UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS CURSO DE AGRONOMIA

LETÍCIA DE ARAÚJO DIAS

REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE TOMATEIRO A DOIS ISOLADOS DE Xanthomonas spp. CAUSADORAS DA MANCHA BACTERIANA

LETÍCIA DE ARAÚJO DIAS

REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE TOMATEIRO A DOIS ISOLADOS DE Xanthomonas spp. CAUSADORAS DA MANCHA BACTERIANA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Nilvanira Donizete Tebaldi

LETÍCIA DE ARAÚJO DIAS

REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE TOMATEIRO A DOIS ISOLADOS DE Xanthomonas spp. CAUSADORAS DA MANCHA BACTERIANA

| Traba | alho d | e C | onclusão | de C | Curs | o apre | sent | ado |
|-------|--------|------|-----------|------|------|--------|-------|------|
| ao C | urso | de | Agronoi | mia, | da | Unive | ersid | lade |
| Fede | ral de | Ube | erlândia, | para | obte | enção | do g | grau |
| de Er | igenh | eiro | Agrônoi | mo. | | | | |

Aprovado pela Banca Examinadora em 18 de novembro de 2010.

Prof. Jonas Jäger Fernandes Membro da Banca Profa. Maria Amelia dos Santos Membro da Banca

Profa. Dra. Nilvanira Donizete Tebaldi Orientadora

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me conceder saúde e forças na conclusão de mais uma etapa em minha vida.

Aos meus pais e meu irmão, por estarem sempre ao meu lado, me apoiando e incentivando a crescer.

À Professora. Dra. Nilvanira Donizete Tebaldi, pela orientação, amizade, paciência e confiança a mim concedidos.

À empresa Hazera, pela concessão das sementes utilizadas no experimento.

À UFU, por disponibilizar material e espaço físico para condução dos ensaios.

A todos da turma 41^a Agronomia- UFU, pelos 5 anos inesquecíveis, em especial à Marcella Nunes de Freitas e Juliana Piassa, amigas sempre presentes.

E à todas outras pessoas que estiveram presentes, direta ou indiretamente, durante toda a minha graduação. Obrigada!

RESUMO

O tomateiro, pertencente à espécie Solanum lycopersicum, é cultivado em várias regiões do país e possui uma grande demanda de mercado. Ele é considerado a segunda hortaliça em importância econômica no mundo, e uma das culturas mais exigentes em cuidados fitossanitários, devido ao grande número de doenças que a acometem. Dentre as principais doenças estão aquelas causadas por bactérias fitopatogênicas, sendo que a manchabacteriana, causada por bactérias do gênero *Xanthomonas* spp., é uma das mais importantes do tomateiro no Brasil. A resistência genética é sem dúvida a melhor opção de controle, pois o controle químico além de aumentar o custo de produção é pouco eficiente. Entretanto, poucos genótipos com resistência a esta doença foram identificados. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a reação de diferentes genótipos de tomateiro mesa a dois isolados de Xanthomonas spp. causadoras da mancha bacteriana. Os 10 genótipos (4481, 0383, 7523, 1423, 1383, 5723, 1143, 9381, 3091 e 6023) foram inoculados com suspensão bacteriana, sendo utilizados os isolados UFU A35 e UFU B3 de Xanthomonas spp., originários de Araguari-MG e Vitória-ES, respectivamente. A severidade da doença foi avaliada visualmente, de acordo com escala diagramática. A primeira avaliação foi feita 6 dias após a inoculação da suspensão bacteriana e a partir daí, foram realizadas 6 avaliações, com intervalos de 3 dias. Ao final, foi calculado a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) para cada genótipo e isolado. Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste de médias (Scott-Knott 5%), com auxílio do software SISVAR®. Para o isolado UFU A35, o genótipo 4481 foi o que apresentou menor AACPD, enquanto que para o isolado UFU B3, não houve diferença significativa entre os genótipos para AACPD. O isolado UFU A35 foi mais virulento que o isolado UFU B3.

Palavras chave: Raças, doenças bacterianas e severidade da doença.

ABSTRACT

The tomato plants, belonging to the species Solanum lycopersicum is cultivated in many regions of Brazil and has a great market demand. He is considered the second greenery in economic importance in the world, and one of the most demanding crops in phytosanitary care, due to the large number of diseases that attack. Among major diseases are those caused by phytopathogenic bacterias, and bacterial spot, caused by bacteria of the genus Xanthomonas spp. is one of the most important in Brazil. The genetic resistance is undoubtedly the best tracking option, because the chemical control increasing the cost of production and is inefficient. However, few genotypes with resistance to this disease have been identified. With this, the mean of this work was to evaluate different genotypes bacterial-spot resistant. The 10 genotypes (4481, 0383, 7523, 1423, 1383, 5723, 1143, 9381, 3091 e 6023) were inoculated with bacterial suspension, being used two isolates UFU A35 e UFU B3 of Xanthomonas spp. The disease severity was evaluated visually, according to the diagrammatic scale. The first evaluation was done 6 days after inoculation of bacteria, and from there, more 5 reviews were carried out at intervals of 3 days. In the end, was calculated area under the curve of progress of the disease (AUCPD), for each genotype and isolated. The results were subjected to analysis of variance and test medium (Scott-Knott 5%), using SISVAR ® software. To isolate UFU A35, the genotype 4481 showed the lowest AUCPD, while for isolate UFU B3, there was no difference between the genotypes for AUCPD. The isolate UFU A35 was more virulent than the isolate UFU B3.

Key words: Races, bacterial diseases and disease severity.

