:384-397. 1998.
- HAYGOOD, R.A. & STRIDER, D.L. Influence of moisture and inoculum concentration on infection of *Philodendron sellom* by *Erwinia chrysanthemi*. *Plant Disease* 65:727-728. 1981.
- HAYWARD, A.C. & MARIANO, R.L.R. Mecanismos de virulência e patogenicidade de procariotos em plantas. *Revisão Anual de Patologia de Plantas* 5:199-234. 1997.
- HOLT, J.C., KRIEG, N.R., SNEATH, P.H.A., STALEY, J.T. & WILLIAMS, S.T. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th Ed. Baltimore. Williams & Wilkins. 1994.
- HOPPE, P.E. & KELMAN, A. Bacterial top and stalk rot disease of corn in Wisconsin. *Plant Disease Reporter* 53:66-70. 1969.
- JABUONSKI, R.E., REIFSCHNEIDER, F.J.B. & TAKATSU, A. Influência da temperatura no dano causado por *Erwinia* spp. em tubérculos de batateira. *Fitopatologia Brasileira* 13:317-319. 1988.
- JABUONSKI, R.E., TAKATSU, A. & REIFSCHNEIDER, F.J.B. Levantamento e identificação de espécies de *Erwinia* de diferentes plantas hospedeiras e regiões do Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 11:185-195. 1986.
- JONES, S.M., YU, B., BAINTON, N.J., BIRDSALL, M., BYCROFT, B.W., CHHABRA, S.R., COX, A.J., GOLBY, P., REEVES, P.J. & STEPHENS, S. The lux autoinducer regulates

the production of exoenzyme virulence determinants in *Erwinia carotovora* and *Pseudomonas aeruginosa*. EMBO Journal 12:2477-2482. 1993.

KANG, H.W., KWON, S.W. & GO, S.J. PCR-based specific and sensitive detection of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* by primers generated from a URP-PCR fingerprinting-derived polymorphic band. Plant Pathology 52:127-133. 2003.

KELMAN, A. & DICKEY, R. S. Detection of *Erwinia carotovora* and *E. chrysanthemi*. In: Saettler, A.W., Schaad N.W. & Roth, D.A. (Eds.) Detection of bacteria in seed and other planting material. Saint Paul. American Phytopathological Society. 1995. pp.76-91.

KIMATI, H., GIMENES-FERNANDES, N., SOAVE, J., KUROSZAWA, C., BRIGNANI NETO, F. & BETTIOL, W. Guia de fungicidas agrícolas: recomendações por cultura. 2. ed. Jaboticabal. Grupo Paulista de Fitopatologia. 1997.

KLOEPPER, J.W. Effects os seed piece inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on populations of *Erwinia carotovora* on potato roots and daughter tubers. Phytopathology 73:217-219. 1983.

KWON, S.W., CHEUN, M.S., KIM, S.H. & LIM, C.K. Phylogenetic analysis of *Pectobacterium* species using the 16s-23s rRNA intergenic spacer regions. Plant Pathology Journal 16:98-104. 2000.

KWON, S.W., GO, S.J., KANG, H.W., RYU, J.C. & JO, J.K. Phylogenetic analysis of *Erwinia* species based on 16S rRNA gene sequence. International Journal of Systematic Bacteriology 47:1061-1067. 1997.

KYÖSTIÖ, S.R.M., CRAMER, C.L. & LACY, G.H. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* extracellular protease: characterization and nucleotide sequence of gene. Journal of Bacteriology 173:6537-6546. 1991.

LACROIX, M., VÉZINA, L., DESJARDINS, S. & BEAULIEU, C. Comparision de techniques d'identification des *Erwinia* et des *Pseudomonas* responsables de la pourriture molle. Phytoprotection 76:27-37. 1995.

LEACH, J.G. Insect transmission of plant disease. New York. McGraw-Hill. 1940.

LELLIOT, R.A. & DICKEY, R.S. Genus VII. *Erwinia*. In: Krieg, N.R. & Holt, J.G. (Eds.) Bergey's manual of systematic bacteriology. Baltimore. The Williams & Wilkins. 1984. pp. 469-476.

LEONG, J. Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. Annual Review of Phytopathology 24:187-209. 1986.

