

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

***Pseudomonas cichorii* EM TOMATEIRO: OCORRÊNCIA NO ESTADO DE SÃO
PAULO, GAMA DE HOSPEDEIRAS E REAÇÃO DE GENÓTIPOS**

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
Junho - 2007

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

***Pseudomonas cichorii* EM TOMATEIRO: OCORRÊNCIA NO ESTADO DE SÃO
PAULO, GAMA DE HOSPEDEIRAS E REAÇÃO DE GENÓTIPOS**

TADEU ANTÔNIO FERNANDES DA SILVA JÚNIOR

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Maringoni

Co-orientador: Dr. Luís Otávio Saggion Beriam

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
Junho – 2007

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

S586p Silva Júnior, Tadeu Antônio Fernandes da, 1982-
Pseudomonas cichorii em tomateiro: ocorrência no estado de São Paulo, gama de hospedeiras e reação de genótipos / Tadeu Antônio Fernandes da Silva Júnior. - Botucatu : [s.n.], 2007.
viii, 60 f. : il. color., gráfs.

Dissertação (Mestrado) -Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2007

Orientador: Antonio Carlos Maringoni

Inclui bibliografia

1. *Pseudomonas cichorii*. 2. Tomate - Doenças. 3. Bactérias fitopatogênicas. 4. Resistência genética. I. Maringoni, Antonio Carlos. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônomicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

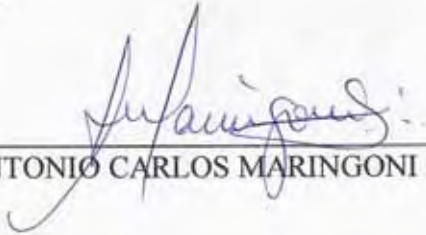
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "*Pseudomonas cichorii* EM TOMATEIRO: OCORRÊNCIA NO ESTADO DE
SÃO PAULO, GAMA DE HOSPEDEIRAS E REAÇÃO DE GENÓTIPOS"

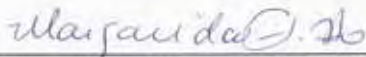
ALUNO: TADEU ANTÔNIO FERNANDES DA SILVA JÚNIOR

ORIENTADOR: PROF. DR. ANTONIO CARLOS MARINGONI

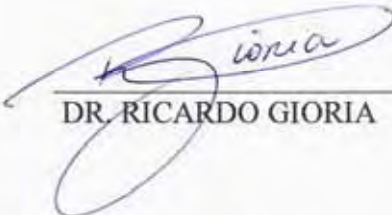
Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. ANTONIO CARLOS MARINGONI



DR^a MARGARIDA FUMIKO ITO



DR. RICARDO GIORIA

Data da Realização: 20 de junho de 2007.

Aos meus pais Mary Neide e Tadeu,

à minha tia Marina e

aos meus avós (*in memoriam*)

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Antonio Carlos Maringoni** pela orientação, amizade e ensinamentos para a realização deste trabalho;

Ao **Dr. Luís Otávio Saggion Beriam** pela orientação, amizade e a concessão de materiais utilizados;

Ao **Dr. Ricardo Gioria** pela amizade e auxílio na realização dos ensaios de casa de vegetação;

À **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrônômicas**, pela oportunidade de realização deste curso;

À **CAPES** pela concessão da bolsa de estudos;

À **Sakata Seed Sudamerica Ltda.** pelo fornecimento de materiais e infra-estrutura para a realização dos experimentos;

A todos do Setor de Fitopatologia da Sakata Seed Sudamerica Ltda., pela amizade e auxílio na realização deste trabalho;

Aos Professores e Funcionários do Departamento de Defesa Fitossanitária pela colaboração e ensinamentos;

Aos colegas do Programa de Pós-graduação em Proteção de Plantas e em especial à **Renata, Sandra e Juliana** pela amizade, ajuda e incentivo;

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	VII
LISTA DE TABELAS	VIII
1. RESUMO	1
2. SUMMARY	3
3. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	5
3.1. Ocorrência e principais hospedeiras de <i>Pseudomonas cichorii</i>	5
3.2. Características gerais de <i>Pseudomonas cichorii</i>	10
3.3. Reação de genótipos de tomateiro a <i>Pseudomonas</i> spp.	12
Capítulo 1 – Ocorrência de <i>Pseudomonas cichorii</i> em tomateiro no Estado de São Paulo	16
Capítulo 2 – Gama de hospedeiras e reação de genótipos de tomateiro a <i>Pseudomonas cichorii</i>	32
4. CONCLUSÕES GERAIS	53
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
Sintomas de queima bacteriana em tomateiro cv. Santa Clara três dias após inoculação com o isolado IBSBF 2323 de <i>Pseudomonas cichorii</i>	27
Reações dos isolados IBSBF 2309 (A) e IBSBF 2323 (B) de tomateiro com o antissoro policlonal do isolado tipo de <i>Pseudomonas cichorii</i> de chicória (IBSBF 1784)	27
Reações dos isolados IBSBF 1784 (A) e GIR-1 (B) com o antissoro policlonal do isolado tipo de <i>Pseudomonas cichorii</i> de chicória (IBSBF 1784)	27
Escala de notas de severidade da doença: A- nota 1; B- nota 2; C- nota 3; D- nota 4 e E- nota 5	47
Sintomas causados pelo isolado IBSBF 2309 de <i>P. cichorii</i> em: A- datura; B- beldroega; C- girassol; D- pimentão e E- tomate	47
Sintomas da doença causados pelo isolado IBSBF 2323 de <i>P. cichorii</i> : A- AF 2521; B- AF 11771 e C- AF 11188 (suscetível) e D- AF 2521 (resistente)	47

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
Caracterização morfológica, cultural, bioquímica e fisiológica dos isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 de <i>Pseudomonas cichorii</i> obtidos de tomateiro	25
Avaliação da produção de ácidos de várias fontes de carboidratos para os isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 de <i>Pseudomonas cichorii</i> isolados de tomateiro	26
Reação de diferentes plantas hospedeiras de <i>Pseudomonas cichorii</i> inoculadas com isolados de tomateiro (IBSBF 2323) e de girassol (GIR-1)	44
Reação de diferentes plantas hospedeiras de <i>Pseudomonas cichorii</i> inoculadas com dois isolados de tomateiro (IBSBF 2309 e IBSBF 2323)	44
Severidade da doença em vinte e oito genótipos de tomateiro inoculados com os isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 de <i>Pseudomonas cichorii</i> , aos cinco dias após a inoculação	45
Severidade da doença em oito genótipos (previamente selecionados) de tomateiro inoculados com os isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 de <i>Pseudomonas cichorii</i> , cinco dias após a inoculação	46

1. RESUMO

Recentemente, em dois campos comerciais de tomateiro dos tipos Salada e Italiano, localizados respectivamente em Bragança Paulista e Mogi Guaçu, SP, foram observados sintomas de queima generalizada nas folhas. Em observações ao microscópio óptico de tecidos infectados foi constatada a presença de exsudação bacteriana. Isolamentos realizados em meio de cultura permitiram obter bactérias com formato bastonete, Gram-negativas, com colônias de coloração branca e produtoras de pigmento fluorescente em meio B de King. Isolados bacterianos foram submetidos a testes bioquímicos e fisiológicos, entre eles, LOPAT, sendo enquadrados no grupo III de LOPAT (- + - - +) e, portanto, identificados como sendo *Pseudomonas cichorii*. Esses resultados foram corroborados por testes serológicos de imunofluorescência indireta, com antissoros produzidos para isolado tipo de *P. cichorii*. Esta bactéria causa doença em várias culturas de importância econômica e ainda não havia sido constatada em nosso país, na cultura do tomateiro. Isolados bacterianos encontram-se depositados na Coleção de Culturas de Fitobactérias do Instituto Biológico, sob os números de acesso IBSBF 2309 e IBSBF 2323. Foram desenvolvidos também estudos visando a determinação da gama de hospedeiras e a reação de 28 genótipos de tomateiro aos isolados de *P. cichorii*. Plantas de abobrinha, alface, beldroega, berinjela, beterraba, cenoura, couve-brócolo, datura, fumo, girassol, jiló, melão, pepino, petúnia, pimentão, rabanete, repolho, rúcula, salsa e tomateiro, no estágio de um par de folhas verdadeiras, foram inoculadas por

pulverização com os isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 e um isolado de *P. cichorii* de girassol (GIR-1). Os isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 mostraram-se patogênicos à beldroega, à datura, ao girassol, ao pimentão e ao tomateiro, enquanto que o isolado de girassol foi patogênico apenas à beldroega, a datura e ao girassol, não sendo patogênico ao pimentão e ao tomateiro. Os genótipos de tomateiro (AF 229, AF 434, AF 464, AF 1104, AF 2521, AF 5719, AF 6288, AF 7109, AF 7111, AF 7112, AF 7113, AF 7114, AF 7115, AF 7116, AF 7127, AF 8163, AF 10723, AF 11188, AF 11762, AF 11764, AF 11765, AF 11766, AF 11767, AF 11768, AF 11770, AF 11771, AF 11772 e AF 11773), oriundos do Banco de Germoplasma da empresa Sakata Seed Sudamerica Ltda., foram avaliados quanto à resistência aos isolados bacterianos de *P. cichorii* oriundos de tomateiro, empregando-se o método de pulverização com as suspensões bacterianas. Os maiores níveis de resistência foram observados nos genótipos AF 11768, AF 2521, AF 11766, AF 11772, AF 229, AF 5719-1 e AF 8162. O genótipo AF 5719-1 que possui o gene *Pto*, que confere resistência a *P. syringae* pv. *tomato*, apresentou um bom nível de resistência a *P. cichorii*. A identificação de genótipos com níveis adequados de resistência a *P. cichorii* é importante, pois, poderão ser utilizados no programa de melhoramento genético do tomateiro, visando incorporação de resistência a esta bactéria.

Palavras-chave: *Pseudomonas cichorii*, reação de genótipos, *Lycopersicon esculentum*, gama de hospedeiras, tomateiro.

***Pseudomonas cichorii* IN TOMATO: OCCURRENCE IN SÃO PAULO STATE, HOST RANGE AND REACTION OF GENOTYPES. Botucatu, 2007. 60 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.**

Author: TADEU ANTÔNIO FERNANDES DA SILVA JÚNIOR

Adviser: ANTONIO CARLOS MARINGONI

Co-adviser: LUÍS OTÁVIO SAGGION BERIAM

2. SUMMARY

Recently, generalized blight symptoms were observed in tomato leaves of the Salada and Italiano types, in two commercial fields located, respectively, in Bragança Paulista and Mogi Guaçu, SP, Brazil. The presence of bacterial exudation was verified in observations of infected tissues under the optical microscope. Rod-shaped, Gram-negative bacteria were obtained from isolations in culture medium; the colonies were white and produced fluorescent pigment in King's B medium. Bacterial isolates were submitted to biochemical and physiological tests, including LOPAT, and were classified into LOPAT group III (- + - - +); consequently, they were identified as *Pseudomonas cichorii*. These results were corroborated by indirect immunofluorescence tests, using antisera produced for the type isolate of *P. cichorii*. This bacterium causes diseases in several crops of economic importance and had not yet been observed in tomato in Brasil. Bacterial isolates were deposited in

Phytopacteria Culture Collection of Instituto Biológico, under accession numbers IBSBF 2309 and IBSBF 2323. Studies were also carried out in order to determine the host range and reaction of 28 tomato genotypes to *P. cichorii* isolates. Caserta pumpkin, lettuce, purslane, eggplant, beet, broccoli, carrot, Jimson weed, sunflower, tobacco, scarlet eggplant, melon, cucumber, petunia, green pepper, radish, cabbage, arugula, parsley, and tomato plants, all with one pair of true leaves, were spray-inoculated with isolates IBSBF 2309 and IBSBF 2323 and one *P. cichorii* isolate from sunflower (GIR-1). Isolates IBSBF 2309 and IBSBF 2323 were pathogenic to purslane, Jimson weed, sunflower, green pepper, and tomato, while the sunflower isolate was only pathogenic to purslane, Jimson weed, and sunflower, but not to green pepper or tomato. Tomato genotypes (AF 229, AF 434, AF 464, AF 1104, AF 2521, AF 5719, AF 6288, AF 7109, AF 7111, AF 7112, AF 7113, AF 7114, AF 7115, AF 7116, AF 7127, AF 8163, AF 10723, AF 11188, AF 11762, AF 11764, AF 11765, AF 11766, AF 11767, AF 11768, AF 11770, AF 11771, AF 11772 e AF 11773) from the Sakata Seed Sudamerica Ltda. Germplasm Bank were evaluated for resistance to bacterials from tomato plants, using the spray method with bacterial suspensions. The highest resistance levels were observed in genotypes AF 11768, AF 2521, AF 11766, AF 11772, AF 229, AF 5719-1, and AF 8162. Genotype AF 5719-1 has the *Pto* gene, which imparts *P. syringae* pv. *tomato* resistance, and showed a good level of resistance to *P. cichorii*. The identification of genotypes with good resistance levels to *P. cichorii* is important, as they could be used in tomato genetic breeding programs aimed at incorporating resistance to this bacterium.

Keywords: *Pseudomonas cichorii*, tomato, host range, genotypes reaction, *Lycopersicon esculentum*.

3. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Ocorrência e principais hospedeiras de *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp 1928

O tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) possui como centro de origem primário um estreito território, limitado ao norte pelo Equador, ao sul pelo norte do Chile, a oeste pelo oceano Pacífico e a leste pela Cordilheira dos Andes (Filgueira, 2002). A produção brasileira da cultura no ano de 2005 foi de mais de três milhões de toneladas, em uma área cultivada de 57.000 hectares. (Agriannual, 2006)

O tomateiro é a espécie cultivada mais sujeita à ocorrência de problemas fitossanitários, sendo os agentes de natureza muito variada. A cultura do tomateiro no Brasil está sujeita a várias doenças que podem limitar sua produção. Dentre as principais doenças da cultura, estão as bacterioses provocadas pelo gênero *Pseudomonas*. A bacteriose foliar da cultura do tomateiro mais importante no Brasil do gênero *Pseudomonas* é a pinta bacteriana ou mancha bacteriana pequena, causada por *Pst*. A doença é muito importante em várias regiões brasileiras em condições de alta umidade e temperaturas entre 18 e 25°C. O tomateiro é suscetível em qualquer idade e todos os órgãos aéreos podem ser afetados. Os sintomas nas folhas são de lesões necróticas circulares ou irregulares e, na face inferior dos folíolos, apresentam cor pardo escura a preta. Em geral, as lesões são circundadas por um

grande halo amarelo, principalmente quando atingem folhas em desenvolvimento. Em mudas, a doença provoca queda de cotilédones e desfolha, além de retardar o crescimento vegetativo, enquanto que em plantas em florescimento causa danos na haste, pecíolo, folíolo, ráquis floral e queda de flores e frutos pequenos. Em frutos maiores, os sintomas são pontos necróticos que variam do tamanho da cabeça de um alfinete a alguns milímetros de diâmetro, levemente salientes e de cor pardo-escura a preta (Kurozawa & Pavan, 2005).

Já a queima bacteriana, causada por *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall 1902 (*Pss*), é uma doença pouco conhecida e de ocorrência esporádica. Sua ocorrência foi constatada na região de Pato de Minas-MG, a partir de 1993, no início do inverno (Almeida et al., 1994a; Maringoni et al., 1994b). As plantas afetadas apresentam sintomas de necrose nas folhas, nos pecíolos e nos caules das plantas, sendo mais comum nas folhas. Lesões necróticas nos folíolos são circulares ou irregulares, maiores que a pinta bacteriana, e o halo amarelo é pouco acentuado. Verifica-se intensa necrose dos bordos dos folíolos, provavelmente devido às condições climáticas que propiciam intensa gutação e formação do orvalho naquela época do ano. As folhas mais velhas e as intermediárias são as mais afetadas. No Brasil, *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp 1928 é um patógeno de várias culturas de importância agrícola, e até a presente data não se tem conhecimento da ocorrência deste patógeno em tomateiro no país.

Na cultura da alface, *P. cichorii* é limitante para o plantio de alface, porém, dependendo das condições climáticas e do inóculo no local do plantio, pode causar grandes danos. *P. cichorii* causa manchas necróticas isoladas no centro ou bordos do limbo foliar, podendo também atingir extensas áreas da nervura central. No início, as lesões apresentam encharcamento e coloração escura, passando, depois, à cor parda a preta, com a seca dos tecidos. Em condições de alta umidade, as lesões coalescem e causam destruição de extensas áreas do limbo foliar. Na Região Sudeste, nas épocas chuvosas, plantas próximas à colheita podem apresentar a nervura central das folhas totalmente necrosada. Em pouco tempo as folhas murcham e apodrecem (Pavan et al., 2005).

P. cichorii também foi relatada como agente causal de outros tipos de sintomas em alface no Brasil. Almeida et al. (1999) verificaram a ocorrência de colo preto, causado por *P. cichorii*, em plantas da cultura conduzidas no sistema hidropônico, em algumas regiões do Estado de São Paulo. Os sintomas se caracterizavam como lesões de cor preta e

brilhante, na região do colo, na inserção das folhas basais do talo, atingindo cerca de 1-2 cm de altura. Esse escurecimento pode se estender pela nervura central e atingir até a parte mediana das folhas. Em alguns casos pode ocorrer diminuição do sistema radicular e/ou evoluir para podridão acompanhada de morte das folhas baixas. Essa sintomatologia, não ocorrente em plantios convencionais, causa sérios prejuízos por acarretar descarte de grande parte da produção ou morte de plantas. *P. cichorii* também foi relatada em outros países, como agente causal da “varnish spot”, em Portugal, por Ferreira-Pinto & Oliveira (1993) e, na Califórnia, por Grogan et al. (1977) e Patterson et al. (1986).

Na cultura do girassol, *P. cichorii* é o agente causal do crestamento bacteriano das folhas. Essa doença foi relatada por Robbs & Almeida (1981), em 1981, em um plantio comercial de girassol, no município de Ponta Porã (MS). Os sintomas nas folhas eram de aspecto inicialmente encharcadas, envolvidas por um estreito halo de tecido amarelado, que se desenvolviam rapidamente nos períodos chuvosos do verão, e comprometiam extensas áreas do tecido foliar, com prejuízo para a planta. Em girassol ornamental, *P. cichorii* foi constatada por Almeida et al. (1994) e Maringoni et al. (2001). Os sintomas eram de crestamento em pecíolos e em hastes de girassol ornamental. Plantas de girassol ornamental do híbrido “Sunbright”, sob condições de altas umidade e temperatura, cultivadas em campo, apresentavam sintomas de queima irregular no limbo foliar, nos pecíolos e nas hastes, ocasionando crestamentos. Além da doença prejudicar o desenvolvimento das plantas, as flores provenientes dessas plantas são depreciadas na comercialização.

A ocorrência de *P. cichorii* em folhas de mandioquinha-salsa foi constatada por Beriam et al. (1998a), em um campo comercial localizado no município de Votorantin, SP. Os sintomas apresentados eram lesões de coloração parda, pequenas e angulares, algumas vezes circundadas por um pequeno halo amarelado, principalmente nas folhas baixas. Pelo coalescimento, essas lesões levavam a um crestamento de grandes áreas do limbo foliar.

O crestamento foliar em plantios comerciais de meloeiro, cultivares Gredos e Tejo, conduzidos sob condições de cobertura plástica, no município de Votorantin (SP), foi relatada por Beriam et al. (1998b). As plantas de melão infectadas com *P. cichorii* apresentavam lesões foliares, em forma de manchas angulares e pardacentas, ou então crestamento nos bordos das folhas, não tendo sido observadas lesões nos frutos.

Beriam et al. (2001) constataram a ocorrência de crestamento bacteriano provocado por *P. cichorii*, em plantas de calêndula originárias de plantio comercial no município de Atibaia (SP). As plantas com sintomas da doença apresentaram lesões foliares necróticas, circundadas por halos cloróticos, iniciando-se no ápice foliar e progredindo para a porção basal da folha. Também foram observadas, comprometimento dos botões florais, que se tornavam necróticos e mumificados.

Rodrigues Neto et al. (1976) relataram a ocorrência de mancha bacteriana em folhas de crisântemo, causada por *P. cichorii*. Plantas com sintomas da doença provenientes da região de Atibaia (SP), apresentavam manchas necróticas nas folhas e hastes. Tais sintomas vinham se manifestando em plantações cultivadas em estufas, ocasionando perdas de 15 a 20% da produção.

O crestamento das folhas de cafeeiro, provocada por *P. cichorii*, foi constatada no Brasil por Robbs et al. (1974). Mudas de café da variedade Mundo Novo, provenientes do município de Nazareno (MG), apresentavam folhas com áreas de coloração enegrecida, que evoluía rapidamente e provocava, em consequência, intenso desfolhamento. O material doente, visualizado por transparência, mostrava, na maioria das vezes, estrias concêntricas em relação aos pontos de infecção. A infecção se iniciava, quase sempre, pelas folhas mais velhas, que se desprendiam deixando as mudas reduzidas às hastes nuas.

Maia et al. (1996) relataram no país a ocorrência de *P. cichorii* em menta. Plantas com sintomas da doença apresentavam-se com lesões foliares que provocavam a redução da área foliar. Essas lesões eram, inicialmente, de tamanho pequeno, anasarcadas e causavam amarelecimento dos tecidos foliares. Com sua evolução, essas lesões aumentavam de tamanho, tornavam-se pardo-escuras, não raro, estendiam-se em toda a área do limbo foliar e causavam crestamento e abscisão foliar.

Além das ocorrências de *P. cichorii* nas plantas citadas, Malavolta Jr. et al. (2007) ainda relacionaram a ocorrência deste patógeno no Brasil em almeirão, açafão, berinjela, beterraba, brócolis, calêndula, cebola, cenoura, couve, corda de viola, crisântemo, dahlia, escarola, eucalipto, falsa-serralha, feijão, fumo, gérbera, inhame, mamona, manjeriço, pimentão, quiabo, rabanete, salsa, salsão e violeta.

Pernezny et al. (1994) relataram a ocorrência de uma epidemia de “caule marrom”, provocada por *P. cichorii*, em campos de cultivo de aipo na Flórida, Estados

Unidos da América (E.U.A.). As plantas com a doença apresentaram uma descoloração marrom ao longo do pecíolo. O dano era mais intenso na região central da base do colmo, mas listras amarronzadas podiam ser vistas ao longo dos pecíolos. A coloração marrom era restrita à base do parênquima, e nos feixes vasculares apareceram manchas verdes entre o tecido central e a medula doente. A ocorrência de *P. cichorii*, patogênica a aipo, também foi constatada por Alippi (1996) na Argentina.

Nos E.U.A., Putnam (1999) relatou a ocorrência de *P. cichorii* em lobélia; Uddin & Mccarter (1996) em azaléia-anã; Holcomb & Cox (1998) em manjerição; Chase (1987) em fícus; Mullen & Cobb (1984) em magnólia; Chase & Brunk (1984) e Chase & Jones (1986) em schefflera; Engelhard et al. (1983) em gerânio; Jones et al. (1983) em crisântemo e Pernezny & Raid (2001) em escarola.

Em Cuba, Rodriguez et al. (1992) inocularam três isolados de *P. cichorii* obtidos de hibiscus e três isolados obtidos de pimentão em plantas de diferentes famílias botânicas. Das famílias inoculadas, a bactéria foi patogênica às famílias Anacardiaceae, Bombacaceae, Cyperaceae, Compositae, Cruciferae, Cucurbitaceae, Sterculiaceae, Geraneaceae, Poaceae, Juglandaceae, Fabaceae, Liliaceae, Malvaceae, Meliaceae, Quenopodiaceae, Rubiaceae, Solanaceae e Umbiliferaceae.

Na Nova Zelândia, Young et al. (1987) isolaram *P. cichorii* de açafroa, escovinha e prímula. Outros hospedeiros naturais de *P. cichorii* são relatados por Bradbury (1986) tais como: couve-flor, cenoura, pereira, e por inoculação artificial, as hospedeiras conhecidas são cebola, aveia, beterraba, pepino, abóbora, moranga, salsa, feijão comum, ervilha, batata inglesa, espinafre e feijão caupi.

Em tomateiro, Wilkie & Dye (1973) relataram a ocorrência de *P. cichorii* colonizando os caules de plantas, tanto em campo, como em estufa, em algumas regiões da Nova Zelândia. Os caules das plantas doentes apresentavam manchas irregulares de coloração verde a marrom escura, que frequentemente circundavam a base da folha. Este sintoma era muito parecido com os de requeima, causados por *Phytophthora infestans*. Além destes sintomas, ocorreram estrias alongadas de coloração verde escura a marrom, de 30 cm ou mais em um lado da planta. A infecção se estendia do caule até os pecíolos e se estendia às folhas, que originavam manchas encharcadas de coloração verde escura, sem a formação de halo, o que diferencia a doença da causada por *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe)

Young, Dye & Paula Wilkie 1978 (*Pst*). Internamente, a infecção do caule consistia na formação de linhas vasculares com escurecimento marrom claro a escuro, similares às aquelas causadas por *Verticillium dahliae* e *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. As áreas do caule colonizadas pela bactéria tornaram-se ocas e se desintegraram. Os únicos sintomas externos observados em frutos foram manchas de coloração marrom escuras de 1 a 3 mm de diâmetro, no ponto de conexão com o cálice. Em plantas murchas, a medula tornou-se totalmente desintegrada, deixou uma cavidade no caule circundado por tecido apodrecido marrom escuro, e, ocasionalmente, descoloração vascular marrom. Nenhum tipo de infecção foi observado em raízes.

Perez (1984) relatou pela primeira vez a ocorrência de *P. cichorii* sendo patogênica a plantas de tomateiro em Cuba. Os sintomas da doença consistiam em manchas pequenas, escuras, quase negras, com formato irregular, que se encontravam em grande número sobre as folhas mais velhas, em plantas com aproximadamente um mês de idade.

3.2. Características gerais de *Pseudomonas cichorii*

Pseudomonas cichorii diferencia-se da espécie *Pseudomonas syringae* por se tratar de uma bactéria fluorescente do Grupo I rRNA; é Gram-negativa, de formato bastonete, com um tufo de flagelos polares; não ocorre a formação de “levan” em meio de cultura nutriente-sacarose-ágar (NSA) e a dihidrólise de arginina e reação em discos de batata são negativos; a oxidase e podridão de hipersensibilidade em folhas de fumo são positivos, colocando este organismo no Grupo III de Lelliot (Bradbury, 1986).

