

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de 12/09/2021.

**JOÃO CÉSAR DA SILVA**

**NICHOS DE SOBREVIVÊNCIA E DISSEMINAÇÃO DE *Xanthomonas campestris* PV. *campestris*, AGENTE CAUSAL DA PODRIDÃO NEGRA DAS BRÁSSICAS**

**Botucatu**

**2020**

**JOÃO CÉSAR DA SILVA**

**NICHOS DE SOBREVIVÊNCIA E DISSEMINAÇÃO DE *Xanthomonas campestris* PV. *campestris*, AGENTE CAUSAL DA PODRIDÃO NEGRA DAS BRÁSSICAS**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Proteção de Plantas).

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Maringoni

Coorientador: Prof. Dr. Tadeu Antônio Fernandes da Silva Júnior

**Botucatu**

**2020**

S586n	<p>Silva, João César da</p> <p>Nichos de sobrevivência e disseminação de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>, agente causal da podridão negra das brássicas / João César da Silva. -- Botucatu, 2020</p> <p>89 p. : tabs., fotos</p> <p>Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu</p> <p>Orientador: Antonio Carlos Maringoni</p> <p>Coorientador: Tadeu Antônio Fernandes da Silva Júnior</p> <p>1. Bacteria. 2. Ervas daninhas. 3. Plantas cultivadas. 4. Solos. 5. Insetos. I. Título.</p>
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA TESE: NICHOS DE SOBREVIVÊNCIA E DISSEMINAÇÃO DE *Xanthomonas campestris* PV. *campestris*, AGENTE CAUSAL DA PODRIDÃO NEGRA DAS BRÁSSICAS

**AUTOR: JOÃO CÉSAR DA SILVA**

**ORIENTADOR: ANTONIO CARLOS MARINGONI**

**COORIENTADOR: TADEU ANTÔNIO FERNANDES DA SILVA JÚNIOR**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. ANTONIO CARLOS MARINGONI  
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP

  
Prof.ª Dr.ª RENATE KRAUSE SAKATE  
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP

  
Prof. Dr. CAIO ANTONIO CARBONARI  
Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP

  
Dr. RICARDO GIORIA  
Setor de Fitopatologia / Sakata Seed Sudamerica Ltda.

  
Dr. LUÍS OTÁVIO SAGGION BERIAM  
Setor de Bactérias Fitopatogênicas / Instituto Biológico de Campinas

Botucatu, 12 de março de 2020

*Aos meus amados pais,  
Juarez e Ivonete, e a meu irmão André,  
Dedico*

## AGRADECIMENTOS

Ao bom Deus que ilumina meus caminhos.

Aos meus pais Juarez Francolino da Silva e Ivonete Lourencetti da Silva, pelo amor incondicional, imenso apoio, paciência e compreensão durante meus estudos.

Ao meu irmão André Luiz da Silva, pelo apoio e incentivo.

Ao meu padrinho Rafael Octávio Garcia pela amizade, apoio e conselhos.

Aos meus avós (*in memoriam*) Agenor Lourencetti e Alzira Mantovani Lourencetti, Elisiário Francolino da Silva e Mariana Rosa da Silva, pelas lições deixadas em vida e por terem me amado até o último minuto de suas vidas.

A todos meus familiares, pelo reconhecimento, amizade e suporte oferecido sempre que necessário.

Ao professor e orientador Antonio Carlos Maringoni pela oportunidade, confiança, paciência, incentivo e ensinamentos.

Ao coorientador Tadeu Antônio Fernandes da Silva Júnior, pela amizade, ensinamentos, incentivo e pela grande contribuição na realização deste trabalho.

A todos os professores do Departamento de Proteção Vegetal, pelos ensinamentos, apoio e amizade.

À professora de Inglês Fabiana Sansone pela amizade, ensinamentos, apoio e conselhos.

Aos amigos do Laboratório de Bacteriologia Vegetal, José Marcelo Soman, Daniele Maria do Nascimento, Luana Laurindo de Melo e Letícia Rodrigues Oliveira, pelo apoio, amizade, ensinamentos, momentos compartilhados e pela ajuda imprescindível na realização dos trabalhos.

Aos estagiários, Bianca Gêa, Renan Eburneo, Karine Giroto, Thiago Tomasini e Vilson Eburneo, pela amizade e pela ajuda imprescindível.