SUMÁRIO

| 1 INTRODUÇÃO | 7 |
|---|----|
| 2 REVISÃO DE LITERATURA | 9 |
| 2.1 A espécie vegetal estudada | 9 |
| 2.2 Importância econômica da cultura | 9 |
| 2.3 Doenças bacterianas | 10 |
| 2.4 Gênero Xanthomonas | 10 |
| 2.5 Etiologia do Patógeno | 11 |
| 2.6 Mancha bacteriana | 12 |
| 2.7 Resistência genética no controle da mancha bacteriana | 13 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS | 15 |
| 3.1 Obtenção do inóculo | 15 |
| 3.2 Genótipos de tomateiro | 15 |
| 3.3 Inoculação das bactérias | 15 |
| 3.4 Avaliação da reação de tomateiros a <i>Xanthomonas</i> spp. | 16 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 18 |
| 4.1 Avaliação de genótipos de tomateiro a Xanthomonas spp. | 18 |
| 5 CONCLUSÕES | 20 |
| REFERÊNCIAS | 21 |

1 INTRODUÇÃO

O tomateiro é uma das culturas olerícolas de maior importância econômica no Brasil. Planta de origem Andina, denominado de *Lycopersicon esculentum* Mill, mas reclassificado e agrupado na espécie *Solanum lycopersicum* (PERALTA et al., 2006). É uma solanácea herbácea de caule flexível, e em nossas condições comporta-se como uma cultura anual, podendo em condições ideais tornar-se semiperene (KIMATI et al., 1997). Devido à sua grande multiplicidade de uso, ao seu aspecto, sabor e textura atraentes, o tomate é uma das hortaliças mais consumida no mundo (SCHUCH et al., 1991).

A tomaticultura é o principal destaque do setor de hortaliças, movimentando uma cifra anual superior a R\$ 2 bilhões (cerca de 16% do PIB gerados pela produção de hortaliças no Brasil), de acordo com pesquisa da ABCSEM, 2008.

No Brasil, a cultura do tomate ocupa uma área de aproximadamente 65,7 mil ha, com uma produção média de 4,2 milhões de toneladas. Deste total, 18,2 mil ha se encontram no estado de Goiás, maior produtor nacional de tomate, que em 2009 foi responsável por uma produção superior a 1,4 milhões de toneladas do fruto (VILELA, 2009).

Cerca de 65% do total da produção de tomate no Brasil são cultivados para o consumo in natura e 35% produzidos pelas indústrias de processamento e ofertados ao mercado em forma de extrato de tomate, molhos prontos e pré preparados, catchups, etc. Assim, o atual consumo per capita do tomate está em torno 18 kg/ano, o que representa um incremento de consumo acima de 35% nos últimos 10 anos (AGRIANUAL, 2008).

Muitas doenças têm sido relatadas atacando o tomateiro, causando grande redução da produtividade e da qualidade do produto. O conhecimento da etiologia, da sintomatologia e dos métodos gerais de controle permite a identificação precoce e o tratamento preventivo das doenças (EMBRAPA HORTALIÇAS, 2003).

Atualmente, a mancha bacteriana é considerada uma das doenças bacterianas mais difundidas no país, sendo encontrada em praticamente todas as regiões produtoras de tomate. O controle químico para essa bacteriose, com a aplicação de antibióticos e fungicidas, tem sido pesquisado, entretanto, devido ao rápido aumento da quantidade de inóculo e fácil disseminação do patógeno, em muitos casos, não tem sido eficiente (ARAÚJO et al., 2003; MARINGONI et al., 1986). Nesse contexto, a resistência genética constitui uma alternativa para o manejo integrado dessa doença (HAMMOND-KOSACK; PARKER, 2003).

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a reação de diferentes genótipos de tomateiro mesa a dois isolados de *Xanthomonas* spp. causadoras da mancha bacteriana.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A espécie vegetal estudada

O tomate cultivado pertence à família das Solanáceas e à espécie *Solanum lycopersicum*, sin.: *Lycopersicon esculentum*, Mill. Teve origem nas Cordilheiras dos Andes, pequeno território entre o Sul do Equador e o norte do Chile. Foi introduzido na Europa pela Espanha, entre 1523 e 1554, onde era cultivado inicialmente como planta ornamental, pois acreditavam que era uma planta tóxica. Sua introdução no Brasil se deu no final do século XIX, através de imigrantes europeus (BORTOLOSSI, 2010).

O tomateiro é uma planta herbácea, de caule flexível e incapaz de suportar o peso de seus frutos. É considerada uma planta perene, porém a cultura é anual: seu ciclo varia de 4 a 7 meses, da semeadura até a produção de novas sementes, incluindo a colheita. Adapta-se melhor em climas tropicais de altitudes superiores a 1000 m, mas também se desenvolve em climas subtropicais ou temperados, seco e com luminosidade elevada. O clima tropical úmido é um problema para a tomaticultura, devido à alta incidência de doenças associadas a altas temperaturas e umidade (BORTOLOSSI, 2010).

2.2 Importância econômica da cultura

O tomateiro é uma das hortaliças de maior importância econômica no mundo, sendo uma das culturas mais exigentes em cuidados fitossanitários, devido ao grande número de doenças que a acometem e pela elevada capacidade destrutiva e difícil controle dos patógenos (RAMALHO, 2007).

O Brasil apresenta uma grande diversidade de área de plantio de tomate. O último levantamento sobre área cultivada no país, realizado em 2008, apontou um total de 55 mil hectares, sendo que desse total, 31% ou 17 mil hectares são destinados para o segmento de processamento. Os estados de Goiás (62%), São Paulo (20%) e Minas Gerais (16%) destacam-se no setor de tomates para indústria. As regiões produtoras de tomate de mesa no Brasil estão inseridas normalmente em regiões de planalto e chapada, aproveitando o máximo

da amplitude térmica que esses ambientes oferecem ao longo do ciclo da cultura. No Sudeste, temos 57% dessa área de tomate *in natura*, com SP e MG representando 43%. Já o Sul do Brasil ocupa 19% da superfície, com 9% no PR, 6% em SC e 4% no RS. Este levantamento ressalta ainda que do total da área cultivada de tomate de mesa no Brasil, 38 mil hectares, o segmento salada indeterminado e determinado é o de maior importância econômica e social com uma área de 19 mil hectares (ABCSEM, 2008).

