

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CAMPUS DE BOTUCATU

**SOBREVIVÊNCIA DE *Xanthomonas campestris* PV. *campestris* NO  
SOLO, NO FILOPLANO E NA RIZOSFERA DE PLANTAS  
DANINHAS**

JOÃO CÉSAR DA SILVA

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU – SP

Novembro – 2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CAMPUS DE BOTUCATU

**SOBREVIVÊNCIA DE *Xanthomonas campestris* PV. *campestris* NO  
SOLO, NO FILOPLANO E NA RIZOSFERA DE PLANTAS  
DANINHAS**

JOÃO CÉSAR DA SILVA

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Maringoni  
Co-orientador: Prof. Dr. Tadeu Antônio Fernandes da Silva Júnior

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU – SP  
Novembro – 2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Silva, João César da, 1991-  
S586s      Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*  
no solo, no filoplano e na rizosfera de plantas daninhas /  
João César da Silva. - Botucatu : [s.n.], 2015  
x, 62 f.: fots. color., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2015  
Orientador: Antonio Carlos Maringoni  
Coorientador: Tadeu Antônio Fernandes da Silva Júnior  
Inclui bibliografia

1. *Xanthomonas campestris*. 2. Plantas invasoras. 3. Solos. 4. Bactérias. 5. Fitopatologia. I. Maringoni, Antonio Carlos. II. Silva Júnior, Tadeu Antônio Fernandes da. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. IV. Título.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
CAMPUS DE BOTUCATU  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS DE BOTUCATU

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO:** SOBREVIVÊNCIA DE *Xanthomonas campestris* PV. *campestris* NO SOLO, NO FILOPLANO E NA RIZOSFERA DE PLANTAS DANINHAS

**AUTOR:** JOÃO CÉSAR DA SILVA

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. ANTONIO CARLOS MARINGONI

**CO-ORIENTADOR:** Prof. Dr. TADEU ANTÔNIO FERNANDES DA SILVA JÚNIOR

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

Prof. Dr. ANTONIO CARLOS MARINGONI  
Dep de Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu

Prof. Dr. LUÍS OTAVIO SAGGION BERIAM  
Setor de Bactérias Fitopatogênicas - Instituto Biológico de Campinas

Profa. Dra. RENATE KRAUSE SAKATE  
Dep de Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu

Data da realização: 27 de novembro de 2015.

*“Seu trabalho vai preencher uma parte grande da sua vida, e a única maneira de ficar realmente satisfeito é fazer o que você acredita ser um ótimo trabalho. E a única maneira de fazer um excelente trabalho é amar o que você faz. ”*

*Steve Jobs*

Aos meus pais Juarez e Ivonete, a meu irmão André e a minha avó Alzira.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Ao meu bom Deus que ilumina meu caminho;

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

Ao meu irmão André Luiz da Silva, sua namorada Bruna Stephanie Rossi Soares e a minha avó Alzira Mantovani Lourencetti, pelo apoio e incentivo;

Aos meus avós Agenor Lourencetti, Elisiário Francolino da Silva e Mariana Rosa da Silva (*in memorian*), 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 co-orientador Tadeu Antônio Fernandes da Silva Júnior, pela amizade, ensinamentos, incentivo e pela grande contribuição na realização desse trabalho;

A todos os professores do Departamento de Proteção Vegetal, em especial a professora Renate Krause Sakate, pela amizade, apoio e ensinamentos;

Aos amigos do Laboratório de Bacteriologia Vegetal, Ricardo Marcelo Gonçalves e José Marcelo Soman, pela ajuda na realização dos trabalhos, pelas opiniões e conselhos;

A todos os amigos da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Bruna Favetti, Bruno de Marchi, Cristiana Araújo, Daiana Bampi, David Spadotti, Djanira Negrão, Érika Correia, Evelynne Urzedo, Guilherme Gotardi, Isabela Seixo, Júlio Marubayashi, Laís Fontana, Letícia Moraes, Leysimar Pitzr, Luis Watanabe, Martha Passador, Milena Leite, Mônica Fecury, Paula Leite e Vinicius Bello, obrigado pela grande amizade, apoio, ensinamentos, companhia e pela ajuda muitas vezes prestada;

Aos estagiários, Bianca Gêa, Bruna Faria, Marcos Roberto, Thiago Tomasini e Thiago Benetom, pela amizade, momentos compartilhados e pela ajuda imprescindível;

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

Aos amigos de longa data, Alisson Fernando, Gilson Pereira, Diego Frutuoso e Lilian Utraga, pela amizade e companhia em todos os momentos;

À Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” por todo o apoio institucional e disponibilidade da estrutura;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de Mestrado;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro da presente pesquisa.



## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
LISTA DE TABELAS .....	IX
LISTA DE FIGURAS .....	X
1 RESUMO .....	1
2 SUMMARY .....	3
3 INTRODUÇÃO.....	4
4 REVISÃO DE LITERATURA .....	6
4.1 Podridão negra das brássicas .....	6
4.2 Sobrevivência de bactérias fitopatogênicas do gênero <i>Xanthomonas</i> no solo, com ênfase em <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> .....	11
4.3 Sobrevivência de bactérias fitopatogênicas do gênero <i>Xanthomonas</i> associadas ao filoplano de plantas daninhas.....	14
4.4 Sobrevivência de bactérias fitopatogênicas associadas a rizosfera de plantas daninhas .....	18
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
5.1 Isolado bacteriano, condição de cultivo e preservação.....	21
5.2 Sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> no solo em condições de campo.....	22
5.2.1 Épocas de instalação dos experimentos .....	22
5.2.2 Área experimental e amostragem do solo .....	22
5.2.3 Processamento das amostras de solo coletadas.....	23
5.3 Sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> no solo em condições controladas .....	23
5.3.1 Amostragem do solo .....	23
5.3.2 Instalação do experimento, delineamento experimental e processamento das amostras de solo coletadas .....	24
5.4 Sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> no filoplano e rizosfera de plantas daninhas .....	25
5.4.1 Obtenção das plantas daninhas.....	25
5.4.2 Épocas de instalação dos experimentos .....	25
5.4.3 Instalação dos experimentos e processamento das amostras .....	26

5.4.4 Preservação e caracterização dos isolados bacterianos .....	28
6 RESULTADOS .....	29
6.1 Sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> no solo em condições de campo .....	29
6.2 Sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> no solo em condições controladas .....	31
6.3 Sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> no filoplano e rizosfera de plantas daninhas .....	31
6.3.1 Caracterização dos isolados bacterianos .....	36
7 DISCUSSÃO .....	39
7.1 Sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> no solo em condições de campo e controladas .....	39
7.2 Sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> no filoplano e rizosfera de plantas daninhas .....	41
8 CONCLUSÕES .....	45
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	46
APÊNDICE .....	56

## LISTA DE TABELAS

	<b>Página</b>
Tabela 1. Propriedades físico-químicas dos solos utilizados nos experimentos de sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> .....	24
Tabela 2. Plantas daninhas utilizadas na avaliação da capacidade de sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> no filoplano e rizosfera (Experimento 1). .....	27
Tabela 3. Plantas daninhas utilizadas na avaliação da capacidade de sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> no filoplano e rizosfera (Experimento 2). .....	27
Tabela 4. Plantas daninhas utilizadas na avaliação da capacidade de sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> no filoplano e rizosfera (Experimento 3). .....	27
Tabela 5. Dinâmica populacional do isolado 3098C de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> (ufc/g de solo seco) associado ao solo sob condições de campo em cinco experimentos durante o ano de 2014. ....	30
Tabela 6. Temperatura máxima e mínima (°C), precipitação (mm) e umidade do solo (%) em diferentes períodos, durante a condução dos experimentos de sobrevivência do isolado 3098C de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> no solo sob condições de campo. ....	30
Tabela 7. Dinâmica populacional do isolado 3098C de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> (ufc/g de solo seco) associado ao solo sob condições controladas. ....	31
Tabela 8. Períodos de sobrevivência do isolado 3098C de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> em dias, após a inoculação do filoplano e rizosfera de plantas daninhas.....	32
Tabela 9. Temperatura máxima e mínima (°C), umidade do solo (%), precipitação (mm), e umidade relativa (%) em diferentes períodos, durante a condução do experimento de sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> no filoplano e rizosfera de plantas daninhas (Experimento 1). ....	34
Tabela 10. Temperatura máxima e mínima (°C), umidade do solo (%), precipitação (mm), e umidade relativa (%) em diferentes períodos, durante a condução do experimento de sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> no filoplano e rizosfera de plantas daninhas (Experimento 2). ....	35
Tabela 11. Temperatura máxima e mínima (°C), umidade do solo (%), precipitação (mm) e umidade relativa (%) em diferentes períodos, durante a condução do experimento de sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> no filoplano e rizosfera de plantas daninhas (Experimento 3). ....	36

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Página</b>
Figura 1. Hidrólise positiva de amido para <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> , a partir do filoplano de <i>Cyperus rotundus</i> (T1) e <i>Raphanus raphanistrum</i> (T2).....	37
Figura 2. Teste de patogenicidade em folhas destacadas de couve. T- Testemunha negativa; <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> provenientes de plantas daninhas inoculadas; T1 – <i>Cyperus rotundus</i> ; T2 – <i>Raphanus raphanistrum</i> ; T3 – <i>Sonchus oleraceus</i> ; T4 – <i>Lepidium virginicum</i> ; T5 – <i>Senna obtusifolia</i> ; T6 – <i>Physalis angulata</i> ; T7 – <i>Portulaca oleraceae</i> ; T8 – <i>Amaranthus viridis</i> ; T9 – <i>Conyza bonariensis</i> . .....	37
Figura 3. Eletroforese em gel de agarose 1% resultante das ampliações dos isolados de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> utilizando iniciadores específicos. MM - Marcador Molecular, 1Kb Plus Invitrogen®; CP - Controle positivo, isolado 3098C; CN- Controle negativo; <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> provenientes de plantas inoculadas; T1 – <i>Cyperus rotundus</i> ; T2 – <i>Raphanus raphanistrum</i> ; T3 – <i>Sonchus oleraceus</i> ; T4 – <i>Lepidium virginicum</i> ; T5 – <i>Senna obtusifolia</i> ; T6 – <i>Physalis angulata</i> ; T7 – <i>Portulaca oleraceae</i> ; T8 – <i>Amaranthus viridis</i> ; T9 – <i>Conyza bonariensis</i> ; T10 – <i>Commelina benghalensis</i> .....	38

## **1 RESUMO**

A podridão negra, incitada por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc), é considerada a doença bacteriana mais destrutiva das brássicas em muitos países, podendo promover consideráveis reduções na produtividade. O estudo dos nichos ecológicos de sobrevivência de bactérias fitopatogênicas possui grande importância no manejo de fitobacterioses, uma vez que uma pequena quantidade de inóculo sobrevivente entre os ciclos de cultivo pode ser suficiente para iniciar uma nova epidemia no campo. Baseado nisso, o presente trabalho avaliou a sobrevivência de Xcc em diferentes ensaios, através da utilização do isolado 3098C de Xcc resistente a 100 µg/mL de rifampicina. A sobrevivência de Xcc na forma de células livres no solo foi avaliada em cinco experimentos, desenvolvidos em condições de campo, entre maio e agosto de 2014. Em condições controladas, foram utilizados seis tipos de solo, amostrados de diferentes áreas com cultivo ou não de brássicas. A colonização do filoplano e rizosfera de 26 espécies de plantas daninhas por Xcc também foi avaliada em experimentos de campo, entre agosto de 2014 a outubro de 2015. Nos experimentos de campo, Xcc sobreviveu entre 4 e 7 dias no solo, sendo influenciada diretamente pela temperatura e umidade, ocorridas durante os experimentos. Em condições controladas, a bactéria sobreviveu de 10 a 24 dias, sendo esses períodos influenciados pela textura, pH e teor de matéria orgânica em cada tipo de

solo. Na rizosfera das plantas daninhas, Xcc apresentou baixa capacidade de sobrevivência, tendo sobrevivido por no máximo 28 dias em *Raphanus raphanistrum*. No filoplano, Xcc foi capaz de sobreviver por mais de 42 dias em *Lepidium virginicum*, e por até 70 dias em *Raphanus raphanistrum*. Plantas daninhas das famílias Poaceae e Amaranthaceae não demonstraram potencial para a sobrevivência epifítica de Xcc.

**Palavras-chave:** Podridão negra, sobrevivência, solo, plantas invasoras.

SURVIVAL OF *Xanthomonas campestris* PV. *campestris* IN SOIL, PHYLLOPLANE AND RHIZOSPHERE OF WEEDS. Botucatu, 2015. 62 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual “Julio de Mesquita Filho” – UNESP.

Author: JOÃO CÉSAR DA SILVA

Adviser: Prof. Dr. ANTONIO CARLOS MARINGONI

Co-Adviser: Prof. Dr. TADEU ANTÔNIO FERNANDES DA SILVA JÚNIOR

## 2 SUMMARY

Black rot, incited by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc), is the most destructive bacterial disease of brassicas in many countries, and can promote substantial reductions in productivity. The study of survival ecological niches of phytopathogenic bacteria has great importance in the management of plant bacteriosis, since a small amount of inoculum surviving among the cultivation cycle may be sufficient to initiate a new outbreak in the field. Based on this, this study evaluated the survival of Xcc in different experiments using Xcc strain 3098C, resistant to 100 µg/mL of rifampicin. The survival of Xcc as free cells in the soil was evaluated in five experiments, carried out in field conditions, between May and August, 2014. Under controlled conditions, six types of soil were used, sampled from different areas, with or without brassicas cultivation. The colonization of phylloplane and rhizosphere of 26 weed species by Xcc was also evaluated in field experiments, between August, 2014 and October, 2015. In field experiments, Xcc survived between 4 and 7 days in the soil, being directly influenced by temperature and humidity that occurred during the experiments. Under controlled conditions, the bacteria survived for 10 to 24 days, and these periods were influenced by texture, pH and organic matter content in each soil type. In weeds rhizosphere, Xcc had low capacity to survive, at most 28 days on *Raphanus raphanistrum*. In phylloplane, Xcc survived more than 42 days in *Lepidium virginicum*, and up to 70 days in *Raphanus raphanistrum*. Weeds from Amaranthaceae and Poaceae families did not show potential for the epiphytic survival of Xcc.

**Keywords:** Black rot, survival, soil, invasive plants.

### 3 INTRODUÇÃO

A família Brassicaceae inclui muitas espécies hortícolas de grande importância econômica. Dentre elas, *Brassica oleracea* L. var. *capitata* (repolho), *B. oleracea* L. var. *italica* (brócolis), *B. oleracea* L. var. *botrytis* (couve-flor), *B. oleracea* L. var. *acephala* (couve-de-folha), *B. oleracea* L. var. *trunchuda* (couve-trunchuda), *B. oleracea* L. var. *gemmifera* (couve-de-bruxelas), *B. rapa* L. var. *pekinensis* (couve-chinesa), *B. juncea* L. (mostarda) e *Raphanus sativus* L. (rabanete) são as mais cultivadas (DIXON, 2006; MICHEREFF et al., 2012). A produção mundial de brássicas na safra de 2013 foi de aproximadamente 94 milhões de toneladas, ocupando uma área de 3,7 milhões de hectares (FAO, 2015). No Brasil foram produzidas mais de 87 mil toneladas nesse período, destacando-se os cultivos de brócolis, couve, couve-flor e repolho (HORTIFRUTI, 2015).

Entre os fatores que afetam a produtividade, a ocorrência de doenças possui significativa importância, principalmente bacterioses como a podridão negra, incitada por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc). Essa doença que apresenta distribuição mundial é responsável por debilitar a planta, podendo conduzi-la à morte em regiões quentes e úmidas, principalmente se a cultivar for extremamente suscetível. Em regiões temperadas e costeiras, as lesões amarelas cloróticas em formato



“V” nas margens das folhas, típicas da doença, depreciam o produto comercializado em folhas frescas, causando redução do seu valor no mercado. O controle dessa bacteriose é difícil e depende do emprego de material propagativo sadio para plantio isento do patógeno, a eliminação de fontes de inóculo e o emprego de cultivares resistentes.

Para a eliminação de fontes de inóculo é necessário conhecer os nichos de sobrevivência do agente causal, uma vez, que uma pequena quantidade de inóculo sobrevivente entre os ciclos de cultivo pode ser suficiente para que inicie a epidemia no campo. Bactérias fitopatogênicas podem sobreviver associadas a sementes, plantas hospedeiras perenes ou estruturas propagativas, insetos, resíduos vegetais, no solo como populações residentes, na superfície ou interior de plantas cultivadas ou plantas daninhas (SCHUSTER; COYNE, 1974; OKECHUKWU; EKPO, 2008).

No Brasil, há poucos estudos sobre ecologia de bactérias fitopatogênicas, e até o presente momento não foram publicados trabalhos referentes aos nichos de sobrevivência de Xcc. Dessa maneira, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a capacidade de sobrevivência de Xcc no solo, sob condições de campo e controladas, assim como também, no filoplano e rizosfera de plantas daninhas, sob condições de campo, trabalho esse, que contribuirá para que novas práticas sejam adotadas para o manejo mais eficiente da podridão negra nas condições brasileiras.

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 Podridão negra das brássicas

A podridão negra, causada por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson (Xcc), foi descrita pela primeira vez por Garman em 1890, como uma doença de repolho em Lexington, Kentucky (ALVAREZ, 2000). Em 1895, Pammel comprovou a natureza parasitaria da doença, atribuindo o nome de *Bacillus campestris* à bactéria que estava causando doença em couve-nabo e nabo no estado de Iowa, EUA (VICENTE; HOLUB, 2013). Russell, na década de 1890, também concluiu que essa bactéria era a responsável por destruir campos de repolho ao Sudeste Wisconsin (WILLIAMS, 1980). Desde então, esta doença tem sido relatada em todas as regiões do mundo onde se cultivam brassicáceas (ALVAREZ; CHO, 1978; SCHAAD; THAVEECHAI, 1983; MASSOMO et al., 2003; MIRIK et al., 2008; JENSEN et al., 2010; POPOVIĆ et al., 2013).

