

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

LUCAS COUTO DUARTE

**DETECÇÃO DE *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* EM SEMENTES DE
MARACUJÁ**

**Uberlândia – MG
Julho - 2017**

LUCAS COUTO DUARTE

**DETECÇÃO DE *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* EM SEMENTES DE
MARACUJÁ**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de
Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia, para a
obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Nilvanira Donizete Tebaldi

**Uberlândia – MG
Julho - 2017
LUCAS COUTO DUARTE**

**DETECÇÃO DE *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* EM SEMENTES DE
MARACUJÁ**

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

Aprovado pela Banca Examinadora em 17 de julho de 2017

Morgana Coelho Mamede
Membro da Banca

Alison Talis Martins Lima
Membro da Banca

Prof.^a Dr.^a Nilvanira Donizete Tebaldi

Orientadora

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	2
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 A cultura do maracujazeiro	3
2.2 Doenças do maracujazeiro.....	4
2.3 Detecção de bactérias em sementes.....	7
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
3.1 Meio de cultura para a detecção de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>passiflorae</i>	9
3.2 Detecção de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>passiflorae</i> em sementes de maracujá.....	9
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
4.1 Meio de cultura para a detecção de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>passiflorae</i>	11
4.2 Detecção de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>passiflorae</i> em sementes de maracujá.....	12
5. CONCLUSÕES	14
REFERÊNCIAS	15

RESUMO

A mancha óleo ou mancha bacteriana do maracujazeiro causada pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* é uma das doenças de maior importância da cultura, levando a danos diretos na produção e na qualidade dos frutos. O uso de sementes livres do patógeno é a principal forma de controle da doença, sendo necessário a detecção em sementes para evitar a introdução do patógeno em áreas isentas. O objetivo do trabalho foi detectar a presença de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* em sementes de maracujá em meio de cultura. O extrato de sementes inteiras ou quebradas, provenientes de Uberlândia no estado de Minas Gerais, desinfestadas ou não, de seis genótipos de maracujá foram cultivadas nos meios de cultura 523 e NAS sem e com a adição de cicloheximida. Não houve diferença significativa entre os meios de cultura na detecção da bactéria nas sementes, no entanto, nas sementes quebradas houve maior detecção do patógeno. Os meios de cultura 523 e NAS com adição de cicloheximida e o uso de sementes de maracujá quebradas foram eficientes para a detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* os quais podem ser utilizados em rotina de laboratório, para a detecção da bactéria em sementes.

Palavras-chave: Mancha Bacteriana; Mancha Óleo; Meio de cultura.

1. INTRODUÇÃO

O maracujá (*Passiflora*) utilizado para o consumo, tem como centro de origem a região tropical da América do Sul, sendo o Brasil Centro-Nordeste o maior centro de distribuição geográfica. A palavra indígena maracujá significa “fruto em formato de cuia” (SOUSA; MELETTI, 1997). A produção brasileira de maracujá em 2015 foi aproximadamente 694 mil toneladas e com área aproximada de 50 mil hectares (AGRIANUAL, 2017).

Um dos maiores problemas que impedem uma produção mais expressiva de maracujá são as doenças pois, quando não manejadas eficientemente, como a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*), bacteriose (*Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*), virose do endurecimento (CABMV ou PWV), nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.), fusarioses ou murcha (*Fusarium oxysporum* f.sp. *passiflorae*) e podridão do pé (*Fusarium solani*) geram danos irreparáveis nos pomares, ocasionando grandes prejuízos aos produtores (JUNQUEIRA et al., 2005). Entre estas a bacteriose é uma das principais doenças de parte aérea (SANTOS FILHO; JUNQUEIRA, 2003).

A principal característica da bacteriose é o ataque a parte aérea da planta tornando-se mais severa quando em condições de temperatura e umidade favoráveis. A sintomatologia da infecção inicia-se no limbo foliar e posteriormente avança através dos feixes vasculares atingindo ramos e pecíolos provocando caneluras longitudinais, seca e desfolha geral da planta podendo ocasionar a morte prematura da planta (TEIXEIRA, 1994). Nos frutos aparecem pequenas manchas na superfície, que podem penetrar infectando as sementes e tornando o fruto impróprio para o consumo. Uma das principais formas de introdução da bactéria no pomar se dá por meio de sementes e mudas infectadas. A bactéria também pode ser disseminada pela água da chuva, instrumentos de poda e colheita, ou pelo trabalhador (PIO-RIBEIRO; MARIANO, 1997; DIAS et al., 2012).

