

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÃO DE PRODUTOS QUÍMICOS NO CONTROLE E NA
INDUÇÃO DE MECANISMOS BIOQUÍMICOS DE RESISTÊNCIA À
MANCHA BACTERIANA (*Xanthomonas perforans*) DO TOMATEIRO**

ADRIANA TERUMI ITAKO

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

BOTUCATU - SP

Novembro-2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÃO DE PRODUTOS QUÍMICOS NO CONTROLE E NA
INDUÇÃO DE MECANISMOS BIOQUÍMICOS DE RESISTÊNCIA À
MANCHA BACTERIANA (*Xanthomonas perforans*) DO TOMATEIRO**

ADRIANA TERUMI ITAKO

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Maringoni

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

BOTUCATU - SP

Novembro-2011

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

- I88a Itako, Adriana Terumi, 1981-
Avaliação de produtos químicos no controle e na indução de mecanismos bioquímicos de resistência à mancha bacteriana (*Xanthomonas perforans*) do tomateiro / Adriana Terumi Itako. - Botucatu : [s.n.], 2011
viii, 95 f. : il., gráfs., tabs.
- Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2011
- Orientador: Antonio Carlos Maringoni
Inclui bibliografia
1. β -1,3-glucanase. 2. Controle químico. 3. Peroxidase. 4. *Solanum lycopersicum*. 5. *Xanthomonas perforans*.
I. Maringoni, Antonio Carlos. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

Palavras-chave: *Xanthomonas perforans*, *Solanum lycopersicum*, peroxidase, polifenoloxidase, β -1,3-glucanase e controle químico.

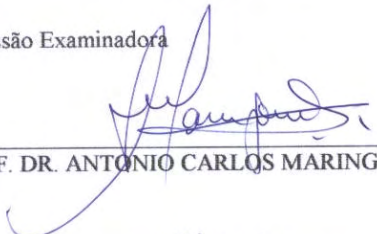
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

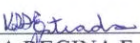
TÍTULO: "AVALIAÇÃO DE PRODUTOS QUÍMICOS NO CONTROLE E NA INDUÇÃO
DE MECANISMOS BIOQUÍMICOS DE RESISTÊNCIA À MANCHA BACTERIANA
(Xanthomonas perforans) DO TOMATEIRO"

ALUNA: ADRIANA TERUMI ITAKO

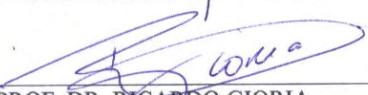
ORIENTADOR: PROF. DR. ANTONIO CARLOS MARINGONI

Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. ANTONIO CARLOS MARINGONI

PROFA. DRA. KÁTIA REGINA F. SCHWAN ESTRADA

PROF. DR. JÚLIO RODRIGUES NETO

PROF. DR. RICARDO GIORIA

PROF. DR. MARCELO AGENOR PAVAN

Data da Realização: 02 de dezembro 2011.

Ao meu pai Mitsuo Itako e minha mãe Mituyo T. Itako (*in memoriam*)
e aos meus irmãos Juliana, Fábio e Regina

Com muito amor

OFEREÇO

Ao meu grande amor João Batista Tolentino Júnior

Com muito carinho

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela força e saúde para desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor orientador Antonio Carlos Maringoni pela confiança, amizade, ensinamentos e por contribuir com meu crescimento profissional.

Aos meus pais Mitsuo e Mituyo e aos meus irmãos Juliana (Mi), Fábio (Shi) e Regina (Ayu) que sempre me apoiaram e incentivaram.

Ao João Batista Tolentino Júnior pelo carinho e ajuda no desenvolvimento deste trabalho. A Iraci e Graciele pelo carinho e apoio.

À Profa. Dra Kátia Regina F. Schwan-Estrada por tudo: amizade, carinho, ensinamento e apoio.

Ao meu colega Luiz A. Rauer Demant (Galack) pela ajuda na execução do experimento e aos seus pais Dona Ana e Seu Tomas que carinhosamente me receberam em sua casa para realizar a parte experimental do campo.

Aos professores Renate Krause-Sakate, Carlos Gilberto Raetano e Rogério Lopes Vieites pelos ensinamentos e empréstimo de equipamentos para execução deste trabalho.

Aos professores Marcelo Agenor Pavan e Edson L. Furtado pelos ensinamentos e momentos agradáveis de convivência e aos demais professores do setor de Defesa Fitossanitária.

Ao Ricardo Gioria da Sakata Seed Sudamerica pelo fornecimento da semente de tomate cultivar Gisele para o ensaio na casa-de-vegetação.

Aos meus amigos Martha M. Passador, Júlio M. Marubayashi, Monika Fecury, Karina G. Tumura, Tatiana Mituti, Denise N. Nozaki e Leonardo F. Barbosa pela amizade e pelos momentos de alegria.

Agradecimento em especial à minha amiga Daniela D. H. Costa pela amizade e ajuda na montagem do experimento em campo.

Aos colegas do laboratório de Bacteriologia: Tadeu A. Fernandes da Silva, Lucas M. Rivero Rodrigues, Ronaldo C. de Souza Filho, Mariane Ishizuka, Amanda P. da Silva e Júlio C. da Silva.

Aos meus colegas do laboratório de Patologia Florestal: Haroldo A. Chagas, Djanira R. Negrão e Ana Carolina Firmino.

Aos amigos da ESALQ-Piracicaba: Lígia B. Marinho, Cornélio A. Zolin, Janaína Paulino e Danilton F. pela amizade e pelos momentos alegres compartilhados.

Aos funcionários José Marcelo, Norberto, Domingos, Paulo, Maria Aparecida (Dinha), Fátima, Maria do Carmo, Evandro e Ana Rita, pela amizade e atenção.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos e à FAPESP pelo auxílio financeiro;

À Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e ao Departamento de produção Vegetal - Setor de Defesa Fitossanitária.

A todas as pessoas que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	5
2	REVISÃO DE LITERATURA	8
2.1	Cultura do tomateiro.....	8
2.1.1	Origem e características da cultura do tomateiro	8
2.2	Mancha bacteriana do tomateiro	11
2.2.1	Etiologia da mancha bacteriana.....	11
2.2.2	Sintomatologia da mancha bacteriana.....	13
2.2.3	Epidemiologia	14
2.2.4	Controle da mancha bacteriana	15
2.3	Mecanismos de resistência de plantas às doenças.....	20
2.4	Indução de resistência de plantas a patógenos	21
2.5	Proteínas relacionadas à indução de resistência	23
	CAPÍTULO 1.....	28
	Efeito de fungicidas e antibiótico no controle da mancha bacteriana e na ativação de proteínas relacionadas à patogênese em tomateiro	28
	CAPÍTULO 2.....	58
	Controle da mancha bacteriana do tomateiro e ativação de proteínas relacionadas à indução de resistência por fungicidas e antibiótico, sob condições de campo	58
3	CONCLUSÕES.....	81
4	REFERÊNCIAS	83

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo avaliar em condições de casa-de-vegetação e de campo a ação de alguns fungicidas e antibiótico no controle da mancha bacteriana (*Xanthomonas perforans*) do tomateiro e na ativação de enzimas relacionadas à indução de resistência. A sensibilidade *in vitro* foi avaliada utilizando os produtos acibenzolar-S-metil; piraclostrobina e piraclostrobina + methiran, oxicloreto de cobre, oxicloreto de cobre + mancozeb, fluazinam e oxitetraciclina nas concentrações de 0; 5; 10; 50; 100; 500; 1000 e 5000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Acibenzolar-S-metil e piraclostrobina não inibiram o crescimento de *X. perforans* em todas as concentrações avaliadas e para os demais produtos, o crescimento bacteriano variou em função da concentração ensaiada. Para avaliação da severidade e atividade enzimática em casa-de-vegetação, foram utilizadas as cultivares de tomateiro Santa Clara e Gisele e o híbrido AP 529 inoculadas com *X. perforans*. Os tratamentos consistiram da pulverização com acibenzolar-S-metil (2,5 g i.a./100 L), fluazinam (25 g i.a./100 L), piraclostrobina (8 g i.a./100 L), piraclostrobina + methiran (20 g + 220 g i.a./100L), oxicloreto de cobre (150 g i.a./100 L), oxicloreto de cobre + mancozeb (88 g + 60 g i.a./100 L) e oxitetraciclina (40 g i.a./100 L), além de uma testemunha inoculada e uma testemunha não inoculada. Com os dados de severidade foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Todos os tratamentos apresentaram redução da AACPD em relação à testemunha. Os fungicidas acibenzolar-S-metil, piraclostrobina e piraclostrobina + methiran tiveram a maior redução da severidade da mancha bacteriana em tomateiro em condições de casa-de-vegetação. Os

produtos à base de piraclostrobina induziram as atividades enzimáticas de peroxidase, polifenoloxidase e β -1,3-glucanase, evidenciando que estes produtos podem estar relacionados com a indução de resistência. Para avaliar o controle da mancha bacteriana, a produção de tomate e a indução de resistência pela aplicação de produtos químicos em condição de campo, foram instalados dois ensaios em dois anos consecutivos (2009/10 e 2010/11). Trinta dias após o transplântio, as plantas de tomateiro foram pulverizadas com os produtos químicos e aos 40 dias após o transplântio, foram inoculadas com um isolado de *X. perforans* (10^7 UFC/mL). Foi calculada AACPD com as avaliações da doença aos 10, 19, 29 e 36 dias após a inoculação. Todos os tratamentos diferiram da testemunha, em especial o acibenzolar-S-metil, piraclostrobina e piraclostrobina + methiran. No primeiro ensaio os tratamentos que diferiram da testemunha para as variáveis massa total dos frutos (Kg) e número de frutos foram piraclostrobina + methiran, seguida de fluazinam, oxicleto de cobre + methiran, oxicleto de cobre e piraclostrobina. Já para o segundo ensaio, os tratamentos que se destacaram foram piraclostrobina + methiran e piraclostrobina. Análises químicas ($^{\circ}$ Brix, pH, acidez total) foram feitas com os frutos colhidos, porém não foi verificada diferenças significativas no teor de $^{\circ}$ Brix e acidez, somente no pH nos frutos do primeiro ensaio. No primeiro ensaio, somente a enzima polifenoloxidase foi induzida e no segundo ensaio, tanto as enzimas polifenoloxidase e peroxidase tiveram suas atividades aumentadas nos tratamentos com acibenzolar-S-metil, piraclostrobina e piraclostrobina + methiran. Os fungicidas à base de piraclostrobina reduziram a severidade da doença e aumentaram a atividade de algumas enzimas sem redução da produção, mostrando serem promissores no controle da mancha bacteriana.

Palavras-chaves: *Xanthomonas perforans*, *Solanum lycopersicum*, peroxidase, polifenoloxidase, β -1,3-glucanase e controle químico.

EVALUATION OF CHEMICALS IN CONTROL AND BIOCHEMICAL RESISTANCE INDUCTION AGAINST BACTERIAL SPOT (*Xanthomonas perforans*) IN TOMATO. Botucatu, 2011. 94 p. Tese (Doutorado em Agronomia/ Proteção de Plantas)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Author: ADRIANA TERUMI ITAKO

Adviser: PROF. DR. ANTONIO CARLOS MARINGONI

SUMMARY

This study aimed to evaluate in greenhouse and in field the action of fungicides and antibiotics against tomato's bacterial spot (*Xanthomonas perforans*) and the activation of enzymes related to the resistance. The sensitivity was evaluated *in vitro* using the products acibenzolar-S-methyl, pyraclostrobin, pyraclostrobin + methiran, copper oxychloride, copper oxychloride + mancozeb, oxytetracycline at concentrations of 0, 5, 10, 50, 100, 500, 1000 and 5000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Acibenzolar-S-methyl and pyraclostrobin did not inhibit the growth of *X. perforans* in all concentrations tested and for other products, the bacterial growth varied depending on the concentration tested. To assess the severity and enzyme activity in greenhouse, we used the tomato cultivars Santa Clara, Gisele and AP529 inoculated with *X. perforans*. The treatments consisted of pulverization with: acibenzolar-S-methyl (2.5 g a.i./100 L), fluazinam (25 g a.i./100 L), pyraclostrobin (8 g a.i./100 L) methiran + pyraclostrobin (20 g + 220 g i.a./100 L), copper oxychloride (150 g ai/100 L), copper oxychloride + mancozeb (88 g + 60 g a.i./100 L),

oxytetracycline (40 g a.i./100 L), and in addition an inoculated and non inoculated as control. The area under the disease progress curve (AUDPC) was calculated using the assessments data of the severity disease. All treatments had reduced the AUDPC compared to the control. The fungicides acibenzolar-S-methyl, pyraclostrobin, and pyraclostrobin + methiran had the highest reduction in the severity of bacterial spot on tomato plants under greenhouse experiments conditions. The acibenzolar-S-methyl and pyraclostrobin-based products had induced the enzymatic activity of peroxidase, polyphenoloxidase and β -1,3-glucanase, indicating that these products can be related to the induction of resistance. To evaluate the control of bacterial spot, the tomato production and the induction of resistance by application of chemicals in field condition, two trials were carried out in two consecutive years (2009/10 and 2010/11). Thirty days after transplanting, the tomato plants (hybrid AP529) were pulverized with the chemical products. Inoculation with an isolate bacterium *X. perforans* (10^7 CFU / mL) was performed 40 days after of transplanting the plants to the field trial. The AUDPC was calculated through the assessments of the severity disease at 10, 19, 29 and 36 days after the inoculation. All treatments differed from the control for disease severity variable, in particular the acibenzolar-S-methyl, pyraclostrobin and pyraclostrobin + methiran. In the first trial, the treatments which differed from the control variables for the total mass of fruits (kg) and number of fruits were pyraclostrobin + methiran, followed by fluazinam, methiran + copper oxychloride, copper oxychloride and pyraclostrobin. As for the second test ,the treatments that stood out were pyraclostrobin + methiran and pyraclostrobin. Chemical analysis ($^{\circ}$ Brix, pH, total acidity) were performed with the fruits, however were not observed significant differences in the level of acidity and $^{\circ}$ Brix, only for pH in the first test. In the first trial only the polyphenoloxidase enzyme was induced and in the second test both enzymes polyphenol oxidase and peroxidase in the treatments with acibenzolar-S-methyl, pyraclostrobin, and pyraclostrobin + methiran had their activities increased. The pyraclostrobin-based fungicides reduced disease severity and increased the activity of some enzymes, without reducing the production (yield) . This shows that these products are very promising in controlling bacterial spot.