Segundo Bradbury (1986) e Alvarez (2000), a podridão negra é mais frequente em *Brassica oleracea* (incluindo repolho, brócolis, couve, couve-flor e couve-de-bruxelas), mas também ocorre em rabanete, brássicas ornamentais, plantas daninhas e *Arabidopsis thaliana*. Quanto às condições climáticas, assim como em muitas

doenças bacterianas, a podridão negra se desenvolve em climas quentes e úmidos, sendo mais problemática nas regiões tropicais, subtropicais e continentais úmidas. Em climas frios essa doença também ocorre, porém raramente evolui a ponto de destruir toda a planta (WILLIAMS, 2007).

Os sintomas da podridão negra podem ser observados em qualquer estágio fenológico da planta. No campo, é possível observar a formação de lesões amareladas em formato de “V”, com o vértice voltado para a nervura central da folha, comumente associadas à presença da bactéria e a goma xantana, que obstruem os vasos do xilema e restringem o fluxo de água (WILLIAMS, 1980; ALVAREZ, 2000; MARINGONI, 2005). O escurecimento das nervuras também pode ser observado, resultante da colonização do sistema vascular (WILLIAMS, 2007). Os tecidos afetados podem tornar-se necróticos e as folhas podem cair prematuramente (VICENTE; HOLUB, 2013). Em alguns casos, pode ser observado subdesenvolvimento, murcha e o apodrecimento das plantas afetadas em infecções causadas por outras espécies bacterianas como *Pectobacterium carotovorum* ou *Pseudomonas marginalis* (WILLIAMS, 1980; ALVAREZ, 2000; MARINGONI, 2005). Schaad (1982) complementa que os sintomas da podridão negra podem muitas vezes serem mascarados. A ocorrência de míldio em brássicas, por exemplo, dificulta a observação dos sintomas da podridão negra. Plantas de repolho jovens em estágio vegetativo melhor expressam os sintomas da doença do que plantas em floração. Temperaturas baixas contribuem para infecções latentes, onde a bactéria persiste no sistema vascular sem produzir sintomas.

De acordo com Kado (2010) e Lugo et al. (2013), Xcc é um bastonete Gram-negativo, aeróbico obrigatório, que se movimenta por meio de um único flagelo polar. Em meio de cultura produz colônias amarelas, mucoides e brilhantes (VAUTERIN et al., 1995). A coloração amarela, típica do gênero *Xanthomonas*, deve-se à presença de um pigmento denominado xanthomonadina (STARR; STEPHENS, 1964; HE et al., 2011), que possui importante papel na aptidão ecológica da bactéria, protegendo-a do estresse foto-oxidativo (POPLAWSKY et al., 2000; VICENTE; HOLUB, 2013). As colônias mucóides ou viscosas, devem-se ao exopolissacarídeo xantana (EPSs) (VAUTERIN et al., 1995), importante na agressividade (KATZEN et al., 1998) e na sobrevivência epifítica (POPLAWSKY; CHUN, 1998; RIGANO et al., 2007). Dados recentes sugerem que xantana não é necessária para a patogenicidade (DUNGER et al., 2007; VORHÖLTER et al., 2008).

*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* possui vários nichos de sobrevivência, como sementes, podendo ser encontradas alojadas em seu interior e/ou superfície (GRIESBACH et al., 2003; MARINGONI, 2005), solo, como células livres (LÓPEZ et al., 1999; ARIAS et al., 2000), restos culturais de plantas doentes (SCHAAD; WHITE, 1974; SCHULTZ; GABRIELSON, 1986), plantas daninhas (SCHAAD; DIANESE, 1981; KUAN et al., 1986), e plantas remanescentes no campo (MARINGONI, 2005). A bactéria também pode sobreviver de forma epifítica na superfície da planta hospedeira, plantas não hospedeiras como tomate e alface, e plantas daninhas (TIMMER et al., 1987; DANE; SHAW, 1996; ARIAS et al., 2000). Quanto à disseminação do patógeno, à curta distância ocorre por respingos de água da chuva e irrigação, aerossóis, insetos e máquinas contaminadas; à longa distância é realizada por sementes ou mudas infectadas (ALVAREZ, 2000; KOCKS et al., 1999; GRIESBACH et al., 2003; MARINGONI, 2005; VAN DER WOLF; VAN DER ZOUWEN, 2010; KRAUTHAUSEN et al., 2011).

A penetração da bactéria na planta ocorre principalmente por meio dos hidatódios, aberturas naturais localizadas nas margens das folhas (MEIER, 1934; VICENTE; HOLUB, 2013). Por essas estruturas a água no estado líquido é eliminada, acumulando-se na forma de gotas nas bordas das folhas. Esse fenômeno chamado “gutação”, normalmente ocorre no início da manhã, quando o solo está úmido e a transpiração reduzida (HUANG, 1986; HUGOUVIEUX et al., 1998). Gotas contaminadas com a bactéria epífita podem ser reabsorvidas pela folha, levando consigo a bactéria em suspensão para cavidade dos hidatódios e para dentro do sistema vascular (BRETSCHNEIDER et al., 1989; HUGOUVIEUX et al., 1998). O patógeno também pode penetrar pelos estômatos, raízes e ferimentos (SHELTON; HUNTER, 1985; ALVAREZ, 2000; GUDESBLAT et al., 2009; LUGO et al., 2013). Cook et al. (1952), citados por Vicente e Holub (2013), complementam que os estômatos não são importantes para infecção de Xcc, pois, ainda que a bactéria penetre por estas estruturas e cause pequenas manchas escuras, não é capaz de colonizar os tecidos circundantes.

Após penetrar pelos hidatódios, Xcc é capaz de colonizar os vasos de xilema da planta suscetível (GAY; TUZUN, 2000; GRIESBACH et al., 2003). Zoller (1972), citado por Gay e Tuzun (2000), complementam que o movimento bacteriano pelos tecidos da planta ocorre por difusão passiva, pois Xcc perde a mobilidade dentro do tecido vegetal. Temperaturas (25 - 35 °C) e umidade relativa elevadas (80 - 100 %) contribuem para a colonização do sistema vascular e produção de elevadas quantidades de goma

xantana, levando ao aparecimento do sintoma em “V”, típico da doença (WILLIAMS, 1980; GRIESBACH et al., 2003). O tempo estimado para o aparecimento dos sintomas da podridão negra, nestas condições, é de 10 a 14 dias após a penetração da bactéria no tecido (WILLIAMS, 1980).

O controle da podridão negra é realizado por meio de práticas de manejo e saneamento, que incluem a rotação de culturas, a remoção de resíduos de brássicas, a eliminação de plantas daninhas, o tratamento de sementes, o emprego de sementes livres de Xcc e o uso de cultivares resistentes (GRIESBACH et al., 2003; VICENTE; HOLUB, 2013). Arias et al. (2000) ao avaliarem a capacidade de sobrevivência de Xcc associada ao filoplano de plantas cultivadas utilizadas em rotação com repolho, concluíram que as espécies a serem empregadas na rotação devem ser selecionadas de modo a contribuírem para redução da persistência do patógeno no campo, já que a bactéria foi capaz de sobreviver por 48 dias em couve, mostarda e alface, mas por apenas 9 dias em arroz.

O tempo de rotação é variável, pois dependendo das condições ambientais, a bactéria pode sobreviver por um longo período no solo quando associada a restos culturais de brássicas (WILLIAMS, 1980; SCHULTZ; GABRIELSON; 1986; KOCKS et al., 1998; ARIAS et al., 2000). Schaad e White (1974) estimaram que Xcc seria capaz de sobreviver por até 615 dias em resíduos de repolho no solo, sob as condições da Georgia, EUA, sendo a rotação de culturas sugerida por dois anos. Na Holanda, experimentos conduzidos por Kocks et al. (1998) indicaram que o cultivo de repolho pode ser realizado sem a rotação de culturas, desde que o resíduo da colheita seja desintegrado e incorporado ao solo, com tempo suficiente para se decompor. Maringoni (2005) recomenda a eliminação total dos resíduos culturais por meio da aração profunda, podendo também ser empregado na eliminação de plantas voluntárias e plantas daninhas hospedeiras do patógeno. Além, da eliminação de plantas daninhas pertencentes à família Brassicaceae, Schaad e Dianese (1981) recomendam evitar o plantio de mudas e sementes de brássicas em áreas altamente infestadas com plantas daninhas dessa família botânica.

O uso de sementes livres de Xcc é uma prática indispensável no controle da podridão negra (WILLIAMS, 1980; MARINGONI, 2005). Sementes infectadas são importantes fontes de inóculo para epidemias, mesmo que a taxa de infecção seja baixa (ROBERTS et al., 1999; KRAUTHAUSEN et al., 2011). No EUA, Reino Unido e na Europa, adota-se 0,01% como nível de tolerância de infecção em sementes de

brássicas (ROBERTS et al., 1999; MARINGONI, 2005). Além da alta taxa de transmissão, à bactéria pode sobreviver por até três anos associada às sementes (CLAYTON 1925, citado por GRIESBACH et al., 2003). O tratamento de sementes de brássicas através de métodos físicos e produtos químicos, podem ser empregados na erradicação de Xcc, no entanto, nenhum tratamento é totalmente eficaz (VICENTE; HOLUB, 2013).

O desenvolvimento e utilização de cultivares resistentes à podridão negra têm sido foco de inúmeras pesquisas no mundo, sendo reconhecido como importante método de controle, mas que na prática tem apresentado sucesso limitado. A maioria dos estudos concentram-se em *B. oleracea*, porém um número reduzido de fontes úteis de resistência foram encontradas nessa espécie (TAYLOR, 2002; VICENTE; HOLUB, 2013). Os genótipos relatados em sua maioria apresentam resistência de raça-não-específica, incluindo a cultivar de repolho Fuji Precoce, o repolho acesso PI 436.606 (cv. He Yeh da Ping Tou) e suas linhagens derivadas, amplamente utilizadas no melhoramento do repolho (TAYLOR, 2002; LEMA et al., 2012; VICENTE; HOLUB, 2013). Segundo Lema (2012) a resistência de raça-não-específica é parcial e quantitativa, sendo dependente da ação combinada de vários genes com pequeno efeito, que apesar de normalmente ser mais durável, é incompleta e também mais difícil de gerir e fazer a transferência entre cultivares. Nove raças de Xcc foram descritas, o que dificulta ainda mais a obtenção de cultivares resistentes (VICENTE et al., 2001; FARGIER; MANCEAU, 2007). Fontes mais comuns e potencialmente úteis de resistência de raça específica estão sendo identificadas em outras espécies de brássicas, como *B. carinata*, *B. juncea*, *B. napus*, *B. nigra* e *B. rapa* (LEMA et al., 2012). Genes presentes nessas espécies poderiam potencialmente fornecer um controle durável da podridão negra em genótipos suscetíveis (VICENTE; HOLUB, 2013). No Brasil, há descrição de alguns cultivares/híbridos comerciais que apresentam bons níveis de resistência a Xcc tais como: repolho (esmeralda, fênix, fuyutoyo, green valley, klabish), brócolis (hanabi, ramoso Brasília) e couve-flor (HT 116, juliana, sarah, sharon, verediana), conforme algumas empresas que comercializam sementes no país (HORTEC, 2015; ISLA, 2015; SAKATA, 2015; SYNGENTA, 2015).

#### **4.2 Sobrevivência de bactérias fitopatogênicas do gênero *Xanthomonas* no solo, com ênfase em *Xanthomonas campestris* pv. *campestris***

As bactérias fitopatogênicas podem sobreviver entre as estações de cultivo no solo como células livres ou associadas ao tecido de plantas mortas (HABTE; ALEXANDER, 1975; LEBEN, 1981). Bactérias pertencentes ao gênero *Xanthomonas* são pouco adaptadas à sobrevivência no solo, desta maneira, necessitam da proteção e alimento proporcionado pelo tecido da planta infectada. A sobrevivência no solo torna-se dependente da quantidade desse substrato. Em muitas situações o tecido vegetal é suficiente apenas para manter o patógeno durante o inverno e raramente permite a sobrevivência por mais de dois anos (MENZIES, 1963; HIRANO; UPPER, 1983). Schaad e White (1974) ao avaliarem a capacidade de sobrevivência de Xcc no solo sob as condições da Georgia, verificaram que a bactéria sobreviveu por pouco tempo quando separada do hospedeiro, apenas 14 dias no verão e 42 dias no inverno. Quando protegida pelo tecido do caule de repolho, a bactéria foi capaz de sobreviver por até 244 dias.

Segundo Schuster e Coyne (1974), uma das explicações para a baixa capacidade de sobrevivência das bactérias no solo é a atuação da microflora antagonista. Habte e Alexander (1975) esclarecem essa afirmação ao comparar a persistência de Xcc em solo esterilizado e solo não esterilizado. Em solo esterilizado a população do patógeno, apesar de uma ligeira queda no sexto dia, se manteve constante durante os 12 dias do período avaliado. Já em solo não esterilizado, a população do patógeno sofreu acentuado declínio durante o período avaliado, podendo ser explicado devido à existência de organismos antagonistas responsáveis pela eliminação significativa de células de Xcc.

López et al. (1999) empregando um isolado de Xcc selvagem e derivados mutantes deficientes em exopolissacarídeo (Eps<sup>-</sup>) e protease extracelular (Prt<sup>-</sup>), avaliaram se a sobrevivência da bactéria no microcosmo do solo era dependente destas duas características. Como resultados, observaram que em microcosmo do solo esterilizado o período de sobrevivência do isolado selvagem foi maior quando comparado ao isolado mutante em Eps<sup>-</sup>. Já para o isolado mutante em Prt<sup>-</sup>, não houve diferença na capacidade de sobrevivência em relação ao isolado selvagem. Em solo não esterilizado, os isolados mutantes (Prt<sup>-</sup> e Eps<sup>-</sup>) sobreviveram de forma menos eficiente que o isolado selvagem,

comprovando a hipótese de que essas duas características são essenciais para a sobrevivência, permitindo a bactéria competir com os microrganismos do solo.

Diferentes microrganismos podem atuar na redução da população de bactérias fitopatogênicas no solo como actinobactérias, fungos, bacteriófagos protozoários e outras bactérias (HABTE; ALEXANDER, 1975; SIGEE, 1993). Habte e Alexander (1977) verificaram que o protozoário *Paramecium* sp. foi essencial na regulação de Xcc no solo. A população bacteriana foi consideravelmente reduzida após ser introduzida no solo em que havia a presença do protozoário. Romeiro (2011) argumenta que o solo é composto por uma comunidade biológica complexa, onde os microrganismos que nela coabitam competem entre si por nichos ecológicos, água, nutrientes e, muitas das vezes, produzem, substâncias antimicrobianas como antibióticos e bacteriocinas.

Segundo Menzies (1963), apesar dos microrganismos do solo e a disponibilidade de alimentos serem os principais fatores que influenciam a sobrevivência bacteriana, outros fatores, como teor de matéria orgânica, umidade, temperatura e aeração, também são considerados importantes, podendo influenciar na sobrevivência das bactérias não apenas no solo, como em outros substratos. Em relação à matéria orgânica, a influência exercida na sobrevivência dos patógenos, se dá de maneira direta, afetando o suprimento de alimento, ou de maneira indireta, por meio da competitividade exercida entre os microrganismos. Disckey (1961), citado por Schuster e Coyne (1974), complementam que o incremento de matéria orgânica ao solo tende a aumentar a população de microrganismos antagônicos e reduzir a população de bactérias fitopatogênicas.

A temperatura possui efeito pronunciado na sobrevivência de bactérias no solo, como observado por Srivastava e Bais (1987) ao avaliarem a capacidade de sobrevivência de *X. campestris pv. glycines* no solo, sob condições controladas. A bactéria sobreviveu por um período maior em temperaturas mais baixas (6 a 8 °C) por até 60 dias, em solo autoclavado, e 30 dias, em solo não autoclavado. Em temperaturas mais elevadas (14 a 40 °C), a sobrevivência foi menor, sendo 30 dias em solo autoclavado e 10 dias em solo de campo. Resultados semelhantes foram obtidos por Dzhililov e Tiwari (1995) ao estudarem a sobrevivência de Xcc em solo não autoclavado. A bactéria foi capaz de sobreviver por até 47 dias, a 5 °C, e apenas 20 dias, a 20 °C.

Mesmo quando as bactérias estão em posição protegida no interior dos tecidos das plantas, suas populações são afetadas por influência da temperatura



(MENZIES, 1963). Kocks et al. (1998) comprovaram isto, ao avaliar a dinâmica populacional de *Xcc* em fragmentos de repolho incorporados ao solo, incubados em diferentes temperaturas (-12, 0, 5, 10, 15 e 20 °C) durante 20 semanas. A população de *Xcc* não declinou durante as 20 semanas em temperaturas de -12 °C e 0 °C, já a 5 °C ou superior diminuiu com o tempo. Quando exposta a 20°C, a população se encontrava em baixa densidade na décima segunda semana. Os autores concluíram que em temperaturas mais elevadas a decomposição dos tecidos vegetais é mais rápida, tornando a bactéria menos protegida, o que conseqüentemente colabora para uma rápida diminuição da população.

O efeito da umidade do solo na sobrevivência de *X. campestris* pv. *musacearum* (*Xcm*) foi avaliado por Mwebaze et al. (2006), em experimentos conduzidos sob condições controladas. Os autores verificaram que os períodos de sobrevivência de *Xcm* variaram conforme a umidade reduziu de 28 % para 14 %. Em solo esterilizado, a bactéria foi capaz de sobreviver por 90 e 30 dias, sob alta e baixa umidade, respectivamente. Não foi observada diferença entre os períodos de sobrevivência no solo não esterilizado, tendo a bactéria sobrevivido por 15 dias, tanto em alta, como baixa umidade. Segundo os autores, uma explicação para a baixa sobrevivência no solo não esterilizado, é que *Xcm* apresenta baixa capacidade competitiva com os microrganismos presentes no solo e, portanto, sucumbe mais facilmente a competição do que o estresse gerado pela umidade do solo.