Os métodos de detecção da bactéria em sementes devem ser práticos, rápidos e seguro. A eficiência do uso de meios de cultura para a detecção de bactérias em sementes de feijão (TEBALDI et al., 2007) e soja (VIOLATTI, 2016) já foi descrito. A principal medida de controle para *X. campestris passiflorae* é a exclusão, evitando-se a introdução da doença na área de cultivo com ênfase no uso de sementes e mudas livres

da presença do patógeno. A bactéria é disseminada e transmitida pelas sementes, favorecendo sua introdução em áreas de cultivo.

Assim, o objetivo do trabalho foi detectar a presença de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* em sementes do maracujá em meio de cultura.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura do maracujazeiro

O maracujazeiro pertence à ordem Passiflorales, família Passifloraceae, gênero *Passiflora*. O Brasil é um dos centros de origem da família onde se concentra 143 espécies de quatro gêneros: *Ancistrothyrsus*, *Dilkea*, *Mitostemma* e *Passiflora* (SILVA et al., 2012). A principal espécie cultivada no Brasil é a *Passiflora edulis* Sims que possui duas formas, *Passiflora edulis* Sims f. *edulis* que produz frutos de casca roxa e *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* O. Deg., a qual produz frutos de casca amarela. Outras espécies do gênero exploradas no país menos expressivas, de menor valor comercial e cultivo regional são, o maracujá doce (*Passiflora alata*), o maracujá melão (*Passiflora quadrangulares*), o maracujá suspiro (*Passiflora nítida*) e o maracujá tubarão (*Passiflora cincinnata*) (INGLEZ DE OLIVEIRA; MELLETI, 1997; PEREIRA et al., 1998; PIZA JUNIOR, 1998).

A cultura do maracujazeiro teve uma forte e rápida ascensão a partir do final da década de 1970. Anteriormente a este período, o Brasil não se encontrava entre os principais países produtores. Porém ao final dos anos 1970, passou a ser o maior produtor e exportador de suco concentrado de maracujá, por conta de sua valorização tanto no mercado internacional como nacional. Muitas indústrias foram fortemente estimuladas pelas exportações, principalmente as que se encontravam instaladas nas regiões Norte e Nordeste do País, que passaram a apoiar novos plantios em novas áreas com maior frequência (SÃO JOSÉ, 1997).

Os principais países produtores mundiais de maracujá são Brasil, Equador, Colômbia e Peru. O grande mercado internacional da fruta é na forma de polpa e suco

concentrado é dominado pelo Equador, Colômbia e Peru (AGRIANUAL, 2012). O principal destino da produção brasileira é o mercado para exportação, se concentrando nos países europeus, porém com grandes perspectivas para o mercado norte-americano, canadense e japonês. A exportação ocorre sob as formas de fruta fresca, polpa e suco concentrado, sendo os dois últimos conferindo a maior parcela de exportação (RODRIGUES et al., 2012)

Outro uso comum do maracujazeiro é como planta ornamental, por conta de suas belas flores. O uso medicinal vem se destacando, principalmente quando usado como calmante (PEIXOTO, 2005).

Atualmente o Brasil destaca-se como o maior produtor mundial de maracujá com uma produção de 694 mil toneladas produzidas numa área de 50,8 mil hectares. O rendimento de 13,66 toneladas por hectare é considerado baixo devido a inúmeros fatores, destacando-se a sanidade (AGRIANUAL, 2017).

Com o aumento das áreas cultivadas tem-se observado o surgimento de diversos problemas de ordem fitossanitária, especialmente as doenças causadas por fungos, vírus e bactérias (SÃO JOSÉ, 1997).

2.2 Doenças do maracujazeiro

A produtividade nacional da cultura de 13,66 toneladas por hectare é considerada baixa devido ao surgimento e agravamento de doenças que reduz a longevidade dos pomares de maracujá e a depreciação ocasionada pelos danos decorrentes da infecção que reduz a qualidade do fruto (AGRIANUAL, 2017).

As doenças causadas por fungos, vírus, nematóides e bactérias levam a danos ao maracujazeiro limitando o cultivo quando não controladas adequadamente, como a Antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*), Verrugose (*Cladosporium herbarum*), Fusariose (*Fusarium oxysporum*), Podridão-fusariana (*Fusarium solani*), Mancha parda (*Alternaria passiflorae* e *Alternaria alternata*), podridão-preta-do-fruto (*Lasiodiplodia theobromae*), Reniforme (*Rotylenchulus reniformis*), Virose do Endurecimento (CABMV ou PWV), Queima-das-folhas (*Phoma* sp.) e Mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*) (VIANA et al., 2003). Segundo Dias et al. (2012), perdas

provocadas por estes grupos de fitopatógenos podem ser acentuadas por fatores climáticos, susceptibilidade dos cultivares, manejo cultural inadequado e cultivo em solos condutivos aos patógenos que associam à cultura.