A todos os amigos do Departamento de Proteção Vegetal, Ana Laura, Angélica Nogueira, Bruna Catóia, Bruno de Marchi, Eduardo Vicentim, Eduardo Gorayeb, Felipe Barreto, Giovana Cruciol, Juliana Uzan, Leonardo Dovigo, Luís Watanabe, Marcos Roberto, Paula Leite, Rafaela Ruschel e Vinicius Bello, obrigado pela amizade, apoio e companhia.

Aos amigos de academia Diego Alves e Amanda Minghini, Jefferson Carreira e Rafaela Eufrasio, pela amizade, apoio e companhia.

Aos amigos de longa data Aline Zonatto, Alisson Fernando, David Spadotti, Diego Frutuoso, Júlio Marubayashi, Lilian Utraga, Martha Passador, Tatiane Ferrari e Viviane Miranda, pela amizade e companhia em todos os momentos.

A todos os agricultores, por abrir as portas de suas propriedades para que pudéssemos realizar os experimentos.

Aos funcionários da Sakata, Dr. Aniello Cutolo Filho, Dr. Ricardo Gioria, Reginaldo Antonio Valerio e Wellington Barroso dos Santos, pela disponibilidade, atenção e por todo suporte oferecido para a realização dos trabalhos.

Aos funcionários do Departamento de Proteção Vegetal, pela amizade e apoio prestado.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas (FCA), Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” (UNESP), por todo o apoio institucional e disponibilidade da estrutura.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutorado no período de março de 2016 a outubro de 2017.

Este trabalho foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Código de Financiamento 001.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro concedido por meio de bolsa de doutorado no período de novembro de 2017 a fevereiro de 2020 (Processo FAPESP nº: 2017/13822-0).



“Você nunca sabe que resultados virão da sua ação. Mas se você não fizer nada, não existirão resultados.”

**Mahatma Gandhi**

## RESUMO

A podridão negra, causada por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc), é considerada a doença bacteriana mais importante das brássicas no mundo. Apesar dos esforços para o manejo, sua ocorrência é comum em cultivos de brássicas. O conhecimento dos nichos de sobrevivência e mecanismos de disseminação de Xcc são de extrema importância para o manejo eficiente da podridão negra. Este trabalho avaliou a sobrevivência de Xcc em nichos ecológicos, assim como o potencial de disseminação da bactéria por insetos. Para identificar as plantas daninhas que podem favorecer a sobrevivência epifítica de Xcc, assim como novas hospedeiras sintomáticas da bactéria, coletas foram realizadas em seis campos de cultivo de brássicas do estado de São Paulo, em 2017 e 2018. A capacidade endofítica do isolado 3098C de Xcc, resistente a rifampicina, foi avaliada em quatro experimentos em casa de vegetação, entre 2017 e 2019, utilizando-se 23 espécies de plantas daninhas e dois métodos de inoculação. Em campo, quatro experimentos foram instalados entre 2017 e 2019 para avaliar a sobrevivência de Xcc na filosfera e rizosfera de 20 espécies de plantas cultivadas. A sobrevivência do isolado 3098C na rizosfera do repolho cultivado em seis tipos de solos também foi avaliada, em quatro experimentos. Além da sobrevivência, a disseminação de Xcc por *Bemisia tabaci* e *Myzus persicae* foi avaliada em experimentos em condições controladas. Como resultados, 30 espécies de plantas daninhas de 14 famílias botânicas foram coletadas dos seis campos de cultivo de brássicas, sendo Xcc recuperada da filosfera de 25 espécies. Em plantas sintomáticas, a bactéria foi isolada de *Bidens pilosa* (picão preto), *Coronopus didymus* (mentruz rasteiro), *Galinsoga parviflora* (picão branco), *Ipomoea nil* (corda de viola), *Lepidium virginicum* (mentruz), *Raphanus raphanistrum* (nabiça), *Raphanus sativus* (nabo forrageiro) e *Sonchus oleraceus* (serralha). Nos experimentos em casa de vegetação, Xcc foi recuperada de todas as plantas daninhas, porém os períodos de sobrevivência endofítica variaram entre as espécies. A presença de ferimentos pode ter favorecido a sobrevivência endofítica de Xcc nos tecidos de algumas espécies. Na filosfera das plantas cultivadas, a bactéria sobreviveu por até 70 dias no repolho, tomate, trigo, aveia preta, nabo forrageiro e pimentão, por até 63 dias em abóbora e mostarda, e por até 56 dias no feijão. Na rizosfera das plantas cultivadas, Xcc apresentou baixa sobrevivência em comparação ao solo na ausência de plantas para a maioria das espécies avaliadas, sendo o maior

período de sobrevivência observado na rizosfera do repolho (70 dias). Baixa sobrevivência da bactéria ocorreu na rizosfera do repolho quando cultivado em diferentes solos. *Bemisia tabaci* e *M. persicae* aparentemente não estão envolvidos na disseminação de Xcc.