Arias et al. (2000) obtiveram resultados diferentes ao estudarem a sobrevivência de *Xcc* associada a detritos vegetais incorporados ao solo em diferentes potenciais matriciais (0, -10, -30, -50, -100, -200, -900 e kPa). Em solos saturados (0 kPa), o período de sobrevivência de *Xcc* foi menor, 19 - 28 dias, enquanto em solos secos (- 900 kPa) a população se manteve praticamente constante durante esse período. Os autores argumentam que em ambientes saturados a água pode produzir um ambiente anaeróbico prejudicial a *Xcc* que é uma bactéria aeróbica.

As propriedades físicoquímicas do solo também podem influenciar na sobrevivência das bactérias. A mineralogia do solo, por exemplo, foi estudada por Hattori (1973), citado por Marshall (1975). O autor observou uma maior sobrevivência de bactérias Gram-negativas quando presentes no interior dos agregados de argila sob condição de baixa umidade, do que na superfície dos mesmos, sendo atribuída a uma maior disponibilidade de água no interior desses agregados. Essa observação pode indicar que em solos arenosos com baixa formação de agregados, as bactérias possuem baixa capacidade

de sobrevivência, quando comparadas aos solos de textura mais pesada com maior formação dos agregados. Marshall (1975) completa que os agregados de argila formam um involutório ao redor das células, protegendo-as durante os períodos de dessecação e reidratação do solo.

O pH do solo afeta diretamente ou indiretamente a sobrevivência e multiplicação de bactérias fitopatogênicas (GOTO, 1990). Alvarez e Cho (1978) compararam a sobrevivência de Xcc em dois tipos de solos, um com pH 4,9 e o outro de pH 6,5, no entanto, não verificaram grandes diferenças na sobrevivência, sendo que as populações diminuíram aproximadamente na mesma taxa. Santiranjana et al. (1986) verificaram que o pH ótimo para o desenvolvimento desta bactéria foi próximo da neutralidade (pH 6,8). Além disso, constataram que a acidez, alcalinidade e salinidade, afetam negativamente a sobrevivência da bactéria no solo.

### **4.3 Sobrevivência de bactérias fitopatogênicas do gênero *Xanthomonas* associadas ao filoplano de plantas daninhas**

Dada a dificuldade de sobrevivência no solo exibida por muitas fitobactérias, algumas são capazes de sobreviver na superfície das plantas hospedeiras, constituindo-se como uma fonte de inóculo potencial na ausência da doença (SCHUSTER; COYNE, 1974; ROMEIRO, 2011). Bactérias do gênero *Xanthomonas* são especificamente conhecidas por essa capacidade de sobrevivência (SWINGS; CIVEROLO, 1993).

Beattie e Lindow (1995) consideram que as bactérias presentes na superfície das plantas hospedeiras estão em uma fase residente ou epifítica. Nessa fase, as bactérias multiplicam-se na superfície de plantas saudáveis sem infectá-las, utilizando pequenas quantidades de nutrientes secretadas na superfície das plantas. Em condições desfavoráveis para a multiplicação, entram na fase de hipobiose (GOTO, 1990; ROMEIRO, 2011). Segundo Leben (1981), as células bacterianas têm seu metabolismo reduzido na fase de hipobiose e se encontram envoltas por substâncias químicas produzidas pelas próprias células, pelas plantas, ou pela interação bactéria-planta, que as protegem do dessecação e de outras condições adversas. Além da sobrevivência como populações residentes ou epifíticas na superfície de plantas hospedeiras, as fitobactérias também podem sobreviver em plantas não hospedeiras e plantas daninhas (ROMEIRO, 2011).

A sobrevivência epifítica de *X. campestris* pv. *vesicatoria* (Xcv), agente causal da mancha bacteriana do tomate, em plantas daninhas foi avaliada por Jones et al. (1986) na Florida. Várias amostras de plantas invasoras foram coletadas em campos de produção de tomate e campos de tomate em pousio com histórico da mancha bacteriana. A bactéria foi detectada nas invasoras: *Ambrosia artemisiifolia*, *Eclipta alba*, *Trifolium repens*, *Eupatorium capillifolium* e nas solanáceas infestantes, *Solanum americanum* e *Physalis pubescens*. A detecção de populações de Xcv foi considerada muito baixa, apenas 11 de 203 amostras de plantas daninhas continha a bactéria, sugerindo que as plantas invasoras não foram importantes para epidemiologia da mancha bacteriana.

Schaad e Dianese (1981) estudaram o potencial das plantas daninhas da família Brassicaceae como fonte de inóculo de Xcc na Geórgia e Califórnia. O patógeno foi detectado infectando *Brassica campestris*, *Lepidium virginicum*, *Coronopus didymus*, *Raphanus sativus*, *B. geniculata*, *B. niger* e *Cardaria pubescens*. Os autores também avaliaram a presença de Xcc na superfície das folhas e em raízes de *Lepidium virginicum* coletadas em diferentes áreas. A bactéria pôde ser detectada nas folhas, no entanto, não foi encontrada nas raízes. Xcc também foi encontrada sobrevivendo epifiticamente sobre *Centella asiatica* em Bangalore, Índia (KISHUN; CHAND, 1988).

Diferentes órgãos das plantas podem servir de nicho para a sobrevivência epifítica de fitobactérias (SCHUSTER; COYNE, 1974). Karavina et al. (2011), estudando a sobrevivência epifítica de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap), em três variedades de feijão no campo, constataram que além da sobrevivência em folhas, a bactéria também esteve presente em caules, flores e vagens das variedades de feijão. Não foram constatadas diferenças quanto ao tamanho da população epifítica em relação ao órgão da planta, assim como também não foram observadas diferenças quanto à influência das variedades sobre a população epifítica.

De acordo com Lindow e Brandl (2003), a superfície aérea das plantas colonizadas por microrganismos é denominada filosfera ou filoplano e seus habitantes são chamados epífitas. As bactérias são de longe, os habitantes mais abundantes da filosfera e, apesar de haverem investigações referentes às populações epífitas em órgãos como flores e brotos, a maioria dos trabalhos se concentram nas folhas. Karavina et al. (2011), por exemplo, estudaram a capacidade de sobrevivência epifítica de Xap em folhas de oito espécies de plantas invasoras e *Zea mays*, encontradas dentro e nas bordaduras de um campo de feijão infectado com crestamento bacteriano comum. Populações epífitas de

Xap de até  $1,02 \times 10^4$  a  $2,14 \times 10^4$  ufc/ml foram detectadas em folhas de *Zea mays*, *Oxalis latifolia*, *Cyperus rotundus*, *Amarathus hybridus* e *Bidens pilosa*. Não foram observados sintomas da infecção pelo patógeno nessas espécies.

As folhas têm sido consideradas como um ambiente hostil para a sobrevivência bacteriana, pois, exposta à atmosfera e ao sol, a superfície das folhas e, conseqüentemente, a população residente, são submetidas às variações ambientais, tais como temperatura, umidade relativa, velocidade do vento, radiação e umidade, que contribuem para a contínua flutuação da população (HIRANO; UPPER, 2000; LINDOW; BRANDL, 2003). Sikirou e Wydra (2004), ao avaliarem a sobrevivência de *X. axonopodis* pv. *vignicola* em folhas de plantas daninhas sob condições de campo e controladas, puderam constatar que o tempo de sobrevivência do patógeno sobre as espécies daninhas foi maior sob condições controladas. Uma explicação para isso, segundo os autores, seria a ocorrência de chuvas, que poderiam ter contribuído para que as bactérias presentes na superfície das folhas das plantas daninhas fossem removidas e depositadas sobre o solo.

Além da influência de fatores ambientais, as populações epífitas apresentam comportamento diferente frente a plantas da mesma espécie, assim como espécies diferentes (LINDOW; BRANDL, 2003). Gent et al. (2005), estudando o potencial de sobrevivência de *X. axonopodis* pv. *allii* (Xaa) no filoplano de plantas daninhas, sob condições controladas, puderam verificar que a população epifítica de Xaa variou entre as espécies. Em *Convolvulus arvensis*, *Cyperus esculentus* e *Solanum sarrachoides* a população aumentou quatro dias após a inoculação de Xaa. Já nas espécies *Amaranthus retroflexus* e *Chenopodium album*, a população reduziu nesse mesmo período.

Diferenças quanto ao tamanho da população de *X. campestris* pv. *vitians* (Xcv) em relação a diferentes espécies de plantas invasoras, também foram constatadas por Toussaint et al. (2012). A sobrevivência de Xcv no filoplano de plantas daninhas foi avaliada através da inoculação artificial em espécies pertencentes às famílias Asteraceae, Chenopodiaceae, Malvaceae, Polygonaceae e Portulacaceae, em condições controladas. Populações maiores de Xcv foram recuperadas na 4ª semana após a inoculação nas espécies *Lactuca biennis* e *L. serriola*, membros da família Asteraceae, cujas populações, excederam o tamanho da população encontrada em *L. sativa*, empregada como controle. Populações mais baixas foram encontradas em membros da família Chenopodiaceae, Polygonaceae, Portulacaceae e membros da tribo Astereae.

Estas variações no tamanho das populações bacterianas são causadas em grande parte pelas condições físicas e nutricionais da filosfera das plantas (LINDOW; BRANDL, 2003). Arias et al. (2000), ao estudarem a capacidade de sobrevivência de Xcc no filoplano de diferentes espécies de plantas cultivadas, verificaram que a sobrevivência do patógeno em folhas de couve foi similar ao da mostarda e alface, tendo sobrevivido por até 48 dias nessas espécies, diferindo apenas do arroz, na qual sobreviveu por nove dias. Uma explicação para isso segundo os autores seria que a superfície das folhas do arroz estaria impedindo a aderência da bactéria.

A topografia da superfície das folhas apresenta certas características que geram questionamentos intrigantes sobre a forma como que as bactérias se adaptaram a sobrevivência epífita na interface entre a folha e a atmosfera. A cutícula, camada que reveste a epiderme, é composta por cutina e ceras que formam uma barreira lipofílica com baixa permeabilidade, protegendo a superfície da folha contra uma variedade de tensões (HIRANO; UPPER, 2000; TOUSSAINT et al., 2012). Plantas com cutículas cerosas tendem a ter populações bacterianas menores do que às plantas com folhas tricromáticas (O'BRIEN; LINDOW, 1989). Segundo Beattie e Lindow (1995), estudos utilizando microscopia eletrônica de varredura demonstram que os locais mais comuns onde às bactérias podem ser encontradas são na base dos tricomas, nos estômatos e nas junções das células epidérmicas, especialmente nos sulcos ao longo das nervuras. Os autores complementam que a presença das bactérias na base dos tricomas, se deve a abundância de nutrientes exsudados de fissuras na camada cuticular, ou então, por conta do grande número de ectodesmata localizados em torno da base do tricomas.

Em adição as características físicas, a disponibilidade de nutrientes nas folhas é um dos fatores determinantes para a sobrevivência epifítica (LINDOW; BRANDL, 2003). Segundo Mercier e Lindow (2000), para que a colonização epifítica ocorra é necessário que sobre as folhas das plantas esteja presente, uma fonte de carbono para a produção de energia e crescimento, nitrogênio e certas moléculas inorgânicas essenciais. A abundância de nutrientes, no entanto, varia de acordo com a espécie, idade da folha e as condições de condições de crescimento. Vários estudos têm revelado que pequenas quantidades de nutrientes podem ser lixiviadas das folhas por ação de soluções aquosas, tais como chuva, orvalho, névoa e nevoeiro (TUKEY JUNIOR, 1970). Wilson e Lindow (1994) argumentam que a comunidade bacteriana é limitada pela disponibilidade de nutrientes. Populações epifitas de *Pseudomonas syringae* foram mais limitadas pela

disponibilidade de carbono do que pela disponibilidade de nitrogênio.

A população bacteriana também pode encontrar na superfície das plantas, compostos químicos tóxicos, produzidos pelas próprias plantas ou por outros microrganismos (TOUSSAINT et al., 2012; VORHOLT, 2012). Segundo Yadav et al. (2005), metabolitos secundários exsudados ou lixiviados do interior da folha para a superfície, tais como alcalóides, isoprenóides e ácidos fenólicos inibem o crescimento de fungos e bactérias. Hayet et al. (2009) realizaram uma triagem fitoquímica do extrato metanólico de *Conyza canadensis*, que revelou a presença de flavonóides, terpenóides e taninos. Os autores correlacionaram à presença desses compostos a atividade antimicrobiana do extrato metanólico *in vitro*.

#### **4.4 Sobrevivência de bactérias fitopatogênicas associadas à rizosfera de plantas daninhas**

Além da capacidade de sobrevivência no filoplano, as fitobactérias também têm sido encontradas sobrevivendo na rizosfera de plantas hospedeiras, plantas não hospedeira e plantas daninhas (GOTO, 1990; ROMEIRO, 2011). Segundo Vorholt (2012), a rizosfera compreende a área no solo em torno das raízes das plantas. Comparando com o solo livre de raízes, a rizosfera forma um nicho rico em nutrientes para as bactérias, resultante da exsudação de compostos pelas raízes, tais como ácidos orgânicos, açúcares e aminoácidos (LUGTENBERG et al., 2001), que estimulam o crescimento bacteriano e aumentam a capacidade de competição com outros microrganismos (GOTO, 1990).

Burr e Schroth (1977), empregando um meio de cultura diferencial (PT) avaliaram a capacidade de sobrevivência *Pectobacterium carotovora* subsp. *carotovora* (Pcc) e *P. carotovora* subsp. *atroseptica* (Pca) no solo e na rizosfera de plantas daninhas e cultivadas, coletadas de diferentes localidades. Verificaram que em áreas de solos em pousio, desprovidos de vegetação ou restos vegetais, as bactérias estavam ausentes, porém, foram encontradas como habitantes comuns na rizosfera das plantas daninhas e cultivadas. Os autores não consideraram Pcc e Pca verdadeiras habitantes do solo, apesar de possuírem uma fase prolongada no solo em associação com as raízes de um grande número de plantas.

Segundo Brencic e Winans (2005), quando comparada ao filoplano, a rizosfera oferece às bactérias maior proteção a fatores como dissecação, temperatura e luz, além, de possuir fontes de carbono e minerais mais abundantes. Mariano e McCarter (1993) ao estudarem a capacidade de sobrevivência epífita de *Pseudomonas viridiflava* (Pv) nas raízes e folhas de duas cultivares de tomate e 16 espécies de ervas daninhas, puderam observar que apesar da influência ambiental, no geral, as raízes foram melhores para sobrevivência de Pv do que as folhas.

Mendonça e Stanghellini (1979) avaliaram a capacidade de sobrevivência de Pca, agente causal da podridão mole na beterraba açucareira. A bactéria pode ser detectada na rizosfera de plantas de trigo e milho, semeadas após um período de pousio do solo, onde antes havia histórico de ocorrência da doença. Pca também foi detectada em caruru e várias outras plantas daninhas, plantas voluntárias de beterraba, e na espécie nativa *Lupinus blumerii*, encontrada a 50 km dos campos de produção. Na rizosfera de beterraba infestada artificialmente, Pca sobreviveu por um período de quatro meses. Uma distribuição vertical foi exibida pela bactéria na rizosfera ao longo do tempo, sendo encontrada em profundidades maiores que 12 cm.

Diferentes espécies de plantas podem selecionar comunidades bacterianas específicas na rizosfera. Isso pode ser explicado devido à liberação de compostos químicos pelas raízes, que além de servir como nutrientes para as bactérias servem de “sinais”. Estes sinais são detectados pelas bactérias que alteram seu movimento em direção à fonte, processo esse conhecido como quimiotaxia, importante para a colonização e sobrevivência de certas bactérias na rizosfera (MARK et al., 2005; WU et al., 2015). Yao e Allen (2006) estudando o comportamento de quimiotático de *Ralstonia solanacearum* (Rs), contataram que a bactéria foi especificamente atraída por diversos aminoácidos e ácidos orgânicos encontrados em tomate, planta hospedeira. Em arroz, planta não hospedeira de Rs, os exsudatos foram menos atraentes para a bactéria.

De acordo com Broek e Vanderleyden (1995) a maioria das bactérias habitantes do solo possui capacidade de movimentação em direção a fontes atrativas. Bais et al. (2006) argumentam que os componentes químicos exsudados pelas raízes tanto podem afastar um organismo, como ao mesmo tempo, atrair outro, ou então, dois organismos diferentes são atraídos com diferentes consequências para a planta. Hartel et al. (1993) estudando a concorrência de *Burkholderia cepacia* (Bc), *B. pickettii* (Bp) e Rs na rizosfera de plantas de tomate, observaram que a população Rs diminuiu quando

inoculada com Bc, já quando Rs foi inoculada com Bp, ambas populações aumentaram. Os autores argumentam que os possíveis mecanismos de competitividade de Bc sobre Rs estão relacionados ao tempo de geração mais rápido e, a maior versatilidade nutricional, reduzindo a quantidade de nutrientes disponíveis para o crescimento de Rs na rizosfera.