No entanto, a mancha-bacteriana causada por *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* tem sido uma das principais doenças da cultura, sendo ainda mais preocupante quando em condições de temperatura acima de 30°C e umidade relativa do ar acima de 80% (HALFELD-VIEIRA; NECHET, 2006).

A mancha-bacteriana do maracujazeiro, mancha oleosa, crestamento bacteriano, morte precoce ou bacteriose do maracujá, foi descrita pela primeira vez no Brasil no Estado de São Paulo no ano de 1967 (FISCHER et al., 2005) causada pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*. Pereira (1969) classificou a bactéria como *Xanthomonas passiflorae*. Adiante, Dye et al., (1980) a reclassificaram como *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*. Por fim Gonçalves e Rosato (2000) apresentaram sua reclassificação para *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*, no entanto, não foi aceito permanecendo como *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*.

O gênero *Xanthomonas* é um grupo bastante amplo de fitopatógenos causando severos danos a culturas de interesse agrônomo, infectando aproximadamente 390 espécies botânicas (Leyns et al., 1984). São bactérias Gram-negativas de formato tipo bastonete, móveis, com um ou raramente dois flagelos, não produzem esporos e formam colônias com forma arredondada e amarelada devido à produção de um pigmento chamado xantomonadina que é muito usado pela indústria alimentícia como agente gelificante, emulsificante e estabilizante (PIO-RIBEIRO; MARIANO, 1997).

A bactéria tem como principal modo de sobrevivência os restos de cultura sendo esse período reduzido pela prática do enterrio destes (LIBERATO; COSTA, 2001). As melhores condições para o aparecimento da doença são temperaturas acima de 30°C e umidade relativa do ar elevada acima de 80% (VIANA et al., 2003).

A principal forma de disseminação do patógeno é por meio de sementes e mudas provenientes de pomares contaminados, água de irrigação ou chuva, vento, insetos vetores, usos de caixas de colheita, ferramentas usadas pelo trabalhador e máquinas contaminadas (DIAS et al., 2012.)

A penetração de *Xanthomonas* em plantas hospedeiras se dá por ferimentos ou aberturas naturais. No interior da planta a bactéria se multiplica nos espaços intercelulares provocando os sintomas da doença (VILLELA, 2011).

Nas folhas, os sintomas mais evidentes são pequenas manchas de coloração verde-escuras, úmido-aquosas, translúcidas e de aspecto oleoso, bem delimitadas que se formam no limbo foliar. Em seguida as manchas tornam-se marrons evoluindo cada vez mais para lesões deprimidas e secas ocasionando a desintegração de todo limbo foliar. Nos frutos, as lesões são pardas ou esverdeadas, oleosas, circulares ou irregulares, com margens bem definidas podendo coalescer de forma superficial, mas podendo também, penetrar até as sementes tornando o fruto impróprio para o consumo (TEXEIRA, 1994; PIO-RIBEIRO; MARIANO, 1997).

Quando em condições de alta umidade há o avanço da infecção através dos feixes vasculares atingindo pecíolos e ramos provocando caneluras longitudinais, seca e desfolha, podendo reduzir a frutificação e até causar a morte da planta. Cortes transversais dos ramos e pecíolos quando pressionados exsudam pus bacteriano (TEXEIRA, 1994; PIO-RIBEIRO; MARIANO, 1997).

Para o controle da bacteriose recomenda-se o uso de variedades resistentes, como os genótipos MAR 20-51, híbrido F1 (Roxo Fiji x Marília), MAR 20-29 e IAC 273, citados por (Fischer, et al., 2005). Medidas de controle como o tratamento térmico de sementes, o uso de quebra-vento nas áreas de plantio, a aplicação moderada de fertilizantes nitrogenados e a limpeza das ferramentas de trabalho com álcool também contribuem muito para o manejo da doença (FISCHER; REZENDE, 2008), entretanto, a forma mais efetiva de controle é a exclusão, evitando-se a introdução do patógeno na área de cultivo (HALFELD-VIEIRA; NECHET, 2006).

Para o controle químico são recomendadas aplicações de produtos cúpricos logo no início do aparecimento dos sintomas, sendo importante ressaltar que as pulverizações devem ser realizadas em horários com temperaturas menos intensas (SANTOS FILHO; SANTOS; CORDEIRO, 2002; VIANA et al., 2003). Aplicações de antibiótico também são recomendadas no manejo da doença, porém pode favorecer o aparecimento de raças resistentes devido ao intenso número de pulverizações (DIAS et al., 2012).