**Palavras-chave:** Bactéria. Plantas daninhas. Plantas cultivadas. Solo. Insetos.

## ABSTRACT

Black rot, caused by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc), is considered the most important bacterial disease of brassica worldwide. Despite management efforts, its occurrence is common in brassica crops. Knowledge of survival niches and Xcc dissemination mechanisms are extremely important for the efficient management of black rot. This study evaluated Xcc survival in ecological niches, as well as the potential for the bacterium dissemination by insects. To identify the weeds that may favor Xcc epiphytic survival, as well as new symptomatic hosts of the bacterium, collections were carried out in six brassica crop fields in São Paulo State, in 2017 and 2018. The endophytic capacity of Xcc 3098C strain, resistant to rifampicin, was evaluated in four greenhouse experiments between 2017 and 2019, using 23 weed species and two inoculation methods. In the field, four experiments were conducted between 2017 and 2019 to assess Xcc survival in the phyllosphere and rhizosphere of 20 crop species. The survival of 3098C strain in cabbage rhizosphere, grown in six soils types, was also evaluated in four experiments. In addition to survival, Xcc dissemination by *Bemisia tabaci* and *Myzus persicae* was evaluated in experiments under controlled conditions. As a result, 30 weed species from 14 botanical families were collected from the six brassica crop fields, and Xcc was recovered from the phyllosphere of 25 species. In symptomatic plants, the bacterium was isolated from *Bidens pilosa* (hairy beggarticks), *Coronopus didymus* (swinecress), *Galinsoga parviflora* (gallant soldier), *Ipomoea nil* (whiteedge morning-glory), *Lepidium virginicum* (virginia pepperweed), *Raphanus raphanistrum* (wild radish), *Raphanus sativus* (cultivated radish) and *Sonchus oleraceus* (common sowthistle). In greenhouse experiments, Xcc was recovered from all weeds, but the periods of endophytic survival varied among species. The presence of wounds may have favored Xcc endophytic survival in some species tissues. In crops phyllosphere, the bacterium survived for up to 70 days in cabbage, tomato, wheat, black oat, turnip and pepper, for up to 63 days in pumpkin and mustard, and for up to 56 days in beans. In crops rhizosphere, Xcc showed low survival compared with the soil without plants for most of the species evaluated, being the longest survival period observed in cabbage rhizosphere (70 days). Low bacterial survival occurred in cabbage rhizosphere when grown in different soils. *Bemisia tabaci* and *M. persicae* are apparently not involved in Xcc dissemination.

**Keywords:** Bacterium. Weeds. Cultivated plants. Soil. Insects.

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>17</b>
<b>CAPÍTULO 1 - PLANTAS DANINHAS COMO NICHOS DE SOBREVIVÊNCIA DE <i>Xanthomonas campestris</i> PV. <i>campestris</i>.....</b>	<b>21</b>
1.1 INTRODUÇÃO.....	23
1.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
1.2.1 Detecção de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> em plantas daninhas coletadas em campos de cultivo de brássicas.....	24
1.2.1.1 Processamento das amostras, isolamento e preservação de colônias bacterianas.....	25
1.2.2 Sobrevivência endofítica de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> em plantas daninhas mantidas em casa de vegetação.....	27
1.2.2.1 Obtenção e cultivo das plantas daninhas.....	27
1.2.2.2 Instalação dos experimentos.....	28
1.2.2.3 Processamento das amostras, isolamento e preservação de colônias bacterianas.....	29
1.2.4 Delineamento experimental e análise dos dados.....	29
1.2.5 Caracterização de isolados de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> .....	29
1.3 RESULTADOS.....	31
1.3.1 Detecção de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> em plantas daninhas coletadas em campos de cultivo de brássicas.....	31
1.3.2 Sobrevivência endofítica de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> em plantas daninhas em casa de vegetação.....	33
1.3.3 Caracterização dos isolados bacterianos.....	35
1.4 DISCUSSÃO.....	36
REFERÊNCIAS.....	41
<b>CAPÍTULO 2 - OCORRÊNCIA DE <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> EM NABIÇA (<i>Raphanus raphanistrum</i> L.) NO BRASIL....</b>	<b>44</b>
REFERÊNCIAS.....	45
<b>CAPÍTULO 3 - SOBREVIVÊNCIA DE <i>Xanthomonas campestris</i> PV. <i>campestris</i> NA FILOSFERA E RIZOSFERA DE PLANTAS CULTIVADAS.....</b>	<b>46</b>
3.1 INTRODUÇÃO.....	48
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	49
3.2.1 Locais de condução dos experimentos e isolamento bacteriano.....	49
3.2.2 Sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> na filosfera e rizosfera de plantas cultivadas.....	50
3.2.2.1 Obtenção e cultivo das espécies cultivadas.....	50
3.2.2.2 Instalação dos experimentos.....	51
3.2.2.3 Processamento das amostras.....	51
3.2.2.4 Dados climáticos.....	51
3.2.3 Sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> na rizosfera do repolho cultivado em seis tipos de solos.....	52
3.2.3.1 Coleta e características dos solos.....	52
3.2.3.2 Instalação dos experimentos e processamento.....	53
3.2.4 Delineamento experimental e análises dos dados.....	53