LOPES, C.A.; HENZ, G.P. Podridão-mole das hortaliças causadas por bactérias. Brasília: Embrapa Hortaliças. 1998. (Comunicado técnico, 8).

LOPES, C.A. & JABUONSKI, R.E. Manejo da cultura da batata para o controle de doenças. Brasília. EMBRAPA-CNPQ. 1989.

LOPES, C.A. & QUEZADO-SOARES, A.M. Doenças bacterianas das hortaliças: diagnose e controle. Brasília. EMBRAPA-CNPQ. 1997.

LUZ, W.C. Classificação dos seres vivos para o novo milênio. Parte I – O sistema de 25 reinos em três domínios. Revisão Anual de Patologia de Plantas 8:1-25. 2000.

MARIANO, R.L.R., SILVEIRA, E.B., ASSIS, S.M.P., GOMES, A.M.A., OLIVEIRA, I.S. & NASCIMENTO, A.R.P. Diagnose e manejo de fitobacterioses de importância no nordeste brasileiro. In: Michereff, S.J. & Barros, R. (Eds.) Proteção de plantas na agricultura sustentável. Recife. UFRPE. 2001. pp.141-169.

MARQUES, A.S.A., ROBBS, C.F., BOITEUX, L.S. & PARENTE, P.M.G. Índice de fitobacterioses assinaladas no Brasil. Brasília. EMBRAPA-SPI. 1994. 65pp.

MCGOWAN, S., SEBAIHIA, M., JONES, S., YU, B., BAITON, N., CHAN, P.F., BYCROFT, B., STEWART, G.S., WILLIAMS, P. & SALMOND, G.P.C. Carbapenem antibiotic production in *Erwinia carotovora* is regulated by CarR, a homologue of extracellular LuxR transcriptional activator. Microbiology 141:541-550. 1995.

McGUIRE, R.G. & KELMAN, A. Reduced severity of *Erwinia* soft rot in potato tubers with increased calcium content. Phytopathology 74:1250-1256. 1984.

MELO, R.A.G., MARIANO, R.L.R., MICHEREFF, S.J., MENEZES, M. & COELHO, R.S.B. Controle biológico da podridão-mole do pimentão (*Capsicum annuum*) causada por *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. Summa Phytopathologica 21:206-212. 1995.

MENELEY, J.C. & STANGHELLINI, M.E. Isolation of soft-rot *Erwinia* spp. from agricultural soils using an enrichment technique. Phytopathology 66:367-370. 1976.

MERGAERT, J., VERDONCK, L. & KERSTERS, K. Transfer of *Erwinia ananas* (synonym *Erwinia uredovora*) and *Erwinia stewartii* to the genus *Pantoea* emend. as *Pantoea ananas* (Serrano, 1928) comb. nov. and *Pantoea stewartii* (Smith, 1898) comb. nov. respectively, and description of *Pantoea stewartii*. International Journal of Systematic Bacteriology 43:162-173. 1993.

MICHHEREFF, S.J. & MARIANO, R.L.R. Gênero *Erwinia* no Brasil. Summa Phytopathologica 19:137-144. 1993.

MILLER, S.A. & MARTIN, R.R. Molecular diagnosis of plant disease. Annual Review of Phytopathology 26:409-432. 1988.

MOLINA, J.J. & HARRISON, M.D. The role of *Erwinia carotovora* in the epidemiology of potato blackleg. I. Relationship of *E. carotovora* var. *carotovora* and *E. carotovora* var. *atroseptica* to potato blackleg in Colorado. American Potato Journal 54:587-591. 1977.

MOSS, C. W. Gas-liquid chromatography as an analytical tool in microbiology. *Journal of Chromatography* 201:337-347. 1981.

MURATA, H., FONS, M., CHATTERJEE, A., COLLMER, A. & CHATTERJEE, A.K. Characterization of transposon insertion Out- mutants of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* defective in enzyme export and of a DNA segment that complements out mutations in *E. carotovora* subsp. *carotovora*, *E. carotovora* subsp. *atroseptica*, *E. chrysanthemi*. *Journal of Bacteriology* 172:2970-2978. 1990.

NASSER, W., BOUILLAND, M.L., SALMOND, G.P.C. & REVERCHON, S. Characterization of the *Erwinia chrysanthemi* *expl-expR* locus directing the synthesis of two N-acyl-homoserine lactone signal molecules. *Molecular Microbiology* 29:1391-1405. 1998.