Schaad et al. (2001) relatam os testes bioquímicos e nutricionais para identificação das espécies fitopatogênicas do gênero *Pseudomonas*. A identificação das espécies é baseada principalmente nos testes LOPAT, que incluem a produção de “levan” em meio com sacarose, reação de oxidase, atividade pectinolítica em discos de batata, atividade de arginina dihidrolase e a reação de hipersensibilidade em folhas de fumo. O isolado tipo de *P. cichorii* caracteriza-se pela produção de pigmento fluorescente difusível em meio B de King. Nos testes LOPAT, a bactéria é “levan” negativa, reação positiva para oxidase e de hipersensibilidade em folhas de fumo e negativa para arginina dihidrolase e atividade

pectinolítica. *P. cichorii* não cresce a 37°C, não reduz nitrato a nitrito e não utiliza gelatina. Utiliza 2-ketogluconato, manitol, meso-tartarato, D(-)-aspartato e não utiliza geraniol, benzoato, cellobiose, sorbitol, trehalose, sacarose, D(-)-tartarato, D-arabinose e L-rhamnose. É negativa para nucleação de gelo e produção de IAA.

Wilkie & Dye (1973) identificaram a ocorrência de *P. cichorii* patogênica em tomate e em aipo, na Nova Zelândia, e observaram em tecidos das plantas doentes, a presença de bactérias móveis de formato bastonete; as bactérias isoladas em meio de cultura B de King produziram pigmento fluorescente, após 24 h de incubação a 27°C.

Isolamentos realizados em frutos, caules, pecíolos e folhas de plantas doentes de tomate e aipo deram origem a nove isolados de *P. cichorii*; além desses isolados, mais cinco isolados tipo da bactéria, provenientes de diversas culturas, foram submetidos a testes bioquímicos e culturais. Todos os isolados submetidos aos testes se mostraram estritamente aeróbicas, Gram-negativos com formato bastonete, móveis por um a três flagelos polares, e produziram um crescimento de coloração creme opaca, com formação de pigmento difusível fluorescente em meio B de King.

Todos os isolados, após 14 dias de incubação, produziram ácidos de arabinose, xilose, glicose, frutose, galactose, mannose, ribose, glicerol, manitol e inositol, exceto um isolado que se mostrou negativo para manitol e inositol. Nenhum produziu, após 14 dias de incubação, ácidos a partir de ramnose, lactose, sacarose, maltose, trihalose, melibiose, cellobiose, rafinose, melezitose, amido, inulina, dextrina, glicogênio, adonitol, dulcitol, erythritol, sorbitol ou salicina, com exceção de cinco isolados que produziram ácido de melibiose, e dois isolados que produziram ácido de sorbitol. Todas as culturas testadas produziram acetato, citrato, formato, lactato, malato, malonato (um isolado reagiu negativamente), succinato, e tartarato (um isolado reagiu negativamente) e reações positivas fracas para fumarato e glucanato. Nenhum utilizou benzoato, galacturato, oxalato, ou propionato. Para D (-) tartarato, quatro culturas foram positivas em três dias de incubação, e todas as outras culturas foram negativas, após 14 dias de incubação. Nenhum liquefez gelatina; nenhuma cultura produziu acetoína, indol, ou H₂S (de cisteína, tiosulfato ou peptona). Três dos isolados consistentemente reduziram nitrato a nitrito, mas todos os outros isolados mostraram-se negativos. Os isolados, exceto um, hidrolisaram aesculina em sete dias. Nenhuma cultura produziu substâncias redutoras de sacarose. Todas cresceram na presença de

NaCl a 5%, fracamente a 6% e não cresceram a 7%. Nos testes LOPAT, nenhum dos isolados produziu “levan” ou arginina dihidrolase, e todos foram oxidase positiva. Com exceção de um deles, todos apresentaram reação de hipersensibilidade em folhas de fumo. Nenhum dos isolados apresentou atividade pectnolítica em discos de batata.

A diversidade genética de isolados de *P. cichorii* do Brasil foi analisada por Destéfano et al. (2003). Trinta e cinco linhagens de *P. cichorii* isoladas de diferentes hospedeiras e regiões geográficas foram investigadas, e verificou-se que linhagens isoladas de diferentes hospedeiras e regiões geográficas apresentaram perfis idênticos, enquanto que linhagens isoladas de mesmo hospedeiro e região geográfica apresentaram perfis diferentes. Os resultados obtidos sugerem que todos os isolados pertencem ao gênero *Pseudomonas*, porém os baixos valores de similaridade da região espaçadora entre determinados isolados indicam que mais estudos deverão ser efetuados para esclarecer os resultados obtidos.

3.3. Reação de genótipos de tomateiro a *Pseudomonas* spp.

Até o momento, não se tem relatos de genótipos de tomateiro com níveis de resistência a *Pseudomonas cichorii*, porém são conhecidos materiais com resistência a outras espécies de *Pseudomonas*.

Krause et al. (2001) avaliaram a reação de cultivares e híbridos para mesa, além de verificar a reação de espécies silvestres e cultivares importadas de *Lycopersicon* spp., provenientes da Universidade da Flórida, EUA, a um isolado brasileiro de *Pst*, a fim de determinar possíveis fontes de resistência que poderiam ser utilizadas em programas de melhoramento, caso o gene de resistência a *Pst* se torne inoperante, face a novas variantes do patógeno. Foram testados 13 cultivares de tomate para mesa, espécies silvestres e duas cultivares importadas para a reação de um isolado de *Pst*, raça 0. As cultivares Ontário 7710 e Agrocica Botu-13 foram utilizadas como padrões de resistência e a cultivar Agrocica-33 como padrão suscetível. Os resultados observados evidenciaram que todas as cultivares e híbridos de tomateiro para mesa avaliados (Stevens x Rodade, Stevens, Kada, Concorde Ag-595, Cláudia, Ângela Harper, Santa Clara-crescimento determinado, Jumbo Ag-592, Jará-1, Imperador, Santa Clara VF-5600, Débora, Ângela Zambom, Ângela 1-5100 e Sandra) mostraram-se

suscetíveis à mancha bacteriana pequena, e as cultivares Agrofica Botu-13 e Ontário 7710, ambas portadoras do gene *Pto*, que confere resistência à raça 0, foram resistentes. As cultivares importadas Solar Set e Campbell-28 mostraram-se altamente suscetíveis à mancha bacteriana pequena, assim como a cultivar Agrofica 33 utilizada como padrão de suscetibilidade. Dentre as introduções testadas, destacaram-se PI-127807, PI-128216-1-2 e principalmente a PI-126932-1-2 comportando-se como altamente resistentes, assim como Agrofica Botu-13 (Krause et al., 2001).

Kozik (2002) testou 17 cultivares de tomateiro e quatro acessos do gênero *Lycopersicon*, e verificou que a cultivar Ontário 7710 e dois acessos de *Lycopersicon hisurtum* (LA 1773 e LA 1775) foram resistentes à *Pst*. As variedades MI8I2, Kujawski e Warszawski, também demonstraram um bom nível de resistência à bactéria.

Malavolta Jr. et al. (2002) verificaram a reação de 21 cultivares/genótipos de tomateiro a *Pss* e a *Pst*, e observaram que as cultivares e genótipos mais resistentes a *Pst* foram Botu 13, Zenith, XPH 5976, XPH 5978, XPH 5979, XPH 12044, XPH 12045, XPH 12066, XPH 12067, XPH 12068, XPH 12070, enquanto que as mais suscetíveis foram Ângela Harper, IPA 6, Santa Clara, Ângela, Colorado, Barão Vermelho, Brigade e AF 26318. Os cultivares/genótipos AF 26317 e Kada mostraram-se medianamente resistentes. Com relação a *Pss*, foram resistentes: Ângela, Brigade, Santa Clara, XPH 5978, XPH 5979 e XPH 12068. As demais cultivares/genótipos testados se comportaram como medianamente resistentes, com exceção da cultivar Colorado que foi suscetível. Alguns genótipos portadores do gene *Pto* exibiram também resistência a *Pss*, enquanto outros não. Isso indicou que provavelmente outros(s) gene(s) é(são) responsável(is) pela resistência a *Pss*.

Recentemente, foi observada em dois campos comerciais de tomateiro dos tipos salada e italiano, em Bragança Paulista e Mogi Guaçu, SP, respectivamente, a ocorrência de uma doença que causava queima generalizada nas folhas, que tradicionalmente não se enquadrava nos sintomas de doenças bacterianas foliares típicos a esta planta. Em observações microscópicas de tecidos infectados foi constatada a presença consistente de exsudação de células bacterianas, que após coloração diferencial de Gram, revelaram ser bastonetes Gram-negativos. Em isolamentos efetuados, foi possível obter vários isolados

bacterianos de formato bastonete, Gram-negativos, com colônias de coloração branca e produção de pigmento fluorescente em meio B de King.

A constatação desta bactéria como patogênica a plantas de tomateiro, motivou o presente trabalho que teve como objetivos caracterizar os isolados bacterianos provenientes de tomateiro que causam sintomas não relatados no Brasil em plantas de tomateiro; determinar a gama de hospedeiras, por inoculação artificial, e avaliar o comportamento de genótipos de tomateiro à bactéria identificada. Para atingir estes objetivos, este trabalho foi dividido em dois capítulos, sendo o primeiro capítulo intitulado “Ocorrência de *Pseudomonas cichorii* em tomateiro no Estado de São Paulo”, redigido conforme as normas do periódico Arquivos do Instituto Biológico; o segundo capítulo intitulado “Gama de hospedeiros e reação de genótipos de tomateiro a *Pseudomonas cichorii*”, redigido conforme as normas da revista *Summa Phytopathologica*, que serão submetidos à análise visando a publicação nesses periódicos.

CAPÍTULO 1

“Ocorrência de *Pseudomonas cichorii* em tomateiro no Estado de São Paulo”

OCORRÊNCIA DE *Pseudomonas cichorii* EM TOMATEIRO NO ESTADO DE SÃO
PAULO

T.A.F. Silva Júnior¹; L.O.S. Beriam²; S. M. Azevedo²; R. Gioria³; I.M.G. Almeida²; A.C.
Maringoni¹;

¹Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Departamento de
Produção Vegetal, Setor de Defesa Fitossanitária, CP 237, 18603-970, Botucatu, SP, Brasil;
²Instituto Biológico, Campinas, SP, Brasil; ³Sakata Seed Sudamerica Ltda, Bragança Paulista,
SP, Brasil.

RESUMO

Recentemente, em dois campos comerciais de tomateiro dos tipos Salada e Italiano, localizados em Bragança Paulista e Mogi Guaçu, SP, foram observados sintomas de queima generalizada nas folhas. Em observações, ao microscópio óptico, de tecidos infectados foi constatada a presença de exsudação bacteriana. Desses tecidos, foram isoladas bactérias em formato bastonete, Gram-negativas, com colônias de coloração branca e produtoras de pigmento fluorescente em meio B de King. Isolados bacterianos foram submetidos aos testes LOPAT, sendo enquadrados no grupo III (- + - - +) e, portanto, identificados como sendo *Pseudomonas cichorii*. Esses resultados foram corroborados por testes serológicos de imunofluorescência indireta, com antissoros produzidos para linhagem tipo de *P. cichorii*. Esta

bactéria causa doença em várias culturas de importância econômica e ainda não havia sido constatada no Brasil na cultura de tomateiro. Os isolados bacterianos foram depositados na Coleção de Culturas de Fitobactérias do Instituto Biológico, sob os números de acesso IBSBF 2309 e IBSBF 2323.

PALAVRAS-CHAVE: *Lycopersicon esculentum*, queima de folhas, testes LOPAT.

ABSTRACT

Recently, generalized blight symptoms were observed in Salad and Italian types tomato leaves, at two commercial fields located in Bragança Paulista and Mogi Guaçú, SP, Brazil. The presence of bacterial exudation was verified in observations of infected tissues under the optical microscope. Isolation attempts allowed the recovery of rod-shaped, Gram-negative bacteria, in white colonies that produced fluorescent pigment in King's B medium. Bacterial isolates were submitted to LOPAT tests and classified into group III (- + - - +); consequently, they were identified as *Pseudomonas cichorii*. These results were corroborated by indirect immunofluorescence tests, using antisera produced for the type strain of *P. cichorii*. This bacterium causes diseases in several crops of economic importance, and had not yet been observed on tomato in Brazil. Bacterial isolates have been deposited with Phytobacteria Culture Collection of Instituto Biológico, under accession numbers IBSBF 2309 and IBSBF 2323.

KEYWORDS: *Lycopersicon esculentum*, leaves blight, LOPAT tests.

INTRODUÇÃO

A cultura do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) está sujeita a várias doenças que podem limitar sua produção. Dentre as principais doenças da cultura, estão as de etiologia bacterianas causadas pelo gênero *Pseudomonas*. De acordo com Kurozawa; Pavan (2005), a principal bacteriose que ataca a parte aérea do tomateiro, cujo patógeno pertence a este gênero, é a pinta bacteriana ou mancha bacteriana pequena, sendo o agente causal *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe) Young, Dye & Paula Wilkie 1978. Já a queima bacteriana, causada por *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall 1902, é uma doença pouco conhecida e de ocorrência esporádica. Sua ocorrência tem sido constatada na região de Pato de Minas-MG, em 1993, no início do inverno (Almeida et al., 1994a; Maringoni et al., 1994b). Há relatos na Austrália e em Cuba da ocorrência de *Pseudomonas cichorii* em tomateiro, porém até a presente data não tenha sido constatada no país.