3.2.5	Caracterização de isolados de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> PCR.....	54
3.3	RESULTADOS.....	55
3.3.1	Sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> na filosfera e rizosfera de plantas cultivadas.....	55
3.3.2	Sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> na rizosfera do repolho cultivado em seis tipos de solos.....	61
3.3.3	Caracterização dos isolados bacterianos.....	62
3.4	DISCUSSÃO.....	62
	REFERÊNCIAS.....	67
	<b>CAPÍTULO 4 - DISSEMINAÇÃO DE <i>Xanthomonas campestris</i> PV. <i>campestris</i> POR INSETOS.....</b>	<b>71</b>
4.1	INTRODUÇÃO.....	73
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	74
4.2.1	Local de realização dos experimentos.....	74
4.2.2	Isolado bacteriano e condições de cultivo e preservação.....	74
4.2.3	Obtenção e manutenção das populações dos insetos.....	74
4.2.4	Confirmação da ausência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> nos insetos.....	75
4.2.5	Obtenção das plantas de couve.....	75
4.2.6	Aderência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> em <i>Bemisia tabaci</i> e <i>Myzus persicae</i> .....	75
4.2.6.1	Exposição dos insetos a discos de couve inoculados com <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> .....	75
4.2.6.2	Exposição dos insetos a plantas de couve inoculadas com <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> .....	76
4.2.7	Disseminação de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> por <i>Bemisia tabaci</i> e <i>Myzus persicae</i> .....	76
4.2.8	Determinação da população de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> na filosfera.....	77
4.2.9	Processamento de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> de <i>Bemisia tabaci</i> e <i>Myzus persicae</i> .....	77
4.3	RESULTADOS.....	78
4.3.1	População de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> na filosfera.....	78
4.3.2	Aderência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> nos insetos.....	79
4.3.3	Disseminação de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> por <i>Bemisia tabaci</i> e <i>Myzus persicae</i> em plantas couve.....	79
4.4	DISCUSSÃO.....	79
	REFERÊNCIAS.....	83
	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>85</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>87</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

A família Brassicaceae é composta por aproximadamente 3.709 espécies e mais de 338 gêneros distribuídos pelo mundo, incluindo plantas de grande importância econômica usadas na alimentação como vegetais, óleos e condimentos, na indústria para produção de biodiesel e bioprodutos, assim como forragens e ornamentais (WARWICK, 2011; ANJUM et al., 2012). Dentre as espécies utilizadas para a alimentação humana, destaca-se o cultivo de *Brassica oleracea* L., que compreende as variedades: repolho, brócolis, couve-flor, couve-de-folha, couve-tronchuda e couve-de-bruxelas (FILGUEIRA, 2008; MICHEREFF et al., 2012). A produção mundial de brássicas em 2017 foi de aproximadamente 97,4 milhões de toneladas, sendo China e Índia os maiores produtores mundiais (FAOSTAT, 2019). O Brasil nesse mesmo período produziu 82,6 mil toneladas (HORTIFRUTI, 2019).