Key words: *Xanthomonas perforans*, *Solanum lycopersicum*, peroxidase, polyphenol oxidase, β -1, 3-glucanase and chemical control.

1 INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das mais importantes hortaliças no mundo. Seu cultivo é amplamente difundido no Brasil, e apresenta grande importância comercial, tanto para o consumo *in natura* quanto para industrialização. É a segunda olerícola mais cultivada no mundo, apenas superada pela cultura da batata (CAMARGO FILHO ; MAZZEI, 1996; FILGUEIRA, 2008).

O cultivo do tomateiro exige alto nível tecnológico e intensa utilização de mão-de-obra, o que confere a esta cultura elevada importância econômica e social (LOPEZ et al., 2000), além de ser uma cultura onde mais de 200 doenças já foram relatadas, provocando diferentes níveis de redução de produtividade ou de qualidade do produto comercial (SILVA; GIORDANO, 2000; VALE et al., 2004;).

Dentre as doenças que têm prejudicado a produção dessa cultura, a mancha-bacteriana, causada por espécies de *Xanthomonas*, é considerada de grande importância, tanto para o tomateiro estaqueado quanto para o tomateiro industrial, principalmente em condições de umidade e temperatura elevadas (LOPES; QUEZADO-DUVAL, 2005). A mancha-bacteriana pode provocar perdas superiores a 35% (VALE et al., 2004). Em condições experimentais de campo, sob irrigação convencional, registrou-se uma redução de até 52% da produção de tomate para indústria (QUEZADO-SOARES et al., 1998).

O controle da mancha bacteriana depende da combinação de práticas culturais, incluindo uso de sementes e mudas livres do patógeno, eliminação de plantas daninhas, rotação de cultura, tratamento químico e uso de cultivares resistentes (LOPES ; QUEZADO-DUVAL, 2005; KUROZAWA; PAVAN, 2005; SILVA-LOBO et al., 2005). No entanto, os métodos utilizados para o controle desta doença muitas vezes não tem sido eficiente, principalmente em se tratando de controle químico.

Em relação aos produtos à base de cobre e antibióticos, os fatores limitantes de uso seriam a fitotoxicidade, acúmulo do elemento cobre no solo (KOLLER, 1998) e potencial para surgimento de populações resistentes, como já relatado no Brasil (QUEZADO-DUVAL et al. 2003) e em outros países (MARCO; STALL, 1983; COOKSEY, 1990).

Além dos fungicidas cúpricos e dos antibióticos, outras moléculas e organismos estão sendo testados para o controle da mancha bacteriana, tais como o acibenzolar-S-metil com ação de indutor de resistência. A utilização de produtos que induzem mecanismos de resistência nas plantas constitui como uma alternativa para o manejo integrado dessa doença (ROMEIRO, 2008). Após o desenvolvimento do acibenzolar-S-metil, observou-se um considerável avanço na indução de resistência (SOBRINHO et al., 2005). Para a mancha bacteriana é conhecida a eficácia desse produto no controle da doença em alguns trabalhos desenvolvidos no país e no exterior (LOUWS et al. 2001; CAVALCANTI et al. 2006).

Outra possibilidade é o uso de produtos químicos registrados para a cultura do tomateiro como fungicidas, principalmente aqueles do grupo das estrobirulinas (KÖEHLE et al., 2002). Ao longo dos anos tem-se observado evidências de influências diretas das estrobirulinas na fisiologia de plantas, este efeito fisiológico inclui o chamado “greening” em que, até mesmo na ausência do ataque de patógenos, as plantas tratadas com estrobirulinas ficam com um verde intenso e parecem mais saudáveis do que plantas não tratadas com o produto (KOEHLER et al., 2002). Isto sugere que além da atividade fungicida destes produtos, eles também podem aumentar a capacidade das plantas se defenderem contra outros patógenos (HERMS et al., 2002; VENANCIO et al., 2003).

A integração dos métodos de controle existentes e as pesquisas envolvendo a indução de resistência podem contribuir com o aumento da eficiência das estratégias de controle da mancha bacteriana para a cultura do tomateiro.

Face ao exposto, o presente trabalho de tese teve por objetivo avaliar em condições de casa-de-vegetação e campo a ação de alguns fungicidas e antibiótico empregados no controle de doenças do tomateiro, sobre a mancha bacteriana e na ativação de enzimas relacionadas à indução de resistência.

Este trabalho foi dividido em dois capítulos, sendo o primeiro intitulado “Efeito de fungicidas e antibiótico sobre a mancha bacteriana e na produção de proteínas relacionadas à patogênese em cultivares de tomateiro”, redigido conforme as normas do periódico *Tropical Plant Pathology*; o segundo capítulo intitulado “Controle da mancha bacteriana do tomateiro e produção de proteínas relacionadas à indução de resistência por fungicidas e antibiótico, sob condições de campo”, redigido conforme as normas do periódico *Crop Protection*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultura do tomateiro

2.1.1 Origem e características da cultura do tomateiro

O centro de origem do tomateiro é a região andina, que vai desde o Equador, passando pela Colômbia, Peru, Bolívia, até o norte do Chile. Entretanto, a sua domesticação foi feita por tribos primitivas que habitavam o México, onde passou a ser cultivado e melhorado (ALVARENGA, 2004; FILGUEIRA, 2008).

Inicialmente, o tomateiro foi considerado planta ornamental, sendo o uso culinário do seu fruto retardado por temor à toxicidade (GOTO; TIVELLI, 1998; ALVARENGA, 2004; FILGUEIRA, 2008). O nome "tomatl" vem do Nahuatl, grupo de nativos do México. A palavra tomate é de origem espanhola (MINAMI, 1978; ALVARENGA, 2004).

Em meados do século XVI, o tomate foi aceito para consumo, a planta passou a ser cultivada e o fruto consumido no sul da Europa, tornando-se popular no norte da Europa e Ocidente, somente no final do século XVIII. No século XVII, os europeus enviaram o tomate para a China e países do sul e sudeste asiático e, no século XVIII, para o Japão e os EUA. De acordo com Harvey et al. (2002), a produção e o consumo de tomate rapidamente estendeu-se para os Estados Unidos, no século XIX, e, até ao final desse século, seus produtos derivados na forma de sopas, molhos, bebidas e catchup já eram consumidos regularmente.

No Brasil, seu hábito de consumo foi introduzido por imigrantes europeus no final do século XIX. Hoje, é cultivado em muitas áreas da região tropical e

subtropical, bem como em regiões mais frias. O tomate começou a ter relevância mundial a partir de 1900 e atualmente, é o segundo produto olerícola mais cultivado no mundo, sendo a quantidade produzida superada apenas pela cultura da batata que juntamente com a cebola e o alho são os alimentos mais industrializados (GAYET et al., 1995; CANÇADO JÚNIOR et al., 2003; FILGUEIRA, 2008).

O tomate [*Solanum lycopersicum* L. (PERALTA et al., 2005) sin. *Lycopersicon esculentum* Mill.] pertence à ordem Tubiflorae, família Solanaceae e ao gênero *Solanum*. Ela é uma planta perene, mas cultivada como anual, herbácea de porte arbustivo. Pode ser cultivado em dois tipos de segmentos produtivos, um destinado ao mercado para consumo *in natura* e outro para processamento industrial (ALVARENGA, 2004; FILGUEIRA, 2008).

A cultura adapta-se melhor ao cultivo em clima tropical de altitude, como o das regiões serranas ou de planalto, e também ao clima subtropical ou temperado, seco e com luminosidade elevada. A temperatura ideal está na faixa de 15°C a 25°C, entretanto, é necessário que haja um gradiente de temperatura, com temperaturas diurnas amenas e noturnas menores, com diferença de 6°C a 8°C (SEDIYAMA et al., 2003; FILGUEIRA 2008).

A maior parte das cultivares possui ciclo de 95 a 125 dias. Entretanto, o período de cultivo é dependente das condições climáticas, da fertilidade do solo, da intensidade de irrigação, do ataque de pragas e da época de plantio (ALVARENGA, 2004).

O tomate é uma hortaliça que faz parte da dieta alimentar diária da maioria da população brasileira. O consumo de tomate se deve em grande parte à sua importância alimentar. É um fruto altamente nutritivo e saudável, pois é fonte de várias vitaminas e sais minerais, e apresenta excelente palatabilidade. Seu baixo valor energético torna-o recomendável a quem necessita de dieta de fácil digestão (MINAMI, 1978).

É a segunda hortaliça em área cultivada no mundo e a primeira em volume industrializado. No Brasil, e principalmente no estado de São Paulo, ocorreu intensa evolução tecnológica na produção de tomate (rasteiro e estaqueado) e o mercado mostrou-se mais concorrente e dinâmico nos últimos vinte anos (CAMARGO FILHO; MAZZEI, 1996; SILVA; GIORDANO, 2000).

O Brasil destaca-se como um dos maiores produtores desta hortaliça, quando se trata de produção destinada à indústria, com uma área colhida de aproximadamente

64 mil ha em 2009 e uma produção de cerca de 4 milhões de toneladas, ou seja, uma produtividade média de 63 t ha⁻¹. A cadeia produtiva de tomate tem forte relevância econômica no agronegócio brasileiro, movimentando em torno de R\$ 2 bilhões por ano, que corresponde a cerca de 16% do PIB da produção de hortaliças no Brasil (AGRIANUAL, 2010).

Na região Sudeste, está a maior concentração da área plantada de tomate para consumo *in natura*, com 57%. No restante do Brasil, as regiões Centro Oeste e Nordeste participam com 24% do total da área plantada de tomate de mesa. Já o tomate para processamento industrial tem 62% de sua área em Goiás, 20% em São Paulo e 16% em Minas Gerais (PAGLIUCA; DELEO, 2008).

A cultura do tomateiro está sujeita a vários problemas fitossanitários, que podem ser causados por fungos, vírus, nematoides, bactérias, viróides e fitoplasmas. Mais de 200 doenças e distúrbios fisiológicos já foram relatados, provocando diferentes níveis de redução de produtividade ou de qualidade do produto comercial (SILVA; GIORDANO, 2000; VALE et al., 2004; LOPES; QUEZADO-DUVAL, 2005) embora raramente mais de cinco dessas doenças e distúrbios podem ocorrer ao mesmo tempo, e desta forma, resultar em grandes danos e prejuízos.

As doenças podem até limitar a tomaticultura em algumas épocas de cultivo e em algumas regiões do país, pela falta de controle eficaz ou pela elevação dos custos de produção com aplicação de produtos químicos (LOPES; QUEZADO-DUVAL, 2005). O uso de grandes quantidades de produtos químicos, ou o uso inadequado desses produtos na cultura do tomateiro, além dos custos elevados, também acarreta prejuízos aos ecossistemas, bem como em resíduos nos frutos que são sérias ameaças à saúde humana (BARRETO; SCALOPPI, 2000).