No Brasil, *P. cichorii* é um patógeno de grande importância econômica, sua ocorrência foi descrita em culturas de diferentes espécies botânicas de importância econômica, tais como almeirão, açafraão, berinjela, beterraba, brócolis, calêndula, cebola, cenoura, couve, corda de viola, crisântemo, dahlia, escarola, eucalipto, falsa-serralha, feijão, fumo, gérbera, inhame, mamona, manjeriço, pimentão, quiabo, rabanete, salsa, salsão e violeta. (Malavolta Jr. et al., 2007).

Em tomateiro, Wilkie; Dye (1973), relataram a ocorrência de *P. cichorii* colonizando caules de plantas, tanto em campo, como em cultivo protegido, em algumas regiões da Nova Zelândia e Perez, 1984 relatou pela primeira vez a ocorrência de *P. cichorii* em plantas de tomateiro em Cuba. Os sintomas da doença consistiam em manchas pequenas, escuras, quase

negras, com formato irregular, que se encontravam em grande número sobre as folhas mais velhas, em plantas de aproximadamente um mês de idade.

P. cichorii se diferencia da espécie *P. syringae* por se tratar de uma bactéria fluorescente do Grupo I rRNA; é Gram-negativa, de formato bastonete, com um tufo de flagelos polares; não ocorre a formação de levan em meio de cultura NSA e a hidrólise de arginina e reação em discos de batata são negativos; a oxidase e reação de hipersensibilidade em folhas de fumo são positivos, colocando este organismo no Grupo III de Lelliot (Bradbury, 1986).

Schaad et al. (2001) relatam os testes bioquímicos e nutricionais para identificação das espécies fitopatogênicas do gênero *Pseudomonas*. A identificação das espécies é principalmente baseada nos testes LOPAT, que incluem produção de levan em meio com sacarose, reação de oxidase, atividade pectinolítica em discos de batata, atividade de arginina dihidrolase, e reação de hipersensibilidade em folhas de fumo. O isolado tipo de *P. cichorii* caracteriza-se pela produção de pigmento fluorescente difusível e não produção de pigmento não difusível. Nos testes LOPAT, a bactéria é “levan” negativa, reage positivamente no teste de oxidase e de hipersensibilidade em folhas de fumo e negativamente para arginina dihidrolase e atividade pectinolítica. *P. cichorii* não cresce a 37°C, não reduz nitrato a nitrito e não utiliza gelatina. Utiliza 2-ketogluconato, manitol, meso-tartarato, D(-)-aspartato e não utiliza geraniol, benzoato, cellobiose, sorbitol, trehalose, sacarose, D(-)-tartarato, D-arabinose e L-rhamnose. É negativa para nucleação de gelo e produção de IAA.

Recentemente, foi observada em dois campos comerciais de tomateiro dos tipos salada e italiano, em Bragança Paulista e Mogi Guaçu, SP, respectivamente, a ocorrência de uma doença que causava queima generalizada nas folhas, que não se enquadrava nos sintomas

de doenças bacterianas típicos causados por *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* e *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Em observações microscópicas de tecidos infectados foi constatada a presença consistente de exsudação de células bacterianas, que após coloração diferencial de Gram, revelaram ser bastonetes Gram-negativos. Nos isolamentos efetuados obteve-se bactérias isolados de formato bastonete, Gram-negativos, com colônias de coloração branca e produção de pigmento fluorescente em meio B de King.

A constatação desta bactéria como patogênica às plantas de tomateiro, motivou o presente trabalho que teve como objetivo caracterizar os isolados bacterianos originários do tomateiro através de testes morfológicos, fisiológicos, bioquímicos e sorológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção, preservação e teste de patogenicidade de isolados de *Pseudomonas cichorii*

Dois isolados bacterianos (IBSBF 2309 e IBSBF 2323) foram obtidos a partir de folhas de tomate com sintomas de queima bacteriana das folhas oriundas de dois campos comerciais de tomateiro dos tipos Salada e Italiano, em Bragança Paulista e Mogi Guaçu, SP, respectivamente. Os tecidos infectados foram submetidos a observações microscópicas e constatou-se a presença consistente de exsudação de células bacterianas. Em seguida, as folhas foram cortadas em pequenos pedaços, desinfestadas superficialmente em álcool 70%, por 30 segundos, e, depois, em hipoclorito de sódio 2%, por 1 minuto. Estes foram lavados em água destilada esterilizada e transferidos para um fundo de placa de Petri, onde foram triturados

com o auxílio de um bastão de vidro previamente flambado e 5 mL de água destilada esterilizada. A suspensão foi repicada em placas de Petri contendo meio de cultura B de King (proteose peptona – 20g, K_2HPO_4 – 1,5g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 1,5g, glicerol – 10g, ágar – 15g, água destilada – 1000 mL). As placas foram incubadas em estufa à temperatura de 28°C durante 48 h. Após esse período, foi possível obter colônias de coloração branca e produtoras de pigmento fluorescente em meio B de King, Gram-negativos e em formato de bastonetes.

Os dois isolados foram preservados em frascos de penicilina contendo água destilada esterilizada e em tubos de ensaio contendo meio de cultura B de King inclinado com óleo mineral esterilizado e liofilizados (Tuite, 1969).

Para o teste de patogenicidade, os isolados bacterianos foram inoculados em plantas de tomateiro da cultivar Santa Clara, mantidas casa de vegetação. As plantas de tomateiro foram submetidas a câmara úmida 24 h antes e após a inoculação, para favorecer a penetração da bactéria no tecido. O inóculo foi obtido pelo cultivo dos isolados em meio de cultura nutriente-líquido (NL) a 28°C, durante 48 h, e posteriormente diluído em água destilada para se obter a concentração de 10^7 UFC.mL⁻¹, empregando-se a escala turbidimétrica de Macfarland (Lima et al., 1977). A inoculação foi feita por pulverização da suspensão bacteriana nas faces abaxial e adaxial das folhas até o início de escorrimento em plantas de tomateiro no estágio de dois pares de folhas verdadeiras. O tratamento testemunha foi representado pela pulverização das plantas com água destilada e a avaliação realizada três dias após a inoculação.

Caracterização dos isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323

Testes morfológicos, fisiológicos e bioquímicos

Os isolados bacterianos obtidos foram submetidos a uma série de testes para a caracterização. As metodologias foram baseadas em Maringoni (1995) e Schaad et al. (2001). Os seguintes testes morfológicos, fisiológicos e/ou bioquímicos foram empregados para caracterização dos isolados: teste de coloração diferencial de Gram; teste de solubilidade em hidróxido de potássio; testes de LOPAT (levan, oxidase, podridão de discos de batata, arginina dihidrolase e reação de hipersensibilidade em folhas de fumo) (Lelliott et al., 1966); teste de hidrólise de gelatina, redução de nitrato a nitrito, aerobiose, caracterização das culturas em meio de cultura YDC, produção de fluoresceína em meio de cultura B de King. Para se verificar a produção de ácidos de carboidratos, foi utilizado o meio de cultura líquido de sais minerais de Ayers et al. (1919) e as fontes de carboidrato foram citrato, D-arabinose, D-celobiose, D-tartarato, D+trealose, glicerol, gluconato, L-tartarato, manitol, oxalato, rafinose, ramnose, sacarose, salicina e succinato.

Testes sorológicos

Para a confirmação das identidades dos diferentes isolados bacterianos, foi utilizado o teste de imunofluorescência indireta. Foi empregada a metodologia utilizada por Dezordi (2006). Foram utilizados dois antissoros policlonais obtidos a partir do isolado tipo de *P. cichorii* IBSBF 1784 de chicória (título 1:16) e do isolado IBSBF 2309 obtido de plantas de

tomateiro (título 1:16). Os antígenos utilizados nas reações foram preparados a partir dos isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 provenientes de tomateiro e os isolados tipo de *P. cichorii*, IBSBF 1784, de chicória, e GIR-1, de girassol. Presença de células bacterianas que emitiam fluorescência intensa de cor verde sob luz UV, em microscópio de epifluorescência, munido de lâmpada de vapor de mercúrio de 100 W, indicou reação positiva. Como controle negativo foram utilizadas água destilada esterilizada e soro-normal (título 1:16) ao invés dos antissoros obtidos para *P. cichorii*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste de patogenicidade, foi possível observar os sintomas da doença nas folhas inoculadas. Os sintomas iniciais foram lesões irregulares encharcadas que evoluíram para necrose irregular do limbo foliar, com ausência de halo clorótico ao redor das lesões (Figura 1). Os sintomas observados assemelham-se em parte com os descritos por Wilkie; Dye (1973) e por Perez (1984), em tomateiro, e com aqueles provenientes das folhas coletadas em campo provenientes de Bragança Paulista e Mogi Guaçu. As bactérias foram re-isoladas dos tecidos das plantas de tomateiro utilizadas neste teste.

Os resultados dos testes morfológicos, fisiológicos e bioquímicos encontram-se descritos nas Tabelas 1 e 2, e revelaram consistência no resultados quando comparados com os descritos por Wilkie; Dye (1973) e Schaad et al. (2001), para *P. cichorii*. Os isolados foram Gram-negativos, com células em formato de bastonete; estritamente aeróbias, com colônias de coloração branca e produziu pigmento fluorescente em meio B de King. Houve a produção de ácido, em 14 dias, a partir de citrato, D tartarato, glicerol, gluconato, L tartarato, manitol,

ramnose e succinato. Não foi produzido ácido, em 14 dias, a partir de D-arabinose, D-celobiose, D+trealose, oxalato, rafinose, sacarose e salicina. Nenhum isolado reduziu nitrato a nitrito ou hidrolisou gelatina. No testes LOPAT, as culturas apresentaram resultados positivos para oxidase e hipersensibilidade em folhas de fumo, sendo negativos para a produção de levan, arginina dihidrolase e podridão em discos de batata.

Nos testes sorológicos de imunofluorescência indireta, foram obtidas reações positivas para os antígenos dos isolados IBSBF 2309, IBSBF 2323, AS 1784 e GIR-1 frente aos dois antissoros policlonais utilizados (Figuras 2 e 3). Os controles negativos foram caracterizados pela não emissão de fluorescência pelas células bacterianas tratadas com antissoro normal e com o conjugado.

De acordo com os resultados obtidos, os isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 foram identificados como *Pseudomonas cichorii*, sendo este o primeiro relato desta bactéria em tomateiro no Estado de São Paulo e possivelmente no País.

Não se conhece a origem do inóculo deste patógeno para a cultura do tomateiro. Entretanto, pode-se aferir a provável disseminação desta bactéria por sementes, uma vez que esta é uma das principais formas de disseminação em Cuba (Amar; Garcia, 1997), ou pela adaptação patogênica de *P. cichorii* ao tomateiro, visto que esta bactéria ocorre em inúmeras hospedeiras no Brasil (Malavolta Jr. et al, 2007). Dependendo do grau de suscetibilidade da cultivar e das condições climáticas predominantes na cultura, este patógeno poderá se tornar importante juntamente com outros patógenos bacterianos que causam doença na parte aérea, uma vez que as medidas rotineiras de controle na cultura, principalmente o químico, com pulverizações de fungicidas cúpricos ou misturas cupro-carbamatos ou antibióticos não têm apresentado resultados satisfatórios (McManus et al., 2002; Quezado-Durval et al.2003).

Tabela 1. Caracterização morfológica, cultural, bioquímica e fisiológica dos isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 de *Pseudomonas cichorii* obtidos de tomateiro.

Testes	IBSBF 2309	IBSBF 2323	<i>P. cichorii</i> ¹
Morfologia	Bastonete	Bastonete	Bastonete
Coloração de Gram	Gram-negativo	Gram-negativo	Gram-negativo
Solubilidade em KOH	+	+	+
Coloração de colônia em meio B de King (BK)	Branca	Branca	Branca
Pigmento fluorescente em BK	+	+	+
Aerobiose	Aeróbica restrita	Aeróbica restrita	Aeróbica restrita
Hidrólise de gelatina	-	-	-
Colônias mucóide em meio YDC a 30°C	-	-	-
Testes LOPAT			
Levan	-	-	-
Oxidase	+	+	+
Podridão em discos de batata	-	-	-
Arginina dihidrolase	-	-	-
HR em folhas de fumo	+	+	+
Podridão em discos de batata	-	-	-
Redução de nitrato	-	-	-

¹ Dados obtidos em Schaad et al. (2001)

+ reação positiva; - reação negativa

Tabela 2. Avaliação da produção de ácidos de várias fontes de carboidratos para os isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 de *Pseudomonas cichorii* isolados de tomateiro.

Produção de ácidos a partir de	IBSBF 2309	IBSBF 2323	<i>P. cichorii</i> ¹
Citrato	+	+	+
D-arabinose	-	-	-
D-celobiose	-	-	-
D tartarato	+	+	+
D+trealose	-	-	-
Glicerol	+	+	+
Gluconato	+	+	+
L tartarato	+	+	+
Manitol	+	+	+
Oxalato	-	-	-
Rafinose	-	-	-
Ramnose	+	+	+
Sacarose	-	-	-
Salicina	-	-	-
Succinato	+	+	+

¹ Dados obtidos em Schaad et al. (2001)

+ reação positiva; - reação negativa



Figura 1. Sintomas de queima bacteriana em tomateiro cv. Santa Clara três dias após inoculação com o isolado IBSBF 2323.