Dentre as doenças que ocorrem em cultivos de brássicas e causam grandes danos, destaca-se a podridão negra, causada pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Downson 1939 (Xcc) (WILLIAMS, 1980; MARINGONI; SILVA JÚNIOR, 2016). Essa doença foi descrita pela primeira vez por Garman, 1890, em repolho no Kentucky, EUA, porém a natureza patogênica do agente causal foi comprovada cinco anos mais tarde por Pammel (ALVAREZ, 2000; VICENTE; HOLUB, 2013). Atualmente, a podridão negra encontra-se presente em todos os países onde há cultivo de brássicas, sendo considerada um problema em regiões tropicais, subtropicais e continentais úmidas. Em regiões frias também ocorre, porém raramente evolui a ponto de causar danos às plantas (WILLIAMS, 2007; LEMA et al., 2012).

No campo os sintomas da podridão negra são observados em qualquer estágio fenológico de desenvolvimento das plantas, e se caracterizam por lesões amarelas nas margens das folhas em formato de “V” e o escurecimento do sistema vascular, comumente relacionado à penetração de Xcc pelos hidatódios (WILLIAMS, 1980; MARINGONI; SILVA JÚNIOR, 2016). Com o desenvolvimento da doença os tecidos lesionados necrosam e as folhas podem cair prematuramente (VICENTE; HOLUB, 2013). Lesões alongadas, necróticas e com halos amarelados são muitas vezes observadas no limbo foliar e estão relacionadas a penetração da bactéria pelos estômatos (MARINGONI et al., 2016). Infecções secundárias causadas por outras espécies bacterianas podem contribuir para o apodrecimento das plantas



afetadas (WILLIAMS, 1980; VICENTE; HOLUB, 2013). O controle da podridão negra é realizado através do uso de material propagativo sadio, eliminação de restos culturais, rotação de culturas com espécies não hospedeiras do patógeno e cultivares com níveis de resistência (GRIESBACH; LÖPTIEN; MIERSCH, 2003; LEMA et al., 2012; VICENTE; HOLUB, 2013).

Apesar dos esforços para controlar a doença, sua ocorrência é frequente em campos de produção de brássicas, causando perdas expressivas na produção (WILLIAMS, 2007; SINGH; DHAR; YADAVA, 2011). O conhecimento dos nichos de sobrevivência e mecanismos de disseminação dos fitopatógenos são de extrema importância para o manejo de doenças (BROWN, 1997). Bactérias fitopatogênicas são capazes de sobreviver associadas a sementes ou estruturas vegetativas, no solo e em restos culturais (LEBEN, 1974; SCHUSTER; COYNE, 1974; GOTO, 1992). Em plantas cultivadas e daninhas, as bactérias podem colonizar os tecidos internos e causar danos com a presença de sintomas, assim como não causar nenhuma manifestação visível de doença, fenômeno conhecido como sobrevivência endofítica; as bactérias também podem sobreviver como epífitas, quando multiplicam na superfície das plantas sem infectá-las (BEATTIE; LINDOW, 1995; ROMEIRO, 2005; KUSARI; HERTWECK; SPITELLER, 2012). A disseminação das fitobactérias da fonte de inóculo para plantas saudáveis no campo ocorre através de agentes bióticos (homem, insetos, animais etc.) e abióticos (chuva, vento, enxurrada etc.), a curtas e longas distâncias (AGRIOS, 2005; ROMEIRO, 2005).

*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* pode sobreviver por até três anos em sementes de brássicas (GRIESBACH; LÖPTIEN; MIERSCH, 2003). No solo, experimentos realizados em condições de campo na Geórgia, EUA, comprovaram que a bactéria sobreviveu por 42 dias no inverno, porém, quando associada a restos vegetais de brássicas foi capaz de sobreviver 244 dias (SCHAAD; WHITE, 1974). Xcc pôde ser recuperada do solo 14 semanas após a colheita do repolho no Havai (ALVAREZ; CHO, 1978). A bactéria também foi detectada em caules de couve-de-bruxelas sob condições de campo, após 24 meses, na Holanda (KÖHL et al., 2011). Em experimentos conduzidos no Brasil, Xcc sobreviveu por apenas 7 dias como células livres no solo, porém em restos culturais de couve-flor sobreviveu por até 255 dias (SILVA JÚNIOR et al., 2020). Na rizosfera, área no solo entorno das raízes (VORHOLT, 2012), a bactéria foi capaz de sobreviver por até 28 dias em *Raphanus raphanistrum* (SILVA et al., 2017). A rizosfera de plantas hospedeiras, assim como

plantas cultivadas utilizadas em rotação com brássicas poderiam fornecer condições para a sobrevivência de Xcc por um longo período, porém até o momento, nenhum estudo foi realizado abordando o assunto.