2.3 Doenças bacterianas

A cultura do tomateiro está sujeita as várias doenças que podem limitar sua produção. Várias destas doenças só podem ser controladas eficientemente quando se adota um programa de manejo integrado adequado, envolvendo o uso de variedades resistentes e a adoção de medidas de exclusão, erradicação e proteção (KIMATI et al., 1997).

Dentre as principais doenças, aquelas causadas por bactérias fitopatogênicas assumem especial importância na cultura do tomateiro, na qual podem se tornar limitantes à produção. Em nosso país já foram registradas infectando naturalmente o tomateiro, as bactérias Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis, Pectobacterium carotovorum subsp. atroseptica e carotovorum (Erwinia carotovora subspp. atroseptica e carotovora), Dickeya chrysanthemi (E. chrysanthemi), Pseudomonas corrugata, P. marginalis pv. marginalis, P. syringae pv. tomato e Ralstonia solanacearum (MARQUES et al., 1994).

A mancha-bacteriana, causada por bactérias do gênero *Xanthomonas* spp. (Dowson), é uma das doenças mais importantes do tomateiro no Brasil, com ocorrência frequente em áreas irrigadas por aspersão tradicional ou por pivô-central, independentes do estádio da cultura (BARBOSA, 1996).

2.4 Gênero Xanthomonas

O gênero foi proposto por Dowson em 1939, sendo composto por bactérias Gramnegativas, móveis, com único flagelo polar ou raramente com dois flagelos, não produtoras de esporos, formando colônias com forma arredondada em meio adequado (ELROD; BRAUN,

1947). As bactérias pertencentes ao gênero *Xanthomonas* constituem um dos grupos de fitopatógenos mais prevalentes na natureza, com capacidade de infectar aproximadamente 390 espécies botânicas, sendo 120 monocotiledôneas e 270 dicotiledôneas (LEYNS et al., 1984). A capacidade de causar danos em uma grande variedade de plantas torna o estudo do gênero de grande interesse para a pesquisa básica, bem como para a aplicada, pois a produtividade de diferentes culturas de interesse agronômico pode ser afetada por patógenos pertencentes a este grupo (LEITE JR., 1990).

2.5 Etiologia do Patógeno

As bactérias causadoras da mancha bacteriana, tanto em pimentão quanto em tomate, possuem uma variabilidade genética muito grande. Esta variabilidade do patógeno começou a ser mais bem esclarecida quando se observou que os isolados provenientes de tomate hidrolisavam amido e os de pimentão não (BURKHOLDER; LI, 1941). Posteriormente, Dye (1966) confirmou que isolados oriundos de pimentão hidrolisavam amido mais fracamente que aqueles de tomate. Logo, estabeleceram-se dois diferentes grupos causadores da mancha bacteriana (VAUTERIN et al., 2000): Xanthomonas axonopodis pv. vesicatoria (sem atividade amidolítica) e X. vesicatoria (amidolítico positivo). Estudos incluindo testes de patogenicidade, bioquímicos, atividade enzimáticas, marcadores genéticos, hibridização DNA-DNA e comparação de seqüências de RNA, concluíram que dentro do grupo das Xanthomonas patogênicas ao tomate e pimentão existem quatro grupos fenotípicos distintos, que foram classificados como três espécies distintas: X. axonopodis pv. vesicatoria (grupos A e C), X. vesicatoria (grupo B) e X. gardneri (grupo D) (JONES et al., 2000). Jones et al. (2004) propuseram uma reclassificação do grupo, onde X. axonopodis pv. vesicatoria foi denominada como Xanthomonas euvesicatoria (grupo A) e foi incluído no grupo, além das três espécies já existentes, o táxon X. perforans (grupo C) entre os agentes causadores da mancha bacteriana. Além disso, isolados de cada espécie podem ser caracterizados quanto a raças, de acordo com o comportamento de causar ou não reação de hipersensibilidade, em variedades diferenciais de tomate e pimentão (STALL et al., 2009).

Isolados da raça T1 tem sido agrupados no grupo fenotípico "A", da raça T2 no grupo "B" ou no grupo "D" e da raça 3 no grupo "C" (QUEZADO-DUVAL; CAMARGO, 2004). Sendo portanto, a composição espécie, grupo e raça como: *X. euvesicatoria* (grupo A, raça

T1), *X. vesicatoria* (grupo B, raça T2), *X. perforans* (grupo C, raças T3, T4 e T5) e *X. gardneri* (grupo D, raça T2) (LOPES; QUEZADO-DUVAL, 2007).

2.6 Mancha bacteriana

A mancha bacteriana foi primeiramente observada em plantas de tomate na África do Sul em 1914. No Brasil, a doença foi relatada primeiramente por Batista em 1947, na região Nordeste, causando prejuízos em mudas e plantações de pimentão, e um pouco mais tarde, no estado do Rio de Janeiro (ROBBS, 1953).

A doença apresenta uma gama de hospedeira bastante diversificada dentro da família botânica Solanaceae. Espécies como *Capsicum frutescens*, *Lycopersicon pimpinellifolium*, *Datura stramonium*, *Hyoscyamus niger*, *H. aureus*, *Lycium chinense*, *L. halimifolium*, *Nicotiana rustica*, *Physalis minima*, *Solanum dulcamara*, *S. nigrum*, *S. rostratum*, *S. tuberosum*, *S. melongena* e *Nicandra physaloides*, já foram verificadas como espécies hospedeiras naturais da bactéria ou a partir de inoculações artificiais (DYE et al., 1964; LAUB; STALL, 1967; JONES; STALL, 1998).