De acordo com a literatura disponível, não existem outros hospedeiros para o patógeno (PIO-RIBEIRO; MARIANO, 1997), restando então como forma predominante

de disseminação o uso de sementes infectadas, tornando o método de detecção uma importante ferramenta para a exclusão do patógeno nas áreas de cultivo.

2.3 Detecção de bactérias em sementes

A condição sanitária da semente é extremamente importante considerando que são veículos disseminadores de agentes fitopatogênicos que provocam a redução da germinação, do vigor e ainda origina focos primários de doenças. Esses patógenos são detectados através da realização de testes em laboratório e tem como objetivo principal a verificação da sanidade das sementes de uma amostra e, conseqüentemente, do lote que as representa. As informações obtidas dos testes permitem evitar a introdução de patógenos em áreas isentas, prevenir futuros prejuízos devido ao aparecimento e desenvolvimento de doenças no campo, racionalizar o tratamento de sementes, comparar a qualidade de diferentes lotes e decidir pela eliminação de lotes altamente contaminados por determinados patógenos (GOULART, 1997).

Há diferentes testes de laboratório utilizados para caracterizar o estado sanitário de sementes, sendo que a seleção de um método em particular dependerá do patógeno a ser detectado, da espécie da semente e do próprio objetivo do teste (GOULART, 1997).

Existem inúmeros métodos de detecção de bactérias em sementes. Estes métodos podem ser pela semeadura das sementes em substrato esterilizado que permite a determinação da porcentagem de transmissão do patógeno associado às sementes para a planta que ela originará, entretanto, não permite a detecção de bactérias em sementes não germinadas e também naquelas cujas quantidades de células bacterianas não foi suficiente para manifestar a infecção (SOUZA, 2009).

Outro método de detecção de bactérias em sementes é pela inoculação de suspensões bacterianas em plantas susceptíveis que permite a detecção somente de células viáveis, porém é um método demorado e exige a manutenção de plantas em estágio de desenvolvimento recomendado para inoculação e sob condições ambientais controladas. O cultivo em meio seletivo e semi-seletivo da semente ou do extrato da semente, que permite o isolamento do patógeno, mas, é necessário a identificação posterior dos

organismos isolados por meio de testes bioquímicos, sorológicos ou de patogenicidade (SOUZA, 2009).

Os meios de cultura semi-seletivos são importantes para o isolamento e identificação de microrganismos e consequentemente sua identificação (RABALHO, 2007). Sua grande vantagem está no baixo custo quando comparados com outros métodos de identificação como as técnicas moleculares.

Vários meios de cultura já foram utilizados para a detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em sementes de feijão (TEBALDI et al., 2007), detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* em sementes de soja (VIOLATTI; TEBALDI, 2016) e detecção de *Pantoea ananatis* em sementes de milho (MAMEDE, 2015).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Bacteriologia Vegetal, do Instituto de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG.

3.1 Meio de cultura para a detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*

O isolado UFU A45 de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* pertencente a coleção de trabalho do Laboratório de Bacteriologia foi cultivado em meio de cultura 523 (Kado & Heskett, 1970).

Posteriormente uma suspensão bacteriana ($OD_{600} = 10^8$ UFC mL⁻¹) foi diluída em série (10^{-1} a 10^{-7}) e cultivada sobre os meios de cultura 523 e NAS, sem e com adição do fungicida cicloheximida. O objetivo deste teste foi determinar se o fungicida inibiria o crescimento bacteriano.

As placas foram incubadas a 28 °C por 4 dias e em seguida contadas as colônias bacterianas e calculando para UFC mL⁻¹. As medias foram analisadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade em software SISVAR (FERREIRA, 2008).

3.2 Detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* em sementes de maracujá

Para detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* em sementes de maracujá foram avaliadas sementes dos seguintes três genótipos de maracujá roxo (*Passiflora edulis* Sims): G153, I19 e I20. Também foram avaliadas as sementes dos seguintes três genótipos de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*): I17, I18 e I21. Todas as sementes eram provenientes de plantas doentes do campo, com sintomas da bacteriose, de Uberlândia – MG, no ano de 2015.

Para a detecção da bactéria nas sementes foram utilizados 7 g (aproximadamente 270 sementes) de sementes inteiras e quebradas (com auxílio de um martelo), sem e com desinfestação com hipoclorito de sódio a 3% por 2 minutos, para cada tratamento.

Em seguida as sementes foram colocadas béqueres esterilizados, adicionando 14 mL⁻¹ de água filtrada esterilizada e mantidas por 18h sob refrigeração a 5 °C.