Dentre estes patógenos que ocorrem sobre as espécies de plantas de expressão econômica na agricultura brasileira, as bacterioses têm assumido uma importância crescente, pela gravidade das enfermidades que incitam na cultura, pela facilidade com que se disseminam ou pelas dificuldades encontradas no controle dessas doenças por elas causadas (ROMEIRO, 2005).

Entre as bactérias de ocorrência no Brasil na cultura do tomateiro destacam-se: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (cancro bacteriano); *Ralstonia*

solanacearum (Smith 1896) (murcha bacteriana); *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (pinta bacteriana); *Pseudomonas corrugata* (necrose da medula) e espécies de *Xanthomonas* (mancha bacteriana) (RODRIGUES NETO et al., 1989; SILVA; GIORDANO, 2000; LOPES; QUEZADO-DUVAL, 2005).

2.2 Mancha bacteriana do tomateiro

2.2.1 Etiologia da mancha bacteriana

Atualmente tem-se o conhecimento de que a mancha bacteriana do tomateiro é causada por pelo menos quatro espécies de *Xanthomonas* (*Xanthomonas euvesicatoria*, *Xanthomonas vesicatoria*, *Xanthomonas perforans* e *Xanthomonas gardneri*), conforme a proposição de Jones et al. (2004), sendo uma das doenças de grande importância nas condições de produção no Brasil, tanto no tomate industrial quanto para o de consumo *in natura* (BARBOSA, 1997; SILVA e GIORDANO, 2000; QUEZADO-DUVAL, 2003).

São bactérias baciliformes (0,7 - 1,0 x 2,0 - 2,4 µm), gram negativas, aeróbias e móveis por um flagelo polar (JONES et al., 1997). Em meio de cultura Nutriente Ágar suas colônias são lisas, mucóides, amarelas, havendo a produção do pigmento xantomonadina (BRADBURY, 1993; STALL, 1993).

De acordo com a classificação filogenética de bactérias baseada em comparações de sequências nucleotídicas, principalmente do rRNA 16S, o gênero *Xanthomonas* pertence ao filo Proteobacteria, classe Gammaproteobacteria, ordem Xanthomonadales e família Xanthomonadaceae (GARRITY, HOLT, 2000).

Desde a descrição feita por Doidge em 1920, o patógeno mostrou-se bastante variável de acordo com suas características fenotípicas e genotípicas o que ocasionou diversas reclassificações ao longo do tempo (JONES et al, 1998). Na mesma época em que a doença foi descrita como cancro do tomateiro na África do Sul, foi relatada nos Estados Unidos uma doença similar denominada de “bacterial spot” ou mancha bacteriana (GARDNER; KENDRICK, 1921), denominação pela qual a doença é conhecida atualmente. Os nomes atribuídos aos agentes causadores dessas supostas duas doenças foram, respectivamente *Bacterium vesicatorium* e *Bacterium exitiosa*.

Gardner e Kendrick (1923) usaram vários testes determinativos para comparar *B. vesicatorium*, *B. exitiosa* e um isolado de pimentão oriundo da Flórida, e

concluíram que os três patógenos deveriam pertencer a uma única espécie de bactéria, a qual denominaram *B. vesicatorium* Doidge. A nomenclatura do patógeno ainda passaria pelas seguintes alterações: *Pseudomonas vesicatoria* (1925), *Phytomonas vesicatoria* (1930), *Xanthomonas vesicatoria* (1939) e *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Dowson (1978) (JONES et al., 1998).

Pelo fato do patógeno ter se mostrado variável em suas características fenotípicas e genotípicas, foi possível distingui-lo em quatro grupos (A, B, C e D). Vauterin et al. (1995) separaram *X. campestris* pv. *vesicatoria* em duas espécies: *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* (grupo A), para os isolados não amilolíticos, e *X. vesicatoria* (grupo B), para os isolados fortemente amilolíticos. Jones et al. (2000) propuseram a criação de quatro grupos: A e C como *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, B como *X. vesicatoria* e D como *Xanthomonas gardneri*. O grupo C foi colocado como uma subespécie do grupo A, pois apresentava diferenças fenotípicas, mas alta homologia em experimentos de hibridização DNA-DNA. Já o grupo D mostrou-se pouco relacionado aos grupos A e B, no entanto, foi classificado como uma terceira espécie, também associada à doença.

Em estudos mais recentes, incluindo testes de patogenicidade, bioquímicos, atividade enzimática, marcadores genéticos, hibridização DNA-DNA e comparação de sequências de RNA, Jones et al. (2004), propuseram a reclassificação das *Xanthomonas* causadoras da mancha bacteriana em tomate e pimentão em quatro espécies. Foi proposto que os grupos A e C de *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* fossem elevados à espécie de modo que as linhagens do grupo A fossem renomeadas como *X. euvesicatoria* e as linhagens do grupo C com o nome *X. perforans*, sendo mantidos os nomes de *X. vesicatoria* (grupo B) e *X. gardneri* (grupo D).

As espécies *X. euvesicatoria* e *X. vesicatoria*, grupos A e B respectivamente, estão distribuídas mundialmente. A bactéria *X. perforans* foi isolada originalmente em 1991 e tem sido encontrada nas regiões produtoras de tomate nos Estados Unidos, México, Tailândia e Brasil. Com relação à bactéria *X. gardneri*, originalmente da Costa Rica e Yugoslávia, tem sido encontrada no Brasil e nos Estados Unidos (QUEZADO-DUVAL et al., 2004; JONES et al., 2005).

No Brasil, de acordo com Rodrigues Neto et al. (1984), a mancha bacteriana em tomateiro foi relatada pela primeira vez em 1959 por Ciccarone e Dowson, em

municípios do estado de São Paulo. É umas das doenças mais importantes no Estado de São Paulo e a sua ocorrência tem sido mais freqüente nas áreas de cultivo do tomateiro industrial (MARINGONI et al., 1986; NASCIMENTO et al., 1990; KUROZAWA; PAVAN, 2005).

Estudos realizados por Quezado-Duval ; Camargo (2004) observaram que as quatro espécies de *Xanthomonas* relatadas na literatura associadas à mancha-bacteriana em tomateiro, foram detectadas em campos comerciais de tomate industrial no Brasil. As populações do Centro-Oeste são compostas basicamente por *X. gardneri*. As espécies *X. vesicatoria* e *X. euvesicatoria* também estiveram presentes em alguns campos produtores de tomate. No Nordeste, apenas *X. euvesicatoria* e *X. perforans* foram encontrados. Já Pereira (2010) avaliou a presença das espécies de *Xanthomonas* em campos comerciais de tomate para mesa. Foram avaliados 81 isolados oriundos de campos comerciais, coletados em 23 localidades nas Regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste do Brasil, entre os anos de 2005 a 2009. Foi verificada uma alta freqüência de *X. perforans* (49,4%) e *X. gardneri* (40,7%). Somente dois isolados corresponderam a *X. euvesicatoria* e seis a *X. vesicatoria*. Apenas na Região Sudeste do país foi detectado a presença das quatro espécies. Todos os isolados causaram sintomas em tomate, e somente isolados de *X. euvesicatoria* e 30 isolados de *X. gardneri* causaram sintomas em pimentão.

2.2.2 Sintomatologia da mancha bacteriana

Os sintomas da mancha bacteriana podem ser observados em toda parte aérea da planta, podendo se manifestar em qualquer estágio de desenvolvimento da planta (GITAITIS et al.,1992).

Nas folhas, os sintomas aparecem como pequenas manchas encharcadas de formato irregular e com os bordos definidos. Essas manchas tornam-se deprimidas, com coloração variável de amarelada ou verde clara e posteriormente para marrom escuro até a necrose do tecido (GOODE; SASSER, 1980; SILVA; GIORDANO 2000; KUROZAWA; PAVAN, 2005). Diferentemente do que ocorre em plantas de pimentão, no tomateiro, a mancha bacteriana não leva de imediato à queda das folhas, mas o coalescimento das lesões nas folhas ocorre seguido da seca e destruição da folhagem, a partir

da parte inferior da planta, favorecendo a queima dos frutos pela exposição direta ao sol (LOPES; QUEZADO-SOARES, 1997).

Nos frutos, as lesões são inicialmente pequenas, encharcadas a amareladas, que evoluem para marrom-acinzentadas e de textura áspera (JONES, 1997; KUROZAWA; PAVAN, 2005; LOPES; QUEZADO-DUVAL, 2005). Estas lesões tendem a ser deprimidas no centro e elevadas nas margens, variando entre 2 a 10 mm de diâmetro, podendo ser circundadas por um estreito halo amarelado a esbranquiçado (GOODE; SASSER, 1980). Lesões alongadas, de cor marrom, são observadas no pecíolo e no caule, e o ataque nas partes florais pode provocar intensa queda de flores, resultando na redução da produção (LOPES; QUEZADO-SOARES, 1997).

2.2.3 Epidemiologia

A doença é favorecida por temperatura entre 22 e 28°C (LOPES; QUEZADO-DUVAL, 2005) e umidade relativa entre 95 e 100%, associada com presença de água livre. A mancha bacteriana é mais severa em locais onde ocorrem chuvas associadas com ventos fortes (BARRETO; SCALOPPI, 2000). A bactéria penetra na planta através dos estômatos ou por ferimentos provocados por equipamentos, tratos culturais, insetos ou a abrasão nas folhas por grãos de areia ou por atrito dos tecidos da própria planta (VAKILI, 1967; RODRIGUES NETO, 2000).

A bactéria é disseminada principalmente por respingos de água a curta distância (ROMEIRO, 1995), por mudas, ou sementes infectadas a longa distância (LOPES; QUEZADO-SOARES, 1997). Se a bactéria for introduzida em uma cultura via semente, após a germinação das plantas, ela coloniza as folhas e cotilédones, disseminando-se rapidamente com a água da chuva ou de irrigação.

A bactéria não sobrevive no solo por longos períodos, entretanto, pode sobreviver em restos culturais ou epifitamente na superfície foliar do tomateiro ou demais hospedeiras (LINDEMANN et al., 1984; RODRIGUES NETO, 2000).

Além do tomateiro, a bactéria apresenta uma gama de hospedeiras bastante diversificadas dentro da família botânica Solanaceae, destacando entre as espécies cultivadas o pimentão (*Capsicum annuum*), pimenta (*Capsicum rutescens*) e batata (*Solanum tuberosum*). Outras espécies como: *Datura stramonium*, *Hyoscyamus niger*, *Hyoscyamus*

aureus, *Lycium chinense*; *Lycium halimifolium*, *Nicotiana rustica* e *Nicandra physaloides* são hospedeiras naturais desta bactéria (DYE et al., 1964; JONES; STALL, 1998).

2.2.4 Controle da mancha bacteriana

As medidas de controle mais efetivas dessa doença tem sido as de natureza preventiva que envolve a combinação de várias práticas que incluem uso de sementes e plântulas livres do patógeno, rotação de cultura, plantio em áreas anteriormente não cultivadas com solanáceas, cultivo em épocas mais secas que são menos adequadas ao desenvolvimento da doença, tratamento químico e uso de cultivares com algum nível de resistência (BOUZAR et al., 1999; GIORDANO; SILVA, 2000; KUROZAWA; PAVAN, 2005; SILVA-LOBO et al., 2005).

No caso da mancha bacteriana, a resistência varietal pode existir (SCOTT; JONES, 1989; BALDINI; KUROZAWA, 1990; MELLO et al., 1996; MELLO et al., 1997), porém o desenvolvimento de variedades com resistência de alta estabilidade à doença tem sido difícil devido à grande adaptabilidade genética do patógeno, atualmente abrangendo as quatro espécies (DUVAL-QUEZADO; CAMARGO, 2004; YANG et al., 2004).

Mello et al. (1997) avaliaram níveis de resistência de genótipos de tomate selecionados do banco de germoplasma EMBRAPA/CNPH à mancha bacteriana em casa-de-vegetação e em campo e verificaram que a cultivar Ontario 7710 de procedência dos EUA, não diferiu de outros materiais suscetíveis. Estes resultados estão de acordo com Bazzi et al. (1984), entretanto experimentos conduzidos em casa-de-vegetação no Estado de São Paulo, este genótipo destacou-se entre os mais resistentes (BALDINI; KUROZAWA, 1990), sugerindo então, a existência de diferentes variantes do patógeno em São Paulo e no Distrito Federal.

Estas divergências de resultados são esperadas quando se trata de resistência quantitativa. A taxa de desenvolvimento da doença nos genótipos portadores deste tipo de resistência é altamente dependente das condições ambientais, variações na intensidade da doença entre anos e localização geográfica são freqüentes (MELLO et al., 1997) e, provavelmente, da espécie da bactéria envolvida.