NGUYEN, H.A., KANEKO, J. & KAMIO, Y. Temperature-dependant production of carotovoricin Er and pectin lyase in phytopathogenic *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* Er. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 66:444-447. 2002.

NIELSEN, L.W. Accumulation of respiratory CO₂ around potato tubers in relation to bacterial soft rot. *American Potato Journal* 45:174-181. 1968.

OLIVEIRA, A.M.R., DUARTE, V., SILVEIRA, J.R.P. & MORAES, M.G. Incidence of pectolytic *Erwinia* associated with blackleg of potato in Rio Grande do Sul. *Fitopatologia Brasileira* 28:49-53. 2003.

OTAZU, V. & SECOR, G.A. Soft rot susceptibility of potatoes with high reducing sugar content. *Phytopathology* 71:290-295. 1981.

PARENTE, P.M.G. & MARQUES, A.S. Suscetibilidade a antibióticos in vitro de *Xanthomonas campestris* pv. *arracaciae* e *Erwinia carotovora* isolada de batata-baroa (*Arracacia xanthorrhiza*). *Fitopatologia Brasileira* 15:132. 1990 (Resumo).

PEREIRA, O.A.P. Doenças do milho. In: Kimati, H., Amorim, L., Bergamin Filho, A., Camargo, L.E.A. & Rezende, J.A.M. (Eds.) *Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. Vol. 2.. São Paulo. Agronômica Ceres. 1997. pp.538-555.

PÉROMBELOM, M.C.M. Potato blackleg: Epidemiology, host-pathogen interaction and control. *Netherland Journal of Plant Pathology* 98:135-146. 1992.

PÉROMBELOM, M.C.M. Potato diseases caused by soft rot *Erwinias*: overview of pathogenesis. *Plant Pathology* 51:1-12. 2002.

PÉROMBELOM, M.C.M. & VAN DER WOLF, J.M. Methods for the detection and quantification of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum*) on potatoes: a laboratory manual. 2. ed. Invergowrie. Scottish Crop Research Institute. 2002.

PÉROMBELON, M.C.M. & KELMAN, A. Blackleg and other potato diseases caused by soft rot erwinias: a proposal for a revision of the terminology. *Plant Disease* 71:283-285. 1987.

PÉROMBELON, M.C.M. & KELMAN, A. Ecology of the soft rot erwinias. *Annual Review of Phytopathology* 18:361-387. 1980.

PÉROMBELON, M.C.M. & LOWE, R. Studies on the initiation of bacterial soft rot in potato tubers. *Potato Research* 18:64-82. 1975.

PÉROMBELON, M.C.M. & SALMOND, G.P.C. Bacterial soft rots. In: Singh, V.S. & Kohmoto, K. (Eds.) *Pathogenesis and host specificity in plant diseases: hystopathological, biochemical, genetic and molecular bases*. New York. Elsevier Science. 1995. pp.1-20.

PÉROMBELON, M.C.M. Sites of contamination and numbers of *Erwinia carotovora* present in stored seed potato stocks in Scotland. *Annals of Applied Biology* 74:59-65. 1973.

PÉROMBELON, M.C.M., LUMB, V.M. & HYMAN, L.J. A rapid method to identify and quantify soft rot erwinias on potato seed tubers. *EPPO Bulletin* 17:25-35. 1987.

PESMARK, M., EXPERT, D. & NEILANDS, J.B. Isolation, characterization, and synthesis of chrysobactin, a compound with siderophore activity from *Erwinia chrysanthemii*. *Journal Biological Chemistry* 264:3187-3193. 1989.

PIERCE, L. & McCAIN, A. H. Selective medium for isolation of pectolytic *Erwinia* sp. *Plant Disease* 76:382-384. 1992.

RAID, R.N. Soft rot of Lettuce. In: Davis, R.M., Subbarao, K.V., Raid, R.N. & Kurtz, E.A. (Eds.). *Compendium of lettuce diseases*. Saint Paul. American Phytopathological Society Press. 1997. pp.30-31.

REN, J., PETZOLDT, R. & DICKSON, M. H. Genetics and population improvement resistance to bacterial soft rot chinese cabbage. *Euphytica* 117:197-207. 2001.