As plantas daninhas são importantes reservatório de Xcc. Em levantamentos realizados em áreas agrícolas na Califórnia e Geórgia, EUA, Xcc foi isolada de plantas sintomáticas de *Brassica campestris* (mostarda), *Brassica geniculata* (mostarda-bastarda), *Brassica nigra* (mostarda-preta) e *Raphanus sativus* (nabo). A bactéria também foi isolada de plantas assintomáticas de *Lepidium virginicum* (mentruz), *Coronopus didymus* (mentruz-rasteiro) e *Cardaria pubescens* (SCHAAD; DIANESE, 1981). A filosfera, que compreende às superfícies das plantas acima do solo dominadas pelas folhas (VORHOLT, 2012; STONE; WEINGARTEN; JACKSON, 2018), é um importante nicho para a sobrevivência de Xcc. Na Geórgia, a bactéria foi detectada na filosfera de *Lepidium virginicum* (SCHAAD; DIANESE, 1981). Em um estudo recente, Xcc foi capaz de sobreviver por 56 e 70 dias na filosfera de *Lepidium virginicum* e *Raphanus raphanistrum*, respectivamente (SILVA et al., 2017). Culturas utilizadas em sucessão e rotação com brássicas também poderiam fornecer condições para sobrevivência de Xcc. Nos EUA, a bactéria foi recuperada da filosfera de plantas de alface 48 dias após a inoculação, no arroz, entretanto, a bactéria sobreviveu por apenas 9 dias (ARIAS; NELSON; ALVAREZ, 2000).

Com relação à disseminação de Xcc, à longas distâncias e em áreas ainda isentas da podridão negra, ocorre principalmente via sementes infectadas (MASSOMO et al., 2003). Respingos de chuva ou água de irrigação são responsáveis disseminar a bactéria em uma mesma planta, ou então, para plantas vizinhas no campo (KOCKS; ZADOKS; RUISSEN, 1999). Insetos desempenham importante papel na disseminação de bactérias (ZANDJANAKOU-TACHIN et al., 2007), porém para Xcc esse fato é pouco conhecido e estudado (VAN DER WOLF; VAN DER ZOUWEN, 2010). Um dos primeiros estudos foi realizado com o coleóptero *Phyllotreta cruciferae* (Coleoptera: Chrysomelidae), praga importante da cultura do repolho nos EUA, que apresentou limitado potencial para a disseminação de Xcc em experimentos realizados sob condições controladas (SHELTON; HUNTER, 1985). Resultados satisfatórios foram obtidos empregando-se a mosca polinizadora *Calliphora vomitoria* (Diptera: Calliphoridae). Moscas contaminadas com Xcc e mantidas em gaiolas contendo plantas saudáveis de couve-flor no período da floração resultaram em lotes de sementes com elevada incidência de Xcc (VAN DER WOLF;

VAN DER ZOUWEN, 2010). Para as condições brasileiras, até o momento, não foram realizados estudos abordando o assunto.

O conhecimento dos nichos de sobrevivência e a capacidade de disseminação de Xcc por insetos permitirá um manejo mais efetivo da podridão negra no Brasil. Práticas como a eliminação de plantas daninhas hospedeiras, incorporação de restos culturais, rotação de culturas com plantas que não favoreçam a sobrevivência da bactéria e o controle de insetos poderão contribuir para a redução do inóculo nos campos de cultivo e, conseqüentemente, reduzir a ocorrência frequente da podridão negra.