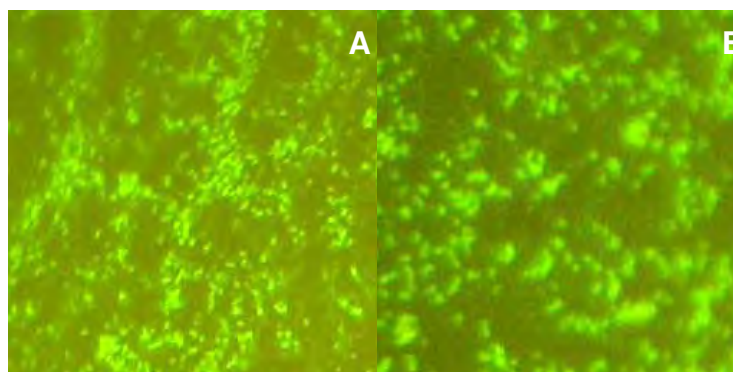


Figura 2. Reações dos isolados IBSBF 2309 (A) e IBSBF 2323 (B) de tomateiro com o antissoro policlonal do isolado tipo de *Pseudomonas cichorii* de chicória (IBSBF 1784).

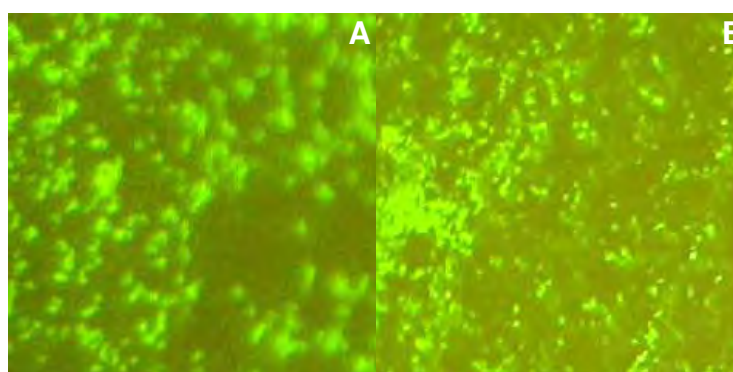


Figura 3. Reações dos isolados IBSBF 1784 (A) e GIR-1 (B) com o antissoro policlonal do isolado tipo de *Pseudomonas cichorii* de chicória (IBSBF 1784).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, I.M.G.; MALAVOLTA JÚNIOR, V.A.; RODRIGUES NETO, J.; BERIAM, L.O.S. Ocorrência de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* em tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Summa Phytopathologica**, v.20, n.1, p. 47, 1994.

AMAR, Z.; GARCIA, A. Utilización de la técnica de inmunofluorescencia indirecta em la detección de *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp em semillas de tomate y pimiento. **Fitosanidad**. V. 1, n. 1-4, p. 4-9, 1997.

AYERS, S. H.; RUPP, P.; JOHNSON, W. T. A study of the alkali-forming bacteria in milk. **U. S. Department of Agriculture**. Bull. 782, 1919.

BRADBURY, J.F. Guide to plant pathogenic bacteria. Kew: International Mycological Institute, 1986. 332p.

DEZORDI, C. **Desenvolvimento de meio de cultura semi-seletivo para a detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* em sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.)**. 2006. Dissertação (Doutorado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade de São Paulo, USP, Brasil, 2006.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A. Doenças do tomateiro. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de Fitopatologia, Volume 2, Doenças das Plantas Cultivadas**, São Paulo: Edição Agronômica Ceres, 2005. p. 607-626.

LELLIOTT, R. A.; BILLING, E; HAYWARD, A. C. A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads. **Journal of Applied Bacteriology** v.29, p.470-489, 1966.

LIMA, A.O.; SOARES, J.B.; GRECO, J.B.; GALIZZI, J.; CANÇADO, J.R. **Métodos laboratoriais aplicados à clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 5ª edição, 1997. 669 p.

MALAVOLTA JÚNIOR, V. A. et al. Bactérias fitopatogênicas assinaladas no Brasil: uma atualização. **Summa Phytopathologica**. v. 33, n., 2007.

MARINGONI, A.C.; KUROZAWA, C.; BARBOSA, V. Ocorrência de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* em tomateiro na região de Pato de Minas, MG. **Summa Phytopathologica**, v. 20, n. 1, p. 49, 1994.

MARINGONI, A. C. **Apontamentos de técnicas em fitobacteriologia**. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais (Boletim Didático, 8), 1995. 29p.

McMANUS, P. S.; STOCKWELL, V. O.; SUNDIN, G. W.; JONES, A. L. Antibiotic use in plant agriculture. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 40, p. 443-465, 2002.

PEREZ, R. L. El tomate, Nuevo hospedante de *Pseudomonas cichorii* en Cuba. **Protección de plantas**, v. 7, n. 2, p. 27-35, maio 1984.

QUEZADO-DURVAL, A. M.; GAZZOTO FILHO, A.; LEITE JÚNIOR, R. P.; CAMARGO, L.E.A. Sensibilidade a cobre, estreptomicina e oxitetraciclina em *Xanthomonas* spp. associadas à mancha bacteriana do tomate para processamento industrial. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n.4, p. 670-675, 2003.

SCHAAD, N. W.; JONES, J. B.; CHUN, W. **Plant Pathogen Bacterias**. 3 ed. APS Press. 2001. 373 p.

TUITE, J. **Plant Pathological Methods – Fungi and Bacteria**. Lafayette, Indiana: Burgess Publishing Company, 1969, 239 p.

WILKIE, J.P.; DYE, D. W. *Pseudomonas cichorii* causing tomato and celery diseases in New Zealand. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 17, p. 123-130, nov. 1973.

CAPÍTULO 2

“Gama de hospedeiras e reação de genótipos de tomateiro a
Pseudomonas cichorii”

Gama de hospedeiras e reação de genótipos de tomateiro a *Pseudomonas cichorii*

Tadeu Antônio Fernandes da Silva Júnior¹, Ricardo Gioria², Antonio Carlos Maringoni¹,
Sebastião M. Azevedo²; Luís Otávio Saggion Beriam³, Irene Maria Gatti de Almeida³

¹FCA/UNESP, CP 237, 18603-970, Botucatu-SP, e-mail: tafsjr@uol.com.br

²Sakata Seed Sudamerica Ltda, CP 427, 12906-840, Bragança Paulista-SP.

³Instituto Biológico, CP 70, 13001-970, Campinas-SP.

Autor para correspondência: Tadeu Antônio Fernandes da Silva Júnior

RESUMO

Silva Júnior, T.A.F.; Gioria, R.; Maringoni, A.C.; Azevedo, S.M.; Beriam, L.O.S.; Almeida, I.M.G.; Gama de hospedeiras e reação de genótipos de tomateiro a *Pseudomonas cichorii*.
Summa Phytopathologica,

Em 2005, foi constatada em dois campos comerciais de tomate no Estado de São Paulo, a ocorrência de queima bacteriana, causada por *Pseudomonas cichorii*. Em vista disso, foram desenvolvidos estudos visando a determinação da gama de hospedeiras de isolados de *Pseudomonas cichorii* (IBSBF 2309 e IBSBF 2323), obtidos de tomateiro, provenientes de campos comerciais localizados nos municípios de Bragança Paulista e Mogi Guaçu, SP. Plantas de abobrinha, alface, beldroega, berinjela, beterraba, cenoura, couve-brócolo, datura, fumo, girassol, jiló, melão, pepino, petúnia, pimentão, rabanete, repolho, rúcula, salsa e tomateiro foram inoculadas por pulverização, separadamente, com dois isolados de *P. cichorii*

de tomateiro e um isolado de girassol. Os isolados provenientes de tomateiro foram patogênicos à beldroega, datura, girassol, pimentão e tomate; o isolado de girassol foi patogênico apenas à beldroega, datura e girassol, não sendo patogênico ao pimentão e ao tomateiro. No Brasil não se conhecem fontes de resistência dentro do gênero *Lycopersicon* ou a reação de cultivares de tomateiros a esta bactéria. Vinte e oito genótipos de tomateiro (AF 229, AF 434, AF 464, AF 1104, AF 2521, AF 5719, AF 6288, AF 7109, AF 7111, AF 7112, AF 7113, AF 7114, AF 7115, AF 7116, AF 7127, AF 8163, AF 10723, AF 11188, AF 11762, AF 11764, AF 11765, AF 11766, AF 11767, AF 11768, AF 11770, AF 11771, AF 11772 e AF 11773), provenientes do Banco de Germoplasma da empresa Sakata Seed Sudamerica Ltda., foram avaliados quanto a reação aos isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 de *P. cichorii*, pelo método de inoculação nas folhas. Os maiores níveis de resistência foram observados nos genótipos de tomateiro AF 11768, AF 2521, AF 11766, AF 11772, AF 229, AF 5719-1 e AF 8162. O genótipo AF 5719-1, que possui o gene *Pro*, que confere resistência a *P. syringae* pv. *tomato*, apresentou um bom nível de resistência a *P. cichorii*. A identificação de genótipos que apresentem bons níveis de resistência a este patógeno é importante, pois, são potenciais para serem utilizados em programas de melhoramento genético do tomateiro, visando a incorporação de genes de resistência a *P. cichorii*.

Palavras-chave adicionais: *Lycopersicon esculentum*, resistência, queima bacteriana.

ABSTRACT

Silva Júnior, T.A.F.; Gioria, R.; Maringoni, A.C.; Azevedo, S.M.; Beriam, L.O.S.; Almeida, I.M.G.; Host range and genotypes reaction to *Pseudomonas cichorii*. *Summa Phytopathologica*,

The occurrence of bacterial blight, caused by *Pseudomonas cichorii*, was observed in two commercial tomato fields in the State of São Paulo in 2005. In view of this, studies were developed in order to determine the host range of *Pseudomonas cichorii* isolates (IBSBF 2309 and IBSBF 2323), obtained from tomato plants at commercial fields located in the cities of Bragança Paulista and Mogi Guaçu, SP, Brazil. Caserta pumpkin, lettuce, purslane, eggplant, beet, broccoli, carrot, Jimson weed, sunflower, tobacco, scarlet eggplant, melon, cucumber, petunia, green pepper, radish, cabbage, arugula, parsley, and tomato plants were spray-inoculated separately with two isolates of *P. cichorii* obtained from tomato and one from sunflower. The isolates from tomato plants were pathogenic to purslane, Jimson weed, sunflower, green pepper, and tomato; the sunflower isolate was only pathogenic to purslane, Jimson weed, and sunflower, but was not pathogenic to green pepper or tomato. In Brazil, no sources of resistance to this bacterium are known within the *Lycopersicon* genus. The reaction of tomato cultivars to the bacterium is also unknown. Twenty-eight tomato genotypes (AF 229, AF 434, AF 464, AF 1104, AF 2521, AF 5719, AF 6288, AF 7109, AF 7111, AF 7112, AF 7113, AF 7114, AF 7115, AF 7116, AF 7127, AF 8163, AF 10723, AF 11188, AF 11762, AF 11764, AF 11765, AF 11766, AF 11767, AF 11768, AF 11770, AF 11771, AF 11772 and AF 11773) from the Sakata Seed Sudamerica Ltda. Germplasm Bank were evaluated for their reaction to *P. cichorii* isolates IBSBF 2309 and IBSBF 2323, using the leaf inoculation

method. The highest resistance levels were observed in tomato genotypes AF 11768, AF 2521, AF 11766, AF 11772, AF 229, AF 5719-1, and AF 8162. Genotype AF 5719-1, that has the *Pto* gene, which imparts resistance to *P. syringae* pv. *tomato*, showed a good level of resistance to *P. cichorii*. The identification of genotypes with good levels of resistance to this pathogen is important, since they represent potential resources to be used in tomato breeding programs for incorporation of resistance genes against *P. cichorii*.

Additional keywords: *Lycopersicon esculentum*, resistance, bacterial blight

A cultura do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) está sujeita a várias doenças que podem limitar sua produção. Dentre estas, estão as bacterioses provocadas pelo gênero *Pseudomonas*. De acordo com Kurozawa & Pavan (16), as duas bacterioses mais importantes do tomateiro do gênero *Pseudomonas* no Brasil são a pinta bacteriana ou mancha bacteriana pequena (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe) Young, Dye & Paula Wilkie 1978) e a queima bacteriana (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall 1902). Há relatos no exterior da ocorrência de *Pseudomonas cichorii* em tomateiro (36; 26). Recentemente Silva Júnior et al. (34) relataram a ocorrência desta espécie causando queima foliar em plantas de tomateiro cultivadas em campos comerciais do Estado de São Paulo.

Há relatos da ocorrência de *P. cichorii* nos E.U.A., em lobélia (29), azaléia-anã (*Rhododendron catawbiense* Michx.) (35), manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) (12), fícus (*Ficus lyrata* Warb. cv. Compacta) (09), magnólia (*Magnolia grandiflora* L.) (23), schefflera (*Schefflera arboricola*) (07; 08), gerânio (*Pelargonium ortorium*) (10), crisântemo

(*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) (13), escarola (*Cichorium endivia* L.) (27) e alface (*Lactuca sativa* L.) (11; 24).

Em Cuba, Rodriguez et al. (33) relataram que *P. cichorii* foi patogênica às famílias Anacardiaceae, Bombacaceae, Cyperaceae, Compositae, Cruciferae, Cucurbitaceae, Sterculiaceae, Geraneaceae, Poaceae, Juglandaceae, Fabaceae, Liliaceae, Malvaceae, Meliaceae, Quenopodiaceae, Rubiaceae, Solanaceae e Umbiliferaceae.