Em seguida, o extrato das sementes foi diluído em série (10^{-1} a 10^{-2}) e cultivados nos meios de cultura em placas de Petri, 523 (KADO; HESKETT, 1970) e NAS (Nutrient Agar Starch) (extrato de carne 3g, peptona 5g, amido solúvel 15g, ágar 15g e 1L de água), com e sem adição de cicloheximida (SCHAAD et al., 2001), incubadas a 28°C por quatro dias. Posteriormente foram quantificadas as unidades formadoras de colônia (UFC mL⁻¹). Ao meio NAS foi adicionado lugol após a o crescimento bacteriano, para melhor visualização da hidrolise do amido pela bactéria.

As colônias amarelas com características de *Xanthomonas* foram repicadas para o meio 523 e realizados os testes, Gram, YDC, Oxidação/Fermentação, reação de hipersensibilidade, asparagina e inoculação no hospedeiro.

O experimento foi constituído em esquema fatorial (6 genótipos x 2 meios de cultura x 2 método de extração x 2 com/sem fungicida) com três repetições. As médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade em software SISVAR (FERREIRA, 2008).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Meio de cultura para a detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*

Nos meios de cultura 523 e NAS, sem e com adição de cicloheximida (Figura 1) não houve diferença significativa entre o número de colônias formadas, que variou de 7 a 9×10^8 UFC mL⁻¹. Portanto, o uso de cicloheximida não inibiu o crescimento da bactéria, sendo importante sua adição ao meio de cultura, na detecção de bactérias em sementes, pois inibi o crescimento de microrganismos saprófitas, facilitando a detecção da bactéria alvo.

Violatti e Tebaldi (2016) constataram que a adição de antibiótico ao meio de cultura auxiliou a detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* em sementes de soja, pois reprimiu o desenvolvimento de microrganismos saprófitos.

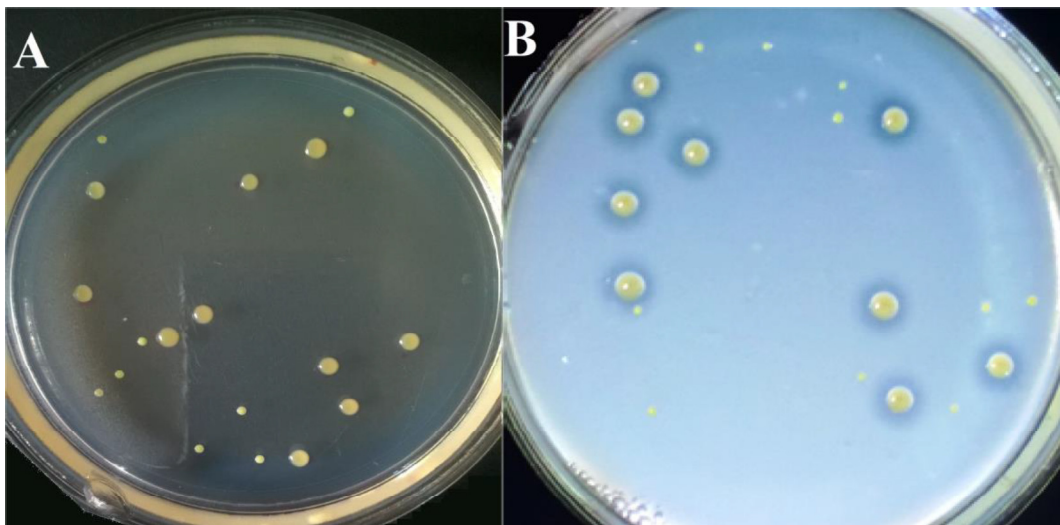


Figura 1. Colônias de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* em meio 523 com adição de cicloheximida (A) e em meio NAS com adição de cicloheximida (B).

4.2 Detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* em sementes de maracujá

Para a detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* em sementes de maracujá não houve diferença significativa entre os meios de cultura 523 e NAS, sem ou com adição de cicloheximida, onde as médias variaram de 1,3 a $1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ colônias.

Resultados semelhantes foram obtidos por Mehta et. al. (2005) na detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* em sementes de algodão, onde os meios semi-seletivo avaliados não diferiram estatisticamente, em relação ao meio padrão.

A bactéria foi detectada em dois genótipos de maracujá, nos meios 523 e NAS, a colônia apresentou coloração amarela e convexa (Figura 2A e B). A hidrólise do amido pela bactéria foi observada (Figura 2C) após a adição de lugol sobre o meio NAS.

Os isolados foram identificados como gram negativo, colônias amarelas em YDC, aeróbicas, reação de hipersensibilidade em folhas de fumo positiva, asparagina negativa e patogenicidade no hospedeiro positivo, aos 8 dias da inoculação, com sintomas de lesão necrótica no limbo foliar.