A proposta de divisão da espécie *X. campestris* pv. *vesicatoria* em duas novas espécies, sugerida por Vauterin em 1995, explicaria em parte a diferença nos resultados dos autores na época em que foi realizado o trabalho. Essas diferenças nos resultados podem ter sido ocasionadas pelo fato de que por muitas décadas estes agentes foram identificados como pertencentes a uma única espécie, nas quais possuem diferença quanto à agressividade (ARAÚJO, 2010).

O uso de sementes e mudas livres de patógenos são estratégias conjuntas na prevenção dessa doença. Vários trabalhos têm sido realizados com o objetivo de erradicar a bactéria em sementes de tomateiro.

Knyazwa (1980) preconizou o uso de permanganato de potássio a 1% para o tratamento de sementes de tomateiro juntamente com outras medidas de campo. Esse tratamento não se mostrou eficaz em erradicar a bactéria das sementes neste ensaio. O mesmo ocorreu para o ácido sulfúrico a 1 e 5% , sendo esse tratamento recomendado por Mickail et al. (1970). Maringoni ; Kurozawa (1994) avaliaram o efeito de diferentes produtos químicos, em várias concentrações e intervalos de aplicações, no tratamento em sementes de tomateiro sobre a erradicação da bactéria das sementes. Dos produtos utilizados, apenas o tratamento das sementes com ácido clorídrico a 5%, durante 5 h, erradicou a bactéria. Esse tratamento causou uma pequena redução na emergência das plântulas de tomateiro.

O uso da termoterapia no tratamento de sementes vem sendo muito estudada para erradicação de fitobactérias localizadas interna ou externamente nas sementes. No entanto, pode muitas vezes causar danos à qualidade fisiológica das sementes como, retardamento ou redução da germinação e do vigor (MENTEN, 1991). Entre os principais relatos de termoterapia para erradicação de *X. vesicatoria* em sementes de tomate ou pimentão estão a imersão da semente em água a 50°C, por 20 minutos (MACHADO, 2000) e o uso de calor seco a 70°C, por 96 horas (SILVA et al., 2002).

O controle químico das bacterioses que afetam a parte aérea do tomateiro tem sido feito com fungicidas à base de cobre (produtos cúpricos) e com antibióticos agrícolas, que tem como princípios ativos a estreptomicina ou oxitetraciclina (LOPES ; QUEZADO-SOARES, 1999; MCMANUS; STOCKWELL, 2002). Vários relatos, no entanto, demonstram eficiência bastante variável e até mesmo ineficiência desses produtos no controle da mancha-bacteriana (GOODE; SASSER, 1980; MARCO; STALL, 1983; MARINGONI et

al., 1986; CARMO et al, 2001). O aparecimento de linhagens resistentes, nas populações bacterianas é apontado como a principal causa dessa ineficiência (BOUZAR et al., 1999).

Maringoni et al. (1986) testaram vários fungicidas à base de cobre e antibióticos no controle dessa doença em condições de campo. Segundo esses autores, os fungicidas e os antibióticos nas concentrações e intervalos de aplicações utilizados nos ensaios, não apresentaram resultados satisfatórios no controle dessa doença. Outros parâmetros foram avaliados, tais como: número de frutos com sintomas da doença, número de frutos com queimadura de sol e a produção total. Concluíram, que a pulverização com fungicidas cúpricos não reduziram a área foliar afetada pela bactéria e nem aumentaram significativamente à produção dos frutos.

O primeiro relato de resistência ao cobre em *Xanthomonas* do tomateiro foi constatado na Flórida. Marco e Stall (1983) relataram a ineficiência de produtos à base de cobre no controle da mancha bacteriana tanto em condições *in vitro* como a de campo, relatando pela primeira vez estirpes de *X. campestris* pv. *vesicatoria* com resistência ao cobre. Também na Flórida foi constatado o primeiro relato de resistência ao antibiótico estreptomicina (STALL; THAYER, 1962).

Bouzar et al. (1999) estudaram a diversidade genética de isolados do Caribe e da América Central, constatando predominância de isolados do grupo A (*X. axonopodis* pv. *vesicatoria*), cuja maioria era resistente ao cobre e também à estreptomicina.

No Brasil, vários trabalhos vêm sendo realizados na avaliação desses produtos no controle da mancha bacteriana e sua sensibilidade em condições *in vitro*. Maringoni e Kimati (1987) avaliaram a sensibilidade *in vitro* de 12 isolados de *Xanthomonas* spp. provenientes de tomate e pimentão, em várias concentrações de fungicidas e antibióticos. Verificaram que nove isolados foram insensíveis a concentração de 1000 ppm de sulfato de estreptomicina e que a mistura dos fungicidas cúpricos (hidróxido de cobre, oxiclreto de cobre ou óxido cuproso) com tiocarbamatos (maneb, mancozeb ou zineb) apresentaram efeito sinérgico, sendo necessário menor concentração dos fungicidas para inibir os isolados. Nesse mesmo trabalho os autores discutem uma das causas da insensibilidade de *Xanthomonas* a determinados antibióticos e fungicidas.

Segundo Lai et al. (1977), a resistência de isolados *Xanthomonas* spp. em tomateiro, a carbenicilina, neomicina, kanamicina e tetraciclina era devido a plasmídeos e

a estreptomicina, devido a mutação a nível de cromossomo. Para fungicidas cúpricos, Stall et al. (1984) evidenciaram a presença de plasmídeo, o qual conferiu a *Xanthomonas* de pimentão maior insensibilidade a cobre.

Quezado-Duval et al. (2003) verificaram a sensibilidade ao cobre, estreptomicina e oxitetraciclina de isolados de *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, *X. vesicatoria* *X. gardneri* provenientes de lavouras para indústria no Brasil. Na ocasião, observaram que nenhum dos isolados testados foi resistente à oxitetraciclina. Quanto à estreptomicina, a frequência de isolados resistentes foi alta para *X. gardneri* (98%) e *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* (38%), sendo baixa para *X. vesicatoria* (2%). Quando avaliado o uso de cobre, nenhum dos isolados foi resistente na concentração de 200 µg /mL, porém houve resistência na concentração menor (50 µg /mL).

A ação de hidróxido de cobre foi avaliada, *in vitro*, em isolados de *X. gardneri* e *X. perforans* de tomate para processamento industrial, no estado de Goiás, revelando que o produto testado não teve ação sobre os isolados na dosagem recomendada, havendo efeito apenas em dosagem cem vezes superior (NASCIMENTO, 2009).

Pereira (2010) avaliou a sensibilidade das quatro espécies de *Xanthomonas* em condições *in vitro* ao cobre e estreptomicina. O trabalho foi realizado com 81 isolados oriundos de tomate e pimentão. O sulfato de cobre foi utilizado nas concentrações 50, 100 e 200 µg.mL⁻¹ e sulfato de estreptomicina nas concentrações 25, 50 e 100 µg.mL⁻¹. Nenhum isolado foi resistente ao cobre na concentração de 200 µg/mL. Entretanto, 97,53% dos isolados foram resistentes a 100 µg.mL⁻¹ e 98,77% foram resistentes à concentração de 50 µg.mL⁻¹. A frequência de isolados resistentes à estreptomicina foi 8,64% (100 µg.mL⁻¹), 76,54% (50 µg.mL⁻¹) e 83,95% (25 µg.mL⁻¹). Verificando que os isolados representantes das quatro espécies apresentaram resistência ao cobre e a estreptomicina.

Visto que vários trabalhos vêm sendo realizados na busca de um manejo ou controle efetivo dessa doença, pode se verificar que, uma vez estabelecida a mancha bacteriana no campo de produção, as estratégias de manejo disponíveis hoje são apenas parcialmente eficazes para esta doença (AL-DAHMANI et al., 2003).

Os produtos químicos à base de cobre ainda estão sendo utilizados de uma forma rotineira na agricultura para controle dessa doença. Como consequência, linhagens resistentes ao cobre têm sido frequentemente selecionadas, como já relatado no Brasil

(QUEZADO-DUVAL et al. 2003) e em outros países (MARCO; STALL, 1983; COOKSEY, 1990; AGUIAR et al., 2000). Além de outros fatores limitantes do seu uso seriam a fitotoxicidade, acúmulo do elemento cobre no solo (KOLLER, 1998). Independente deste fato, esses compostos continuam sendo aplicados, juntamente com outros produtos, primeiro por falta de alternativas e, segundo, por ainda possuírem ação contra outros fitopatógenos, mesmo com eficiência reduzida (RAMOS, 1994).

No mercado nacional, com registro no MAPA¹ e indicação para certas doenças bacterianas de hortaliças, o que há de mais recente é a molécula acibenzolar-S-metil, classificada como um indutor de resistência da própria planta (QUEZADO-DUVAL, 2006). Este novo grupo químico que não atua diretamente sobre o patógeno, mas que induz mecanismos de defesa nas plantas está surgindo no mercado como uma nova forma alternativa de controle de doenças (ROMEIRO, 2008)

Após o desenvolvimento do éster-S-metil do ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazole-7-carbotióico (Acibenzolar-S-metil), observou-se uma considerável avanço na indução de resistência. Desde então, vários outros produtos estão surgindo, explorando a capacidade de ativação de diferentes mecanismos de defesa nas plantas com grandes possibilidades de emprego em um programa eficiente de manejo de doenças de plantas (SOBRINHO et al., 2005).

Vários trabalhos têm atestado a eficiência do acibenzolar-S-metil no controle de doenças, inclusive da mancha bacteriana do tomateiro (LOUWS et al., 2001; PARADELA et al., 2001; LEWIS et al., 2005; CAVALCANTI et al., 2006).

Outra possibilidade é o uso de produtos já registrados na cultura do tomateiro para o controle de doenças fúngicas que poderão apresentar potencial para o controle da mancha bacteriana, principalmente aqueles do grupo das estrobirulinas (KÖEHLE et al., 2002). O grupo estrobirulinas compreende uma variedade de produtos sintéticos para proteção de plantas com amplo espectro antifúngico e semelhança estrutural a antibióticos de basidiomicetos (HERMS et al., 2002). O nome é derivado de cogumelos do gênero *Strobilurus*, sendo que a primeira estrobilurina foi isolada de *Strobilurus tenacellus*, por Anke et al. (1977).

¹ MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Ao longo dos anos tem-se observado também evidências de influências diretas das estrobirulinas na fisiologia de plantas. Este efeito fisiológico inclui o chamado “greening” que, até mesmo na ausência do ataque de patógenos, as plantas tratadas com estrobirulinas ficam com um verde intenso e parecem mais saudáveis do que plantas não tratadas com o produto (KOEHLER et al., 2002). Isto sugere que além da atividade fungicida destes produtos, eles também podem aumentar a capacidade das plantas se defenderem contra os patógenos (HERMS et al., 2002; VENANCIO et al., 2003; VENANCIO et al., 2005).

A integração dos métodos de controle existentes e as pesquisas envolvendo a indução de resistência podem contribuir com o aumento da eficiência das estratégias de controle da mancha bacteriana para a cultura do tomateiro.

2.3 Mecanismos de resistência de plantas às doenças

A resistência do hospedeiro a um patógeno pode ser definida, sob aspecto fisiológico, como a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada e/ou a subsequente atividade deste em seus tecidos (GOODMAN et al., 1986; PASCHOLATI ; LEITE, 1995).

As plantas estão continuamente expostas a um grande número de patógenos e como consequência apresentam um complexo mecanismo de defesa bioquímico e estrutural, pré ou pós-formados, para reconhecer e se proteger da infecção (PASCHOLATI; LEITE, 1995).

Os mecanismos estruturais constituem-se em verdadeiras barreiras físicas, impedindo a entrada do patógeno e a colonização dos tecidos, por sua vez, os mecanismos bioquímicos englobam a produção de substâncias tóxicas ao patógeno que são capazes de inibir o desenvolvimento do patógeno ou gerar condições adversas para a sobrevivência nos tecidos do hospedeiro (HOAGLAND, 1990; PASCHOLATI; LEITE, 1995; SCHWAN-ESTRADA et al., 2008).

Os mecanismos de resistência pré-formados são aqueles presentes na planta antes do contato com o patógeno e são denominados de defesas passivas/constitutivas sendo representados por estruturas tais como: ceras, cutícula, parede celular espessa, tricomas, fibras vasculares e adaptações em estômatos, bem como substâncias bioquímicas pré-formadas, como fenóis, alcalóides, lactonas insaturadas, glicosídeos fenólicos e cianogênicos,

fotoxinas, inibidores protéicos e enzimas hidrolíticas (PASCHOLATI; LEITE, 1995; AGRIOS, 2005).