Este trabalho teve como objetivos: (I) identificar as plantas daninhas que podem favorecer a sobrevivência epifítica de Xcc em campos de cultivo de brássicas, assim como espécies hospedeiras da bactéria (II) avaliar o potencial de sobrevivência endofítica de Xcc em plantas daninhas mantidas em casa de vegetação; (III) avaliar a capacidade de sobrevivência de Xcc na filosfera e rizosfera de plantas cultivadas; (IV) avaliar a capacidade de sobrevivência de Xcc na rizosfera de plantas de repolho cultivadas em diferentes tipos de solo; (V) avaliar o potencial de disseminação de Xcc por *Bemisia tabaci* e *Myzus persicae* em condições controladas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos são de grande importância e poderão ser utilizados para o manejo mais efetivo da podridão negra em campos de produção de brássicas no Brasil. Xcc foi recuperada da filosfera de 25 espécies de plantas daninhas coletadas em campos de cultivo, sendo algumas também identificadas como hospedeiras sintomáticas ou favoráveis à colonização endofítica pela bactéria. O controle de *Amaranthus* spp., *Bidens* spp., *Commelina* spp., *Coronopus didymus*, *Cyperus* spp., *Emilia fosbergii*, *Galinsoga parviflora*, *Ipomoea* spp., *Leonurus sibiricus*, *Lepidium virginicum*, *Nicandra physalodes*, *Portulaca oleracea*, *Raphanus raphanistrum*, *Raphanus sativus*, *Solanum americanum* e *Sonchus oleraceus* é recomendado em campos de cultivo. Com relação às plantas cultivadas, abobrinha, cebolinha, crotalária, espinafre, milho e sorgo não demonstraram ser favoráveis à sobrevivência de Xcc na filosfera e rizosfera, e são indicadas em sistemas de rotação com brássicas. A baixa sobrevivência na rizosfera do repolho cultivado em diferentes solos, demonstrou que as propriedades físicas dos solos não influenciaram a sobrevivência de Xcc na rizosfera, mas sim o pH. Quanto à disseminação, considerando as condições em que os experimentos foram conduzidos, *B. tabaci* e *M. persicae* aparentemente não estão envolvidos na disseminação de Xcc em plantas de couve, mas de qualquer forma, o controle desses insetos é recomendado por serem pragas da cultura.

## REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5. ed. San Diego: Academic Press, 2005.
- ALVAREZ, A. M. Black rot of crucifers. *In*: SLUSARENKO, A. J.; FRASER, R. S. S.; VAN LOON, L. C. (ed.). **Mechanisms of resistance to plant diseases**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. cap. 1, p. 21-52.
- ALVAREZ, A. M.; CHO, J. J. Black Rot of cabbage in Hawaii: inoculum source and disease incidence. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 68, n. 10, p. 1456-1459, 1978.
- ANJUM, N. A. et al. **The plant family Brassicaceae**: contribution towards phytoremediation. 1. ed. Dordrecht: Springer Netherlands, 2012.
- ARIAS, R. S.; NELSON, S. C.; ALVAREZ, A. M. Effect of soil–matric potential and phylloplanes of rotation-crops on the survival of a bioluminescent *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. **European journal of plant pathology**, Dordrecht, v. 106, n. 2, p. 109-116, 2000.
- BEATTIE, G. A.; LINDOW, S. E. The secret life of foliar bacterial pathogens on leaves. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 33, p. 145-172, 1995.
- BROWN, J. F. Survival and dispersal of plant parasites: general concepts. *In*: BROWN, J. F.; OGLE, H. J. (ed.). **Plant Pathogens and Plant Diseases**. Armidale: Rockvale Publications, 1997. cap. 12, p. 195-206.
- FAOSTAT. **Statistical databases Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Roma, 2019. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/E>>. Acesso em: 18 out. 2019.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3. ed. Visoça: UFV, 2008.
- GOTO, M. **Fundamentals of Bacterial Plant Pathology**. San Diego: Academic Press, 1992.
- GRIESBACH, E.; LÖPTIEN, H.; MIERSCH, U. Resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson in cabbage *Brassica oleracea* L. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Heidelberg, v. 110, n. 5, p. 461-475, 2003.
- HORTIFRUTI. **Agrianual 2019**: Anuário estatístico da agricultura brasileira, São Paulo, p. 292-295, 2019.
- KOCKS, C. G.; ZADOKS, J. C.; RUISSSEN, M. A. Spatio-temporal development of black rot (*X. campestris* pv. *campestris*) in cabbage in relation to initial inoculum levels in field plots in The Netherlands. **Plant Pathology**, Chichester, v. 48, n. 2, p. 176-188, 1999.

KÖHL, J. et al. Survival of pathogens of Brussels sprouts (*Brassica oleracea* Gemmifera Group) in crop residues. **Plant Pathology**, Chichester, v. 60, n. 4, p. 661-670, 2011.

KUSARI, S.; HERTWECK, C.; SPITELLER, M. Chemical ecology of endophytic fungi: origins of secondary metabolites. **Chemistry & Biology**, Cambridge, v. 19, n. 7, p. 792-798, 2012.

LEBEN, C. **Survival of plant pathogenic bacteria**. Wooster: Ohio Agricultural Research and Development Center, 1974.