Os sintomas da mancha-bacteriana ocorrem em toda parte aérea da planta, podendo aparecer em qualquer estádio da cultura (GITAITIS et al., 1992). Nas folhas os primeiros sintomas aparecem na forma de pequenas áreas encharcadas de formato irregular, porém com bordos definidos, que se tornam deprimidas passando de uma coloração amarelada ou verdeclara para marrom-escura até a necrose dos tecidos (GOODE; SASSER, 1980). Nas peças florais, usualmente, o ataque resulta em sérios declínios de florescimento. Já em frutos verdes, aparecem manchas levemente elevadas, que comumente têm halos branco-esverdeados, e alargam-se entre 3 a 6 mm de diâmetro (HIGGINS, 1922; KUROZAWA; PAVAN, 1997; LOPES; QUEZADO-DUVAL, 2005).

Diferentemente do que ocorre em plantas de pimentão, no tomateiro, a mancha bacteriana não leva à queda das folhas. Com o coalescimento das lesões foliares, ocorre a secagem e a destruição da folhagem a partir da parte inferior da planta, favorecendo o aparecimento nos frutos com sintomas de queima de sol (LOPES; QUEZADO-SOARES, 1997).

A bactéria não sobrevive no solo por longos períodos, entretanto, pode sobreviver em restos culturais ou epifitamente na superfície foliar do tomateiro ou demais hospedeiras

(RODRIGUES NETO, 2000). A doença é favorecida por temperaturas entre 22,5 e 27,5°C e alta umidade relativa (MORTON, 1965). As fitobactérias têm capacidade de multiplicarem-se à custa de exsudados do hospedeiro sem infectá-lo, e assim incrementar a quantidade de inóculo até o suficiente para o surgimento de uma epidemia, como no caso de *Xanthomonas vesicatoria* em tomate (LEBEN, 1963). A bactéria penetra na planta através dos estômatos ou através de ferimentos provocados por equipamentos ou tratos culturais como amarrio e desbrota (VAKILI, 1967). A doença é disseminada por respingos de água a curta distância (ROMEIRO, 1995), por mudas (LEBEN, 1963), ou sementes infectadas a longa distância (LOPES; QUEZADO-SOARES, 1997).

2.7 Resistência genética no controle da mancha bacteriana

O controle da doença no campo é difícil devido à baixa eficácia dos produtos químicos e a predominância de isolados resistentes a sulfato de estreptomicina e produtos a base de cobre (GORE; GARRO, 1999). O controle da doença depende da combinação de práticas culturais, incluindo o uso de sementes e plântulas livres do patógeno, limpeza da área, rotação de cultura, tratamento químico e uso de cultivares resistente.

As perdas devido a esta doença são resultantes da redução da produção em decorrência direta dos sintomas e dos custos dos produtos químicos utilizados em seu controle, geralmente fungicidas cúpricos e antibióticos agrícolas (GOODE; SASSER, 1980). Dentre os antibióticos mais usados, estão a estreptomicina e o oxitetraciclina (LOPES; QUEZADO-SOARES, 1997). No entanto, vários relatos demonstram a baixa eficácia da estreptomicina e dos produtos cúpricos, tanto em lavouras de tomate (GOODE; SASSER, 1980; MARINGONI et al., 1986), como de pimentão (MARCO; STALL, 1983; CARMO et al., 2001). Percebe-se então que, além de aumentar o custo de produção, o controle químico é pouco eficiente. O aparecimento de indivíduos resistentes nas populações bacterianas é apontado como a principal causa dessa ineficiência (GOODE; SASSER, 1980; MARINGONI et al., 1986; QUEZADO-SOARES; LOPES, 1999).

A resistência genética é uma alternativa mais apropriada para o controle da mancha bacteriana e também a que causa menor impacto ao meio ambiente. No entanto, a grande diversidade genética da agente causal da mancha bacteriana é o principal problema do

desenvolvimento de variedades de tomate com resistência durável (QUEZADO-DUVAL; CAMARGO, 2004).

A resistência genética é sem dúvida a melhor opção de controle. Entretanto, poucos genótipos com resistência a esta doença foram identificados (SCOTT; JONES, 1989, WHALEN et al., 1993; WANG et al., 1994). Apesar de alguns genótipos terem sido identificados como resistentes por apresentarem uma reação de hipersensibilidade às raças T1 e T3 do patógeno (SCOTT; JONES, 1986; JONES et al., 2004), ainda não existem variedades disponíveis no mercado com resistência à mancha-bacteriana. Resistência parcial e não-específica, no entanto, tem sido identificada (LATERROT, 1997; QUEZADO-SOARES et al., 1998; SCOTT; JONES, 1986; SCOTT et al., 1997).

Para o sucesso de um programa de melhoramento é necessário conhecer o tipo de herança, visando à escolha do método mais adequado a ser aplicado no desenvolvimento de novas cultivares (SILVA-LOBO et al., 2005). Formas de resistência quantitativa e hipersensibilidade a *Xanthomonas* spp. causadora da mancha bacteriana ocorrem tanto em tomate quanto em pimentão (STALL et al., 2009). Resistência à raça T1 foi descrita em genótipos diferenciais de tomateiro "Hawaii 7998", o qual apresentou reação de hipersensibilidade. A raça T1 é portadora do gene *avrRxv*, que interage com pelo menos três genes não dominantes (*rx1*, *rx2* e *rx3*) do genótipo "Hawaii 7998". Para a raça T2, um estudo usando "PI 114490" como fonte de resistência concluiu que o controle genético da resistência é conferido por um mínimo de dois genes. Resistência à raça T3 foi observada em "Hawaii 7981". Neste caso a resistência é controlada por um gene de dominância incompleta *Xv3* que confere reação de hipersensibilidade (SOUZA et al., 2008). Isolados da raça T3 são portadores dos genes de avirulência *avrXv3* e *avrXv4* e interagem com o gene de resistência *Xv3* e *Xv4* (QUEZADO DUVAL, 2004).