A sobrevivência de bactérias que causam lesões na parte aérea das plantas é um fenômeno ainda pouco explicado, sendo objeto de especulação, principalmente no que diz respeito aos mecanismos que governam esse tipo de sobrevivência e o modo como essas populações podem servir de inóculo para subseqüentes infecções na parte aérea (ROMEIRO, 2011). Como exemplo de bactérias do gênero *Xanthomonas* encontradas na rizosfera tem-se Xcv, capaz de sobreviver em plantas não hospedeiras como sorgo, ervilha, pepino, feijão e trigo, durante o inverno (BASHAN, et al., 1982). Pereira et al. (1976) relataram que *X. campestris* pv. *citri* foi encontrada sobrevivendo na rizosfera da planta daninha *Trichachne insularis* em pomares de citros erradicados no Estado de São Paulo. Thaveechai et al. (1993) estudando a sobrevivência de *X. campestris* pv. *manihotis* em condições de campo, verificaram que a bactéria foi capaz de sobreviver no solo da rizosfera das plantas daninhas *Digitaria* sp., *Dactyloctenium aegyptium* e *Fimbristylis monostachya*, por 7 a 14 dias.



## **5 MATERIAL E MÉTODOS**

### **5.1 Isolado bacteriano, condição de cultivo e preservação**

Empregou-se o isolado 3098C de *Xcc*, resistente a 100 µg/mL de rifampicina, pertencente à coleção do Laboratório de Bacteriologia Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas - FCA/UNESP. O isolado apresenta patogenicidade às plantas de brássicas, assim como seu isolado selvagem, obtido de plantas sintomáticas provenientes de regiões produtoras do Estado de São Paulo. Para obtenção do isolado resistente e crescimento durante a condução dos experimentos de sobrevivência (incubação a 28°C por 48 h) foi utilizado o meio de cultura NSAR, consistido de extrato de carne 3 g/L, peptona de carne 5 g/L, ágar 12g/L, acrescido de 5 g/L de sacarose e 100 µg/mL de rifampicina. Para a preservação durante longos períodos, manteve-se o isolado em 30 % de glicerol (v/v) à - 80 °C.

## **5.2 Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no solo em condições de campo**

### **5.2.1 Épocas de instalação dos experimentos**

Cinco experimentos foram conduzidos durante 2014, em uma área experimental pertencente ao Departamento de Proteção Vegetal, FCA-UNESP (22°50'40"S, 48°26'08"W), para avaliar a capacidade de sobrevivência de Xcc no solo em condições de campo e a influência das condições climáticas sobre a sobrevivência da bactéria. Os experimentos foram instalados nos dias 24/05/2014 (Experimento 1), 09/06/2014 (Experimento 2), 17/07/2014 (Experimento 3), 11/08/2014 (Experimento 4) e 20/08/2014 (Experimento 5). Dados climáticos de temperatura (temperatura máxima, média e mínima) e precipitação ocorridos durante os períodos experimentais, foram obtidos de uma estação meteorológica localizada a 300 m da área experimental.

### **5.2.2 Área experimental e amostragem do solo**

Em uma área experimental sem cultivo anterior ao de brássicas e com solo A, cujas propriedades físico-químicas estão descritas na Tabela 1, foram distribuídos 45 quadrados de madeira com 30 cm de lado, espaçados em 0,5 m entre si. Plantas daninhas presentes na área foram removidas manualmente antes da instalação de cada experimento. O solo de cada quadrado foi infestado com 500 mL de suspensão ( $10^8$  ufc/mL) do isolado 3098C, e a sobrevivência de Xcc monitorada a uma profundidade de 5 cm. Para amostragem do solo, anéis de PVC (60 mm de diâmetro) foram utilizados, sendo retiradas cinco amostras simples por quadrado (posições norte, sul, leste, oeste e centro). As amostras simples de cada quadrado foram transferidas para um becker de 1L esterilizado e homogeneizadas com bastão de vidro, obtendo-se uma amostra composta. As amostragens foram realizadas diariamente, incluindo o dia da instalação dos experimentos, e para cada avaliação, o solo de três quadrados foi amostrado ao acaso. A sobrevivência de Xcc em cada experimento foi avaliada durante 20 dias ou até a não recuperação de células viáveis das amostras. Em cada período de amostragem, a umidade das amostras compostas

foi determinada por meio de um analisador de umidade por infravermelho (Gehaka, IV 2500, Brasil).

### **5.2.3 Processamento das amostras de solo coletadas**

Após a amostragem, dez gramas de solo de cada amostra composta foram pesadas em balança semi-analítica, e transferidas para frascos de Duran de 250 mL contendo 100 mL de tampão salina fosfato esterilizado (PBS) 0,01M, pH 7,0. Os frascos foram agitados (30 min/200 rpm) em mesa agitadora, seguido de repouso (30 min), para sedimentação (SILVA JUNIOR et al., 2012). As suspensões foram diluídas em série ( $10^0$  a  $10^{-4}$ ) e 100  $\mu$ L plaqueadas em triplicata no meio de cultura NSAR, suplementado com os fungicidas chlorothalonil (0,06 g/L) e tiofanato metílico (0,06 g/L) (meio de cultura NSARF), e incubadas (28 °C/ 72 h). Colônias semelhantes a *Xanthomonas* foram quantificadas e os dados transformados em  $\log_{10}$  do número de ufc.g de solo seco<sup>-1</sup>, baseando-se nos teores de umidade obtidos de cada amostra de solo composta.

## **5.3 Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no solo em condições controladas**

### **5.3.1 Amostragem do solo**

Para os experimentos em condições controladas, foram empregados seis solos (A, B, C, D, E e F) coletados em diferentes localidades em maio de 2014. O solo A foi amostrado da mesma área em que foram realizados os experimentos de sobrevivência de Xcc associada ao solo sob condições de campo. Solos B a F foram coletados em campos de produção de brássicas na região de Campinas, São Paulo. Após a coleta, os solos foram peneirados em peneira de malha 8 (2,8 mm de abertura), secos em casa-de-vegetação durante sete dias, e armazenados em caixas plásticas de 70 x 35 x 35 cm (largura x comprimento x altura). As partes superiores das caixas foram vedadas com folhas de papel kraft e mantidas em casa de vegetação (temperatura de 22-28°C e umidade relativa de 60-

90%) até a instalação dos ensaios. As propriedades físico-químicas dos seis solos encontram-se descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Propriedades físico-químicas dos solos utilizados nos experimentos de sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

Solo	Propriedades físico-químicas do solo					
	Areia (g/kg)	Silte (g/kg)	Argila (g/kg)	Textura	Matéria Orgânica (g/dm <sup>3</sup> )	pH (CaCl <sub>2</sub> )
A	782	29	189	Média	13	4.2
B	422	144	434	Argilosa	25	5.9
C	345	113	542	Argilosa	27	5.0
D	488	81	431	Argilosa	28	5.3
E	441	90	469	Argilosa	18	5.0
F	477	74	449	Argilosa	23	5.2

### 5.3.2 Instalação do experimento, delineamento experimental e processamento das amostras de solo coletadas

Em copos de poliestireno de 50 mL, 37,5 g de cada solo foram pesadas, seguida da infestação com suspensão bacteriana ( $10^8$  ufc/mL) (SILVA JUNIOR, et al., 2012). Considerando uma capacidade de campo de 100%, foram adicionados 7,5 mL de suspensão bacteriana mais 7,5 mL de água destilada. Logo após, os copos foram selados com folha de papel alumínio (7,5 x 7,5 cm) e incubados em B.O.D (temperatura de 20 °C). O delineamento experimental empregado foi em blocos ao acaso, com 90 copos por tratamento. A cada dois dias, amostragens foram realizadas, na qual o solo de três copos de cada tratamento foram transferidos para um becker de 1L e homogeneizados com bastão de vidro, obtendo-se amostras compostas. As etapas de processamento do solo foram semelhantes às descritas no item 5.2.3.

## **5.4 Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no filoplano e rizosfera de plantas daninhas**

### **5.4.1 Obtenção das plantas daninhas**

As plantas daninhas utilizadas para os experimentos de sobrevivência foram selecionadas de acordo com o nível de ocorrência em campos agrícolas no Brasil (LORENZI, 2008). Ao todo, 26 espécies foram selecionadas, pertencentes a 14 famílias botânicas. Bandejas de 128 células contendo substrato organo-mineral foram utilizadas para a semeadura das espécies invasoras, sendo mantidas sob condições de casa-de-vegetação (temperatura de 12-28 °C e umidade relativa de 28-87 %). Cerca de 20 dias após a emergência, as plântulas foram transferidas para vasos de 2L contendo substrato, constituído de terra, areia grossa lavada e esterco de curral curtido na proporção 1:1:1, suplementado com 0,6 kg de sulfato de amônio, 1,7 kg de superfosfato simples, 0,6 kg de cloreto de potássio e 0,8 kg de calcário dolomítico para cada m<sup>3</sup> da mistura. Cerca de 35 dias após o transplante, as plantas foram levadas a área experimental para a instalação dos experimentos.

### **5.4.2 Épocas de instalação dos experimentos**

Para a avaliação da sobrevivência de Xcc no filoplano e rizosfera de plantas daninhas, as 26 espécies selecionadas foram distribuídas em três experimentos conforme descrito nas Tabelas 2, 3 e 4. Os experimentos foram instalados nos dias 27/08/2014 (Experimento 1), 24/09/2014 (Experimento 2), 06/11/2014 (Experimento 3), e repetidos nos dias 03/02/2015 (Experimento 1), 24/03/2015 (Experimento 2) e 05/08/2015 (Experimento 3). A área experimental foi a mesma empregada para os experimentos de sobrevivência de Xcc associada ao solo. Dados climáticos (temperatura máxima, mínima, precipitação e umidade relativa) ocorridos durante os períodos experimentais, foram obtidos de uma estação meteorológica localizada a 300 m da área experimental.

### 5.4.3 Instalação dos experimentos e processamento das amostras

As plantas daninhas após levadas a área experimental, foram inoculadas com suspensão bacteriana ( $10^7$  ufc/mL) do isolado 3098C de Xcc. Para a parte aérea, a suspensão foi pulverizada com auxílio de um pulverizador manual (pressão máxima de trabalho 3,5 bar) até o ponto de escorrimento. Para a rizosfera, o solo dos vasos foi infestado com 250 mL da suspensão. Vasos contendo apenas solo foram infestados com suspensão bacteriana para comparação da capacidade de sobrevivência de Xcc associada à rizosfera das plantas daninhas com o solo na ausência de plantas.

As avaliações procederam com a amostragem da parte aérea e do solo aderido às raízes de três plantas, escolhidas ao acaso, para cada espécie estudada. Amostras compostas de material vegetal foram obtidas em sacos plásticos de 2 L, a partir do seccionamento, seguida da homogeneização da parte aérea. Assim como, amostras compostas de solo foram obtidas após a homogeneização do solo removido das raízes das plantas.

Após a obtenção das amostras compostas, o material foi levado ao laboratório para o processamento. Cinco gramas de tecido vegetal e dez gramas de solo, foram pesadas separadamente e transferidas para frascos de Duran contendo 100 mL de solução salina tampão fosfato (PBS) 0,01M, pH 7,0 esterilizada, sendo levados para agitação em seguida (200 rpm/30 min). As suspensões obtidas do tecido vegetal da parte aérea e após o repouso do solo da rizosfera (30 min.), foram diluídas em série ( $10^0$  a  $10^{-4}$ ), e 100  $\mu$ L plaqueadas em triplicata no meio de cultura NSARF, e incubadas (28 °C/ 72 h). Colônias semelhantes a Xcc foram quantificadas, sendo dados da parte aérea transformados em  $\log_{10}$  do número de ufc.g de tecido<sup>-1</sup>, e os dados da rizosfera transformados em  $\log_{10}$  do número de ufc.g de solo seco<sup>-1</sup>. A umidade das amostras compostas do solo da rizosfera foi determinada por meio de um analisador de umidade por infravermelho (Gehaka, IV 2500, Brasil).

As avaliações foram realizadas a cada sete dias, por 70 dias (dez avaliações), ou até a não recuperação de células viáveis de Xcc das amostras. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com dez repetições por planta daninha. Cada repetição foi representada por um vaso contendo três plantas. A umidade do solo foi mantida em todos os experimentos adicionando-se 250 mL de água em cada vaso, de acordo com a necessidade das espécies infestantes. Para a avaliação da

influência da umidade do solo na sobrevivência de Xcc associada à rizosfera de plantas daninhas, dados de umidade foram coletados diariamente, por meio da amostragem do solo de três vasos, seguida da leitura no analisador de umidade por infravermelho, até não sobrevivência de Xcc.

Tabela 2. Plantas daninhas utilizadas na avaliação da capacidade de sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no filoplano e rizosfera (Experimento 1).

Família botânica	Nome científico	Nome comum
Asteraceae	<i>Bidens pilosa</i>	Picão preto
Brassicaceae	<i>Raphanus raphanistrum</i>	Nabiça
Convolvulaceae	<i>Ipomea grandifolia</i>	Corda-de-viola
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia heterophylla</i>	Leiteira
Malvaceae	<i>Sida rhombifolia</i>	Guaxuma
Rubiaceae	<i>Richardia brasiliensis</i>	Poaia
Solanaceae	<i>Nicandra physaloides</i>	Joá de Capote

Tabela 3. Plantas daninhas utilizadas na avaliação da capacidade de sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no filoplano e rizosfera (Experimento 2).

Família botânica	Nome científico	Nome comum
Amaranthaceae	<i>Amaranthus viridis</i>	Caruru-de-mancha
Asteraceae	<i>Conyza bonariensis</i>	Buva
Asteraceae	<i>Galisonga parviflora</i>	Picão-branco
Asteraceae	<i>Sonchus oleraceus</i>	Serralha verdadeira
Brassicaceae	<i>Raphanus raphanistrum</i>	Nabiça
Cyperaceae	<i>Cyperus rotundus</i>	Tiririca
Fabaceae	<i>Senna obtusifolia</i>	Fedegoso
Poaceae	<i>Cenchrus echinatus</i>	Capim-carrapicho
Portulacaceae	<i>Portulaca oleraceae</i>	Beldroega
Solanaceae	<i>Physalis angulata</i>	Bucho de rã

Tabela 4. Plantas daninhas utilizadas na avaliação da capacidade de sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no filoplano e rizosfera (Experimento 3).

Família botânica	Nome científico	Nome comum
Amaranthaceae	<i>Alternanthera tenella</i>	Apaga-fogo
Asteraceae	<i>Emilia fosbergii</i>	Falsa-serralha
Asteraceae	<i>Gnaphalium purpureum</i>	Macela
Brassicaceae	<i>Lepidium virginicum</i>	Mastruz
Brassicaceae	<i>Raphanus raphanistrum</i>	Nabiça
Commelinaceae	<i>Commelina benghalensis</i>	Trapoeraba
Lamiaceae	<i>Leonorus sibiricus</i>	Rubim
Poaceae	<i>Brachiaria decumbens</i>	Capim braquiária
Poaceae	<i>Digitaria insularis</i>	Capim-amargoso
Poaceae	<i>Rhynchelytrum repens</i>	Capim-favorito
Solanaceae	<i>Datura stramonium</i>	Quinquilho

#### 5.4.4 Preservação e caracterização dos isolados bacterianos

Colônias semelhantes a Xcc foram selecionadas de alguns tratamentos dos experimentos de sobrevivência no filoplano e rizosfera de plantas daninhas e preservadas em 30% glicerol (v/v) a  $-80^{\circ}\text{C}$ , para caracterização. A caracterização dos isolados foi realizada através do teste bioquímico de hidrólise de amido, teste de patogenicidade em folhas destacadas de couve, e reação da PCR (reação de polimerização em cadeia), utilizando os iniciadores específicos HrcCF2 (5'-CGTGTGGATGTGCAGACC-3') e HrcCR2 (5'-CAGATCTGTCTGATCGGTGTCG-3'), que amplificam um fragmento de 519 pb do gene cromossomal hrcC, associado à patogenicidade de Xcc em brássicas, conforme Zaccardelli et al. (2007).

Para extração do DNA bacteriano, os isolados foram cultivados em meio de cultura NSA a  $28^{\circ}\text{C}$ , por 48h. Porções de colônias presentes na superfície do meio de cultura foram transferidas para tubos de centrifuga contendo 500  $\mu\text{L}$  de água destilada e esterilizada de forma a obter suspensões à  $10^8$  ufc/mL, sendo submetidas ao tratamento térmico,  $95^{\circ}\text{C}$  por 15 minutos. Para a reação de PCR, empregou-se 6,25  $\mu\text{L}$  de GoTaq<sup>®</sup> Green Master Mix (Promega, EUA), 0,25  $\mu\text{L}$  de cada um dos iniciadores (concentração de uso 100mM), 4,25  $\mu\text{L}$  de água Milli-Q<sup>®</sup> e 1,5  $\mu\text{L}$  do DNA bacteriano, obtendo-se um volume total de 12,5  $\mu\text{L}$ . O programa utilizado no termociclador (Eppendorf, Mastercycler nexus gradient, EUA) para reação de PCR foi adaptado Zaccardelli et al. (2007), e consistiu de uma desnaturação inicial a  $95^{\circ}\text{C}$  por 5 minutos, seguidos de 30 ciclos de  $95^{\circ}\text{C}$  por 1 minuto para desnaturação,  $58^{\circ}\text{C}$  por 30 segundos para o anelamento,  $72^{\circ}\text{C}$  por 1 minuto para extensão, e  $72^{\circ}\text{C}$  por 15 minutos para extensão final. Os produtos da amplificação foram submetidos a eletroforese horizontal (100 V por 40 minutos) em gel constituído de agarose 1% (p/v), tampão TBE 1X (Tris/Ácido bórico/EDTA), e o corante Neotaq Brilliant Green Plus (7  $\mu\text{L}$ /100 mL). Empregou-se Marcador Molecular de 1Kb Plus da Invitrogen<sup>®</sup>. As bandas de DNA foram visualizadas e registradas em fotodocumentador, sob luz UV (GelDoc-It, Imaging Sytem UVP, EUA).