Na Nova Zelândia, Young et al. (37) isolaram *P. cichorii* de açafroa (*Carthamus tinctorius* L.), escovinha (*Centaurea cyanus* L.), primula (*Primula officinalis*) e *Ranunculus acris* L. Outros hospedeiros naturais de *P. cichorii* são relatados por Bradbury (06), como: cenoura (*Daucus carota* L.), couve-flor (*Brassica oleracea* L.), pereira (*Pyrus communis* L.), e por inoculação artificial, as hospedeiras conhecidas são abóbora (*Cucurbita pepo* L.), aveia (*Avena sativa* L.), batata inglesa (*Solanum tuberosum* L.), beterraba (*Beta vulgaris* L.), cebola (*Allium cepa* L.), ervilha (*Pisum sativum* L.), espinafre (*Spinacea oleracea* L.), feijão caupi (*Vigna unguiculata* L.), feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e pepino (*Cucumis sativum* L.).

No Brasil, *P. cichorii* é um patógeno de grande importância, pois tem sido constatado em plantas de diferentes espécies, destacando-se alface (*Lactuca sativa* L.) (02; 25), girassol (*Helianthus annuus* L.) (31; 17), girassol ornamental (*Helianthus annuus* cv. Sunrise) (01; 22), mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza* Bancr.) (03), melão (*Cucumis melo* L.) (04), calêndula (*Calendula officinalis* L.) (05), crisântemo (*Chrysanthemum morifolium* Ram.) (32), caféiro (*Coffea arabica* L.) (30), menta (*Mentha arvensis* L.) (19), e ainda em quiabo (*Abelmoschus esculentus* L.), cebola (*Allium cepa* L.), salsão (*Apium graveolens* L.), *Belloperone guttata*, beterraba (*Beta vulgaris* L.), couve (*Brassica oleracea* L.), brócolis, pimentão (*Capsicum annum* L.), escarola (*Cichorium endivia* L.), almeirão (*Cichorium*

intibus L.), inhame (*Colocasia esculenta* L.), açafrão (*Crocus sativus* L.), dália (*Dahlia pinnata* L.), cenoura (*Daucus carota* L.), falsa-serralha (*Emilia sonchifolia* L.), eucalipto (*Eucalyptus globulus* L.), gérbera (*Gerbera jamesonii* L.), corda-de-viola (*Ipomea grandifolia* L.), *Murraia paniculata* L., fumo (*Nicotiana tabacum* L.), manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), salsa (*Petroselinum sativum* L.), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), *Philodendron* spp., rabanete (*Raphanus sativum* L.), mamona (*Ricinus communis* L.), violeta (*Viola odorata* L.), berinjela (*Solanum melongena* L.), *Syngonium podophyllum* L. e *Xanthosoma brasiliense* L. (21).

Até o momento, não se tem relatos na literatura nacional e internacional da reação de genótipos de tomateiro a *P. cichorii*, mas se conhecem materiais com resistência a outras espécies de *Pseudomonas*. Pilowsky & Zutra (28) verificaram que a cultivar Ontario 7710, o acesso PI126430 e a geração F1 do cruzamento entre Ontário 7710 e PI 126430 foram resistentes a *Pst*.

Krause et al. (15) avaliaram a reação de cultivares e híbridos para mesa, além de verificar a reação de espécies silvestres e cultivares importadas de *Lycopersicon* spp., provenientes da Universidade da Flórida, EUA, a um isolado brasileiro de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe) Young, Dye & Wilkie 1978, a fim de determinar possíveis fontes de resistência possíveis de uso em programas de melhoramento genético da cultura. Foram avaliadas 13 cultivares de tomate para mesa, espécies silvestres e duas cultivares importadas para a reação de um isolado de *P. syringae* pv. *tomato* (*Pst*). Os resultados observados evidenciaram que todas as cultivares e híbridos de tomateiro para mesa avaliados (Stevens x Rodade, Stevens, Kada, Concorde Ag-595, Cláudia, Ângela Harper, Santa Clara-crescimento determinado, Jumbo Ag-592, Jará-1, Imperador, Santa Clara VF-5600, Débora, Ângela Zambom, Ângela 1-5100 e Sandra) mostraram-se suscetíveis a *Pst* e as cultivares Agrocica

Botu-13 e Ontário 7710, ambas portadoras do gene *Pto*, foram resistentes. Dentre as introduções testadas, destacaram-se PI-127807, PI-128216-1-2 e principalmente a PI-126932-1-2 comportando-se como altamente resistente assim, como Agrocica Botu-13.

Kozik (14) testou 17 cultivares de tomateiro e quatro acessos do gênero *Lycopersicon*, e verificou que a cultivar Ontário 7710 e dois acessos de *Lycopersicon hisurtun* (LA 1773 e LA 1775) foram resistentes a *Pst*. As variedades MI8I2, Kujawski e Warszawski, também demonstraram um bom nível de resistência à bactéria.

Malavolta Júnior. et al. (20) verificaram a reação de 21 genótipos de tomateiro a *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall 1902 (*Pss*) e a *Pst*, e observaram que os genótipos mais resistentes a *Pst* foram Agrocica Botu 13, Zenith, XPH 5976, XPH 5978, XPH 5979, XPH 12044, XPH 12045, XPH 12066, XPH 12067, XPH 12068, XPH 12070, enquanto que as mais suscetíveis foram Ângela Hiper, IPA 6, Santa Clara, Ângela, Colorado, Barão Vermelho, Brigade e AF 26318. Com relação a *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (*Pss*), foram resistentes: Ângela, Brigade, Santa Clara, XPH 5978, XPH 5979 e XPH 12068. Os demais genótipos testados comportaram-se como medianamente resistentes, com exceção da cultivar Colorado, que foi suscetível. Alguns genótipos portadores do gene *Pto* possuem resistência a *Pss*, enquanto outros não. Isso indicou que provavelmente outro(s) gene(s) é(são) responsável(is) pela resistência a *Pss*.

Recentemente, foi observada em dois campos comerciais de tomateiro do tipo Salada e Italiano, em Bragança Paulista e Mogi Guaçú, SP, respectivamente, a ocorrência de uma doença que causava queima generalizada nas folhas, que não se enquadrava nos sintomas de doenças bacterianas típicos a esta planta. A bactéria em questão foi identificada como sendo *P. cichorii*, já descrita na Nova Zelândia e em Cuba (36; 26).

Face à ocorrência recente de *P. cichorii* em tomateiro no Estado de São Paulo o presente trabalho teve por objetivos avaliar a gama de hospedeiras (plantas cultivadas e daninhas) e a reação de 28 genótipos de tomateiro a esta bactéria, uma vez que não há registros na bibliografia nacional e internacional sobre o assunto.

MATERIAL E MÉTODOS

Gama de hospedeiras de *Pseudomonas cichorii*

No primeiro experimento para verificar a gama de hospedeiras de *Pseudomonas cichorii* os isolados IBSBF 2323 e GIR-1 de *P. cichorii*, provenientes respectivamente de tomate e girassol, foram inoculados em plantas de abobrinha, alface, beldroega, berinjela, beterraba, caserta, cenoura, couve-brócolo, datura, fumo, girassol, jiló, melão, pepino, petúnia, pimentão, rabanete, repolho, rúcula, salsa e tomate, cultivadas em vasos de três litros de capacidade contendo substrato Tropstrato Hortaliças Vida Verde[®], com três plantas de cada espécie. Cada planta hospedeira foi representada por cinco vasos com três plantas em cada e um vaso com três plantas como testemunha de cada hospedeira. O inóculo bacteriano foi obtido pelo cultivo dos isolados em meio de cultura nutriente-líquido (NL) a 28°C, durante 48 h., e posteriormente diluído em água destilada para se obter a concentração de 10^7 UFC.mL⁻¹, ajustada pela escala turbidimétrica de Macfarland (18).

As plantas foram inoculadas no estágio de dois a quatro pares de folhas verdadeiras, através de pulverização de suspensão bacteriana nas faces abaxial e adaxial das folhas. No tratamento testemunha, as plantas foram pulverizadas com água esterilizada. As plantas foram

mantidas sob câmara úmida 24 h antes e após a inoculação, nebulizadas com água, a intervalos de 5 minutos, com duração de um minuto, durante três dias. Durante o experimento, a temperatura média variou entre 25 e 30°C.

As avaliações foram efetuadas três dias após a inoculação, com a observação da presença ou ausência de sintomas nas folhas das plantas.

No segundo experimento, foram utilizados os isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 de *P. cichorii*, provenientes de tomate. Plantas de beldroega, datura, girassol, pimentão e tomate foram utilizadas como controles positivos e alface, fumo e petúnia como controles negativos. O cultivo das plantas, inoculação e avaliação foram os mesmos do primeiro experimento.

Reação de genótipos de tomateiro a *Pseudomonas cichorii*

Os genótipos de tomateiro AF 229, AF 434, AF 464, AF 1104, AF 2521, AF 5719-1, AF 6288, AF 7109, AF 7111, AF 7112, AF 7113, AF 7114, AF 7115, AF 7116, AF 7127, AF 8163, AF 10723, AF 11188, AF 11762, AF 11764, AF 11765, AF 11766, AF 11767, AF 11768, AF 11770, AF 11771, AF 11772 e AF 11773, do Banco de Germoplasma da empresa Sakata Seed Sudamerica Ltda., foram inoculados com os isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 de *P. cichorii*, provenientes de tomate. Os genótipos AF 11771 (Agrocica Botu 13), AF 7109 (derivado de AF 11771), AF 5719-1 (Rotam-4), AF 7115 e AF 7116 (genótipos provenientes do AVRDC) possuem o gene *Pto*, que confere resistência à mancha bacteriana pequena do tomateiro.

As plantas de tomateiro foram cultivadas em bandejas de isopor de 128 células e foram inoculadas no estágio de um par de folhas verdadeiras, através de pulverização de

suspensão bacteriana com concentração de 10^7 ufc.mL⁻¹, nas faces abaxial e adaxial das folhas. O inóculo foi obtido pelo cultivo dos isolados em meio de cultura NL a 28°C, durante 48 h., e posteriormente diluído em água destilada para se obter a concentração bacteriana empregada, ajustada pela escala turbidimétrica de Macfarland (18). O tratamento testemunha foi representado por água esterilizada. As plantas foram mantidas sob câmara úmida 24 h antes e após a inoculação e nebulizadas com água, a intervalos de cinco minutos, com duração de um minuto, durante três dias. Foram inoculadas de 12 a 35 plantas por genótipo.

A avaliação foliar foi realizada cinco dias após a inoculação do patógeno, com escala de notas que variou de um a cinco (Figura 1), sendo: Nota 1 – ausência de sintomas nas folhas das plantas; Nota 2 – presença de manchas encharcadas nos bordos foliares; Nota 3 – manchas encharcadas em 25% do limbo foliar; Nota 4 – manchas encharcadas em mais de 50% do limbo foliar e Nota 5 – folha morta.

Os genótipos de tomateiro que apresentaram severidade média da doença $\leq 2,00$ foram considerados como resistentes; severidade média entre 2,01 e 3,00 moderadamente resistentes; entre 3,01 e 4,00 suscetíveis, e severidade média $\geq 4,00$ como sendo altamente suscetíveis. Os genótipos resistentes foram utilizados em um segundo experimento; foram inoculadas 16 plantas de cada genótipo, com os isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 de *P. cichorii*. O genótipo AF 1104 foi utilizado como controle negativo (pulverização com água esterilizada). O cultivo das plantas, inoculação, avaliação e escala de notas foram os mesmos do primeiro experimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos experimentos realizados para se determinar a gama de hospedeiras de *P. cichorii* estão representados nas Tabelas 1 e 2. Os isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 de *P. cichorii*, obtidos de tomateiro, foram patogênicos à beldroega, datura, girassol, pimentão e tomate (Figura 2), enquanto o isolado GIR-1 de *P. cichorii*, proveniente de girassol, foi patogênico à beldroega, datura e girassol, e não foi patogênico ao pimentão e ao tomateiro.

Em datura, os três isolados de *P. cichorii* provocaram pequenas lesões necróticas de formato irregular no limbo foliar das plantas. Já em beldroega, as lesões nas folhas eram encharcadas, de aspecto arredondado, que evoluíram para necrose. Em plantas daninhas, existem relatos da ocorrência de *P. cichorii* sendo patogênica à corda-de-viola e à falsa-serralha (21), mas esta é a primeira constatação desta bactéria sob inoculação artificial em beldroega e datura, sendo estas plantas potenciais hospedeiras sob condições de campo.

Apesar dos relatos de *P. cichorii* colonizando alface, beterraba, berinjela, cenoura, salsa e rabanete (21) no Brasil, os isolados de *P. cichorii* IBSBF 2309 e IBSBF 2323 de tomateiro e GIR-1 de girassol não foram patogênicos a essas plantas através de inoculação artificial, evidenciando provável especialização patogênica desta bactéria ao tomate e ao girassol.

Os resultados das reações dos vinte e oito genótipos de tomateiro aos isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 de *P. cichorii* estão apresentados nas Tabelas 3 e 4. Os genótipos resistentes (severidade média de doença $\leq 2,00$) foram: AF 11768, AF 11764, AF 2521, AF 11766, AF 11772, AF 229, AF 5719-1 e AF 8162. Dos genótipos que possuem o gene de resistência *Pto*, apenas o AF 5719-1 apresentou um bom nível de resistência a *P. cichorii*,

enquanto que o AF 7109 apresentou um nível moderado, e os AF 11771, AF 7115 e AF 7116 foram altamente suscetíveis aos isolados de *P. cichorii* avaliados. Os sintomas de doença causados pelo isolado IBSBF 2323 de *P. cichorii* nos genótipos AF 2521, 11771 e 11188 estão ilustrados na Figura 3.