Já os mecanismos pós-formados (ativos, induzíveis), estão ausentes ou em baixo nível antes da infecção, sendo produzidos ou ativados em resposta à presença do patógeno. Estes mecanismos envolvem a formação de papilas, halos, lignificação, camada de cortiça, formação de tiloses e deposição de goma, além de compostos bioquímicos como fitoalexinas, espécies reativas de oxigênio, proteínas relacionadas à patogênese (PASCHOLATI; LEITE, 1995; AGRIOS, 2005; SCHWAN-ESTRADA et al., 2008).

A ativação dessas respostas em plantas depende da habilidade do hospedeiro em reconhecer patógenos e iniciar, subsequente, mecanismos de resistência que limitem a infecção (PASCHOLATI; LEITE, 1995; ROMEIRO, 2008).

As proteínas relacionadas à patogênese (proteínas-RP) são definidas como proteínas codificadas pela planta hospedeira e induzidas especificamente em estado patológico ou em situações correlatas (VAN LOON et al., 1994; VAN LOON, 1997). Entende-se por situações correlatas a processos infecciosos, os estados induzidos em plantas por agentes químicos ou físicos que simulam o efeito de patógenos. De fato, o acúmulo de proteínas-RP em plantas tem sido observado não apenas após o ataque de patógenos, como também em resposta ao tratamento com compostos químicos ou estresse abiótico (VAN LOON; VAN STRIEN, 1999).

2.4 Indução de resistência de plantas a patógenos

A indução de resistência consiste no aumento da capacidade de defesa da planta contra amplo espectro de organismos fitopatogênicos, incluindo fungos, bactérias e vírus. A resistência resultante é proporcionada por um agente indutor (origem biótica ou abiótica) que aciona mecanismos de defesa na planta os quais se encontram na forma latente (HAMMERSCHMIDT; KÚC, 1982).

A indução de resistência pode ter proteção local, nos tecidos tratados com o indutor, como também uma proteção sistêmica, que se manifesta a distância do local de aplicação do indutor (MORAES, 1992).

Vários agentes podem induzir a produção de sinais no vegetal, permitindo a referida ligação e disparando reações que culminarão em produção duradoura

contra uma ampla gama de fitopatógenos. A ativação dos mecanismos de defesa pode ocorrer a partir de fungos promotores de crescimento (KOIKE et al., 2001), da elicitação por preparações de leveduras, rizobactérias promotoras de crescimento (ROMEIRO; KIMURA, 1997), compostos presentes em extratos de plantas (KAGALE et al., 2004; SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN, 2005), elicitores químicos, como por exemplo: acibenzolar-S-metil (LAWTON et al., 1996; BENHAMOU; BÉLANGER, 1998; CABRAL et al., 2010), ácido salicílico (AS) (CAMPOS et al., 2004), ácido beta-aminobutírico (BABA) (RODRIGUES, et al. 2006) e ácido jasmônico (CIPOLLINI, 2002).

A proteção induzida é dependente do intervalo de tempo que ocorre entre o tratamento com o indutor e a subsequente inoculação da planta (tratamento provocador ou desafiador). Assim, essa dependência indica que mudanças específicas no metabolismo da planta, que envolvem a síntese e/ou acúmulo de substâncias, são importantes no fenômeno da resistência induzida (PASCHOLATI; LEITE 1995; ROMEIRO, 2008).

O interesse na indução de resistência como medida de controle de doenças de plantas estimulou tanto a comunidade acadêmica, bem como as empresas. Esse fato pode ser verificado pelo número considerável de indutores de defesa disponíveis comercialmente (ROMEIRO, 2008).

Esse novo método de controle de doenças pode apresentar desvantagens, como ser dependente das condições de luz, temperatura, das concentrações do indutor e do inóculo utilizado, necessitar de um intervalo de tempo entre o tratamento inicial com o indutor de resistência e a infecção do patógeno (PASCHOLATI; LEITE 1995), reduzir a colonização de micorrizas devido ao acúmulo de ácido salicílico (COSTA et al. 2000), a resistência é parcial, incompleta e pode requerer reativações temporais (BONALDO et al. 2005), além de promover gasto energético, o que pode provocar redução na produção (DIETRICH et al., 2005; KUNH; PASCHOLATI, 2010).

Por outro lado, por ser parcial e inespecífica, a resistência induzida não impõe pressão de seleção sobre o patógeno, dificultando, assim, a quebra de resistência, além de agredir menos o homem e o ambiente do que os agrotóxicos (PASCHOLATI; LEITE 1995; ROMEIRO, 2008).

A resistência induzida consiste no aumento da resistência por meio da utilização de agentes externos, sem qualquer alteração no genoma da planta. Isso ocorre de

maneira não específica por meio da ativação de genes envolvidos em diversas respostas de defesa, tais como explosões oxidativas (LAMB ; DIXON, 1997), respostas de hipersensibilidade (ZIMMERLI et al., 2000), acúmulo de proteínas-RP (por exemplo, peroxidases, quitinases e β -1,3-glucanases) (DANN et al. 1996), síntese de inibidores de proteinases (IP) (ZAVALA et al., 2004), enzimas envolvidas na rota dos fenilpropanóides, como a fenilalanina amônia-liase (FAL) (UMESHA, 2006), polifenoloxidase (PFO) (PENG et al., 2004) e enzimas envolvidas na peroxidação de lipídios, como a lipoxigenase (LOX) (BUZI et al., 2004), síntese de fitoalexinas (SALLES et al. 2002), acúmulo de compostos fenólicos, bem como o acúmulo de lignina em tecidos circunvizinhos ao local de penetração do microrganismo (BONALDO et al. 2005). Cada elicitor específico pode ativar uma rota de sinalização distinta, que gera diferentes custos e induz a expressão de um conjunto de genes específicos de defesa.

Após o desenvolvimento do acibenzolar-S-metil, observou-se um considerável avanço na indução de resistência. Este constitui-se no primeiro representante de uma nova geração de protetores de plantas eficientes na indução de resistência (LYON ; NEWTON, 1997). O acibenzolar-S-metil é completamente sistêmico, e pode ativar mecanismos de defesa contra fungos e oomicetos, bem como a algumas bactérias (ROMERO et al., 2001) e certas viroses (FRIEDRICH et al., 1996).

Devido ao seu modo de ação, o desenvolvimento de patógenos resistentes ao elicitor não é esperado, podendo propiciar novas oportunidades para o manejo efetivo e sustentável de doenças em algumas culturas (ROMEIRO, 2008). Desse modo, acibenzolar-S-metil pode ser enquadrado na definição de um indutor de resistência, pois fornece proteção a um amplo espectro de patógenos, induz a expressão dos mesmos marcadores moleculares e bioquímicos (como as proteínas-RP) e não apresenta atividade antimicrobiana direta (KESSMAN et al., 1994).

2.5 Proteínas relacionadas à indução de resistência

A enzima peroxidase de guaiacol (E.C. 1.11.1.7), a qual está presente em tecidos de plantas, em certas células animais e em microrganismos é conhecida por participar de vários processos fisiológicos de grande importância (HOAGLAND, 1990).

Em plantas, ela catalisa a oxidação e a eventual polimerização de álcool hidroxicinâmico em presença de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), originando lignina. Participa também da biossíntese do etileno (ISIGHE et al., 1993) e da oxidação de compostos fenólicos, os quais se acumulam em resposta à infecção (FRY, 1986), da oxidação do ácido indolil-3-acético (AIA) e na biossíntese de lignina

A expressão das peroxidases também está correlacionada com a ocorrência de infecção por patógenos. Quando sofrem ataque de patógenos, as plantas sintetizam um conjunto de proteínas relacionadas à defesa (VAN LOON 1997). Existem relatos de que as peroxidases são induzidas em infecções de plantas por fungos, por bactérias (RASMUSSEN et al., 1995), por vírus (HIRAGA et al., 2000) e por viróides (VERA et al. 1993).

O papel destas no processo de defesa além de reforçar a parede celular a partir da formação de lignina, suberina, polissacarídeos e glicoproteínas ricas em hidroxiprolina está no aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) que apresentam ação antimicrobiana, bem como na sinalização (BOWLES, 1990; WOJTASZEK, 1997) e também na indução de fitoalexinas (KRISTENSEN et al., 1999).

As β -1,3 glucanases (E.C. 3.2.1.6) são monômeros com massa molecular entre 25 e 35 KDa e que produzem oligômeros com duas a seis unidades de glicose a partir do substrato laminarina, uma β -1,3 glucana. São enzimas que hidrolisam polímeros de β -1,3 glucana, composto esse, que juntamente com a quitina, são constituintes da parede celular da maioria dos fungos (CORNELISSEN; MELCHERS, 1993).

Além, disso, β -1,3 glucanases liberam fragmentos glicosídicos, tanto do patógeno, quanto da própria parede celular da planta, os quais podem atuar como elicitores de defesa do hospedeiro (CUTT; KLESSIG, 1992).

Na indução de resistência, as β -1,3 glucanases e quitinases (E.C. 3.2.1.14) agem de forma conjunta. Uma pequena quantidade de β -1,3 glucanase é sintetizada e excretada para a lamela média, e com o crescimento fúngico a enzima começa a degradar o tecido da parede celular do fungo. Os fragmentos liberados pela ação da enzima funcionam como exoelicitores, induzindo a síntese de quitinases e β -1,3 glucanases que são acumulados nos vacúolos, assim a partir do momento que o fungo penetra na célula, os vacúolos são

rompidos e ocorre a liberação dessas enzimas reprimindo a ação do patógeno (MAUCH; STAEHELIN, 1989).

Polifenoloxidase (E.C. 1.10.3.2) agrupa um conjunto de enzimas responsáveis pela catálise da reação de oxidação de polifenóis transformando-os em quinonas constituindo uma atividade de difenolase. São também conhecidas como tirosinases, cresolases, catecolases, difenolases e fenolases. São enzimas intracelulares que ocorrem em animais, plantas, em várias espécies de bactérias e numerosos fungos (FLURKEY, 1989).

Nas plantas, as polifenoloxidasas estão geralmente distribuídas em toda sua estrutura, podendo alguns órgãos ou tecidos em maiores concentrações. O nível pode variar em função da espécie, cultivar ou do ambiente, podendo sua expressão ser induzida ou inibida em algumas plantas por estresses como injúrias, toxicidade de nitrogênio e ataque de patógenos (SÁNCHEZ et al., 2000).

As polifenoloxidasas permanecem intracelularmente, em sua grande maioria em estado inativado, dentro dos tilacóides nos cloroplastos, separadas dos compostos fenólicos, que estão compartimentalizados nos vacúolos, mas pequena parte pode estar extracelularmente na parede celular (MAYER; HAREL, 1979). À medida que ocorre a ruptura da célula ocasionada por ferimentos, ação de insetos ou patógenos, ou ainda, senescência, as polifenoloxidasas são liberadas e iniciam o processo de oxidação dos compostos fenólicos (MOHAMMAD; KAZEMI, 2002; THIPIYAPONG et al., 2004).

No processo de defesa celular, em específico, na ação contra fitopatógenos, a enzima é liberada dos tilacóides após a ruptura da célula pelo processo de penetração do patógeno, oxidando os compostos fenólicos que também são liberados dos vacúolos, produzindo quinonas (THIPIYAPONG et al., 2004), que apresentam ação antimicrobiana. As polifenoloxidasas também participam do processo de lignificação durante a invasão do patógeno (MOHAMMAD; KAZEMI, 2002).

A fenilalanina amônia liase (E.C. 4.3.1.5) é enzima do metabolismo secundário mais intensivamente estudado em plantas, devido à importância nas reações dos metabolismos dos compostos fenólicos, estabilidade e facilidade de preparação para os ensaios enzimáticos, além de ser componente indireto do mecanismo de defesa das plantas.

Esta enzima é responsável pela conversão da fenilalanina, proveniente da rota do ácido shikímico, em ácido trans-cinâmico, o qual representa um primeiro

fenilpropanóide-chave nas vias de síntese de lignina e ácido salicílico (SARMA et al., 1998). A fenilalanina amônia liase tem sido encontrada principalmente em plantas superiores, mas também está presente em fungos e bactérias mas não em animais (XIANG; MOORE, 2005).

Na planta, é localizada principalmente dispersa no citoplasma das células em geral, embora possa estar associada a organelas membranosas (DIXON; PAIVA, 1995). A fenilalanina amônia liase difere das peroxidases e polifenoloxidasas visto atuar sobre um substrato específico, a fenilalanina. Desse modo, aparentemente, não haveria a necessidade de isoformas para atuar em substratos variáveis.