## 6 RESULTADOS

### 6.1 Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no solo em condições de campo

O período de sobrevivência do isolado 3098C de Xcc variou entre os experimentos realizados sob condições de campo (Tabela 5). Nos experimentos 2 e 3 o isolado sobreviveu por quatro dias e por sete dias, nos demais experimentos. A população média inicial do isolado 3098C foi de  $6,3 \times 10^6$  ufc/g de solo seco, sendo a maior população inicial observada no experimento 2 ( $1,4 \times 10^7$  ufc/g de solo) e a menor, no experimento 4 ( $2,8 \times 10^6$  ufc/g de solo) (Tabela 5).

Dados de temperatura, precipitação e umidade do solo registrados durante a condução dos ensaios foram distribuídos de acordo com os períodos de sobrevivência, para uma melhor compreensão da influência das condições climáticas na sobrevivência de Xcc (Tabela 6). Nos primeiros quatro dias, maiores médias de temperaturas máxima e mínima, ocorreram nos experimentos 5 (29,6 °C) e 2 (14,6 °C), e os menores valores, experimentos 1 (18 °C) e 3 (10, 2°C), respectivamente. Baixos índices de precipitação ocorreram nesse período, sendo 8,6 mm (experimento 4) o maior volume acumulado. Com relação aos teores médios de umidade do solo, o maior valor ocorreu no

experimento 1 (10.7 %) e o menor, experimento 5 (5.4%). Aos sete dias da sobrevivência de Xcc, os maiores valores médios de temperatura máxima e mínima foram observados nos experimentos 5 (29.5 °C e 12,7 °C), e os menores valores, experimento 1 (19,8 °C) e 4 (10,9 °C), respectivamente. Para a precipitação, 9,9 mm (experimento 4) foi o maior valor observado. Com relação à umidade do solo, o maior valor observado foi no experimento 1 (9.0%) e o menor, experimento 5 (3,9 %).

Tabela 5. Dinâmica populacional do isolado 3098C de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (ufc/g de solo seco) associado ao solo sob condições de campo em cinco experimentos durante o ano de 2014.

Dia	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Exp. 5
0	7,8x10 <sup>6</sup>	1,4x10 <sup>7</sup>	2,9x10 <sup>6</sup>	2,8x10 <sup>6</sup>	4,4x10 <sup>6</sup>
1	1,9x10 <sup>6</sup>	1,3x10 <sup>6</sup>	6,8x10 <sup>5</sup>	8,1x10 <sup>4</sup>	2,5x10 <sup>5</sup>
2	1,9x10 <sup>6</sup>	1,7x10 <sup>5</sup>	8,3x10 <sup>4</sup>	1,6x10 <sup>4</sup>	3,4x10 <sup>4</sup>
3	3,6x10 <sup>5</sup>	6,3x10 <sup>3</sup>	3,5x10 <sup>2</sup>	9,3x10 <sup>3</sup>	1,3x10 <sup>4</sup>
4	7,2x10 <sup>4</sup>	2,4x10 <sup>3</sup>	1,2x10 <sup>3</sup>	1,5x10 <sup>3</sup>	7,7x10 <sup>3</sup>
5	4,1x10 <sup>4</sup>	0	0	1,7x10 <sup>3</sup>	4,9x10 <sup>3</sup>
6	1,5x10 <sup>3</sup>	-	-	1,7x10 <sup>3</sup>	1,6x10 <sup>3</sup>
7	2,4x10 <sup>2</sup>	-	-	7,9x10 <sup>2</sup>	5,4x10 <sup>2</sup>
8	0	-	-	0	0

Tabela 6. Temperatura máxima e mínima (°C), precipitação (mm) e umidade do solo (%) em diferentes períodos, durante a condução dos experimentos de sobrevivência do isolado 3098C de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no solo sob condições de campo.

Experimento	4° dia			
	Temp. Mínima	Temp. Máxima	Precipitação	Umidade do Solo
1	11,2	18,0	6,4	10,7
2	14,6	24,4	0,0	6,8
3	10,2	22,7	2,5	6,9
4	10,5	25,1	8,6	8,0
5	12,3	29,6	0,0	5,4
Experimento	7° dia			
	Temp. Mínima	Temp. Máxima	Precipitação	Umidade do Solo
1	11,4	19,8	6,4	9,0
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	10,9	25,2	9,9	6,5
5	12,7	29,5	0,0	3,9

## 6.2 Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no solo em condições controladas

Os diferentes tipos de solo influenciaram na sobrevivência do isolado 3098C de Xcc sob condições controladas (Tabela 7). O maior período de sobrevivência foi de 24 dias no solo B, e o menor 10 dias, no solo A. Nos demais solos avaliados, a sobrevivência variou de 14 a 16 dias. A população média inicial do isolado 3098C foi de  $1,8 \times 10^7$  ufc/g de solo seco, sendo a maior população inicial verificada no solo F ( $2,6 \times 10^7$  ufc/g de solo) e a menor, solos A e B ( $1,4 \times 10^7$  ufc/g de solo).

Tabela 7. Dinâmica populacional do isolado 3098C de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (ufc/g de solo seco) associado ao solo sob condições controladas.

Dia	Solo A	Solo B	Solo C	Solo D	Solo E	Solo F
0	$1,4 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$	$2,1 \times 10^7$	$2,6 \times 10^7$
2	$1,0 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$	$4,3 \times 10^5$	$1,2 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$
4	$3,3 \times 10^4$	$1,9 \times 10^5$	$1,2 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	$8,8 \times 10^4$	$6,4 \times 10^4$
6	$3,0 \times 10^3$	$7,5 \times 10^4$	$8,4 \times 10^3$	$2,6 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$	$1,9 \times 10^4$
8	$1,2 \times 10^2$	$4,5 \times 10^4$	$9,9 \times 10^2$	$4,9 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$
10	$1,2 \times 10^2$	$2,6 \times 10^4$	$6,2 \times 10^2$	$2,6 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$	$9,9 \times 10^2$
12	0	$2,9 \times 10^4$	$1,2 \times 10^2$	$2,6 \times 10^3$	$7,4 \times 10^2$	$8,6 \times 10^2$
14	-	$8,7 \times 10^3$	0	$4,9 \times 10^2$	$2,5 \times 10^2$	$7,4 \times 10^2$
16	-	$5,4 \times 10^3$	-	$1,2 \times 10^2$	0	0
18	-	$3,3 \times 10^3$	-	0	-	-
20	-	$3,7 \times 10^2$	-	-	-	-
22	-	$3,7 \times 10^2$	-	-	-	-
24	-	$2,5 \times 10^2$	-	-	-	-
26	-	0	-	-	-	-

## 6.3 Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no filoplano e rizosfera de plantas daninhas

Os períodos de sobrevivência do isolado 3098C de Xcc no filoplano das plantas daninhas variaram conforme a espécie e época de condução dos experimentos (Tabela 8). No filoplano de *R. raphanistrum*, planta hospedeira empregada como controle em todos os experimentos, Xcc foi capaz de sobreviver por 70 dias (período de duração dos experimentos), exceto no experimento 2 conduzido em 2015, na qual sobreviveu por 35 dias, pois não foi possível fazer outras avaliações devido à falta de

plantas.

Para as espécies *B. pilosa*, *I. grandifolia*, *E. heterophylla*, *R. brasiliensis* e *N. physaloides* empregadas no experimento 1, os períodos de sobrevivência de Xcc variaram de 14 a 21 dias no filoplano. Baixa sobrevivência da bactéria foi observada em *S. rhombifolia* (família Malvaceae), tendo sobrevivido por menos de 7 dias. Quando esse mesmo experimento foi instalado em 2015, os períodos de sobrevivência de Xcc no filoplano dessas plantas daninhas variaram entre 21 e 49 dias (Tabela 8).

Tabela 8. Períodos de sobrevivência do isolado 3098C de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* em dias, após a inoculação do filoplano e rizosfera de plantas daninhas.

Família	Espécie	Filoplano*	Rizosfera*
Amaranthaceae	<i>Amaranthus viridis</i>	<7 <sup>c,d</sup>	7 <sup>d</sup> - 14 <sup>c</sup>
Amaranthaceae	<i>Alternanthera tenella</i>	≤7 <sup>e,f</sup>	<7 <sup>e,f</sup>
Asteraceae	<i>Bidens pilosa</i>	21 <sup>a</sup> - 42 <sup>b</sup>	≤7 <sup>b,a</sup>
Asteraceae	<i>Conyza bonariensis</i>	7 <sup>d</sup> - 28 <sup>c</sup>	<7 <sup>d</sup> - 14 <sup>c</sup>
Asteraceae	<i>Galinsoga parviflora</i>	28 <sup>c</sup> - 42 <sup>d</sup>	≤7 <sup>c,d</sup>
Asteraceae	<i>Sonchus oleraceus</i>	14 <sup>c</sup> - 21 <sup>d</sup>	≤7 <sup>d,c</sup>
Asteraceae	<i>Emilia fosbergii</i>	7 <sup>e</sup> - 56 <sup>f</sup>	7 <sup>e</sup> - 14 <sup>f</sup>
Asteraceae	<i>Gnaphalium purpureum</i>	14 <sup>f</sup> - 35 <sup>e</sup>	7 <sup>e,f</sup>
Brassicaceae	<i>Raphanus raphanistrum</i>	35 <sup>d</sup> - 70 <sup>a,b,c,e,f</sup>	7 <sup>e</sup> - 21 <sup>a,b,c,f</sup> - 28 <sup>d</sup>
Brassicaceae	<i>Lepidium virginicum</i>	42 <sup>f</sup> - 56 <sup>e</sup>	7 <sup>e,f</sup>
Commelinaceae	<i>Commelina benghalensis</i>	7 <sup>f</sup> - 35 <sup>e</sup>	<7 <sup>e,f</sup>
Convolvulaceae	<i>Ipomea grandifolia</i>	14 <sup>a</sup> - 49 <sup>b</sup>	≤7 <sup>a,b</sup>
Cyperaceae	<i>Cyperus rotundus</i>	<7 <sup>c</sup> - 21 <sup>d</sup>	≤7 <sup>c,d</sup>
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia heterophylla</i>	14 <sup>a</sup> - 42 <sup>b</sup>	7 <sup>a</sup> - 14 <sup>b</sup>
Fabaceae	<i>Senna obtusifolia</i>	14 <sup>c</sup> - 28 <sup>d</sup>	≤7 <sup>c,d</sup>
Lamiaceae	<i>Leonorus sibiricus</i>	<7 <sup>f</sup> - 35 <sup>e</sup>	<7 <sup>e,f</sup>
Malvaceae	<i>Sida rhombifolia</i>	<7 <sup>a</sup> - 35 <sup>b</sup>	7 <sup>a,b</sup>
Poaceae	<i>Cenchrus echinatus</i>	7 <sup>c,d</sup>	<7 <sup>c,d</sup>
Poaceae	<i>Brachiaria decumbens</i>	7 <sup>e</sup> - 14 <sup>f</sup>	≤7 <sup>f,e</sup>
Poaceae	<i>Digitaria insularis</i>	<7 <sup>e,f</sup>	<7 <sup>e</sup> - 14 <sup>f</sup>
Poaceae	<i>Rhynchelytrum repens</i>	7 <sup>e,f</sup>	<7 <sup>e</sup> - 14 <sup>f</sup>
Portulacaceae	<i>Portulaca oleraceae</i>	7 <sup>c</sup> - 42 <sup>d</sup>	7 <sup>d</sup> - 14 <sup>c</sup>
Rubiaceae	<i>Richardia brasiliensis</i>	14 <sup>a</sup> - 35 <sup>b</sup>	<7 <sup>b</sup> - 14 <sup>a</sup>
Solanaceae	<i>Nicandra physaloides</i>	21 <sup>a,b</sup>	7 <sup>a</sup> - 14 <sup>b</sup>
Solanaceae	<i>Physalis angulata</i>	14 <sup>c</sup> - 28 <sup>d</sup>	7 <sup>d</sup> - 14 <sup>c</sup>
Solanaceae	<i>Datura stramonium</i>	7 <sup>e,f</sup>	<7 <sup>e,f</sup>
-	Solo	-	≤7 <sup>b,c,d,f, a</sup>

\*Períodos de sobrevivência em ordem crescente, para os experimentos conduzidos em 2014 e 2015. a- Plantas daninhas empregadas no experimento 1, conduzido em 2014; b- Plantas daninhas empregadas no experimento 1, conduzido em 2015; c- Plantas daninhas empregadas no experimento 2, conduzido em 2014; d- Plantas daninhas empregadas no experimento 2, conduzido em 2015; e- Plantas daninhas empregadas no experimento 3, conduzido em, 2014; f- Plantas daninhas empregadas no experimento 3, conduzido em 2015.

No experimento 2, Xcc sobreviveu menos de 7 dias em *C. rotundos* (família Cyperaceae). Nas espécies *C. bonariensis*, *G. parviflora*, *S. oleraceus*, *S. obtusifolia*, *P. oleraceae* e *P. angulata*, os períodos de sobrevivência variaram de 7 a 28 dias. Maiores períodos de sobrevivência foram observados nessas espécies (21 a 42 dias) quando o experimento 2 foi instalado em março de 2015, exceto para *C. bonariensis*, na qual a bactéria sobreviveu por 7 dias no filoplano. Foi verificada uma baixa sobrevivência de Xcc no filoplano de *A. viridis* e *C. echinatus*, (famílias Amaranthaceae e Poaceae, respectivamente).

No filoplano de *L. virginicum*, espécie descrita como hospedeira de Xcc na literatura, a bactéria sobreviveu por 56 dias no experimento 3. Nas espécies *G. purpureum*, *C. benghalensis* e *L. sibiricus*, a bactéria sobreviveu por 35 dias, porém em *E. fosbergii*, apenas 7 dias. Períodos de sobrevivência menores foram observados para essas espécies em 2015, exceto para *E. fosbergii*, tendo a bactéria sobrevivido por 56 dias no filoplano. Em *L. sibiricus* Xcc sobreviveu por período inferior a 7 dias, *C. benghalensis* 7 dias, *G. purpureum*, 14 dias, em *L. virginicum* por até 42 dias no filoplano. Membros da família Poaceae, Solanaceae e Amaranthaceae, não demonstraram potencial para a sobrevivência epifítica de Xcc.

Dados climáticos registrados durante a condução dos experimentos de sobrevivência no filoplano foram agrupados de acordo com os períodos de maior sobrevivência de Xcc (Tabelas 9, 10 e 11). Temperaturas mínimas médias superiores a 14 °C e máximas médias inferiores a 29 °C, precipitações frequentes (acima de 32 mm) e umidades relativas elevadas (acima de 70%) nas primeiras semanas de condução dos experimentos, contribuíram para períodos de sobrevivência de Xcc prolongados no filoplano das plantas daninhas. Entretanto, sob temperaturas mínimas média inferiores a 14 °C e temperaturas máximas média superiores a 30 °C, precipitação descontínua e umidade relativa baixa (abaixo de 70%) nas primeiras semanas, contribuíram para que a bactéria sobrevivesse por um tempo limitado no filoplano das plantas daninhas.

Baixa capacidade de sobrevivência do isolado 3098C foi observada na rizosfera de um grande número de espécies quando comparada ao controle (solo), na qual Xcc sobreviveu por até 7 dias. Na espécie *R. raphanistrum*, os períodos de sobrevivência da bactéria variaram de 7 a 28 dias, com predominância para 21 dias (Tabela 8). Em *A. viridis*, *C. bonariensis*, *E. fosbergii*, *E. heterophylla*, *D. insularis*, *R. repens*, *P. oleraceae*, *R. brasiliensis*, *N. physaloides* e *P. angulata* Xcc sobreviveu por até 14 dias. As

demais não apresentaram potencial para a sobrevivência de Xcc na rizosfera. Apesar de haver diferença entre os períodos de sobrevivência de algumas espécies, não foi encontrada relação entre as épocas de instalação dos experimentos e a capacidade de sobrevivência na rizosfera.

A quantificação da população do isolado 3098C de Xcc no filoplano e rizosfera das plantas daninhas foi realizada e os resultados estão apresentados no apêndice (Tabelas 1 a 12).

Tabela 9. Temperatura máxima e mínima (°C), umidade do solo (%), precipitação (mm), e umidade relativa (%) em diferentes períodos, durante a condução do experimento de sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no filoplano e rizosfera de plantas daninhas (Experimento 1).

Experimento 1						
Tempo	Temp. Min. Méd.	Temp. Máx. Méd.	Umidade solo	Precipitação	U. R.	
0-7	10,6	27,3	18,8	35,4	70,1	
8-14	12,1	27,6	17,2	0,0	63,9	
15-21	13,3	30,8	16,5	0,0	56,2	
22-28	12,1	27,2	17,5	25,7	82,7	
29-35	13,8	27,1	-	50,4	85,5	
36-42	9,1	24,1	-	0,0	66,2	
43-49	17,9	34,2	-	0,0	45,5	
50-56	13,5	31,8	-	0,0	67,2	
57-63	12,8	29,9	-	30,8	66,9	
64-70	14,7	30,3	-	69,7	71,5	
Experimento 1 - Repetição						
Tempo	Temp. Min. Méd.	Temp. Máx. Méd.	Umidade solo	Precipitação	U. R.	
0-7	17,6	27,6	21,3	95,0	90,0	
8-14	17,9	28,3	19,0	115,5	86,6	
15-21	18,9	28,7	18,4	34,4	76,5	
22-28	17,2	29,4	18,0	1,5	76,0	
29-35	17,6	27,6	-	142	85,1	
36-42	17,6	26,9	-	36,4	87,8	
43-49	16,4	24,9	-	31,8	74,8	
50-56	17,4	28,0	-	55,2	77,5	
57-63	16,1	26,6	-	0,9	78,9	
64-70	12,4	27,5	-	0,0	76,8	

Tabela 10. Temperatura máxima e mínima (°C), umidade do solo (%), precipitação (mm), e umidade relativa (%) em diferentes períodos, durante a condução do experimento de sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no filoplano e rizosfera de plantas daninhas (Experimento 2).