ROBBS, C.F. Taxonomia, bio-ecologia e principais representantes do gênero *Erwinia* no Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 6:304-305. 1981.

ROBBS, C.F. Moléstias bacterianas do tomateiro. *Boletim do Campo* 183:35-44. 1964.

ROMEIRO, R.S. Bactérias fitopatogênicas. Viçosa. Imprensa Universitária. 1995.

SAMSON, R., NGWIRA, N. & RIVERA, N. Biochemical and serological diversity of *Erwinia chrysanthemii*. In: Klement, Z. (Ed.) *Proceedings 7th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*. Budapest. Academiai Kiado. 1990. pp.895-900.

SAMSON, R., LEGENDRE, J.B., CHRISTEN, R., ACHOUAK, W. & GARDAN, L. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemii* (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 zea* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 55:1415-1427. 2005.

SCHAAD, N.W., JONES, J.B. & CHUN, W. (Eds.) Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3 ed. Saint Paul. American Phytopathological Society. 2001.

SEO, S.T., FURUYA, N., LIM, C.K., TAKANAMI, Y. & TSUCHIYA, K. Phenotypic and genetic characterization of *Erwinia carotovora* from mulberry (*Morus* spp.). Plant Pathology 52:140-146. 2003.

SEO, S.T., FURUYA, N., TAKESHITA, M. & TAKANAMI, Y. Differentiation de *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and *carotovora* by enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC)-PCR. Journal of the Faculty of Agriculture (Kyushu University) 47:1-6. 2002.

SEO, S.T., KOO, J.H., HUR, J.H. & LIM, C.K. Characterization of Korean *Erwinia carotovora* strains from potato and chinese cabbage. Plant Pathology Journal 20:283-288. 2004.

SEO, S.T. & TAKANAMI, Y. Characterization of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* strain on the basis of cellular fatty acid composition. Journal of the Faculty of Agriculture (Kyushu University) 46:251-256. 2002.

SILVA, A.M.F. Levantamento da intensidade da podridão-mole da alface e couve-chinesa nas regiões da mata e agreste do estado de Pernambuco e determinação do tamanho das amostras para avaliação da incidência da doença. (Dissertação de mestrado). Recife. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2005.

STANGHELLINI, M.E. & MENELEY, J.C. Identification of soft rot *Erwinia* associated with blackleg of potato in Arizona. Phytopathology 65:86-87. 1975.

TAKATSU, A. Distribuição de *Erwinias* pectolíticas no Brasil. In: Lopes, C.A. & Espinoza, N. Enfermedades bacterianas de la papa. Brasília. EMBRAPA-CNPq. 1993. pp.67-69.

TAKATSU, A. Preservação de bactérias fitopatogênicas pelo método de dessecação. Fitopatologia Brasileira 5:462. 1980 (Resumo).

TAKATSU, A., MELO, S.C.M. & GARCIA, E.S.O.B. Fruto de pimentão como meio parcialmente seletivo para isolamento de *Erwinia carotovora*. Fitopatologia Brasileira 6:550-551. 1981.

TOTH, I.K., AVROVA, A.O. & HYMAN, L.J. Rapid identification and differentiation of the soft rot *Erwinias* by 16s-23s intergenic transcribed spacer-PCR and restriction fragment length polymorphism analyses. Applied and Environmental Microbiology 67:4070-4076. 2001.

TOTH, I.K., KENNETH, S.B., HOLEVA, M.C. & BIRCH, P.R.J. Soft rot *Erwinias*: from genes to genomes. *Molecular Plant Pathology* 4:17-30. 2003.

WHITNEY, E.D. Diseases caused by bacteria and bacteriallike organisms. In: Whitney, E.D. & Duffus, J.E. *Compendium of beet diseases and insects*. St. Paul. American Phytopathological Society. 1986.

XU, G.W. & GROSS, D.C. Selection of fluorescent pseudomonads antagonistic to *Erwinia carotovora* and suppressive of potato seed piece decay. *Phytopathology* 76:414-422. 1986.

YAP, M.N., BARAK, J.D. & CHARKOWSKI, A.O. Genomic diversity of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and its correlation with virulence. *Applied and Environmental Microbiology* 70:3013-3023. 2004.