O ácido trans-cinâmico é precursor de numerosos compostos fenilpropanóides que realizam várias funções essenciais na planta. Dentre estas funções, destacam-se o suporte mecânico da planta proporcionado pela lignina (DIXON; PAIVA, 1995), as substâncias que atuam como protetores contra estresses abióticos como os antioxidantes e compostos que absorvem radiação UV, ou proteção contra estresses bióticos como a ação de fitopatógenos, pela síntese de compostos como fitoanticipinas e ação de insetos mastigadores pela síntese de compostos fenólicos como fatores antinutritivos (DIXON; PAIVA, 1995). A fenilalanina amônia liase, além de ser importante no desenvolvimento normal da planta, mantendo de forma constitutiva estas características, é também uma enzima chave indicadora de estresses na planta (RITTER; SCHULZ, 2004).

A atividade da fenilalanina amônia liase aumenta em resposta aos estresses acima mencionados, aumentando a síntese dos protetores. Tanto a fenilalanina amônia liase quanto a polifenoloxidase não são classificadas como sendo proteínas-RP, em sentido conceitual. No entanto, essas enzimas estão bem relatadas em funções relacionadas à defesa de planta contra microrganismos e insetos.

As proteases (3.4.21) são classificadas como um subgrupo das hidrolases e sua nomenclatura é feita segundo o tipo de reação catalisada, a natureza química do sítio catalítico e de acordo com sua estrutura. Dessa maneira, subdividem-se em exopeptidases e endopeptidases, dependendo de seu sítio de ação, ou seja, clivando peptídeos terminais ou aqueles distantes dos terminais dos substratos, respectivamente (TREMACOLDI, 2008).

As proteases realizam uma grande variedade de complexas funções fisiológicas, tendo grande importância no metabolismo e funções regulatórias, o que torna

evidente a sua ocorrência em todos os tipos de organismos vivos. Em humanos e animais, proteases apresentam um papel crucial dentro de muitos processos fisiológicos e patológicos (GODFREY; WEST, 1996).

Em plantas e microorganismos, das diversas atividades desempenhadas pelas proteases, podemos destacar a esporulação e liberação conidial, germinação, modificação de proteínas, regulação da expressão gênica, morte celular programada e resistência de plantas (TREMACOLDI, 2008).

As proteases possuem distintos papéis na defesa de plantas, podendo agir em níveis de percepção, sinalização e execução. Existem várias possibilidades das plantas perceberem a presença do patógeno, uma delas é através de elicitores dos invasores que se ligam às proteases podendo ativar ou inibir a sua atividade, e esse complexo elicitor-protease alterando a atividade proteolítica pode induzir a sinalização da defesa (VAN DER HOORN; JONES, 2004). As proteases podem ainda executar resposta de defesa degradando as proteínas diretamente do invasor, liberando toxinas e ativando enzimas das suas proteínas precursoras (TREMACOLDI, 2008).

A maioria das proteínas-RP, e outras enzimas mencionadas nesta revisão, têm sua síntese ativada e/ou potencializada por indutores de resistência e conferem resistência de amplo espectro contra patógenos. A avaliação temporal da expressão dessas enzimas em plantas tratadas com indutores de resistência é um excelente indicativo do efeito protetor desses produtos e da durabilidade desse efeito.

CAPÍTULO 1

“Efeito de fungicidas e antibiótico no controle da mancha bacteriana e na ativação de proteínas relacionadas à patogênese em tomateiro”

Efeito de fungicidas e antibiótico sobre a mancha bacteriana e na ativação de proteínas relacionadas à patogênese em tomateiro

Adriana T. Itako, Tadeu A.F.Silva Júnior, José M. Soman e Antonio C.Maringoni

Departamento de Produção Vegetal – Setor de Defesa Fitossanitária, Faculdade de Ciências Agrônomicas/UNESP, Caixa Postal 237, 18.603-970, Botucatu, São Paulo, Brasil.

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a ação de fungicidas e antibiótico no controle da mancha bacteriana (*Xanthomonas perforans*) em três cultivares de tomate e na ativação de proteínas relacionada à patogênese. Para avaliação da sensibilidade *in vitro* foram utilizados os produtos acibenzolar-S-metil; piraclostrobina e piraclostrobina + methiran, oxicleto de cobre, oxicleto de cobre + mancozeb, fluazinam e oxitetraciclina nas concentrações de 0, 5, 10, 50, 100, 500, 1000 e 5000 µg.mL⁻¹. Acibenzolar-S-metil e piraclostrobina não inibiram o crescimento de *X. perforans* em todas as concentrações avaliadas e para os demais produtos, o crescimento bacteriano variou em função da concentração ensaiada. Para avaliação da severidade, foram utilizadas as cultivares Santa Clara, Gisele e AP529 inoculadas com *X. perforans*. Os tratamentos consistiram da pulverização com acibenzolar-S-metil, fluazinam, piraclostrobina, piraclostrobina + methiran, oxicleto de cobre, oxicleto de cobre + mancozeb e oxitetraciclina, além de uma testemunha inoculada e uma testemunha não inoculada. Com os dados da severidade foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Todos os tratamentos apresentaram redução da AACPD em relação à testemunha inoculada. Os fungicidas acibenzolar-S-metil, piraclostrobina e piraclostrobina + methiran tiveram resultados satisfatórios na redução da severidade da mancha bacteriana em tomateiro, em condições de casa-de-vegetação, nos genótipos de tomateiro ensaiados. A aplicação do acibenzolar-S-metil aumentou a atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e β-1,3-glucanases confirmando sua capacidade de induzir resistência tanto em plantas inoculadas como em plantas não inoculadas. Os produtos à base de piraclostrobina induziram as atividades enzimáticas de peroxidase, polifenoloxidase e β-1,3-glucanases, evidenciando que estes produtos podem estar relacionados à indução de resistência à mancha bacteriana em plantas de tomateiro.

Palavras-chave: *Xanthomonas perforans*, peroxidase, β -1,3-glucanase, acibenzolar-S-metil, e piraclostrobina.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the action of fungicides and antibiotics in bacterial spot (*Xanthomonas perforans*) control in three cultivars of tomato and the activation of proteins related to the pathogenesis. The sensitivity was evaluated *in vitro* using the products acibenzolar-S-methyl, pyraclostrobin, pyraclostrobin + methiran, copper oxychloride, copper oxychloride + mancozeb, fluazinam and oxytetracycline at concentrations of 0, 5, 10, 50, 100, 500, 1000 and 5000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Acibenzolar-S-methyl and pyraclostrobin did not inhibit the growth of *X. perforans* in all concentrations tested and for other products, bacterial growth varied depending on the concentration tested. To assess the severity, we used the cultivars Santa Clara, Gisele and AP529 inoculated with *X. perforans*. The treatments consisted of pulverization with: acibenzolar-S-methyl, fluazinam, pyraclostrobin, pyraclostrobin + methiran, copper oxychloride, copper oxychloride + mancozeb and oxytetracycline, and in addition the use of an inoculated and non inoculated plants as control. The area under the disease progress curve (AUDPC) was calculated. All treatments had reduced the AUDPC when compared to the control. The fungicides acibenzolar-S-methyl, pyraclostrobin and pyraclostrobin + methiran had satisfactory results in reducing the severity of bacterial spot on tomato plants under greenhouse conditions and in those tomato genotypes tested. The application of acibenzolar-S-methyl had induced the increase of enzymatic activity of peroxidase, polyphenoloxidase, and β -1,3-glucanases confirming its ability to induce resistance in inoculated either as in non inoculated plants. The products pyraclostrobin-based induced the enzymatic activity of peroxidase, polyphenoloxidase, and β -1,3-glucanase, indicating that these products can be related to induction of resistance to the bacterial spot on the tomato plants.

Key words: *Xanthomonas perforans*, peroxidase, β -1,3-glucanase, acibenzolar-S-methyl, and pyraclostrobin.

INTRODUÇÃO

A cultura do tomateiro é a segunda hortaliça de importância econômica no mundo, superada apenas pela cultura da batata. No Brasil, e principalmente no estado de São Paulo, ocorreu intensa evolução tecnológica na produção de tomate (rasteiro e estaqueado) e o mercado mostrou-se mais concorrente e dinâmico nos últimos anos (CAMARGO FILHO; MAZZEI, 1996; SILVA ; GIORDANO, 2000; FILGUEIRA, 2008).

Entretanto, várias doenças têm prejudicado a produção dessa cultura, entre elas, a mancha bacteriana do tomateiro, causada por espécies de *Xanthomonas*. A mancha-bacteriana é uma doença de difícil controle, tanto para o tomateiro estaqueado quanto para o tomateiro industrial, principalmente em condições de umidade e temperatura elevadas (LOPES; QUEZADO-DUVAL, 2005).

Várias estratégias preventivas de controle dessa doença são utilizadas, como uso de sementes e mudas saudáveis, rotação de culturas, entre outras (LOPES; QUEZADO-DUVAL, 2005; SILVA-LOBO et al., 2005; KUROZAWA; PAVAN, 2005). A utilização de produtos químicos à base de cobre, misturas cuprocarbamatos e antibiótico também são utilizados, porém uma vez estabelecida a doença em campo essas estratégias nem sempre são eficazes, além de causar problemas de seleção de estirpes bacterianas resistentes.

Alguns fungicidas registrados para a cultura do tomateiro, neste caso o grupo das estrobirulinas (KÖEHLE et al., 2002) além das vantagens obtidas pela ação de efeitos fisiológicos positivos deste sobre as plantas (VENANCIO et al, 2005), há evidências que são capazes ativar mecanismos bioquímicos da planta que incrementam a resistência aos patógenos (VENANCIO et al., 2003) podendo ser uma possibilidade de uso no controle da mancha bacteriana.

A indução de resistência em plantas pode ser definida como uma resistência dinâmica baseada na produção de barreiras físicas e/ou bioquímicas estimuladas pela aplicação de uma substância indutora. É um fenômeno sistêmico ou local, efetivo contra uma ampla gama de patógenos, incluindo bactérias fungos ou vírus (ROMEIRO, 2008).

A resistência induzida de plantas a patógenos pode e têm sido conseguida pela aplicação de produtos químicos sintéticos em plantas. Após o desenvolvimento do acibenzolar-S-metil, observou-se um considerável avanço na indução de resistência

(SOBRINHO et al., 2005). Para a mancha bacteriana é conhecida a eficácia desse produto no controle da doença em alguns trabalhos desenvolvidos no país e no exterior (LOUWS et al. 2001; CAVALCANTI *et al.*; 2006), porém há relatos na literatura evidenciando a redução na produção (LEWIS et al. 2005; LOUWS et al. 2001; QUEZADO-DUVAL et al. 2005), devido ao gasto energético (KUNH ; PASCHOLATI, 2010).

A utilização de produtos que induzem mecanismos de resistência nas plantas constitui como uma alternativa para o manejo integrado dessa doença. Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar *in vitro* e em casa-de-vegetação a ação de produtos químicos no controle da mancha bacteriana (*Xanthomonas perforans*) em três genótipos de tomateiro e na ativação de proteínas relacionada à patogênese.

MATERIAL E MÉTODOS

Avaliação da sensibilidade *in vitro* de *Xanthomonas perforans* à fungicidas

Inicialmente um isolado de *X. perforans* proveniente de tomateiro (Tom-3051) da coleção de bactérias fitopatogênicas do Laboratório de Bacteriologia Vegetal, Departamento de Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agrônomicas – UNESP, foi cultivado de meio NSA (nutriente-sacarose-ágar), durante 72 h, a 28 °C. Após a incubação foi feito a suspensão bacteriana em água destilada e esterilizada (concentração 10^8 UFC.mL⁻¹).

Para avaliar o efeito *in vitro* dos produtos químicos foi preparado o meio de cultura (NSA) contendo as concentrações de 0; 1; 5; 10; 50; 100; 500; 1000 e 5000 µg.mL⁻¹ de: acibenzolar-S-metil, piraclostrobina, methiram + piraclostrobina, oxicleto de cobre, oxicleto de cobre + mancozeb, fluazimam e oxitetraciclina.

As suspensões estoques dos produtos foram preparadas em água destilada e esterilizada e retirada alíquotas das suspensões e aderidas ao meio NSA autoclavado em estado fundente na temperatura de 50 °C, para a obtenção das concentrações desejadas, e em seguida os meios foram vertidos em placas de Petri (20 mL/placa). Após 48 h do preparo do meio de cultura, foi realizada a repicagem de 4 gotas (15 µL) por placa da suspensão bacteriana (10^8 UFC.mL⁻¹) na superfície do meio de cultura (5 placas por concentração de cada produto) e as placas incubadas por 48 h a 28 °C. A seguir foram avaliadas a presença (+) ou ausência (-) do crescimento de colônias na superfície do meio de cultura onde as gotas da suspensão bacteria foram depositadas (Maringoni ; Kimati, 1987).