Experimento 2						
Tempo	Temp. Min. Méd.	Temp. Máx. Méd.	Umidade solo	Precipitação	U. R.	
0-7	13,8	27,8	18,3	61,9	84,8	
8-14	9,1	24,1	17,1	0,0	66,2	
15-21	17,9	34,2	11,3	0,0	45,5	
22-28	13,5	31,8	13,1	0,0	67,2	
29-35	12,8	29,9	-	30,8	66,9	
36-42	14,7	30,3	-	69,7	71,5	
43-49	14,2	28,9	-	10,5	77,7	
50-56	11,7	27,8	-	4,5	70,0	
57-63	14,1	27,1	-	59,1	88,8	
64-70	15,2	27,7	-	0,0	75,9	
Experimento 2 - Repetição						
Tempo	Temp. Min. Méd.	Temp. Máx. Méd.	Umidade solo	Precipitação	U. R.	
0-7	17,2	27,9	20,3	55,1	77,3	
8-14	16,1	26,6	19,5	0,9	78,9	
15-21	14,4	27,5	18,6	0,0	76,8	
22-28	17,3	28,3	19,1	44,5	84,0	
29-35	17,3	26,7	16,1	1,0	82,2	
36-42	13,8	25,2	-	35,1	71,1	
43-49	12,8	22,3	-	18,9	81,8	

Tabela 11. Temperatura máxima e mínima (°C), umidade do solo (%), precipitação (mm) e umidade relativa (%) em diferentes períodos, durante a condução do experimento de sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no filoplano e rizosfera de plantas daninhas (Experimento 3).

Experimento 3						
Tempo	Temp. Min. Méd.	Temp. Máx. Méd.	Umidade solo	Precipitação	U. R.	
0-7	14,4	29,1	16,2	15,0	78,1	
8-14	11,6	26,9	13,7	0,0	70,3	
15-21	14,4	27,5	-	59,1	90,4	
22-28	15,6	27,6	-	32,5	71,2	
29-35	14,4	27,3	-	44,3	78,1	
36-42	14,0	28,1	-	73,9	100,0	
43-49	15,2	27,6	-	112,2	88,6	
50-56	18,5	32,6	-	1,6	70,5	
57-63	18,8	31,5	-	119,8	79,6	
64-70	20,4	33,0	-	50,5	68,1	
Experimento 3 -Repetição						
Tempo	Temp. Min. Méd.	Temp. Máx. Méd.	Umidade solo	Precipitação	U. R.	
0-7	14,1	27,8	15,8	0,0	59,0	
8-14	15,2	27,3	15,4	0,0	58,9	
15-21	12,0	24,2	15,3	50,6	69,5	
22-28	11,9	26,6	14,7	3,8	48,8	
29-35	12,5	24,1	-	83,4	80,2	
36-42	12,6	24,2	-	63,6	82,6	
43-49	18,8	33,2	-	0,0	49,2	
50-56	17,4	29,2	-	71,9	80,7	
57-63	14,6	27,3	-	4,1	80,1	
64-70	16,2	29,4	-	23,0	72,6	

### 6.3.1 Caracterização dos isolados bacterianos

Os isolados selecionados dos experimentos de sobrevivência de Xcc no filoplano e na rizosfera de plantas daninhas apresentaram resultados positivos para hidrólise de amido (Figura 1), desenvolveram sintomas de podridão negra em folhas de couve no teste de patogenicidade (Figura 2), e reação positiva de PCR com os iniciadores específicos para Xcc (Figura 3).



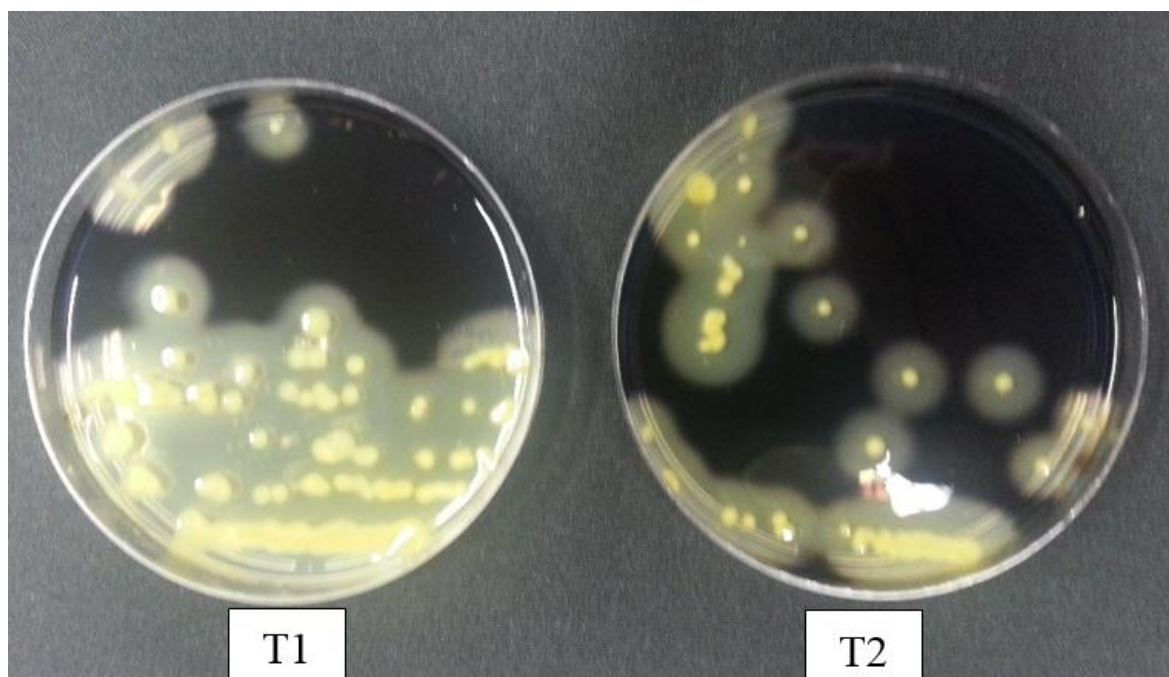


Figura 1. Hidrólise positiva de amido para *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, a partir do filoplano de *Cyperus rotundus* (T1) e *Raphanus raphanistrum* (T2).

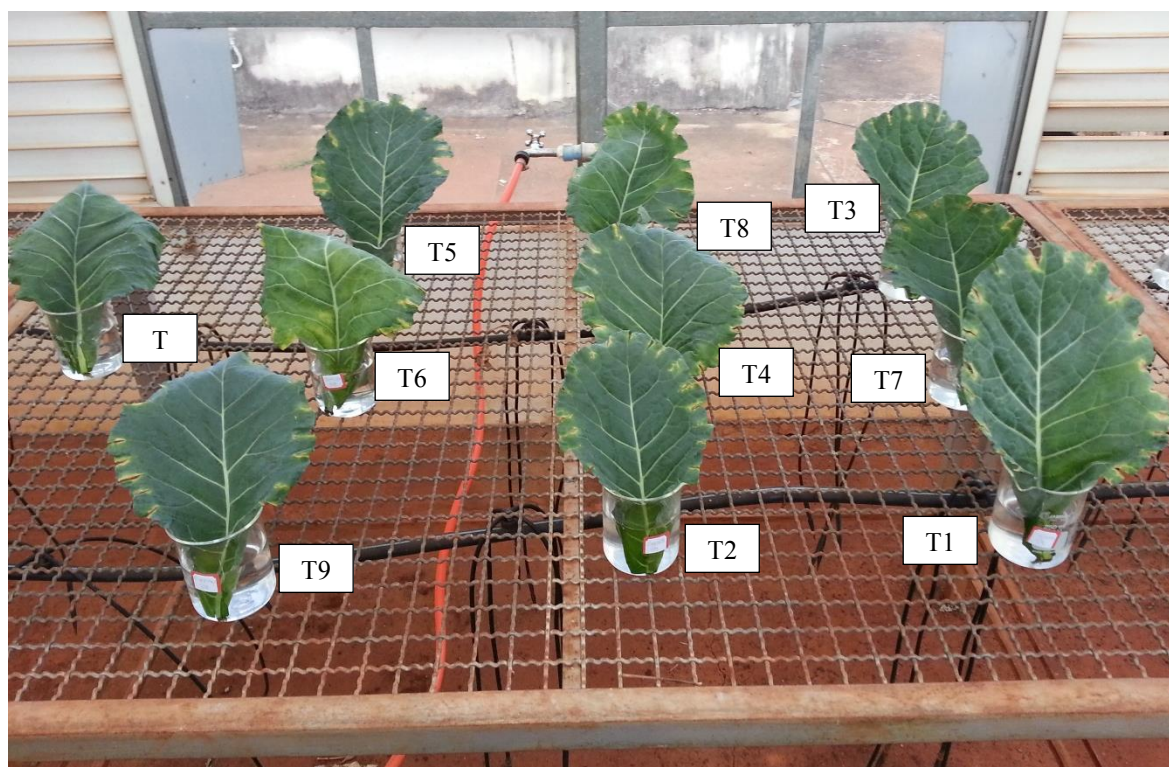


Figura 2. Teste de patogenicidade em folhas destacadas de couve. T- Testemunha negativa; *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* provenientes de plantas daninhas inoculadas; T1 – *Cyperus rotundus*; T2 – *Raphanus raphanistrum*; T3 – *Sonchus oleraceus*; T4 – *Lepidium virginicum*; T5 – *Senna obtusifolia*; T6 – *Physalis angulata*; T7 – *Portulaca oleraceae*; T8 – *Amaranthus viridis*; T9 – *Conyza bonariensis*.

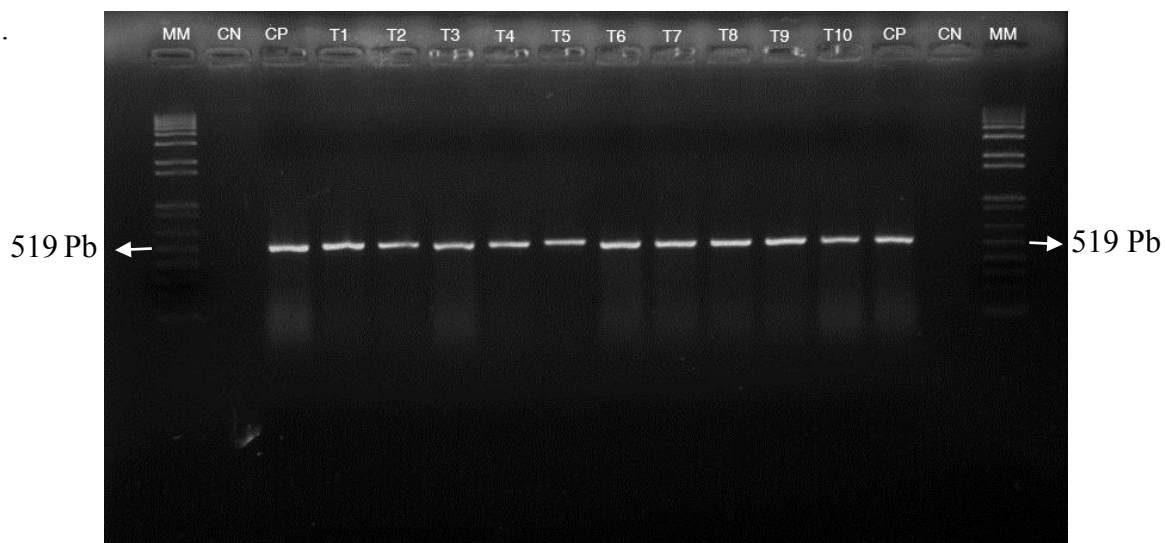


Figura 3. Eletroforese em gel de agarose 1% resultante das ampliações dos isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* utilizando iniciadores específicos. MM - Marcador Molecular, 1Kb Plus Invitrogen®; CP - Controle positivo, isolado 3098C; CN - Controle negativo; *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* provenientes de plantas inoculadas; T1 - *Cyperus rotundus*; T2 - *Raphanus raphanistrum*; T3 - *Sonchus oleraceus*; T4 - *Lepidium virginicum*; T5 - *Senna obtusifolia*; T6 - *Physalis angulata*; T7 - *Portulaca oleraceae*; T8 - *Amaranthus viridis*; T9 - *Conyza bonariensis*; T10 - *Commelina benghalensis*.

## 7 DISCUSSÃO

### **7.1 Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no solo em condições de campo e controladas**

O solo é um ambiente diversificado na qual seus atributos químicos, físicos e biológicos, somados aos fatores climáticos, influenciam no desempenho dos mecanismos de sobrevivência dos fitopatógenos (MENZIES, 1963). É de conhecimento que bactérias do gênero *Xanthomonas* são pouco adaptadas a sobrevivência no solo, tendo suas populações reduzidas em um curto espaço de tempo. Entretanto, há poucas informações referentes à sobrevivência de Xcc e os atributos do solo que interferem na ecologia da bactéria (HIRANO; UPPER, 1983; LÓPEZ et al., 1999), principalmente nas condições brasileiras.

No presente estudo, Xcc apresentou baixa capacidade de sobrevivência como células livres no solo em condições de campo. Mesmo empregando-se uma concentração elevada de inóculo para infestação do solo em campo, condição pouco provável de acontecer em condições naturais, a população de Xcc declinou rapidamente. Ao analisar os cinco experimentos realizados em condições de campo, é possível verificar que a temperatura influenciou a sobrevivência de Xcc no solo. Embora nos primeiros

quatro dias dos experimentos a maior temperatura máxima média tenha sido registrada no experimento 5 (29,6 °C), Xcc foi capaz de sobreviver por até 7 dias, assim como nos experimentos 1 e 4 (temperaturas máximas médias de 18 e 25 °C, respectivamente). No experimento 2, a temperatura máxima média (24,4 °C) foi menor que nos experimentos 5 e 4, porém sua temperatura mínima média foi superior a todos os experimentos (14,2 °C). Um maior período de sobrevivência de Xcc era esperado no experimento 3 (temperatura máxima e mínima de 22,7 e 10,2 °C), porém a bactéria sobreviveu por apenas 4 dias.

A precipitação e os teores de umidade podem também ter influenciado na sobrevivência da bactéria. Durante os quatro primeiros dias dos experimentos 1 e 4, por exemplo, foram registrados 6,4 e 8,6 mm de chuva, respectivamente, assim como, 10,7 e 8,0 % de umidade no solo, e a bactéria sobreviveu por 7 dias. Já no experimento 2, na qual não houve precipitação e a umidade do solo foi de 6,8 %, o tempo de sobrevivência foi menor. No experimento 3, entretanto, apesar de um pequeno volume de chuva ter ocorrido (2,5 mm), um baixo teor de umidade foi registrado (6,9%), o que poderia ter contribuído para o curto período de sobrevivência de Xcc. Comportamento não esperado ocorreu no experimento 5, pois mesmo não havendo precipitação e o teor de umidade do solo sendo baixo (5,4 %), Xcc sobreviveu por até 7 dias.

Além dos fatores climáticos, as propriedades físico-químicas e a microbiota do solo poderiam explicar a diferença entre os períodos de sobrevivência de Xcc obtidos no presente estudo. Períodos estes considerados muito baixos quando comparados aos estudos desenvolvidos em outros países. Na Geórgia (EUA), Xcc sobreviveu por 14 dias no solo durante o verão, e por até 42 dias no inverno (SCHAAD; WHITE, 1974). No Hawaii, Xcc sobreviveu de 48 a 98 dias no solo após a colheita de plantas de couve em áreas naturalmente e artificialmente infestadas com a bactéria (ALVAREZ; CHO, 1978).

No experimento realizado com diferentes solos em condição controlada, ficou clara a influência de determinados fatores físico-químicos, como textura, pH e teor de matéria orgânica, na sobrevivência de Xcc. O solo A, coletado na mesma área onde foram realizados os experimentos de campo, foi o único de textura média e menor pH (4.2) e teor de matéria orgânica (13 g/dm<sup>3</sup>), tendo Xcc sobrevivido por 10 dias. Já nos demais solos, coletados em áreas com cultivo de brássicas, apresentaram textura argilosa, faixas de pH entre 5.0 e 5.9, e teores de matéria orgânica entre 18 a 28 g/dm<sup>3</sup>, os períodos

de sobrevivência de Xcc foram 12 e 24 dias.

Uma explicação para o maior período de sobrevivência em solos argilosos, é que as bactérias Gram-negativas em condição de baixa umidade se abrigam no interior dos agregados de argila devido a uma maior disponibilidade de água e proteção a organismos antagonistas. Isso sugere que em solos arenosos, com baixa formação de agregados, as bactérias apresentam menor capacidade de sobrevivência, em comparação com solos de textura argilosa (HATTORI 1973, citado por MARSHALL, 1975). Com relação ao pH, quanto mais próximo da neutralidade, melhor para a sobrevivência da bactéria (SANTIRANJAN et al., 1986), como observado no solo B, de pH mais elevado, e que provavelmente favoreceu a sobrevivência de Xcc. A matéria orgânica, entretanto, tanto pode favorecer, como desfavorecer a sobrevivência de bactérias no solo, pois afeta diretamente a disponibilidade de nutrientes, assim como, favorece indiretamente o crescimento de microrganismos antagonistas (MENZIES, 1963).

Como os períodos de sobrevivência em condição controlada foram maiores nos solos coletados em campos de brássicas do que no solo A, provavelmente Xcc pode sobreviver por períodos maiores em condição de campo, do que nos períodos de sobrevivência obtidos neste estudo. O solo A, apesar de possuir características físico-químicas, e possivelmente biológicas, diferentes dos solos utilizados no cultivo de brássicas, foi selecionado para servir de modelo para compreender a influência das condições climáticas na sobrevivência de Xcc. Além disso, o experimento de sobrevivência em condição controlada, contribuiu para elucidar quais parâmetros podem afetar a sobrevivência da bactéria no solo.