Stall et al. (2009) relataram que resistência quantitativa ou multigênica parece ser mais durável que a resistência por hipersensibilidade, ressaltando que a durabilidade de um gene de resistência baseada em reação de hipersensibilidade na planta, depende da estabilidade do gene *avr* no patógeno. O desenvolvimento de variedades com a resistência tem sido difícil devido à emergência de novas espécies e raças, à falta de uma correlação entre uma resposta de hipersensibilidade e resistência no campo, e à herança quantitativa da resistência (YANG et al., 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção do inóculo

Os isolados UFU A35 e UFU B3 de *Xanthomonas*. spp., originários de Araguari- MG e Vitória-ES, respectivamente, e pertencentes à coleção de trabalho da área de Fitobacteriologia do ICIAG/UFU, foram utilizados na inoculação dos diferentes genótipos de tomateiro. As bactérias foram cultivadas em meio 523 de Kado e Heskett (1970) e antes de serem inoculadas às plantas, foram submetidas à um teste de hipersensibilidade para atestar sua patogenicidade.

3.2 Genótipos de tomateiro

Os dez genótipos de tomateiro de mesa testados pertencem à empresa Hazera Brasil, sendo eles: 3091, 6023, 0383, 4481, 1143, 1423, 1383, 7523, 5723 e 9381.

3.3 Inoculação das bactérias

Os genótipos de tomate foram cultivados em vasos de 500 mL, contendo substrato composto de areia, solo, húmus e vermiculita, sendo que em cada vaso havia duas plantas. Após 30 dias da semeadura, as plantas (3 a 4 folhas) foram inoculadas via pulverização foliar, com uma suspensão bacteriana ajustada em espectrofotômetro para DO₅₅₀=0,5, correspondendo a aproximadamente 1x10⁹ UFC/mL (MARCUZZO et al., 2009), até o ponto de escorrimento.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizado, em esquema fatorial 10 x 2 (10 genótipos, 2 isolados), com 4 repetições, onde cada genótipo foi inoculado, separadamente, com os dois isolados (UFU A35 e UFU B3). Sendo a unidade experimental composta por 1 vaso com 2 plantas.

As plantas foram mantidas em câmara úmida 24 h antes e após a inoculação, com o objetivo de criar um ambiente com condições ideais para a penetração e estabelecimento do inóculo.

3.4 Avaliação da reação de tomateiros a Xanthomonas spp.

As plantas foram avaliadas aos 6, 9, 12, 15, 18 e 21 dias após a inoculação. A severidade da doença foi quantificada por meio de análise visual empregando-se a escala diagramática descrita por Mello et al. (1997) (Figura 1), sendo que esta considera cinco níveis de severidade: 1, 5, 15, 25 e 50 %.

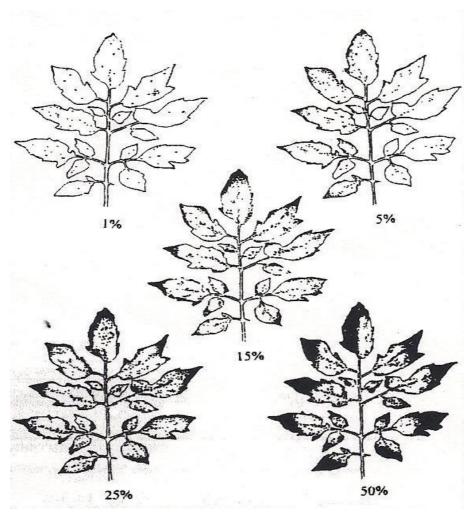


Figura 1. Escala diagramática para avaliação da porcentagem da área foliar infectada por *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* em tomateiro, em condições de campo.

A Área Abaixo da Curva de Progresso de Doença (AACPD) foi calculada pela fórmula: $AACPD = \sum ((Y_i + Y_{i+1})/2)(t_{i+1} - t_i)$, onde:

Y: representa a intensidade da doença (nota atribuída de acordo com a escala diagramática usada, onde 1= 1%, 2=5%, 3=15%, 4=25% e 5=50%);

t: o tempo (intervalo entre as avaliações, em dias);

i: o número de avaliações no tempo (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de médias (Scott-Knott 5%), com auxílio do software SISVAR® (FERREIRA, 2008). Os dados para análise estatística foram transformados em $\sqrt{(x+0.5)}$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação de genótipos de tomateiro a Xanthomonas spp.

Os resultados da análise dos diferentes genótipos a mancha bacteriana estão apresentados na Tabela 1. O genótipo 4481 demonstrou menor susceptibilidade ao isolado UFU A35, diferindo estatísticamente dos demais, os quais desenvolveram a doença em um grau de severidade maior, apresentando uma maior AACPD, porém não diferindo estatisticamente entre si.

Para o isolado UFU B3, o mesmo não foi observado. Neste caso, todos os genótipos apresentaram menor susceptibilidade ao patógeno, onde os valores das AACPD foram relativamente baixos e estatisticamente iguais entre si, demonstrando a baixa virulência do patógeno.

Para Crute e Pink (1996) a eficiência e a durabilidade da resistência dependem, entre outros fatores, da variabilidade genética do patógeno. Variações em patogenicidade expressas em termos de raças fisiológicas ocorrem em diversos patógenos, evoluindo freqüentemente nas populações em resposta à introdução de genes de resistência dominantes de efeito qualitativo.

Algumas das interações observadas entre as espécies de *Xanthomonas* associadas à mancha bacteriana e as hospedeiras *Lycopersicon* seguem o modelo gene-a-gene proposto por Flor na década de 1940 (ASTUA-MONGE et al., 2000; ROMERO et al., 2002). Neste modelo, genes de avirulência (*avr*) do patógeno interagem com genes de resistência do hospedeiro, resultando em uma reação de incompatibilidade, ou seja, de resistência (LEACH; WHITE, 1996).