Avaliação do efeito de fungicidas e antibiótico sobre a mancha bacteriana, em condições de casa-de-vegetação

Para avaliar a severidade da mancha bacteriana no tomateiro, sementes da variedade Santa Clara e híbridos Gisele e AP529 foram semeadas em bandeja de poliestireno expandido contendo substrato. Aos 25 dias após a germinação, duas plantas foram transplantadas para vaso de 3 L de capacidade contendo a mistura terra, esterco de curral curtido e areia, na proporção de 3:2:1, acrescido de 50 g de calcário dolomítico e 100 g de adubo mineral 4-14-8, para cada 100 L da mistura.

Após 15 dias do transplante, as plantas de tomate foram pulverizadas com os produtos apresentados na tabela 1. Após três dias da pulverização, as plantas foram inoculadas com uma suspensão bacteriana de *X. perforans* (10^6 UFC/mL). As plantas foram mantidas em câmara úmida desde 24 horas antes até 24 horas após a inoculação.

A severidade da doença foi avaliada pela escala diagramática da área foliar lesionada, conforme Mello *et al.* (1997). As avaliações foram realizadas aos 8, 11, 14, 17 e 20 dias após a inoculação (DAI). Com os valores de severidade obtidos, foi determinada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), conforme Campbell e Madden (1990).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 9 tratamentos (7 produtos químicos, testemunha inoculada (TI) e testemunha sem inoculação (TSI)) e 7 repetições, sendo cada parcela constituída por um vaso, contendo 2 plantas cada. Os valores da AACPD foram submetidos à análise de variância, empregando-se o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Ativação de enzimas relacionadas à indução de resistência em plantas de tomateiro pulverizadas com fungicidas e antibiótico e inoculadas com *X. perforans*.

Para realizar a coleta de amostras foliares para a determinação das atividades enzimáticas, plantas de tomateiro das cultivares Santa Clara e Gisele e o híbrido AP529 foram plantadas, tratadas e inoculadas conforme descrição no item anterior.

Amostras de folhas foram coletadas 1 dia antes e 1 dia após a pulverização com fungicidas e antibiótico e 1, 2, 4, 6 e 8 dias após a inoculação. Essas amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e resfriadas imediatamente com gelo após a coleta, e

transportadas ao laboratório, para pesagem e processamento, visando o armazenamento em congelador. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 9 tratamentos (7 produtos químicos, testemunha sem inoculação (TSI) e testemunha inoculada (TI)) e 5 repetições.

Ativação de enzimas relacionadas à indução de resistência em plantas de tomateiro pulverizadas com fungicidas e antibiótico sem inoculação

Para avaliar o efeito dos produtos químicos sem a presença da bactéria, foi instalado um ensaio com os mesmos procedimentos anteriores, porém sem a inoculação com *X. perforans*. Os tratamentos foram: acibenzolar-S-metil (ASM - 2,5 g i.a./100 L), fluazinam (FL - 25 g i.a./100 L), piraclostrobina (P - 8 g i.a./100 L), piraclostrobina + methiran (P+M - 20 g + 220 g i.a./100L) e oxicloreto de cobre (OC - 150 g i.a./100 L).

As coletas dos discos foliares seguiram os mesmos padrões descritos anteriormente. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 6 tratamentos (5 produtos químicos e testemunha sem pulverização (TSP)) e 5 repetições.

Determinação da atividade enzimática

As amostras das folhas coletadas foram homogeneizadas mecanicamente com nitrogênio líquido em 4 mL de tampão acetato de sódio 100 mM (pH 5,0), com auxílio de almofariz. O homogenato foi centrifugado a 20.000g durante 25 min a 4 °C, e o sobrenadante obtido foi considerado como extrato enzimático e armazenado a -20 °C para posterior quantificação das enzimas. Foram determinadas as atividades das enzimas peroxidase, polifenoloxidase, β -1,3-glucanase, fenilalanina amônia-liase e protease.

A atividade da enzima peroxidase foi determinada a 30 °C pelo método direto espectrofotométrico, pela medida da conversão do guaiacol em tetraguaiacol a 470 nm (LUSSO e PASCHOLATI, 1999). A atividade da peroxidase foi expressa como atividade específica e os resultados foram expressos em $\Delta_{\text{abs}} 470 \text{ nm min}^{-1} \mu\text{g}^{-1}$ de proteína.

A atividade de polifenoloxidase foi obtida pelo método de Duangmal e Apentem (1999). A reação foi realizada misturando-se 900 μL do substrato e 100 μL do extrato enzimático. O substrato foi composto por catecol, na concentração de 20 mM, dissolvido em

tampão fosfato de sódio 100 mM (pH 6,0). As leituras foram realizadas de forma direta por um período de 3 min. Os resultados foram expressos em $\Delta_{\text{abs}} 420 \text{ nm min}^{-1} \mu\text{g}^{-1}$ de proteína.

A enzima β -1,3 glucanase foi determinada pela quantificação colorimétrica de glicose liberada de laminarina, por meio do uso da hidrazida do ácido *p*-hidroxibenzoico (PAHBAH) (LEVER, 1972). A mistura da reação foi incubada a 37 °C por 1 h, contendo 150 μL do extrato enzimático e 150 μL de laminarina (2,0 mg mL^{-1}) (ABELES e FOENCE, 1970). Após esse período, foi acrescentado 1,5 mL de solução de PAHBAH (0,5 g dissolvido em 20 mL de HCL 0,5 M, acrescido de 80 mL de NaOH 0,5 M), e em seguida essa mistura foi aquecida a 100 °C, por 10 min. Após o resfriamento até a temperatura de 25 °C, as amostras tiveram suas absorbâncias determinadas a 410 nm, contra o tampão de extração.

A atividade da fenilalanina amônia-liase foi determinada pela quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico liberado do substrato fenilalanina (UMESHA, 2006). A absorbância das amostras foi determinada a 290 nm, contra tampão de extração, sendo subtraído de cada amostra o valor do controle (esse controle correspondia a uma mistura 100 μL do extrato protéico e 900 μL de tampão Tris HCl 25 mM, pH 8,8). As leituras de absorbância foram plotadas em curva padrão para o ácido trans-cinâmico e a atividade enzimática expressa em μg de ácido trans-cinâmico $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína.

A atividade da protease foi obtida de acordo com a metodologia utilizada por Fialho (2004), para tanto, 0,5 g de caseína foi dissolvida em 40 mL de água destilada e deixada sob agitação durante 20 min. Em seguida foi adicionado 1 mL de NaOH 1 M e 2,5 mL de Tris 1 M. Após um período de agitação, com a caseína completamente dissolvida, o pH foi ajustado para 7,8 com ácido fosfórico 85%. Para a reação, 500 μL do substrato foi incubado com 200 μL da amostra a 30 °C durante 30 min. A reação foi interrompida através da adição de 650 μL de ácido tricloroacético (TCA) 10% (m/v), seguida de centrifugação a 10000g por 15 min. A leitura da absorbância foi efetuado a 280 nm e o resultado expresso em unidades de absorbância mg^{-1} de proteína.

A quantificação de proteínas totais presentes nos extratos foi determinada utilizando-se o método de Bradford (1976). Em cada 0,8 mL de amostra foram adicionados sob agitação 0,2 mL de reagente concentrado de Bradford. A concentração de proteínas, expressa em termos de equivalentes μg de albumina de soro bovino (ASB) em um mL de amostra (μg

proteína mL⁻¹), foi determinada utilizando-se curva padrão de concentrações de ASB, variando de 0 a 20 µg mL⁻¹.

Com os resultados obtidos nas diferentes épocas de coleta das amostras foliares, foi calculada a área abaixo da curva do progresso da produção dos compostos avaliados (enzimas), em função do tempo (coletas), conforme Soares et al.(2004) e os dados submetidos à análise de variância, empregando-se o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

RESULTADOS

Avaliação da sensibilidade *in vitro* de *Xanthomonas perforans*

No teste *in vitro*, verificou-se que os produtos à base de acibenzolar-S-metil e piraclostrobina não inibiu o crescimento do isolado de *X. perforans* nas concentrações avaliadas (Tabela 2). Já o antibiótico oxitetraciclina inibiu o crescimento da bactéria somente a partir da dose de 1000 µg.mL⁻¹. Os produtos piraclostrobina + methiran e oxicloreto de cobre + mancozeb tiveram efeito inibitório a partir da concentração de 500 µg.mL⁻¹ e os produtos fluazinam e oxicloreto de cobre tiveram efeito a partir da concentração de 100 µg.mL⁻¹.

Área abaixo da curva do progresso da doença mancha bacteriana

Com relação ao efeito dos produtos nas dosagens usadas, visando sua ação sobre a mancha bacteriana, os dados da AACPD estão apresentados na Tabela 3. Os valores da AACPD dos três genótipos de tomateiro avaliados diferiram do tratamento testemunha inoculado, indicando ação dos produtos ensaiados no controle da doença.

Em todos os genótipos de tomateiro avaliados constata-se que o melhor tratamento foi o acibenzolar-S-metil, devido ao menor valor da AACPD, seguido dos outros produtos pulverizados. Houve diferença no comportamento do genótipo utilizado com relação ao controle da doença com os produtos avaliados. Assim, para o híbrido AP 529, destacaram-se piraclostrobina, piraclostrobina + methiran e oxicloreto de cobre + mancozeb; para a cultivar Gisele os produtos oxicloreto de cobre + mancozeb, fluazinam e oxitetraciclina; e para a cultivar Santa Clara, os produtos piraclostrobina + metiram, fluazinam e oxitetraciclina.

Os produtos à base de cobre e oxitetraciclina tiveram resultados satisfatórios nesse experimento na redução da AACPD da mancha bacteriana. Em relação aos produtos à base de

piraclostrobina, estes tiveram efeitos positivos na redução da AACPD, principalmente na variedade Santa Clara e no híbrido AP 529 (Tabela 3).

Atividades enzimáticas de plantas inoculadas

Em relação às atividades enzimáticas na cultivar Santa Clara e no híbrido AP 529, pôde-se verificar maior produção das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e β -1,3 glucanase no experimento com inoculação da bactéria (Tabela 4; Figura 1, 2, 4, 5, 6 e 7). Na cultivar Gisele, somente a enzima peroxidase teve aumento significativo em relação à testemunha nos tratamentos com acibenzolar-S-metil, piraclostrobina + methiran e piraclostrobina (Tabela 4; Figura 3).

Nenhum dos genótipos de tomateiro ensaiado respondeu à produção das enzimas fenilalanina amônia-ase e protease (Tabela 4), tanto com o indutor acibenzolar-S-metil como a aplicação dos outros fungicidas e antibiótico.

O aumento significativo nas atividades das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e β -1,3 glucanase obtidas das folhas da cultivar Santa Clara e do híbrido AP529, podem estar relacionadas com a redução da severidade da doença, verificadas pelo menor valor da AACPD, principalmente quando tratadas com acibenzolar-S-metil, piraclostrobina e piraclostrobina + methiran (Tabela 4).

Atividades enzimáticas de plantas sem inoculação

Os resultados das atividades enzimáticas de plantas tratadas e não inoculadas com a bactéria *X. perforans* estão na Tabela 5. Tanto na variedade Santa Clara e no híbrido AP 529 pode-se verificar um aumento das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e β -1,3 glucanase nos tratamentos com acibenzolar-S-metil, piraclostrobina + metiram e piraclostrobina. Resultados semelhantes das atividades destas enzimas foram obtidos no ensaio com inoculação com a bactéria (Tabela 4), podendo observar que mesmo na ausência da inoculação, esses produtos induziram a atividade enzimática nas plantas.

DISCUSSÃO

Os resultados *in vitro* relatados com piraclostrobina e acibenzolar-S-metil são concordantes com aqueles descritos por Vigo-Schultz (2008), pois esses produtos não inibiram o crescimento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. Nascimento (2009) também verificou que acibenzolar-S-metil não apresentou ação direta sobre as duas espécies de bactérias (*X. perforans* e *X. gardineri*) até a concentração de 5.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, concentração cem vezes maior a dosagem recomendada para aplicação em campo. Resultado semelhante foi encontrado por Silva (2002), ao avaliar o efeito *in vitro* do acibenzolar-S-metil sobre a *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Segundo o autor, até a concentração de 1.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ não foi observada atividade direta sobre o patógeno. Os autores relataram que mesmo nas maiores concentrações do produto não houve efeito tóxico sobre os patógenos estudados. Era de se esperar o não efeito inibitório *in vitro* de acibenzolar-S-metil, pois é um produto indutor de resistência na planta (KESSMANN et al., 1994; ROMEIRO, 2008).

A baixa sensibilidade *in vitro* de produtos à base de cobre e de antibióticos já vem sendo mencionados na literatura, conforme Maringoni ; Kimati (1987), pois esses autores constataram que isolados de *Xanthomonas* spp. provenientes de tomateiro e pimentão de várias localidades do Estado de São Paulo, foram inibidos nas concentração de 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de hidróxido de cobre, oxicloreto de cobre e sulfato de cobre e 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ oxitetraciclina, evidenciando baixa sensibilidade desses isolados a produtos à base de cobre.