## **7.2 Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* no filoplano e rizosfera de plantas daninhas**

As plantas daninhas são consideradas importantes reservatórios de bactérias fitopatogênicas, contribuindo para a persistência do inóculo no campo (JONES et al., 1986). É de conhecimento que plantas daninhas da família Brassicaceae são importantes hospedeiras de Xcc (SCHAAD; DIANESE, 1981; KISHUN; CHAND, 1988). Porém, até o momento, poucos trabalhos foram realizados visando avaliar a sobrevivência

no filoplano e rizosfera dessas espécies, assim como em espécies de outras famílias botânicas.

O filoplano é um ambiente hostil para as fitobactérias, pois encontra-se exposto à atmosfera, sofre a influência da luz solar, de rápidas flutuações de temperatura, umidade relativa e precipitação, além de possuir fontes limitadas de nutrientes (LINDOW; BRANDL, 2003; VORHOLT, 2012). A rizosfera, em contrapartida, oferece maior proteção às variações climáticas e possui fontes mais abundantes de carbono e minerais (BRENCIC; WINANS, 20005). Resultados obtidos no presente estudo demonstraram que o filoplano das plantas daninhas é um importante nicho para Xcc, capaz de assegurar a sobrevivência da bactéria por longos períodos, ao contrário do que foi observado na rizosfera. Uma explicação para este comportamento é que bactérias do gênero *Xanthomonas* são altamente especializadas em se multiplicar nos tecidos vegetais (RUDOLPH, 1993) e pouco adaptadas à sobrevivência no solo (MENZIES, 1963; SCHUSTER; COYNE, 1974), mesmo no solo da região da rizosfera.

Dentre as plantas daninhas utilizadas neste estudo, *L. virginicum* e *R. raphanistrum* apresentaram elevado potencial para sobrevivência epifítica de Xcc. Ambas espécies são membros da família Brassicaceae e foram descritas como hospedeiras de Xcc por Schaad em 1976 (LEYNS et al., 1984). *R. raphanistrum* empregada como controle em todos os experimentos, foi a única espécie que possibilitou a sobrevivência da bactéria no filoplano durante os 70 dias dos experimentos. A presença de sintomas foi observada em algumas plantas, porém não foi realizado o isolamento para comprovação. *L. virginicum* assegurou a sobrevivência de Xcc por 42 dias no filoplano, porém não foram verificados sintomas da infecção pela bactéria nesta espécie. A capacidade de sobrevivência epifítica de Xcc em *L. virginicum*, também foi comprovada por Schaad e Dianese (1981), a partir de folhas coletadas em diferentes áreas com histórico da podridão negra na Geórgia, EUA.

Espécies de plantas daninhas não hospedeiras de Xcc, das famílias Asteraceae, Commelinaceae, Convolvulaceae, Cyperaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Malvaceae, Rubiaceae e Solanaceae, mostraram-se potenciais a sobrevivência da bactéria, porém foram influenciadas pelas condições ambientais. Toussaint et al. (2012) verificaram que melhores condições umidade e temperatura empregadas em condições controladas contribuíram para que *X. c. vitians* sobrevivesse 30 dias com uma elevada população no filoplano de plantas não hospedeiras da bactéria. Neste trabalho, apesar de

maiores períodos de sobrevivência serem observados em melhores condições de umidade e temperatura, suas populações foram baixas quando comparadas *Raphanus raphanistrum* (Apêndice, tabelas de 1 a 12).

Plantas daninhas das famílias Poaceae e Amaranthaceae apresentaram baixo potencial para sobrevivência de Xcc no filoplano, sendo pouco influenciadas pelas condições ambientais. Vários fatores podem explicar a menor capacidade de sobrevivência da bactéria nestas famílias. A topografia das folhas é um dos fatores que pode influenciar na dinâmica das populações epifíticas (O'BRIEN; LINDOW, 1989; TOUSSAINT et al., 2012). Arias et al. (2000) observaram que a superfície das folhas do trigo (Poaceae) impediu a aderência de Xcc, o que justifica o menor período de sobrevivência nessa espécie, ao contrário do que ocorreu em folhas de couve, mostarda (Brassicaceae) e alface (Asteraceae), na qual a bactéria sobreviveu por períodos elevados. O'Brien e Lindow (1989) argumentam que plantas que possuem folhas com cutícula cerosa tendem a assegurar populações bacterianas inferiores às plantas com folhas tricomáticas. A disponibilidade de nutrientes no filoplano varia de acordo com a espécie, idade da folha e as condições de crescimento, e pode influenciar na sobrevivência das fitobactérias (MERCIER; LINDOW, 2000). Compostos químicos contidos na superfície das plantas, produzidos por elas próprias ou por outros microrganismos também influenciam na sobrevivência (VORHOLT, 2012).

De modo geral, é possível verificar que a temperatura, precipitação e umidade relativa ocorridos durante os experimentos influenciaram na sobrevivência de Xcc no filoplano das plantas daninhas, exceto para as espécies *R. raphanistrum*, *A. viridis*, *C. echinatus*, *N. physaloides* e *D. stramonium*, cujos períodos de sobrevivência não foram afetados. Temperaturas máximas inferiores a 29,4 °C nas primeiras semanas, baixa variação entre as temperaturas máxima e mínima, elevados índices pluviométricos e umidades relativas elevadas, contribuíram para que Xcc sobrevivesse por um período maior no filoplano das plantas daninhas. Nos experimentos em que as temperaturas foram elevadas nas primeiras semanas e com grande variação entre temperaturas máxima e mínima, assim como baixo índice pluviométrico e baixa umidade relativa, os períodos de sobrevivência no filoplano foram menores. Gent et al. (2005) verificaram que sob altas temperaturas e baixa umidade, o grão de bico e a soja apresentaram baixo potencial para a sobrevivência epifítica de *X. axonopodis* pv. *allii*. Os autores argumentaram que melhores condições ambientais poderiam favorecer a sobrevivência dessa bactéria no filoplano das

leguminosas.

Poucas espécies de plantas daninhas demonstraram potencial à sobrevivência de Xcc na rizosfera quando comparadas ao controle negativo (solo). O controle positivo (*R. raphanistrum*), foi a espécie que manteve a população bacteriana por maior tempo na rizosfera (até 28 dias). As plantas daninhas *A. viridis*, *C. bonariensis*, *E. fosbergii*, *E. heterophylla*, *D. insularis*, *R. repens*, *P. oleraceae*, *R. brasiliensis*, *N. physaloides* e *P. angulata* possibilitaram que Xcc sobrevivesse até 14 dias na rizosfera. Período semelhante de sobrevivência foi verificado por Thaveechai et al. (1993), para *X. axonopodis* pv. *manihotis*, na rizosfera de *Digitaria* sp., *Dactyloctenium aegyptium* e *Fimbristylis monostachya*. Bashan et al. (1982) verificaram que plantas de ervilha, feijão, pepino, sorgo e trigo, foram capazes de manter populações de *X. vesicatoria* por até 30 dias na rizosfera. No presente estudo, as demais espécies de plantas, não apresentaram potencial para sobrevivência de Xcc na rizosfera, já que seus períodos de sobrevivência não diferiram do controle negativo.

Vários autores argumentam que diferentes espécies de plantas podem selecionar populações microbianas específicas na rizosfera (WU et al., 2015; GRAYSTON et al., 1998; SMALLA et al., 2001), graças à liberação de compostos químicos pelas raízes que alteram a composição química do solo da rizosfera e servem de substrato para o crescimento de comunidades microbianas específicas (YANG; CROWLEY, 2000). Esse fato, poderia explicar os resultados aqui obtidos, na qual determinadas espécies de plantas daninhas não hospedeiras de Xcc foram capazes de manter a população bacteriana por maiores períodos na rizosfera, enquanto outras espécies não. Outros fatores podem estar relacionados como o tipo de solo, práticas de cultivo, disponibilidade de nutrientes, estado nutricional da planta, estágio de crescimento, pH e umidade (GUO et al., 2015; GRAYSTON et al., 1998; LATOUR et al., 1999; SMALLA et al., 2001). No presente estudo não foi encontrada relação entre a persistência de Xcc na rizosfera das diferentes espécies de plantas daninhas, e os fatores climáticos registrados durante a condução dos experimentos.

Os resultados aqui obtidos sustentam a hipótese de que plantas daninhas presentes em áreas com histórico da podridão negra são potenciais fontes de inóculo de Xcc para novos cultivos de brássicas, sendo recomendado a erradicação dos campos de cultivo.



## 8 CONCLUSÕES

- O solo e a rizosfera de várias espécies de plantas daninhas não foram nichos apropriados para a sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.
- *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* apresentou maior período de sobrevivência epifítica em plantas de *Lepidium virginicum* e *Raphanus raphanistrum*, pertencentes à família Brassicaceae, do que em plantas daninhas de outras famílias botânicas avaliadas.

## 9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ, A. M. Black rot of crucifers. In: SLUSARENKO, A.; FRASSER R. S. S.; VAN LOON, L. C (Ed.). **Mechanisms of resistance of 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.

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.

BAIS, H. P. et al. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 57, p. 233-266, 2006.

BASHAN, Y.; DIAB, S.; OKON, Y. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in pepper seeds and roots in symptomless and dry leaves in non-host plants and in the soil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 68, n. 2, p. 161-170, 1982.

BEATTIE, G. A.; LINDOW, S. E. The secret life of foliar bacterial pathogens on leaves. **Annual review of phytopathology**, Palo Alto, v. 33, n. 1, p. 145-172, 1995.

BRADBURY, J. F. **Guide to plant pathogenic bacteria**. Slough: CAB international, 1986. 332 p.

- BRENCIC, A.; WINANS, S. C. Detection of and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 69, n. 1, p. 155-194, 2005.
- BRETSCHNEIDER, K. E.; GONELLA, M. P.; ROBESON, D. J. A comparative light and electron microscopical study of compatible and incompatible interactions between *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and cabbage (*Brassica oleracea*). **Physiological and molecular plant pathology**, Londres, v. 34, n. 4, p. 285-297, 1989.
- BROEK, A. V.; VANDERLEYDEN, J. The role of bacterial motility, chemotaxis, and attachment in bacteria-plant interactions. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Saint Paul, v. 8, n. 6, p. 800-810, 1995.
- BURR, T. J.; SCHROTH, M. N. Occurrence of soft-rot *Erwinia* spp. in soil and plant material. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 67, n. 11, p. 1382-1387, 1977.
- DANE, F.; SHAW, J. J. Survival and persistence of bioluminescent *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* on host and non-host plants in the field environment. **Journal of Applied Bacteriology**, Chichester, v. 80, n. 1, p. 73-80, 1996.
- DIXON G. R. **Vegetable brassicas and related crucifers**. Wallingford: CABI, 2006. 327 p.
- DUNGER, G. et al. Xanthan is not essential for pathogenicity in citrus canker but contributes to *Xanthomonas* epiphytic survival. **Archives of microbiology**, Heidelberg, v. 188, n. 2, p. 127-135, 2007.
- DZHALILOV, F. S.; TIWARI, R. D. Soil and cabbage plant debris as infection sources of black rot. **Archives of Phytopathology & Plant Protection**, Abingdon, v. 29, n. 5, p. 383-386, 1995.
- FAO. FAOSTAT: agricultural statistics database. Rome, 2005. Disponível em: <<http://apps.fao.org>>. Acesso em: 08 set. 2015.
- FARGIER, E.; MANCEAU, C. Pathogenicity assays restrict the species *Xanthomonas campestris* into three pathovars and reveal nine races within *X. campestris* pv. *campestris*. **Plant Pathology**, Chichester, v. 56, n. 5, p. 805-818, 2007.
- GAY, P. A.; TUZUN, S. Involvement of a novel peroxidase isozyme and lignification in hydathodes in resistance to black rot disease in cabbage. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 78, n. 9, p. 1144-1149, 2000.
- GENT, D. H. et al. Inoculum sources and survival of *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* in Colorado. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 89, n. 5, p. 507-514, 2005.
- GOTO, M. **Fundamentals of bacterial plant pathology**. San Diego: Academic, 1990. 342 p.

- GRAYSTON, S. J. et al. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 30, n. 3, p. 369-378, 1998.
- GRIESBACH, E.; LOPTIEN, H.; MIERSCH, U. Resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson in cabbage *Brassica oleracea* L. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, Stuttgart, v. 110, n. 5, p. 461-475, 2003.
- GUDESBLAT, G. E.; TORRES, P. S.; VOJNOV, A. A. Stomata and pathogens: warfare at the gates. **Plant signaling & Behavior**, Philadelphia, v. 4, n. 12, p. 1114-1116, 2009.
- GUO, H. C. et al. Characteristics of rhizosphere and bulk soil microbial communities in rubber plantations in Hainan island, China. **Journal of Tropical Forest Science**, Kepong, v. 27, n. 2, p. 202-212, 2015.
- HABTE, M.; ALEXANDER, M. Protozoa as agents responsible for the decline of *Xanthomonas campestris* in soil. **Applied microbiology**, Washington, v. 29, n. 2, p. 159-164, 1975.
- HABTE, M.; ALEXANDER, M. Further evidence for the regulation of bacterial populations in soil by protozoa. **Archives of Microbiology**, Heidelberg, v. 113, n. 3, p. 181-183, 1977.
- HARTEL, P. G.; VAUGHN, T. M.; WILLIAMSON, J. W. Rhizosphere competitiveness of genetically altered *Pseudomonas solanacearum* in a novel gnotobiotic plant assembly. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 25, n. 11, p. 1575-1581, 1993.
- HAYET, E. et al. Antibacterial, antioxidant and cytotoxic activities of extracts of *Conyza canadensis* (L.) Cronquist growing in Tunisia. **Medicinal Chemistry Research**, Basel, v. 18, n. 6, p. 447-454, 2009.
- HE, Y. W. et al. *Xanthomonas campestris* diffusible factor is 3-hydroxybenzoic acid and is associated with xanthomonadin biosynthesis, cell viability, antioxidant activity, and systemic invasion. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Saint Paul, v. 24, n. 8, p. 948-957, 2011.
- HIRANO, S. S.; UPPER, C. D. Ecology and epidemiology of foliar bacterial plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 21, n. 1, p. 243-270, 1983.
- HIRANO, S. S.; UPPER, C. D. Bacteria in the leaf ecosystem with emphasis on *Pseudomonas syringae* a pathogen, ice nucleus, and epiphyte. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 64, n. 3, p. 624-653, 2000.
- HORTEC. **Produtos**. Bragança Paulista, 2015. Disponível em: <<http://www.hortec.com.br/es/produtos>>. Acesso em: 08 dez. 2015.
- HORTIFRUTI. **Agrianual 2015**: Anuário estatístico da agricultura brasileira. São Paulo, p. 305-352, 2015.

HUANG, J. S. Ultrastructure of bacterial penetration in plants. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 24, n. 1, p. 141-157, 1986.

HUGOUVIEUX, V.; BARBER, C. E.; DANIELS, M. J. Entry of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* into hydathodes of *Arabidopsis thaliana* leaves: a system for studying early infection events in bacterial pathogenesis. **Molecular plant-microbe interactions**, Saint Paul, v. 11, n. 6, p. 537-543, 1998.

ISLA. **Produtos:** hortaliças. Porto Alegre, 2015. Disponível em: < [https://isla.com.br/cgi-bin/busca.cgi?title=Hortali%E7as&id\\_grupo=1](https://isla.com.br/cgi-bin/busca.cgi?title=Hortali%E7as&id_grupo=1)>. Acesso em: 08 dez. 2015.

JENSEN, B. D. et al. Occurrence and diversity of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in vegetable Brassica fields in Nepal. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 94, n. 3, p. 298-305, 2010.

JONES, J. B. et al. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in Florida on tomato crop residue, weeds, seeds, and volunteer tomato plants. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 76, n. 4, p. 430-434, 1986.

KADO, C. I. **Plant bacteriology**. Saint Paul: American Phytopathological Society, 2010. 336 p.

KARAVINA, C. et al. Epiphytic Survival of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (EF SM). **Journal of Animal and Plant Sciences**, Nairobi, v. 9, n. 2, p. 1161-1168, 2011.

KATZEN, F. et al. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* gum Mutants: Effects on Xanthan Biosynthesis and Plant Virulence. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 180, n. 7, p. 1607-1617, 1998.

KISHUN, R.; CHAND, R. Epiphytic survival of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* on *Centella asiatica* (L.) Urban. **International Journal of Tropical Plant Diseases**, Jodhpur, v. 6, n. 2, p. 189-193, 1988.

KOCKS, C. G. et al. Survival and extinction of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in soil. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 104, n. 9, p. 911-923, 1998.

KOCKS, C. G.; ZADOKS, J. C.; RUISSEN, 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.

KRAUTHAUSEN, H. J.; LAUN, N.; WOHANKA, W. Methods to reduce the spread of the black rot pathogen, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, in brassica transplants. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, v. 118, n. 1, p. 7, 2011.

KUAN, T. L. et al. Aerial dispersal of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* from naturally infected *Brassica campestris*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 70, n. 5, p. 409-413, 1986.