O isolado UFU A35 apresentou maior virulência quando comparado ao isolado UFU B3, diferindo estatisticamente entre si.

Tabela 1. Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) para 10 genótipos de tomateiro submetidos à inoculação com dois isolados de *Xanthomonas* spp. Uberlândia, UFU, novembro de 2010.

| | Médias de AACPD* | | | | |
|-----------|------------------|-----------|--|--|--|
| Genótipos | ISOLADOS | | | | |
| | UFU A35 | UFU B3 | | | |
| 4481 | 8,00 a A | 4,25 a A | | | |
| 0383 | 19,50 b A | 10,25 a A | | | |
| 7523 | 23,50 b A | 4,25 a B | | | |
| 1423 | 25,50 b A | 6,25 a B | | | |
| 1383 | 25,50 b A | 13,75 a A | | | |
| 5723 | 27,75 b A | 11,00 a B | | | |
| 1143 | 28,50 b A | 14,25 a A | | | |
| 9381 | 34,50 b A | 4,50 a B | | | |
| 3091 | 34,50 b A | 13,13 a B | | | |
| 6023 | 40,00 b A | 12,25 a B | | | |
| MÉDIA | 26,73 A | 9,65 B | | | |

C.V.: 33.51%

A variação na virulência entre os isolados de *Xanthomonas* spp. pode ser justificada pela origem geográfica destes patógenos, sendo que o isolado UFU A35 é original de Araguari-MG, enquanto que o isolado UFU B3 de Vitória-ES. Esta associação entre procedência dos isolados e a virulência é constantemente citada por diversos autores. Segundo Rava e Romeiro (1990) e Bianchini et al. (1997), isolados provenientes de regiões tropicais geralmente são mais virulentos do que os provenientes de zonas temperadas, e Navarrete-Maya et al. (1996) afirmam que a variação de *Xanthomonas* spp. quanto à virulência dificulta o desenvolvimento de variedades resistentes de ampla adaptação, já que podem perder sua tolerância quando cultivadas em locais distintos de onde foram selecionadas.

O conhecimento na virulência da diversidade patogênica das populações bacterianas é de extrema importância para direcionar os programas de melhoramento e utilização de genes de resistência (QUEZADO-DUVAL; CAMARGO, 2004)

^{*}Letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott 5%.

5 CONCLUSÕES

- Para o isolado UFU A35, o genótipo 4481 foi o que apresentou menor severidade à doença;
- Não houve diferença significativa entre os genótipos em relação à área abaixo da curva de progresso da doença quando utilizou-se o isolado UFU B3;
- O isolado UFU A35 foi mais virulento que o isolado UFU B3, proveniente de Araguari-MG e Vitória-ES, respectivamente.

REFERÊNCIAS

ABCSEM. **Pesquisa da Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas.** 2008. Disponível em: <www.abcsem.com.br>. Acesso em 21/11/2010.

AGRIANUAL. **Anuário da agricultura brasileira**. 2008. Disponível em: http://www.raquelkussama.com.br/?p=511>. Acesso em 22/11/2010.

ARAÚJO, J.S.P.; ROBBS, C.F.; RIBEIRO, R.L.D. Manejo integrado de fitobacterioses de importância econômica no Brasil. Parte 1. **Revisão Anual de Patologia de Plantas,** Passo Fundo, 2003, v. 11, p.107-131.

ASTUA-MONGE, G.; MINSAVAGE, G.V.; STALL, R.E.; DAVIS, M.J.; BONAS, U.; JONES, J.B. Resistance of tomato and pepper to T3 strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* is specified by a plant-inducible avirulence gene. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St Paul, v.13, n.9, p.911-921, 2000.

BARBOSA, V. The processing tomato growing system under tropical and subtropical conditions – the Brazilian experience. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE PROCESSING TOMATO, 1., Recife, 1996. **Proceedings...** Recife: IPA/ASHS, 1997. p.94-97.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (ed.). **Manual de fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas. 3.ed. São Paulo: Ceres, 1997. v. 2, p.376-399.

BORTOLOSSI, J.L. **Cultivo do tomate.** 1ª Parte. Disponível em: < http://www.fag.edu.br/professores/jlbortolossi/OLERICULTURA>. Acesso em 06/11/2010.

BURKHOLDER, W.H.; LI, C.C. Variation in *Phytomonas vesicatoria*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.31, p.753-755, 1941.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: Jonh Wiley, 1990. 532 p.

CARMO, M.G.F.; MACAGNAN, D.; CARVALHO, A.O. Progresso da mancha-bacteriana do pimentão a partir de diferentes níveis iniciais de inóculo e do emprego ou não do controle com oxicloreto de cobre. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 19, n. 3, p. 342-347, 2001.

CRUTE, I.A.; PINK, A.C. Genetics and utilization of pathogen resistance in plants. **The Plant Cell**, Rockville, v.8, n.10, p.1747-1755, 1996.

DYE, D.W.; STARR, M.P.; STOLP, H. Taxonomic clarification of *Xanthomonas vesicatoria* based upon host specificity, bacteriophage sensitivity, and cultural characteristics. **Phytopathology**, Saint Paul, v.51, p.394-407, 1964.

DYE, D.W. Cultural and biochemical reaction of additional Xanthomonas species. New

Zealand Journal of Science, Wellington, v.9, p. 913-919, 1966.

ELROD, R.P.; BRAUN, A.C. Serological studies of the genus *Xanthomonas*. I-cross-agglutination relationships. **Journal of Bacteriology**, Baltimore, v.53, p. 509-518. 1947.

EMBRAPA HORTALIÇAS. **Sistemas de Produção, 1.** Versão Eletrônica, 2003. Disponível em

http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial/doenc as.htm>. Acesso em 22/11/2010.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v. 6, p. 36-41, 2008.