Até o momento não se tinha o conhecimento de cultivares de tomateiro com níveis de resistência a *P. cichorii*. A identificação de genótipos com altos níveis de resistência a este patógeno é importante, pois, potencialmente podem ser utilizados em programas de melhoramento genético de tomateiro, visando a incorporação de genes de resistência a *P. cichorii*.

Tabela 1. Reação de diferentes plantas hospedeiras de *Pseudomonas cichorii* inoculadas com isolados de tomateiro (IBSBF 2323) e de girassol (GIR-1).

Hospedeira	IBSBF 2323	GIR-1
Abobrinha (<i>Cucurbita pepo</i> var. CAC Melhorada)	-	-
Alface (<i>Lactuca sativa</i> cv. Elisa)	-	-
Beldroega (<i>Portulaca oleracea</i>)	+	+
Berinjela (<i>Solanum melongena</i> híbrido Nápoli)	-	-
Beterraba (<i>Beta vulgaris</i> híbrido Kestrel)	-	-
Couve-brócolo (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i> cv. Precoce Piracicaba Verão)	-	-
Cenoura (<i>Daucus carota</i> cv. Brasília)	-	-
Datura (<i>Datura stramonium</i>)	+	+
Girassol (<i>Helianthus annuus</i> var. Sunbright)	+	+
Fumo (<i>Nicotiana tabacum</i> var. Xanthi)	-	-
Jiló (<i>Solanum gilo</i> cv. Morro Grande)	-	-
Melão (<i>Cucumis melo</i> cv. CAC Melhorado)	-	-
Pepino (<i>Cucumis sativus</i> cv. Rubi)	-	-
Petúnia (<i>Petúnia</i> sp.)	-	-
Pimentão (<i>Capsicum annuum</i> cv. Magda)	+	-
Rabanete (<i>Raphanus sativus</i> cv. Juliette)	-	-
Repolho (<i>Brassica oleracea</i> híbrido Fuyutoyo)	-	-
Rúcula (<i>Eruca sativa</i> cv. Folha Larga)	-	-
Salsa (<i>Petroselinum sativum</i> var. Lisa Preferida)	-	-
Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> cv. Santa Clara)	+	-

+ = presença de sintomas - = ausência de sintomas

Tabela 2. Reação de diferentes plantas hospedeiras de *Pseudomonas cichorii* inoculadas com dois isolados de tomateiro (IBSBF 2309 e IBSBF 2323).

Hospedeira	IBSBF 2309	IBSBF 2323
Alface (<i>Lactuca sativa</i> cv. Elisa)	-	-
Beldroega (<i>Portulaca oleracea</i>)	+	+
Datura (<i>Datura stramonium</i>)	+	+
Fumo (<i>Nicotiana tabacum</i> var. Xanthi)	-	-
Girassol (<i>Helianthus annuus</i> var. Sunbright)	+	+
Petúnia (<i>Petúnia</i> sp.)	-	-
Pimentão (<i>Capsicum annuum</i> cv. Magda)	+	+
Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> cv. Santa Clara)	+	+

+ = presença de sintomas - = ausência de sintomas

Tabela 3. Severidade da doença em vinte e oito genótipos de tomateiro inoculados com os isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 de *Pseudomonas cichorii*, aos cinco dias após a inoculação.

Genótipos	IBSBF 2309	IBSBF 2323	Média
AF 11770	2,50	1,93	2,22
AF 11768	1,56	1,43	1,50
AF 11764	1,81	2,41	2,11
AF 7109*	2,38	2,55	2,47
AF 434	4,25	2,59	3,42
AF 7111	2,56	2,81	2,69
AF 2521	1,44	1,44	1,44
AF 11188	5,00	3,44	4,22
AF 7113	2,75	2,03	2,39
AF 11762	3,69	2,73	3,21
AF 11765	3,27	2,28	2,78
AF 11766	1,31	1,40	1,36
AF 11773	2,13	1,92	2,03
AF 10723	2,50	1,97	2,24
AF 6288	-	2,00	-
AF 11772	1,94	1,84	1,89
AF 11767	3,40	2,86	3,13
AF 11771*	5,00	2,33	3,67
AF 1104	3,19	3,26	3,18
AF 7115*	3,25	3,47	3,36
AF 7114	4,38	3,47	3,93
AF 229	1,75	1,77	1,76
AF 5719-1*	1,50	1,67	1,59
AF 7112	2,06	1,94	2,00
AF 464	3,06	2,88	2,97
AF 8162	1,19	1,75	1,47
AF 7116*	3,44	3,13	3,29
AF 7127	2,38	2,68	2,53

* Genótipos portadores do gene de resistência *Pto* à mancha bacteriana pequena do tomateiro, causado por *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*.

** Escala de notas de 1 a 5.

Tabela 4. Severidade da doença em oito genótipos (previamente selecionados) de tomateiro inoculados com os isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 de *Pseudomonas cichorii*, cinco dias após a inoculação.

Genótipos	IBSBF 2309	IBSBF 2323	Média
AF 11768	2,13	1,50	1,82
AF 2521	1,19	1,13	1,16
AF 11766	1,56	1,44	1,50
AF 11772	1,63	1,38	1,50
AF 1104	3,25	2,44	2,85
AF 229	1,56	1,25	1,41
AF 5719-1*	2,00	1,31	1,66
AF 8162	2,00	1,31	1,66

* Genótipo portador do gene de resistência *Pto* à mancha bacteriana pequena do tomateiro, causada por *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*.

** Escala de notas de 1 a 5.



Figura 1. Escala de notas de severidade da doença: A- nota 1; B- nota 2; C- nota 3; D- nota 4 e E- nota 5.



Figura 2. Sintomas causados pelo isolado IBSBF 2309 de *P. cichorii* em: A- datura; B- beldroega; C- girassol; D- pimentão e E- tomate.



Figura 3: Sintomas da doença causados pelo isolado IBSBF 2323 de *P. cichorii*: A- AF 2521; B- AF 11771 e C- AF 11188 (suscetível) e D- AF 2521 (resistente).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ALMEIDA, I.M.G.; SCHOENMAKER, S.; MALAVOLTA JÚNIOR, V.A. Crestamento bacteriano em girassol ornamental (*Helianthus annuus* cv. Sunrise) causado por *Pseudomonas cichorii*. In: **Reunião Anual do Instituto Biológico**, 7. São Paulo, 28/11 \ 2/12/1994. Resumos, p. 31. 1994.
02. ALMEIDA, I.M.G.; MALAVOLTA JÚNIOR, V.A.; MALAVOLTA, V.M.A. Colo preto da alface causado por *Pseudomonas cichorii*. **Biológico**, São Paulo, v. 61, n.1, p. 1-4, jan./jun., 1999.
03. BERIAM, L.O.S.; ALMEIDA, I.M.G.; RODRIGUES NETO, J.; MALAVOLTA JÚNIOR, V.A. Mandioquinha-salsa, novo hospedeiro de *Pseudomonas cichorii*. **Summa Phytopathologica**. v. 24, n. 3/4, p. 261-262, 1998a.
04. BERIAM, L.O.S.; ALMEIDA, I.M.G.; MALAVOLTA JÚNIOR, V.A.; RODRIGUES NETO, J. Crestamento bacteriano em folhas de meloeiro (*Cucumis melo* L.) causado por *Pseudomonas cichorii*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 65, n.1, p. 103-105, jan/jun. 1998b.
05. BERIAM, L.O.S.; ALMEIDA, I.M.G.; MALAVOLTA JÚNIOR, V.A. Crestamento bacteriano em calêndula. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 7, n. 2, p. 149-152, 2001.
06. BRADBURY, J.F. **Guide to plant pathogenic bacteria**. Kew: International Mycological Institute, 1986. 332p.
07. CHASE, A.R.; BRUNK, D.D. Bacterial leaf blight incited by *Pseudomonas cichorii* in *Schefflera arboricola* and some related plants. **Plant Disease**, v. 68, n. 1, p. 73-74, jan. 1984.

08. CHASE, A.R.; JONES, J.B. Effects of host nutrition, leaf age, and preinoculation light levels on severity of leaf spot of dwarf schefflera caused by *Pseudomonas cichorii*. **Plant Disease**, v. 70, n. 6, p. 561-563, jun. 1986.
09. CHASE, A.R. Leaf and petiole rot of *Ficus lyrata* cv. Compacta caused by *Pseudomonas cichorii*. **Plant Pathology**, v. 36, p. 219-221, 1987.
10. ENGELHARD, A.W.; MELLINGER, H.C.; PLOETZ, R.C.; MILLER, J.W. A leaf spot of florist's geranium incited by *Pseudomonas cichorii*. **Plant Disease**, v. 67, n. 5, p. 541-544, maio 1983.
11. GROGAN, R.G.; MISAGHI, I.J.; KIMBLE, K.A.; RIRIE, D.; BARDIN, R. Varnish spot, destructive disease of lettuce in California caused by *Pseudomonas cichorii*. **Phytopathology**, v. 67, n., p. 957-960, ago. 1977.
12. HOLCOMB, G.E.; COX, P.J. First report of basil leaf spot caused by *Pseudomonas cichorii* in Louisiana and cultivar screening results. **Plant Disease**, v., n., p. 1283, nov, 1998.
13. JONES, J.B.; ENGELHARD, A.W.; RAJU, B.C. Outbreak of a stem necrosis on *Chrysanthemum* incited by *Pseudomonas cichorii* in Florida. **Plant Disease**, v. 67, n. 4, p. 431-433, abr. 1983.
14. KOZIK, E.U. Studies on resistance to bacterial speck (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) in tomato cv. Ontario 7710. **Plant Breeding**. v.121, p. 526-530, 2002.
15. KRAUSE, R.; KUROZAWA, C.; SCOTT, J.W.; CATÂNEO, A. Avaliação de genótipos de tomateiro à mancha bacteriana pequena do tomateiro. **Summa Phytopathologica**. v. 27, n. 1, p. 60-62, 2001.

16. KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A. Doenças do tomateiro. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de Fitopatologia, Volume 2, Doenças das Plantas Cultivadas**, São Paulo: Edição Agronômica Ceres, 2005. p. 607-626.
17. LEITE, R.M.V.B.C. Doenças do girassol. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de Fitopatologia, Volume 2, Doenças das Plantas Cultivadas**, São Paulo: Edição Agronômica Ceres, 2005. p. 385-399.
18. LIMA, A.O.; SOARES, J.B.; GRECO, J.B.; GALIZZI, J.; CANÇADO, J.R. **Métodos laboratoriais aplicados à clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 5ª edição, 1997. 669 p.
19. MAIA, N.B. et al. Ocorrência de *Pseudomonas cichorii* em *Mentha arvensis*. **Summa Phytopathologica**, v. 22, n. 2, p. 185-188, 1996.
20. MALAVOLTA JÚNIOR, V.A.; ALMEIDA, I.M.G.; RODRIGUES NETO, J.; BERIAM, L.O.S.; MELO, P.C.T. Caracterização de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* em tomateiro no Brasil e reação de cultivares/genótipos de tomateiro a esse patovar e ao patovar *tomato*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n.1, p. 63-66, jan./mar. 2002.
21. MALAVOLTA JÚNIOR, V.A.; ALMEIDA, I.M.G.; RODRIGUES NETO, J.; BERIAM, L.O.S. Bactérias fitopatogênicas assinaladas no Brasil: uma atualização. **Summa Phytopathologica**. 2007. No prelo.
22. MARINGONI, A.C.; THEODORO, G. F. ; KOBORI, M. M. R. G. ; MIGGIOLARO, A. E. ; KUROZAWA, C. Novos sintomas de cretamento bacteriano em girassol ornamental. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 7, n. 2, p. 153-155, 2001.
23. MULLEN, J.M.; COBB, G.S. Leaf spot of Southern Magnolia caused by *Pseudomonas cichorii*. **Plant Disease**, v. 68, n. 11, p. 1013-1015, nov. 1984.

24. PATTERSON, C.L.; GROGAN, R.G.; CAMPBELL, R.N. Economically important diseases of lettuce. **Plant Disease**, v. 70, n.10, p. 983, out., 1986.
25. PAVAN, M.A.; KRAUSE-SAKATE, R.; KUROZAWA, C. Doenças da alface. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de Fitopatologia, Volume 2, Doenças das Plantas Cultivadas**, São Paulo: Edição Agronômica Ceres, 2005. p. 27-33.
26. PEREZ, R. L. El tomate, Nuevo hospedante de *Pseudomonas cichorii* en Cuba. **Protección de plantas**, v. 7, n. 2, p. 27-35, maio 1984.
27. PERNEZNY, K.; RAID, R.N. Occurrence of bacterial leaf spot of escarole caused by *Pseudomonas cichorii* in the Everglades Agricultural Area of Southern Florida. **Plant Disease**, v. 85, n. 11, p. 1208, 2001.
28. PILOWSKY, M.; ZUTRA, D. Reaction of different tomato genotypes to the bacterial speck pathogen (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*). **Phytoparasitica**. v.14, n.1, p. 39-42, 1986.
29. PUTNAM, M.L. Bacterial blight, a new disease of *Lobelia ricardii* caused by *Pseudomonas cichorii*. **Plant Disease**, v. 83, n. 10, p. 966, 1999.
30. ROBBS, C.F.; KIMURA, O.; RIBEIRO, R.L.D.; OYADOMARI, L.C. “Crestamento bacteriano das folhas”: nova enfermidade do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) incitada por *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp. **Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (Brasil)**. v. 4(2) p. 1-5, 1974.
31. ROBBS, C. F.; ALMEIRA, A. M. R. Crestamento bacteriano das folhas de girassol causado por *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp: Primeira constatação no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, p. 127-130, jun. 1981.