LEMA, M. et al. Screening for resistance to black rot in *Brassica oleracea* crops. **Plant breeding**, Berlin, v. 131, n. 5, p. 607-613, 2012.

MARINGONI, A. C. et al. Sintomas atípicos de podridão negra em folha de repolho. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 42, n. 2, p. 185-185, 2016.

MARINGONI, A. C.; SILVA JÚNIOR, T. A. F. Doenças das Brássicas. In: AMORIM, L. et al. (ed.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016. v. 2, cap. 19, p. 165-173.

MASSOMO, S. M. S. et al. Identification and characterisation of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* strains from Tanzania by pathogenicity tests, biolog, rep-PCR and fatty acid methyl ester analysis. **European journal of plant pathology**, Dordrecht, v. 109, n. 8, p. 775-789, 2003.

MICHEREFF, S. J. et al. Survey and prevalence of species causing *Alternaria* leaf spots on brassica species in Pernambuco. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 30, n. 2, p. 345-348, 2012.

ROMEIRO, S. R. Sobrevivência de bactérias fitopatogênicas e suas implicações. In: \_\_\_\_\_ . **Bactérias Fitopatogênicas**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2005. cap. 12, p. 257-291.

SCHAAD, N. W.; DIANESE, J. C. Cruciferous weeds as sources of inoculum of *Xanthomonas campestris* in black rot of crucifers. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 71, n. 11, p. 1215-1220, 1981.

SCHAAD, N. W.; WHITE, W. C. Survival of *Xanthomonas campestris* in soil. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 64, n. 12, p. 1518-1520, 1974.

SCHUSTER, M. L.; COYNE, D. P. Survival mechanisms of phytopathogenic bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 12, n. 1, p. 199-221, 1974.

SHELTON, A. M.; HUNTER, J. E. Evaluation of the potential of the flea beetle *Phyllotreta cruciferae* to transmit *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, causal agent of black rot of crucifers. **Canadian Journal of Plant Pathology**, New York, v. 7, n. 3, p. 308-310, 1985.

SILVA, J. C. et al. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in the phyllosphere and rhizosphere of weeds. **Plant Pathology**, Chichester, v. 66, n. 9, p. 1517-1526, 2017.

SILVA JÚNIOR, T. A. F. et al. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* associated with soil and cauliflower crop debris under Brazilian conditions. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 156, n. 2, p. 399-411, 2020.

SINGH, D.; DHAR, S.; YADAVA, D. K. Genetic and pathogenic variability of Indian strains of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* causing black rot disease in crucifers. **Current microbiology**, New York, v. 63, n. 6, p. 551, 2011.

STONE, B. W. G.; WEINGARTEN, E. A.; JACKSON, C. R. The role of the phyllosphere microbiome in plant health and function. **Annual Plant Reviews**, Chichester, v. 1, n. 2, p. 533-556, 2018.

VAN DER WOLF, J. M.; VAN DER ZOUWEN, P. S. Colonization of cauliflower blossom (*Brassica oleracea*) by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, via flies (*Calliphora vomitoria*) can result in seed infestation. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 158, n. 11-12, p. 726-732, 2010.

VICENTE, J. G.; HOLUB, E. B. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (cause of black rot of crucifers) in the genomic era is still a worldwide threat to brassica crops. **Molecular Plant Pathology**, Chichester, v. 14, n. 1, p. 2-18, 2013.

VORHOLT, J. A. Microbial life in the phyllosphere. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 10, n. 12, p. 828-840, 2012.

WARWICK, S. I. Brassicaceae in Agriculture. In: SCHMIDT, R.; BANCROFT, I. **Genetics and Genomics of the Brassicaceae**. 1. ed. New York: Springer, 2011. v. 9, cap. 2, p. 33-65.

WILLIAMS, P. H. Black rot: a continuing threat to world crucifers. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 64, n. 8, p. 736-742, 1980.

WILLIAMS, P. H. Infectious Diseases. In: RIMMER, S. R.; SHATTUCK, V. I.; BUCHWALDT, L. (ed.). **Compendium of brassica diseases**. Saint Paul: APS Press, 2007. p. 60-62.

ZANDJANAKOU-TACHIN, M. et al. Detection, survival and transmission of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* and *X. axonopodis* pv. *vignicola*, causal agents of cassava and cowpea bacterial blight, respectively, in/by insect vectors. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 155, n. 3, p. 159-169, 2007.