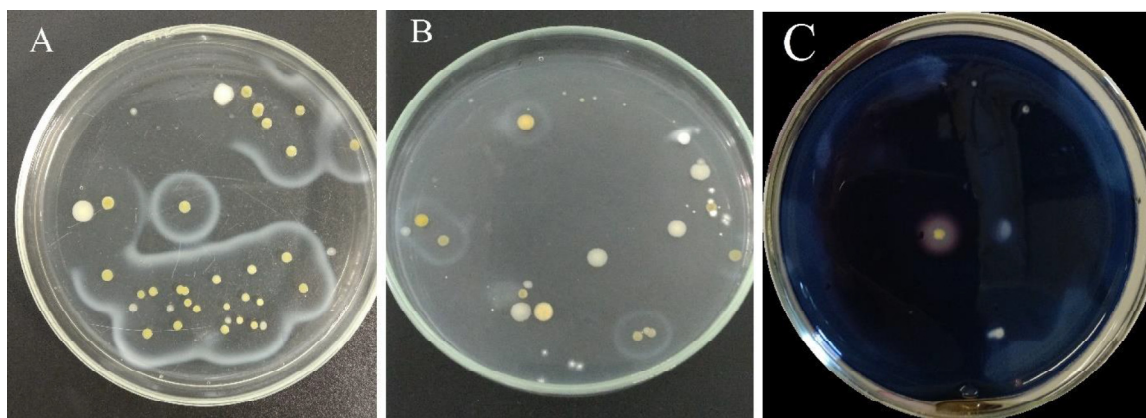


Figura 2. Colônias amarelas de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*, em meio de cultura 523 (A) e NAS (B) de extratos de sementes de maracujá. (C) Meio NAS com adição de lugol, indicando a hidrólise do amido pela bactéria.

O método de extração (Tabela 1) de sementes quebradas não desinfestadas (5) diferiu significativamente dos demais métodos, na detecção da bactéria nas sementes do maracujá amarelo. No entanto, para as sementes do maracujá roxo não houve diferença significativa entre os métodos de extração. A bactéria encontra-se localizada internamente nas sementes de maracujá, e quando as sementes são quebradas facilita sua saída para a água, facilitando a detecção.

Tabela 1. Detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* em sementes de maracujá, por diferentes métodos de extração e variedades.

Método de extração das sementes	(UFC g ⁻¹ mL ⁻¹)	
	Roxo	Amarelo
Inteiras, desinfestadas	1 Aa	1 Ab
Inteiras, não desinfestadas	1 Aa	1 Ab
Quebradas, desinfestadas	1 Aa	1 Ab
Quebradas, não desinfestadas	1,4 Ba	5 Aa
CV (%)	42,79	

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 0,05.

Torres (2009) constatou na detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em sementes de feijão, que testes laboratoriais são fundamentais para evitar a disseminação de Xap para áreas livres da bactéria.

Rabalho (2007) constatou que o uso de meios de cultura semi-seletivo é muito eficiente na detecção de *Xanthomonas* spp. em sementes de tomate, pois apresentam alta eficácia devido a sua baixa repressividade, alta supressividade e baixo custo.

5. CONCLUSÕES

Os meios de cultura 523 e NAS com adição de cicloheximida e o uso de sementes de maracujá quebradas foram eficientes para a detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*, os quais podem ser utilizados em rotina de laboratório, para a detecção da bactéria em sementes.

REFERÊNCIAS

AGRIANUAL 2017: **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: AgraFNP, 2017. 380p.

ALEXANDRE, R. S.; WAGNER JÚNIOR, A.; NEGREIROS, J. R. S.; PARIZZOTTO, A.; BRUCKNER, C. H. Germinação de sementes de genótipos de maracujazeiro, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.12, p.1239-1245, dez.2004.

BANDEIRA, A. L. Editorial. **Informe Agropecuário**. Maracujá, Belo Horizonte, v.33, n.269, p.3, jul./ago.2012.

BERNACCI, L. C. Notas sobre *Passiflora ischnoclada* Harms (Passifloraceae). **Acta Botanica Brasilica**, Brasil, v.15, n.2, p.197-199, 2001

DIAS, M. S. C.; JESUS, A. M.; RODRIGUES, M. G. V.; SOUZA, L. T. Doenças do maracujazeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.33, n.269, p.83-89, jul./ago.2012

DYE, D.W.; BRADBURY, J.F.; GOTO, M.; HAYWARD, A.C.; LELLIOT, R.A.; SOHRO, M.N. International standards for naming pathovars of phytopathogenic bacteria and a list of pathovar names pathotype stains. **Review of Plant Pathology**, v.59, n.4, p.153-168, 1980.

EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA. **Produção brasileira de maracujá**. Rio de Janeiro, 2011. Disponível em:< <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?z=t&c=1613>>. Acesso em: nov. 2016.