GAYET, J.P.; BLEINROTH, E. W.; MATALLO, M.; GARCIA, E. E. C.; GARCIA, A. E.; ARDITO, E. F. G.; BORDIN, M. R. **Tomate para exportação:** procedimentos de colheita e pós-colheita. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1995. 34 p. (Série Publicações Técnicas FRUPEX: 13).

GITAITIS, R.; McCARTER, S.; JONES, J.B. Disease control in tomato transplants produced in Georgia and Florida. **Plant Disease**, Saint Paul, v.76, n.7, p.651-656, 1992.

GOODE, M.J.; SASSER, M. Prevention- the key to controlling bacterial spot and bacterial speck of tomato. **Plant Disease**, Saint Paul, v.64, n.9, p.831-834, 1980.

GORE, J.P.; O'GARRO, L.W. *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from bell pepper and tomato in Barbados undergoes changes in race structure, virulence and sensitivity to chemical control agents. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.147, p. 397-402, 1999

HAMMOND-KOSACK, K.E., PARKER, J.E. Deciphering plant-pathogen communication: fresh perspectives for molecular resistance breeding. **Current Opinion in Biotechnology**, Philadelphia, v.14, p.177-193, 2003.

HIGGINS, B.B. The bacterial spot of pepper. **Phytopathology**, Saint Paul, v.12, p.501-516, 1922.

JONES, J.B.; BOUZAR, H.; STALL, R.E.; ALMIRA, E.C.; ROBERTS, P.D.; BOWEN, B.W; SUDBERRY, J.; STRICKLER, P.M.; CHUN, J. Systematic analysis of Xanthomonads *Xanthomonas* ssp.) associated with pepper and tomato lesions. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 50, p.1211-1219, 2000.

JONES, J.B., LACY, G.H; BOUZAR, H., STALL, R.E., SCHAAD, N.W. Reclassification of the *Xanthomonas* associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v.27, p.755–762, 2004.

JONES, J.B; STALL, R.E. Diversity among Xanthomonas pathogenics on pepper and tomato. **Annual Review of Phytopathology,** Palo Alto, v. 36, p. 41-58, 1998. KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia, Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.60, n.6, p.969-979, 1970.

- KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. 774p.
- KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A. Doenças do Tomateiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A; CAMARGO, L. E. E.; REZENDE, J. A. M. (ed.). **Manual de Fitopatologia.** São Paulo: Ceres, 1997, v.2, p. 614-615.
- LATERROT, H. Breeding strategies for disease resistance in tomatoes with emphasis on the topics: current status and research challenges. In INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE PROCESSING TOMATO, 1., Recife, 1996. **Proceedings...** Recife: IPA/ASHS, 1997. p.126-132.
- LAUB, C.A.; STALL, R.E. An evaluation of *Solanum nigru*m and *Physalis minima* as suscepts of *Xanthomonas vesicatoria*. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 51, p. 659-661, 1967.
- LEACH, J.E.; WHITE, F.F. Bacterial avirulence genes. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.34, p.153-179, 1996.
- LEBEN, C. Multiplication of *Xanthomonas vesicatoria* on tomato seedlings. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 53, p.778-781, 1963.
- LEITE JR, R.P. Cancro Cítrico: Prevenção e Controle no Paraná. **IAPAR Circular**, Londrina, v. 61, p. 51, 1990.
- LEYNS, F.; DE CLEENE, M.; SWINGS, J.G.; DE LEY, J. The host range of the genus *Xanthomonas*. **Botanical Review**, New York, v. 50, p:308-356. 1984.
- LOPES, C.A.; QUEZADO-DUVAL, A. M. Doenças bacterianas. In: LOPES, C. A.; ÀVILA, A. C.(ed.). **Doenças do Tomateiro.** Brasília: EMBRAPA-CNPH, 2005, p.62-64.
- LOPES, C.A.; QUEZADO-DUVAL, A. M. Epidemiologia e controle das bactérias das hortaliças. In: ZAMBOLIM, L., LOPES, C. A., PICANÇO, M. C., COSTA, H. (ed.). **Manejo integrado de doenças e pragas**: hortaliças. Viçosa: UFU/DFP, 2007. p. 115-162.
- LOPES, C.A.; QUEZADO-SOARES, A.M. **Doenças bacterianas das hortaliças** diagnose e controle. Brasília: EMBRAPA-CNPH, 1997. 70 p.
- MARCO, G.M.; STALL, R.E. Control of bacterial spot of pepper initiated by strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* that differ in sensitivity to copper. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 67, n.7, p. 779-781, 1983.
- MARINGONI, A.C.; KUROZAWA, C.; BARBOSA, V.; SILVA NETO, J.C. Controle químico da mancha-bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye) do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill). **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.12, n.1/2, p. 92-101, 1986.