- LATOURE, X. et al. The establishment of an introduced community of fluorescent pseudomonads in the soil and in the rhizosphere is affected by the soil type. **FEMS microbiology ecology**, Oxford, v. 30, n. 2, p. 163-170, 1999.
- LEBEN, C. How plant-pathogenic bacteria survive. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 65, n. 8, p. 633-637, 1981.
- 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.
- LEYNS, F. et al. The host range of the genus *Xanthomonas*. **The Botanical Review**, New York, v. 50, n. 3, p. 308-356, 1984.
- LINDOW, S. E.; BRANDL, M. T. Microbiology of the phyllosphere. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, n. 4, p. 1875-1883, 2003.
- LÓPEZ, N. I.; HAEDO, A. S.; MÉNDEZ, B. S. Evaluation of *Xanthomonas campestris* survival in a soil microcosm system. **International Microbiology**, v. 2, n. 2, p. 111-114, 1999.
- LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 672 p.
- LUGO, A. J. et al. Copper resistance in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* affecting crucifers in Trinidad. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 136, n. 1, p. 61-70, 2013.
- LUGTENBERG, B. J. J.; DEKKERS, L.; BLOEMBERG, G. V. Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 39, n. 1, p. 461-490, 2001.
- MARIANO, R. L. R.; MCCARTER, S. M. Epiphytic survival of *Pseudomonas viridiflava* on tomato and selected weed species. **Microbial Ecology**, New York, v. 26, n. 1, p. 47-58, 1993.
- MARINGONI, A. C. Doenças das Crucíferas. In: KIMATI, H. et al. **Manual de fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. cap. 31, p. 285-291.
- MARK, G. L. et al. Transcriptome profiling of bacterial responses to root exudates identifies genes involved in microbe-plant interactions. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 102, n. 48, p. 17454-17459, 2005.
- MARSHALL, K. C. Clay mineralogy in relation to survival of soil bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 13, n. 1, p. 357-373, 1975.

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.

MEIER, D. A cytological study of the early infection stages of the black rot of cabbage. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, Lawrence, v. 61, n.4, p. 173-190, 1934.

MENDONÇA, M.; STANGHELLINI, M. E. Endemic and soilborne nature of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*, a pathogen of mature sugar beets. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 69, p. 1096-1099, 1979.

MENZIES, J. D. Survival of microbial plant pathogens in soil. **The Botanical Review**, New York, v. 29, n. 1, p. 79-122, 1963.

MERCIER, J.; LINDOW, S. E. Role of leaf surface sugars in colonization of plants by bacterial epiphytes. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 1, p. 369-374, 2000.

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.

MIRIK, M. et al. First outbreak of bacterial black rot on cabbage, broccoli, and brussels sprouts caused by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in the Mediterranean Region of Turkey. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 92, n. 1, p. 176-176, 2008.

MWEBAZE, J. M. et al. The survival of *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum* in soil and plant debris. **African Crop Science Journal**, Kampala, v. 14, n. 2, p.121-127, 2006.

O'BRIEN, R. D.; LINDOW, S. E. Effect of plant species and environmental conditions on epiphytic population sizes of *Pseudomonas syringae* and other bacteria. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 79, n. 5, p. 619-627, 1989.

OKECHUKWU, R. U.; EKPO, E. J. A. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *vignicola* in infested soil, cowpea seed and cowpea debris. **Tropical Agricultural Research and Extension**, Kamburupitiya, v. 11, p. 45-48, 2008.

PEREIRA, A. L. G. et al. Sobrevivência de *Xanthomonas citri* (Hasse ) Dowson em capim amargoso (*Trichachne insularis* (L.) Nees) de pomares erradicados, no Estado de São Paulo. **Biologico**, São Paulo, v. 42, n. 11/12, p. 217-221, 1976.

POPLAWSKY, A. R.; CHUN, W. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* requires a functional pigB for epiphytic survival and host infection. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Saint Paul, v. 11, n. 6, p. 466-475, 1998.

POPLAWSKY, A. R.; URBAN, S. C.; CHUN, W. Biological role of xanthomonadin pigments in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 12, p. 5123-5127, 2000.

POPOVIĆ, T. et al. First report of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* as the causal agent of black rot on oilseed rape (*Brassica napus*) in Serbia. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 97, n. 3, p. 418-418, 2013.

RIGANO, L. A. et al. Bacterial cyclic  $\beta$ -(1, 2)-glucan acts in systemic suppression of plant immune responses. **The Plant Cell**, Rockville, v. 19, n. 6, p. 2077-2089, 2007.

ROBERTS, S. J. et al. Transmission from seed to seedling and secondary spread of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in Brassica transplants: effects of dose and watering regime. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 105, n. 9, p. 879-889, 1999.

ROMEIRO, S. R. Sobrevivência de bactérias fitopatogênicas e suas implicações. In: \_\_\_\_\_. **Bactérias Fitopatogênicas**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2011. cap. 12, p. 257-292.

RUDOLPH, K. Infection of the plant by *Xanthomonas*. In: SWINGS J. G.; CIVEROLO, E. L. (Eds.). **Xanthomonas**. London: Chapman & Hall, 1993. cap. 4, p. 193-264.

SANTIRANJAN, B.; CHATTOPADHYAY, S. B.; BANDYOPADHYAY, S. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in soil. **Indian Journal of Mycological Research**, Kolkata, v. 24, n. 2, p. 97-111, 1986.

SAKATA. **Produtos**: hortaliças, São Paulo, 2015. Disponível em: < <http://www.sakata.com.br/#> >. Acesso em: 08 dez. 2015.

SCHAAD, N. W. Detection of Seedborne Bacterial Plant Pathogens. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 66, n. 10, p. 885-890, 1982.

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.; THAVEECHAI, N. Black rot of crucifers in Thailand. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 67, n. 11, p. 1231-1234, 1983.

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

SCHULTZ, T.; GABRIELSON, R. L. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in western Washington crucifer seed fields: Occurrence and survival. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 76, n. 12, p. 1306-1309, 1986.

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.



SIGEE, D. C. **Bacterial plant pathology**: cell and molecular aspects. Cambridge: Cambridge University Press, 1993. 325 p.

SIKIROU, R.; WYDRA, K. Persistence of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vignicola* in weeds and crop debris and identification of *Sphenostylis stenocarpa* as a potential new host. **European journal of plant pathology**, Dordrecht, v. 110, n. 9, p. 939-947, 2004.

SILVA JUNIOR, T. A. F. et al. Survival of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in soil and bean crop debris. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 94, n. 2, p. 331-337, 2012.

SMALLA, K. et al. Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed. **Applied and environmental microbiology**, Washington, v. 67, n. 10, p. 4742-4751, 2001.

SRIVASTAVA, S. S. L.; BAIS, B. S. Survival and virulence of *Xanthomonas campestris* pv. *glycines* causing leaf pustules of soybean. **Indian Journal of Plant Pathology**, Jodhpur, v. 5, n. 1, p. 22-23, 1987.

STARR, M. P.; STEPHENS, W. L. Pigmentation and taxonomy of the genus *Xanthomonas*. **Journal of bacteriology**, Washington, v. 87, n. 2, p. 293-302, 1964.

SWINGS, J. G.; CIVEROLO, E. L. (Ed.). **Xanthomonas**. London: Chapman & Hall, 1993. 399 p.

SYNGENTA. **Produtos e Soluções**: sementes. São Paulo, 2015. Disponível em: <<http://www3.syngenta.com/country/br/pt/produtosemarcas/sementes/vegetais/Pages/home.aspx>>. Acesso em: 08 dez. 2015.

TAYLOR, J. D. et al. Sources and origin of resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in Brassica genomes. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 92, n. 1, p. 105-111, 2002.

THAVEECHAI, N. et al. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* under natural field conditions. **Kasetsart Journal**, Bangkok, v. 27, n. 1, p. 25-32, 1993.

TIMMER, L. W.; MAROIS, J. J.; ACHOR, D. Growth and survival of xanthomonads under conditions nonconducive to disease development. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 77, n. 9, p. 1341-1345, 1987.

TOUSSAINT, V.; BENOIT, D. L.; CARISSE, O. Potential of weed species to serve as a reservoir for *Xanthomonas campestris* pv. *vitians*, the causal agent of bacterial leaf spot of lettuce. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 41, p. 64-70, 2012.

TUKEY JUNIOR, H. B. The leaching of substances from plants. **Annual review of plant physiology**, Palo Alto, v. 21, n. 1, p. 305-324, 1970.

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.

VAUTERIN, L. et al. Reclassification of xanthomonas. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v. 45, n. 3, p. 472-489, 1995.

VICENTE, J. G. et al. Identification and origin of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* races and related pathovars. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 91, n. 5, p. 492-499, 2001.

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.

VORHÖLTER, F. J. et al. The genome of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* B100 and its use for the reconstruction of metabolic pathways involved in xanthan biosynthesis. **Journal of biotechnology**, Amsterdam, v. 134, n. 1, p. 33-45, 2008.

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

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

WILSON, M.; LINDOW, S. E. Ecological similarity and coexistence of epiphytic ice-nucleating (Ice+) *Pseudomonas syringae* strains and a non-ice-nucleating (Ice-) biological control agent. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 60, n. 9, p. 3128-3137, 1994.

WU, K. et al. Root exudates from two tobacco cultivars affect colonization of *Ralstonia solanacearum* and the disease index. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 141, n. 4, p. 667-677, 2015.

YADAV, R. K. P.; KARAMANOLI, K.; VOKOU, D. Bacterial colonization of the phyllosphere of Mediterranean perennial species as influenced by leaf structural and chemical features. **Microbial Ecology**, New York, v. 50, n. 2, p. 185-196, 2005.

YANG, C.H; CROWLEY, D. E. Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 1, p. 345-351, 2000.

YAO, J.; ALLEN, C. Chemotaxis is required for virulence and competitive fitness of the bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 188, n. 10, p. 3697-3708, 2006.

ZACCARDELLI, M. et al. Detection and identification of the crucifer pathogen, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, by PCR amplification of the conserved Hrp/type III secretion system gene *hrcC*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 118, n. 3, p. 299-306, 2007.

APÊNDICE

Tabela 1. Dinâmica populacional do isolado 3098C de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (ufc/g de tecido) associado ao filoplano de plantas daninhas (Experimento 1).

Tempo	Planta Daninha						
	Nabiça	Joá-de-capote	Corda-de-viola	Picão Preto	Poaia	Leiteira	Guanxuma
0	$2,6 \times 10^4$	$3,4 \times 10^4$	$4,0 \times 10^4$	$1,2 \times 10^5$	$5,0 \times 10^4$	$7,4 \times 10^4$	$2,2 \times 10^5$
7	$2,0 \times 10^4$	$6,0 \times 10^2$	0	$1,0 \times 10^3$	$3,4 \times 10^3$	$4,0 \times 10^3$	0
14	$1,2 \times 10^5$	$1,0 \times 10^3$	$5,8 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^2$	$6,0 \times 10^2$	-
21	$8,0 \times 10^5$	$8,0 \times 10^2$	0	$4,0 \times 10^2$	0	0	-
28	$1,1 \times 10^6$	0	-	0	-	-	-
35	$5,9 \times 10^6$	-	-	-	-	-	-
42	$2,1 \times 10^6$	-	-	-	-	-	-
49	$3,8 \times 10^7$	-	-	-	-	-	-
56	0	-	-	-	-	-	-
63	$1,1 \times 10^7$	-	-	-	-	-	-
70	$9,8 \times 10^7$	-	-	-	-	-	-

Tabela 2. Dinâmica populacional do isolado 3098C de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (ufc/g de tecido) associado a rizosfera de plantas daninhas (Experimento 1).

Tempo	Planta Daninha							
	Nabiça	Joá-de-capote	Corda-de-viola	Picão Preto	Poaia	Leiteira	Guanxuma	Solo
0	$4,3 \times 10^6$	$3,5 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$	$3,1 \times 10^6$	$1,7 \times 10^6$	$2,3 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$
7	$1,4 \times 10^2$	$7,3 \times 10^2$	0	$3,6 \times 10^2$	$2,1 \times 10^3$	$9,2 \times 10^2$	$3,7 \times 10^2$	$4,8 \times 10^2$
14	$1,8 \times 10^3$	0	-	0	$1,0 \times 10^2$	0	0	0
21	$3,9 \times 10^2$	-	-	-	0	-	-	-
28	0	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 3. Dinâmica populacional do isolado 3098C de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (ufc/g de tecido) associado ao filoplano de plantas daninhas (Repetição - experimento 1).

Tempo	Planta Daninha						
	Nabiça	Joá de Capote	Corda de Viola	Picão Preto	Poaia	Leiteira	Guanxuma
0	$3,9 \times 10^6$	$6,8 \times 10^4$	$7,0 \times 10^4$	$1,6 \times 10^5$	$1,0 \times 10^6$	$4,0 \times 10^5$	$5,4 \times 10^4$
7	$2,7 \times 10^5$	$2,0 \times 10^3$	$1,2 \times 10^4$	$1,6 \times 10^3$	$4,0 \times 10^4$	$1,4 \times 10^4$	$2,2 \times 10^4$
14	$1,3 \times 10^8$	$5,6 \times 10^4$	$4,4 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$	$1,4 \times 10^5$	$3,2 \times 10^3$	$2,9 \times 10^4$
21	$1,4 \times 10^6$	$8,8 \times 10^2$	$4,8 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$	$7,0 \times 10^4$	$5,8 \times 10^3$	$6,0 \times 10^2$
28	$1,5 \times 10^8$	0	$2,4 \times 10^3$	$4,0 \times 10^2$	$2,8 \times 10^3$	$1,7 \times 10^4$	$4,3 \times 10^2$
35	$1,1 \times 10^7$	-	$6,0 \times 10^3$	0	$1,2 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$	$8,7 \times 10^4$
42	$2,9 \times 10^7$	-	$1,2 \times 10^4$	$5,8 \times 10^3$	0	$9,0 \times 10^4$	0
49	$2,4 \times 10^6$	-	$3,4 \times 10^2$	0	-	0	-
56	$2,0 \times 10^5$	-	0	-	-	-	-
63	$9,0 \times 10^6$	-	-	-	-	-	-
70	$1,4 \times 10^6$	-	-	-	-	-	-

Tabela 4. Dinâmica populacional do isolado 3098C de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (ufc/g de tecido) associado a rizosfera de plantas daninhas (Repetição - experimento 1).

Tempo	Planta Daninha							
	Nabiça	Joá de Capote	Corda de Viola	Picão Preto	Poaia	Leiteira	Guanxuma	Solo
0	$6,2 \times 10^6$	$1,2 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	$7,9 \times 10^6$	$9,6 \times 10^6$	$3,7 \times 10^7$	$1,4 \times 10^8$	$1,3 \times 10^7$
7	0	$1,3 \times 10^2$	$1,3 \times 10^2$	0	0	$1,2 \times 10^2$	$2,4 \times 10^2$	0
14	$1,4 \times 10^4$	$2,6 \times 10^2$	0	-	-	$6,3 \times 10^2$	0	-
21	$3,0 \times 10^4$	0	-	-	-	0	-	-
28	0	-	-	-	-	-	-	-









Tabela 11. Dinâmica populacional do isolado 3098C de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (ufc/g de tecido) associado ao filoplano de plantas daninhas (Repetição - Experimento 3).

Tempo	Planta Daninha										
	Nabiça	Mastruz	Trapoeraba	Rubim	Macela	Falsa-serralha	Quinquilho	Braquiária	Capim-favorito	Capim-amargoso	Apaga-fogo
0	4,2x10 <sup>5</sup>	5,0x10 <sup>4</sup>	3,4x10 <sup>4</sup>	5,1x10 <sup>5</sup>	2,7x10 <sup>5</sup>	1,4x10 <sup>5</sup>	4,8x10 <sup>4</sup>	6,6x10 <sup>4</sup>	5,6x10 <sup>3</sup>	7,3x10 <sup>4</sup>	3,2x10 <sup>4</sup>
7	2,0x10 <sup>4</sup>	1,2x10 <sup>3</sup>	1,4x10 <sup>4</sup>	0	6,0x10 <sup>2</sup>	4,4x10 <sup>3</sup>	2,2x10 <sup>3</sup>	0	4,0x10 <sup>3</sup>	0	2,0x10 <sup>2</sup>
14	1,4x10 <sup>6</sup>	7,5x10 <sup>4</sup>	0	-	2,4x10 <sup>3</sup>	0	0	5,0x10 <sup>2</sup>	0	-	0
21	9,4x10 <sup>5</sup>	0	-	-	0	0	-	0	-	-	-
28	0	4,0x10 <sup>2</sup>	-	-	-	4,0x10 <sup>2</sup>	-	-	-	-	-
35	6,9x10 <sup>6</sup>	0	-	-	-	1,4x10 <sup>3</sup>	-	-	-	-	-
42	1,9x10 <sup>4</sup>	5,3x10 <sup>2</sup>	-	-	-	8,0x10 <sup>2</sup>	-	-	-	-	-
49	2,7x10 <sup>7</sup>	0	-	-	-	0	-	-	-	-	-
56	1,2x10 <sup>6</sup>	-	-	-	-	8,0x10 <sup>2</sup>	-	-	-	-	-
63	2,4x10 <sup>5</sup>	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-
70	2,0x10 <sup>5</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 12. Dinâmica populacional do isolado 3098C de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (ufc/g de tecido) associado a rizosfera de plantas daninhas (Repetição - Experimento 3).

Tempo	Planta Daninha											
	Nabiça	Mastruz	Trapoeraba	Rubim	Macela	Falsa-serralha	Quinquilho	Braquiária	Capim-favorito	Capim-amargoso	Apaga-fogo	Solo
0	6,3x10 <sup>5</sup>	4,1x10 <sup>5</sup>	3,3x10 <sup>5</sup>	4,0x10 <sup>5</sup>	4,0x10 <sup>5</sup>	3,9x10 <sup>5</sup>	3,9x10 <sup>5</sup>	1,1x10 <sup>6</sup>	7,9x10 <sup>5</sup>	7,5x10 <sup>5</sup>	3,1x10 <sup>5</sup>	1,6x10 <sup>6</sup>
7	1,1x10 <sup>2</sup>	3,2x10 <sup>2</sup>	0	0	1,1x10 <sup>2</sup>	0	0	0	0	0	0	0
14	1,1x10 <sup>2</sup>	0	-	-	0	1,1x10 <sup>2</sup>	-	0	1,2x10 <sup>2</sup>	1,7x10 <sup>2</sup>	-	-
21	2,6x10 <sup>3</sup>	-	-	-	-	0	-	-	0	0	-	-