FISCHER, I. H.; KIMATI, H.; REZENDE, J. A. M. Doenças do maracujazeiro (*Passiflora* spp.). In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. V.2, p.467-474.

FISCHER, I. H.; REZENDE, J. A. M. Diseases of passion flower (*passiflora* spp.). **Pest Technology**, v.1, n.2, p.1-19, 2008.

GONÇALVES, E. R.; ROSSATO, Y. B.; Detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* utilizando sondas de DNS e “primers” específicos. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.28, n. 1, p. 20-27, 2002.

GONÇALVES, E. R.; ROSATO, Y. B. Genotypic characterization of *Xanthomonas* stains isolated from passion fruit plants (*Passiflora* spp.) and their relatedness to different *Xanthomonas* species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.50, p.811-821, 2000.

GOULART, A. C. P. Métodos de detecção de patógenos em sementes de soja. In: GOULART, A. C. P. (Ed.). **Fungos em sementes de soja: detecção e importância**. Dourados: EMBRAPA-CPAO, 1997. 58p.

HALFELD-VIEIRA, B. A; NECHET, K. L. **Mancha-bacteriana do Maracujá: sintomas, danos e medidas de controle**. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2006. 4p. (Embrapa Roraima. Comunicado Técnico, 03).

IBGE. SIDRA. **Maracujá**. Rio de Janeiro, 2011. Disponível em:< <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?z=t&c=1613>>. Acesso em: mar. 2013.

INGLEZ DE SOUZA, J. S.; MELETTI, L.M.M. **Maracujá: espécies, variedades, cultivo**. Piracicaba: FEALQ. 1997. 179p.

JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; BERNACCI, L. C. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. P. 81-108.

KADO, C. L. & HESKETT, M. S. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, v.60, p. 969-976, 1970.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; RESENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. & CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de fitopatologia. Doenças de plantas cultivadas**. 4ed. São Paulo: Agronômica Ceres, V. 2, 2005.

LEYNS, F.; DE CLEENE, M.; SWINGS, J. G. & DE LEY, J. The Host Range of Genus *Xanthomonas*. **Botanical Review**, v.50, n.3, p. 308-356, 1984.

LIBERATO, J. R.; COSTA, H.; Doenças fúngicas, bacterianas e fitonematóides. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. (Ed). **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001, p. 243-276.

LIMA, A. de A.; BORGES, A. L.; SANTOS FILHO, P. H.; SANTOS, L. B.; FRANCELLI, M.; SANCHES, N. F. **Instruções práticas para o cultivo do maracujazeiro**. Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMF, 1996. 44p. (EMBRAPA-CNPMF. Circular Técnica, 20).

LOPES, C. A. Manejo integrado de bactérias fitopatogênicas. In: SILVA, L. H. C. P.; CAMPOS, J. R.; NOJOSA, G. B. A. (Eds). **Manejo integrado: doenças em hortaliças**. Lavras: UFLA, 2001. Cap 4, p. 105-123.

MAMEDE, M. C. **DETECÇÃO DE *Pantoea ananatis* EM SEMENTES DE MILHO**. Instituto de Ciências Agrárias. Universidade Federal de Uberlândia: 2015. Monografia. Disponível em: <
<http://www.iciag.ufu.br/sites/iciag.ufu.br/files/Anexos/Bookpage/DETEC%C3%87%C3%83O%20DE%20Pantoea%20ananatis%20EM%20SEMENTES%20DE%20MILHO.pdf>> Acessado em: 21 mar 2017

MANICA, I. Maracujazeiro: Taxionomia – anatomia – morfologia. In: Manica, I (Ed.). **Maracujá: Temas selecionados (1): Melhoramento, morte prematura, polinização, taxionomia**. Editora: Cinco Continentes, Porto Alegre – RS, 1997. p. 7-21.

MATTA, F. P. **Mapeamento de QRL para *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* em maracujá-azedo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.)** 230 f. Piracicaba, 2005. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

MEHTA, Y.R.; BOMFETI, C.; BOLOGNINI, V. A semi selective medium to detect the presence of *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* in a naturally infected cotton seed. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, n.5, p. 489-496, 2005.

NAKATANI, Andreia K.; LOPES, Ricardo; CAMARGO, Luís E.A. Variabilidade genética de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. **Summa phytopathologica**., Botucatu, v.35, n. 2, p. 116-120, 2009.

PEREIRA, A. L. G. Uma nova doença bacteriana do maracujá (*Passiflora edulis*, Sims) causada por *Xanthomonas passiflorae* n. sp. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 36, n.4, p. 163-174. 1969.