- MARCUZZO, L.L.; BECKER, W.F.; FERNANDES, J.M.C. Alguns aspectos epidemiológicos da mancha bacteriana (*Xanthomonas* spp.) do tomateiro na região de Caçador/SC. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.35, n.2, p.132-135, 2009.
- MARQUES, A.S.S.; ROBBS, C.F.; BOITEUX, L.S.; PARENTE, P.M.G. **Índice de fitobacterioses assinaladas no Brasil.** Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 65 p.
- MELLO, S.C.; TAKATSU, A.; LOPES, C.A. Escala diagramática para avaliação da manchabacteriana do tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.22, n.3, p.447-448, 1997.
- MORTON, D.J. Comparison of three serological procedures for identifying *Xanthomonas vesicatoria* in pepper leaves. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 55, p. 421-424, 1965.
- NAVARRETE-MAYA, R.; ACOSTA-GALLEGOS, J.A.; ESPINOSA, R.G. Pathogenic variability of strains of *Xanthomonas campestris* pv. phaseoli in different regions in Mexico. In: TALLER INTERNACIONAL SOBRE BACTERIOSIS COMUN DEL FRIJOL, 1., 1996. San Juan, **Anais...**, Cali: Ciat, 1996. p.39-44.
- PERALTA, I. E.; KNAPP, S.; SPOONER, D.M. Nomenclature for wild and cultivated tomatoes. **Report on Tomato Genetics Cooperative**, Ithaca, v. 56, p.6-12, 2006.
- QUEZADO-DUVAL, A.M.; CAMARGO, L.E.A. Raças de *Xanthomonas* spp. associadas à mancha-bacteriana em tomate para processamento industrial no Brasil. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v.22, p.80–86, 2004.
- QUEZADO-SOARES, A.M.; LOPES, C.A. Controle químico da mancha-bacteriana em tomateiro para processamento industrial. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.25, n.1, p.21, 1999.
- QUEZADO-SOARES, A.M.; SILVA, V.L.; GIORDANO, L. de B.; LOPES, C.A. Redução na produtividade do tomateiro para processamento industrial devido à mancha-bacteriana. **Horticultura Brasileira**, Brasília- DF, v.16, n.1, 1998.
- RAMALHO, A.A. *Xanthomonas* spp. causadoras da mancha-bacteriana do tomateiro (*Licopersicon esculentum* Mill.): detecção em sementes e diferenciação. 2007. 92 f. Tese (Doutorado em Agronomia) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba. 2007.
- RAVA, C.A.; ROMEIRO, R.S. Variabilidade de isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* quanto a patogenicidade em cultivares de *Phaseolus vulgaris*. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.16, n.3/4, p.225-232, jul./dez. 1990.
- ROBBS, C.F.A. "Mancha bacteriana" do pimentão (*Capsicum annuum* L.). **Agricultura e Pecuária,** Rio de Janeiro, n.25, p.22, 1953.
- RODRIGUES NETO, J. Doenças bacterianas do tomateiro. In: SINIGAGLIA, C.; RODRIGUES NETO, J.; COLLARICIO, A.; VICENTE, M.; GROPPO, G.; GRAVENA, S.; LEITE, D. (ed.). **Manejo Integrado de Pragas e Doenças do Tomateiro.** v.6, São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento, 2000. 66 p.

- ROMEIRO, R.S. Bactérias fitopatogênicas. Viçosa: Imprensa Universitária, 1995, 367 p.
- ROMERO, A.M.; KOUSIK, C.S.; RITCHIE, D.F. Temperature sensitivity of the hypersensitive response of bell pepper to *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, **Phytopathology**, Saint Paul, v.92, p. 197-203, 2002.
- SCHUCH, W.; KANCZLEER, J.; ROBERTSON, D.; HOBSON, G.; TUCKER G.; GRIERSON, D.; BRIGHT, S.; BIRD, C. Fruit quality characteristics of transgenic tomato fruit with altered polygalacturonase activity. **Hort Science**, Alexandria, v.26, n. 12, p1517-1520, 1991.
- SCOTT, J.W.; JONES, J.B. Sources of resistance to bacterial spot in tomato. **Hort Science**, Alexandria, v.21, n.2, p.304-306, 1986.
- SCOTT, J.W.; JONES, J.B. Inheritance of resistance to foliar bacterial spot of tomato incited by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. **Journal of the American Society Horticultural Science,** Alexandria, v.114, p.111-114, 1989.
- SCOTT, J.W.; MILLER, S.A.; STALL, R.E.; JONES, J.B.; SOMODI, G.C.; BARBOSA, V.; FRANCIS, D.L.; SAHIN, F. Resistance to race T2 of the bacterial spot pathogen in tomato. **Hort Science**, Alexandria, v.32, n.4, p.724-727, 1997.
- SILVA-LOBO, V. L.; GIORDANO, L. B.; LOPES, C. A. Herança da resistência à mancha bacteriana em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.30, p. 343-349, 2005.
- SOUZA, M.F.R.; RODRIGUES, R.; AMARAL JUNIOR, A.T.; SUDRÉ, C.P. Resistance to *Xanthomonas* spp. in tomato: diallel analysis and gene effects estimative in a breeding programme carried out in Brazil. **Journal of Phytopathology,** Berlin, v.156, n.10, p.660-667, 2008.
- STALL, R.E.; JONES, J.B.; MINSAVAGE, G.V. Durability of resistance in tomato and pepper to Xanthomonads causing bacterial spot. **Annual Review of Phytopathology,** Palo Alto, v.47, p.265:284, 2009.
- VAKILI, N.G. Importance of wounds in bacterial spot (*Xanthomonas vesicatoria*) of tomatoes in the field. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 57, p.1099:1103, 1967.
- VAUTERIN, L.; RADEMAKER, J.; SWINGS, J. Synopsis on the taxonomy of the genera *Xanthomonas*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.90, p. 677:682, 2000.
- VILELA, N., J. **Situação da produção de tomate no Brasil.** EMBRAPA Hortaliças. Disponível em:
- << http://www.slideshare.net/nirlene/situao-da-produo-de-tomate-no-brasil-5166847>>. Acesso em 22/11/2010.
- WANG, J.F.; JONES, J.B.; SCOTT, J.W.; STALL, R.E. Several genes in *Lycopersicon esculentum* control hypersensitivity to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.84, p.702-706. 1994.

WHALEN, M.C.; WANG, J.F.; CARLAND, F.M.; HEISKELL, M.E.; DAHLBECK, D.; MINSAVAGE, G.V.; JONES, J.B.; SCOTT, J.W., STALL, R.E.; STASKAWICZ, B.J. Avirulence gene avrRxv from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* on tomato line Hawaii 7998. **Molecular Plant-Microbe Interactions,** Saint Paul, v.6, p.616-627, 1993.

YANG, W.; MILLER, S. A.; SCOTT, J. W.; JONES, J. B.; FRANCIS, D. M. Mining tomato genome sequence databases for molecular markers: application to bacterial resistance and marker assisted selection. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 695, p.241-250, 2004.