32. RODRIGUES NETO, J.; PEREIRA, A. L. G.; ZAGATTO, A. G. “Mancha bacteriana” em folhas de *Chrysanthemum morifolium* Ram. no Estado de São Paulo, causado por *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp, 1928. **O Biológico**, v. 42, p. 118-122, 1976.
33. RODRIGUEZ, A.M.; IZNAGA, R.F.; HINOJOSA, D.; DIAZ, B.; AGUILERA, M. **Proteccion de Plantas**. v. 2, n.4, p. 41-52, 1992.
34. SILVA JÚNIOR, T.A.F.; BERIAM, L.O.S.; ALMEIDA, I.M.G.; MARINGONI, A.C.; BRUNELLI, K.R.; AZEVEDO, S.M.; SANTOS, W.B.; GIORIA, R. Ocorrência de queima bacteriana causada por *Pseudomonas cichorii* em tomateiro no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**. v. 33, supl. p. 74, 2007.
35. UDDIN, W.; McCARTER, S. M. First report of *Rhododendron* leaf spot caused by *Pseudomonas cichorii*. **Plant Disease**, v. 80, n.8, p. 960, 1996.
36. WILKIE, J.P.; DYE, D. W. *Pseudomonas cichorii* causing tomato and celery diseases in New Zealand. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 17, p. 123-130, nov. 1973.
37. YOUNG, J. M. et al. Isolation of *Pseudomonas cichorii* from plants in New Zealand. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 30, p. 511-516, 1987.

4. CONCLUSÕES GERAIS

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho:

a) Os isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 são identificados como *Pseudomonas cichorii*, sendo este o primeiro relato desta bactéria em tomateiro no Estado de São Paulo e possivelmente no país;

b) Os isolados IBSBF 2309 e IBSBF 2323 de *P. cichorii*, obtidos de tomateiro, foram patogênicos à beldroega e à datura. É a primeira vez que essas plantas daninhas são relatadas como hospedeiras de *P. cichorii* no Brasil.

c) Os genótipos AF 11768, AF 11764, AF 2521, AF 11766, AF 11772, AF 229, AF 5719-1 e AF 8162 apresentaram bons níveis de resistência a *P. cichorii*, e potencialmente podem ser utilizados em programas de melhoramento genético de tomateiro, visando a incorporação de genes de resistência a esta bactéria.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLIPI, A. M. First report of bacterial spot of celery caused by *Pseudomonas cichorii* in Argentina. **Plant Disease**, v., n., p. 599, maio, 1996.

ALMEIDA, I.M.G.; MALAVOLTA JÚNIOR, V.A.; RODRIGUES NETO, J.; BERIAM, L.O.S. Ocorrência de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* em tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Summa Phytopathologica**, v.20, n.1, p. 47, 1994.

ALMEIDA, I.M.G.; SCHOENMAKER, S.; MALAVOLTA JÚNIOR, V.A. Crestamento bacteriano em girassol ornamental (*Helianthus annuus* cv. Sunrise) causado por *Pseudomonas cichorii*. In: **Reunião Anual do Instituto Biológico**, 7. São Paulo, 28/11 \ 2/12/1994. Resumos, p. 31. 1994.

ALMEIDA, I. M. G.; MALAVOLTA JÚNIOR, V. A.; MALAVOLTA, V. M. A. Colo preto da alface causado por *Pseudomonas cichorii*. **Biológico**, São Paulo, v. 61, n.1, p. 1-4, jan./jun., 1999.

AMAR, Z.; GARCIA, A. Utilización de la técnica de inmunofluorescencia indirecta em la detección de *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp em semillas de tomate y pimiento. **Fitosanidad**. V. 1, n. 1-4, p. 4-9, 1997.

AYERS, S. H.; RUPP, P.; JOHNSON, W. T. A study of the alkali-forming bacteria in milk. **U. S. Department of Agriculture**. Bull. 782, 1919.

BERIAM, L. O. S. et al. Mandioquinha-salsa, novo hospedeiro de *Pseudomonas cichorii*. **Summa Phytopathologica**. v. 24, n. 3/4, p. 261-262, 1998a.

BERIAM, L. O. S. et al. Crestamento bacteriano em folhas de meloeiro (*Cucumis melo* L.) causado por *Pseudomonas cichorii*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 65, n.1, p. 103-105, jan/jun. 1998b.

BERIAM, L. O. S., et al. Crestamento bacteriano em calêndula. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 7, n. 2, p. 149-152, 2001.

BRADBURY, J. F. **Guide to plant pathogenic bacteria**. Kew: International Mycological Institute, 1986. 332p.

CHASE, A. R.; BRUNK, D. D. Bacterial leaf blight incited by *Pseudomonas cichorii* in *Schefflera arboricola* and some related plants. **Plant Disease**, v. 68, n. 1, p. 73-74, jan. 1984.

CHASE, A. R.; JONES, J. B. Effects of host nutrition, leaf age, and preinoculation light levels on severity of leaf spot of dwarf schefflera caused by *Pseudomonas cichorii*. **Plant Disease**, v. 70, n. 6, p. 561-563, jun. 1986.

CHASE, A. R. Leaf and petiole rot of *Ficus lyrata* cv. Compacta caused by *Pseudomonas cichorii*. **Plant Pathology**, v. 36, p. 219-221, 1987.

DESTÉFANO, S.A.L.; ALMEIDA, I.M.G.; RODRIGUES NETO, J. Genetic diversity analysis of *Pseudomonas cichorii* isolates from Brazil. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.78, fasc. 1, 2003.

DEZORDI, C. **Desenvolvimento de meio de cultura semi-seletivo para a detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* em sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.)**. 2006. Dissertação (Doutorado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade de São Paulo, USP, Brasil, 2006.

ENGELHARD, A. W. et al. A leaf spot of florist's geranium incited by *Pseudomonas cichorii*. **Plant Disease**, v. 67, n. 5, p. 541-544, maio 1983.

FERREIRA PINTO, M. M.; OLIVEIRA, H. A new bacterial disease of lettuce in Portugal caused by *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp. **Phytopathologia mediterranea**, v. 32, p. 249-253, 1993.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura – Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**, Universidade Federal de Viçosa, 2002, 402 p.

GROGAN, R. G. et al. Varnish spot, destructive disease of lettuce in California caused by *Pseudomonas cichorii*. **Phytopathology**, v. 67, n., p. 957-960, ago. 1977.

HOLCOMB, G. E.; COX, P. J. First report of basil leaf spot caused by *Pseudomonas cichorii* in Louisiana and cultivar screening results. **Plant Disease**, v., n., p. 1283, nov, 1998.

JONES, J. B.; ENGELHARD, A. W.; RAJU, B. C. Outbreak of a stem necrosis on *Chrysanthemum* incited by *Pseudomonas cichorii* in Florida. **Plant Disease**, v. 67, n. 4, p. 431-433, abr. 1983.

KOZIK, E.U. Studies on resistance to bacterial speck (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) in tomato cv. Ontario 7710. **Plant Breeding**. v.121, p. 526-530, 2002.

KRAUSE, R. et al. Avaliação de genótipos de tomateiro à mancha bacteriana pequena do tomateiro. **Summa Phytopathologica**. v. 27, n. 1, p. 60-62, 2001.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A. Doenças do tomateiro. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de Fitopatologia, Volume 2, Doenças das Plantas Cultivadas**, São Paulo: Edição Agronômica Ceres, 2005. p. 607-626.

LEITE, R. M. V. B. C. Doenças do girassol. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de Fitopatologia, Volume 2, Doenças das Plantas Cultivadas**, São Paulo: Edição Agronômica Ceres, 2005. p. 385-399.

LELLIOTT, R. A.; BILLING, E; HAYWARD, A. C. A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads. **Journal of Applied Bacteriology** v.29, p.470-489, 1966.

LIMA, A.O.; SOARES, J.B.; GRECO, J.B.; GALIZZI, J.; CANÇADO, J.R. **Métodos laboratoriais aplicados à clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 5ª edição, 1997. 669 p.

MAIA, N. B. et al. Ocorrência de *Pseudomonas cichorii* em *Mentha arvensis*. **Summa Phytopathologica**, v. 22, n. 2, p. 185-188, 1996.

MALAVOLTA JÚNIOR, V. A. et al. Caracterização de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* em tomateiro no Brasil e reação de cultivares/genótipos de tomateiro a esse patovar e ao patovar *tomato*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n.1, p. 63-66, jan./mar. 2002.

MALAVOLTA JÚNIOR, V. A. et al. Bactérias fitopatogênicas assinaladas no Brasil: uma atualização. **Summa Phytopathologica**. 2007. No prelo.

MARINGONI, A.C.; KUROZAWA, C.; BARBOSA, V. Ocorrência de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* em tomateiro na região de Pato de Minas, MG. **Summa Phytopathologica**, v. 20, n. 1, p. 49, 1994.

MARINGONI, A. C. **Apontamentos de técnicas em fitobacteriologia**. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais (Boletim Didático, 8), 1995. 29p.

MARINGONI, A. C. et al. Novos sintomas de cretamento bacteriano em girassol ornamental. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 7, n. 2, p. 153-155, 2001.

McMANUS, P. S.; STOCKWELL, V. O.; SUNDIN, G. W.; JONES, A. L. Antibiotic use in plant agriculture. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 40, p. 443-465, 2002.

MULLEN, J. M.; COBB, G. S. Leaf spot of Southern Magnolia caused by *Pseudomonas cichorii*. **Plant Disease**, v. 68, n. 11, p. 1013-1015, nov. 1984.

PATTERSON, C. L.; GROGAN, R. G.; CAMPBELL, R. N. Economically important diseases of lettuce. **Plant Disease**, v. 70, n.10, p. 983, out., 1986.

PAVAN, M. A.; KRAUSE-SAKATE, R.; KUROZAWA, C. Doenças da alface. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de Fitopatologia, Volume 2, Doenças das Plantas Cultivadas**, São Paulo: Edição Agronômica Ceres, 2005. p. 27-33.

PEREZ, R. L. El tomate, Nuevo hospedante de *Pseudomonas cichorii* en Cuba. **Protección de plantas**, v. 7, n. 2, p. 27-35, maio 1984.

PERNEZNY, K.; DATNOFF, L.; SOMMERFIELD, M. L. Brow stem of celery caused by *Pseudomonas cichorii*. **Plant Disease**, v. 78, n. 9, p. 917-919, set. 1994.

PERNEZNY, K.; RAID, R. N. Occurrence of bacterial leaf spot of escarole caused by *Pseudomonas cichorii* in the Everglades Agricultural Area of Southern Florida. **Plant Disease**, v. 85, n. 11, p. 1208, 2001.

PILOWSKY, M.; ZUTRA, D. Reaction of different tomato genotypes to the bacterial speck pathogen (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*). **Phytoparasitica**. v.14, n.1, p. 39-42, 1986.

PUTNAM, M. L. Bacterial blight, a new disease of *Lobelia ricardii* caused by *Pseudomonas cichorii*. **Plant Disease**, v. 83, n. 10, p. 966, 1999.

QUEZADO-DURVAL, A. M.; GAZZOTO FILHO, A.; LEITE JÚNIOR, R. P.; CAMARGO, L.E.A. Sensibilidade a cobre, estreptomicina e oxitetraciclina em *Xanthomonas* spp. associadas à mancha bacteriana do tomate para processamento industrial. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n.4, p. 670-675, 2003.

ROBBS, C.F.; KIMURA, O.; RIBEIRO, R.L.D.; OYADOMARI, L.C. “Crestamento bacteriano das folhas”: nova enfermidade do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) incitada por *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp. **Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (Brasil)**. v. 4(2) p. 1-5, 1974.

ROBBS, C. F.; ALMEIRA, A. M. R. Crestamento bacteriano das folhas de girassol causado por *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp: Primeira constatação no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, p. 127-130, jun. 1981.

RODRIGUES NETO, J.; PEREIRA, A. L. G.; ZAGATTO, A. G. “Mancha bacteriana” em folhas de *Chrysanthemum morifolium* Ram no Estado de São Paulo, causado por *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp, 1928. **O Biológico**, v. 42, p. 118-122, 1976.

RODRIGUEZ, A.M.; IZNAGA, R.F.; HINOJOSA, D.; DIAZ, B.; AGUILERA, M. **Proteccion de Plantas**. v. 2, n.4, p. 41-52, 1992.

SCHAAD, N. W.; JONES, J. B.; CHUN, W. **Plant Pathogen Bacterias**. 3 ed. APS Press. 2001. 373 p.

SILVA JÚNIOR, T.A.F. et al. Ocorrência de queima bacteriana causada por *Pseudomonas cichorii* em tomateiro no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**. v. 33, supl. p. 74, 2007.

TUITE, J. **Plant Pathological Methods – Fungi and Bacteria**. Lafayette, Indiana: Burgess Publishing Company, 1969, 239 p.

UDDIN, W.; McCARTER, S. M. First report of Rhododendron leaf spot caused by *Pseudomonas cichorii*. **Plant Disease**, v. 80, n.8, p. 960, 1996.

WILKIE, J. P.; DYE, D. W. *Pseudomonas cichorii* causing tomato and celery diseases in New Zealand. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 17, p. 123-130, nov. 1973.

YOUNG, J. M. et al. Isolation of *Pseudomonas cichorii* from plants in New Zealand. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 30, p. 511-516, 1987.