PEREIRA, M. C.; OLIVEIRA, J. C.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação vegetativa do maracujá-suspiro (*Passiflora nítida*) por meio de estacas herbáceas**, In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJÁ, 5., Jaboticabal, 1998. Anais. Jaboticabal: FUNEP, 1998. p. 317.

PEIXOTO, M. Problemas e perspectivas do maracujá ornamental. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V & BRAGA, M.F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. pp. 457-463

PIO-RIBEIRO, G.; MARIANO, R.L.P. Doenças do maracujazeiro (*Passiflora* spp.). In: KIMATI, H. et al. (Ed). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p.488-498.

PIZA JUNIOR, C. T. A cultura do maracujá na região sudeste do Brasil, In: Simpósio Brasileiro sobre a Cultura do Maracujá, 5., Jaboticabal, 1998. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, 1998. p. 20-48.

RABALHO, A.A. ***Xanthomonas* spp. causadoras da mancha bacteriana do tomateiro (*Lycopersicum esculentum* Mill.): detecção em sementes e diferenciação**. Piracicaba, 2007. 92 p. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo – USP

RODRIGUES, M.G.V; DIAS, M. S. C.; CASTRICINI, A. Manejo fitotécnico do maracujazeiro. **Informe Agropecuário**. Maracujá, Belo Horizonte, v.33, n.269, p.44-52, jul./ago.2012.

SANTOS FILHO, H. P.; JUNQUEIRA, N. T. V. **Maracujá: fitossanidade**. Editores técnicos, Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 86p.; il.; (Frutas Brasil: 32).

SANTOS FILHO, H. P.; SANTOS, C. C. F.; CORDEIRO, Z. J. M. Doenças causadas por fungos e bactérias e seu controle. In: LIMA, A. de A. (Ed.). **Maracujá – produção: aspectos técnicos**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 104p.

SÃO JOSÉ, A. R. Morte prematura de maracujazeiro. In: MANICA, I. (Ed). **Maracujá: temas selecionados (1): Melhoramento, morte prematura, polinização, taxionomia**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 1997. p. 47-57.

SCHAAD, N. W.; JONES, J. B.; LACY, G. H. Gram – negative bacteria: *Xanthomonas*. In: SCHAAD, N. W.; JONES, J. B.; CHUN, W. (Ed.). **Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria**. St. Paul, A. PS. (Ed.) 2001. p. 175-200.

SOUSA, J.S.I.; MELETTI, L.M.M. **Maracujá: espécies, variedades e cultivos**. Piracicaba: Editora FEALQ, 1997. 179p.

SILVA, A. F.; RABELO, M. F. R.; SATURNINO, H. M.; Maracujá. Passifloraceae: botânica e espécies de interesse econômico. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v.33, n.269, p.7-23, jul./ago.2012.

TEBALDI, N. D., SOUZA, R. M., & MACHADO, J. C. Detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em sementes de feijão em meio de cultura semi-seletivo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.32, n.1, p.56-58, 2007.

TEIXEIRA, C. G. Cultura, In: TEIXEIRA, C. G.; CASTRO, J. V.; TOCCHINI, R. P.; NISIDA, A. L. A. C.; HASHIZUME, T.; MEDINA, J. C.; TURATTI, J. M.; LEITE, R.S.S.F.; BLISKA, F. M. M.; GARCIA, A. E. B. C. (Ed). **Maracujá: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1994. p. 1-142.

TOUSSAINT, V.; MORRIS, C.E.; CARISSE, O. A new semi-selective medium for *Xanthomonas campestris* pv. *vitians*, the causal agent of bacterial leaf spot of lettuce. **Plant Disease**, Saint Paul, v.85, n.2, p.131-136, 2001

TORRES, J. P.; SILVA J. T. A. F.; MARINGONI, A. C. Detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em sementes de feijoeiro provenientes do estado do Paraná, Brasil. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.35, n.2, p.136-139, 2009.

VIANA, F. M. P.; COSTA, A. F. Doenças do maracujazeiro. In: FREIRE, F. das C. O.; CARDOSO, J. E.; VIANA, F. M. P. (Ed.). **Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. P. 270-291.

VIANA, F. M. P.; FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; VIDAL, J. C. **Principais doenças do maracujazeiro na Região Nordeste e seu controle**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003. 12p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 86).

VILLELA, J. G. A. **Resistência de cultivares comerciais de maracujazeiro azedo a isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* em condições controladas de casa de vegetação.** Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Universidade de Brasília: 2011. 36p. Monografia.

VIOLATTI, Marcela Ribeiro; TEBALDI, Nilvanira Donizete. Detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* em sementes de soja. **Summa Phytopathologica**, Botucatu , v.42, n.3, p.268-270, 2016.