Quezado-Duval *et al.* (2003), verificaram a insensibilidade ao cobre, estreptomicina e oxitetraciclina de isolados de *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, *X. vesicatoria* *X. gardneri* provenientes de lavouras para indústria no Brasil. Na ocasião, observaram que nenhum dos isolados testados foi resistente à oxitetraciclina. Quando avaliado o uso de cobre, nenhum dos isolados foi resistente, na concentração de 200 $\mu\text{g /mL}$, porém houve resistência na concentração menor (50 $\mu\text{g /mL}$).

Em relação ao indutor acibenzolar-S-metil, a redução da AACPD está correlacionado com a indução de mecanismos bioquímicos de resistência (KESSMANN et al. 1994), como vários trabalhos na literatura evidenciam este fenômeno (CALVACANTI et al., 2006; ISHIDA et al. 2008). Os resultados observados para o acibenzolar-S-metil corroboram com os resultados semelhantes aos obtidos por Silva (2002) na qual verificaram que a severidade da mancha bacteriana nas plantas tratadas com acibenzolar-S-metil, foi reduzida, em média

56,27 % em relação às plantas não tratadas. Reduções na severidade da mancha bacteriana do tomateiro em plantas tratadas com acibenzolar-S-metil, também foram observadas por Inbar et al. (1998). Cavalcanti et al. (2006), que trabalhando com o patossistema tomate-*X. vesicatoria*, verificaram que acibenzolar-S-metil e Ecolife® conferiram proteção a doença em 39,2% e 47,7%, respectivamente.

Os produtos à base de cobre e oxitetraciclina tiveram resultados satisfatórios nesse experimento em relação à redução da AACPD da mancha bacteriana. Esses produtos são tradicionalmente utilizados no controle da mancha bacteriana e em outras bacterioses foliares da cultura (MILLER et al., 1998; LOUWS et al., 2001). Sua eficiência, no entanto, parece ser dependente da sensibilidade intrínseca das estirpes predominantes na lavoura, já que se conhecem relatos de baixa sensibilidade e/ou resistência *in vitro* principalmente a produtos cúpricos e a alguns antibióticos (MARCO; STALL, 1983; MARINGONI ; KIMATI, 1987; BOUZAR et al., 1999; AGUIAR et al., 2000; QUEZADO-DUVAL et al., 2003).

Segundo Marco ; Stall (1983), o emprego de fungicidas do grupo dos etilenobisditiocarbamatos, como o mancozeb, em mistura com compostos cúpricos tem mostrado eficiência no controle de linhagens de *Xanthomonas* spp. que apresentam resistência ao cobre. Os autores constataram também que a combinação de fungicidas cúpricos e etilenobisditiocarbamatos no controle de doenças bacterianas mostraram ser superior quando comparado à utilização do cobre sozinho. A explicação para este fenômeno é que os carbamatos quelados de cobre previnem que parte deste elemento seja complexado por substâncias orgânicas na superfície foliar, resultando em maior concentração de cobre disponível para controlar a população bacteriana. Maringoni ; Kimati (1987) relataram que isolados de *Xanthomonas* resistentes ao cobre foram sensíveis à mistura de cobre com etilenobisditiocarbamatos (mancozeb ou zineb) *in vitro*.

As doses de piraclostrobina e piraclostrobina + methiran utilizadas neste trabalho são aquelas recomendadas para o controle pinta preta (*Alternaria solani*) e requeima do tomateiro (*Phytophthora infestans*), respectivamente (Agrofit, 2008), já que não há dose registrada para a mancha bacteriana. Entretanto, esses produtos mostraram-se promissores no controle da mancha bacteriana do tomateiro, nas condições em que os ensaios foram conduzidos.

O aumento significativo nas atividades das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e β -1,3 glucanase obtidas das folhas da cultivar Santa Clara e do híbrido AP529, podem estar

relacionadas com a redução da severidade da doença, verificadas pelo menor valor da AACPD, principalmente quando tratadas com acibenzolar-S-metil, piraclostrobina e piraclostrobina + methiran.

O papel das peroxidases, além de reforçar a parede celular a partir da formação de lignina, suberina, polissacarídeos e glicoproteínas ricas em hidroxiprolina, está no aumento na produção de espécies ativas de oxigênio que apresentam ação antimicrobiana, bem como na sinalização e na indução de fitoalexinas (BOLWELL, et al., 1995; WOJTASZEK, 1997; KRISTENSEN et al., 1999). A polifenoloxidase catalisa a oxidação de fenóis para quinonas, na presença de oxigênio. A expressão dessa enzima pode atuar como uma linha de defesa adicional na proteção de plantas a ataques de patógenos e insetos (THIPYAPONG et al., 1997). Já as β -1,3 glucanases liberam fragmentos glicosídicos, tanto do patógeno, quanto da própria parede celular da planta, os quais podem atuar como elicitores de defesa do hospedeiro (CUTT; KLESSIG, 1992).

Pesquisas com acibenzolar-S-metil e Ecolife® têm evidenciado a ação desses produtos no controle da mancha bacteriana em tomateiro e também na ativação das enzimas peroxidase e polifenoloxidase. O aumento na atividade dessas enzimas foi correlacionado com a resistência induzida, sendo produzidas algumas horas após a pulverização e até 12 dias após (CAVALCANTI et al., 2006).

Ishida et al. (2008) avaliaram o efeito de acibenzolar-S-metil e de um isolado de *Bacillus cereus*, aplicados isoladamente ou simultaneamente, em plantas de algodão na indução de resistência a mancha angular (*X. axonopodis* pv. *malavacearum*). A severidade da doença foi reduzida com a aplicação do acibenzolar-S-metil além de proporcionar aumento nas atividades de β -1,3-glucanases, peroxidases, fenilalanina amônia liase e deposição de lignina, principalmente aos 14 dias após a aplicação dos tratamentos. No trabalho aqui desenvolvido não foi observada diferença na produção de fenilalanina amônia liase, nos três genótipos de tomateiro ensaiados, diferente daquele observado em algodoeiro após a aplicação dos indutores abiótico e biótico.

Trabalhos com piraclostrobina na defesa de plantas contra alguns fitopatógenos tem sido relatados por Herms et al. (2002), na qual demonstraram que piraclostrobina aumentou a resistência de fumo contra a infecção causada pelo vírus do mosaico do fumo (TMV) e por *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. Houve acúmulo de ácido salicílico nos tecidos das plantas

tratadas e de PR-1 proteínas, indicando que piraclostrobina age ativando mecanismos de defesas nas plantas, além da ação fungicida. Já Vigo-Schultz (2008) verificaram que acibenzolar-S-metil e piraclostrobina propiciaram maiores níveis de polifenoloxidase, peroxidase e proteínas solúveis totais em plantas de feijão vagem, cultivar Bragança, sugerindo seu envolvimento nos mecanismos de indução de resistência ao cretamento bacteriano comum, semelhante aos resultados aqui observados para tomateiro, sendo um indicativo que estes produtos, principalmente o piraclostrobina podem induzir mecanismos bioquímicos de resistência.

Plantas que alocam seus recursos em defesa na ausência de patógenos podem arcar com custos que refletirão na produtividade, uma vez que as alterações metabólicas que levam à resistência possuem um custo adaptativo associado, o qual pode pesar mais do que o benefício (IRITI; FAORO, 2003). Em algumas pesquisas envolvendo indução de resistência em diferentes sistemas hospedeiro-patógenos têm-se observado um ganho de produtividade, fato que indica um custo menor do que o benefício. Porém, em outros casos, não há incrementos na produtividade, ou até há redução da mesma, ainda com drástica redução da doença (GODARD et al., 1999; DIETRICH et al., 2005).

Para elucidar este fato Kuhn e Pascholati (2010) avaliaram as atividades de peroxidase, quitinase e β -1,3-glucanase, síntese de lignina e compostos fenólicos, correlacionando-os com o crescimento do feijoeiro expressando resistência induzida contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, tratadas por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus* aplicados ao longo do ciclo da cultura e na ausência do patógeno. Os resultados obtidos foram que o acibenzolar-S-metil aumentou a atividade de peroxidase, quitinase e β -1,3-glucanase, enquanto que o *B. cereus* aumentou apenas a peroxidase. O acibenzolar-S-metil reduziu a biomassa da planta, o que não ocorreu em plantas tratadas por *B. cereus*. Os autores concluíram que a resistência induzida por acibenzolar-S-metil apresenta elevado custo associado, enquanto que por *B. cereus* apresenta baixo custo, necessitando a indução de resistência ser melhor explorada e estudada para potencializar seu uso em feijoeiro.

Os resultados em relação ao acibenzolar-S-metil corroboram com os obtidos neste trabalho, fato visto pela indução das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e β -1,3 glucanase. Desse modo observa-se a necessidade de estudos para verificar se a indução de mecanismos bioquímicos refletirá em um maior ganho ou perda na produtividade da cultura do tomateiro,

para os produtos à base de piraclostrobina, fato já relatado na literatura para o produto acibenzolar-S-metil (LOUWS et al. 2001; LEWIS et al. 2005; QUEZADO-DUVAL et al. 2005).

AGRADECIMENTOS

À CAPES e à FAPESP, pelo auxílio financeiro recebido para o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

Abeles FB, Foence LE (1970) Temporal and hormonal control of β -13 glucanase in *Phaseolis vulgaris*. *Plant Physiology* 45:395-400.

Agrofit Sistema de agrotóxico fitossanitário Disponível em: <http://extranetagriculturagovbr/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em: 29 dez 2008

Aguiar L, Kimura O, Castilho AMC, Castilho KSC, Ribeiro RLD, Akiba F, Carmo MGF (2000) Resistência ao cobre em isolados nacionais de *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria* de pimentão e tomateiro. *Agronomia* 34(1):78-82.

Bolwell Gp, Butt Vs, Davies Dr, Zimmerlin A (1995) The origin of the oxidative burst in plants. *Free Radical Research* 23:517-532.

Bouzar H, Jones JB, Stall RE, Louws FJ, Schneider M, Rademaker JLW, Bruijn FJ, Jackson LE (1999) Multiphasic analysis of *Xanthomonas* causing bacterial spot disease on tomato and pepper in the Caribbean and Central America: Evidence for common lineages within and between countries. *Phytopathology* 89:328-335.

Bradford M (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72:248-254.

Camargo Filho WP, Mazzei AR (1996) Necessidade de Reconversão da Produção de Tomate em São Paulo: ações na cadeia produtiva. *Informações Econômicas* 26(6): 105-115.

Campbell CL, Madden LV (1990) *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. New York. John Wiley ; Sons.

Cavalcanti FR Resende MLV Pereira RB Costa JCBC Carvalho CPS (2006) Atividades de quitinase e beta-13-glucanase após eliciação das defesas do tomateiro contra a mancha-bacteriana *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 41: 1721-1730

Cutt JR, Klessig DF (1992) Pathogenesis-related proteins In: Boller T, Meins F. Plant gene research: Genes involved in plant defense. Wien. Springer-Verlag. pp. 209-243.

Dietrich R, Ploss K, Heil M (2005) Growth responses and fitness cost after induction of pathogen resistance depend on environmental condition. *Plant Cell and Environment* 28:211-222.

Duangmal K, Apenten RKO (1999) A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var Romano). *Food Chemistry* 64:351-359.

Ferreira DF (2000) Sistema de análises de variância para dados balanceados Lavras. UFLA.

Fialho MB (2004) Efeito *in vitro* de *Saccharomyces cerevisiae* sobre *Guignardia citricarpa* agente causal de pinta preta dos citros. 60p Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Filgueira FAR (2008) Novo Manual de Olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3ª Ed. Viçosa. UFV.

Godard JF, Ziadi S, Monot C, Le Corre D, Silué D (1999) Benzothiadiazole (BTH) induces resistance in cauliflower (*Brassica oleracea* var botrytis) to downy mildew of crucifers caused by *Peronospora parasitica*. *Crop Protection* 18:397-405.

Hermes S, Seehaus K, Koehle H, Conrath U (2002) A strobilurin fungicide enhances the resistance of tobacco against tobacco mosaic virus and *Pseudomonas syringae* pv *tabaci*. *Plant Physiology* 130:120-127.

Iriti M, Faoro F (2003) Benzothiadiazole (BTH) induces cell-death independent resistance in *Phaseolus vulgaris* against *Uromyces appendiculatus*. *Journal of Phytopathology* 151:171-180.

Ishida AKN, Souza RM, Resende MLV, Cavalcanti FR, Oliveira DL, Pozza EA (2008) *Rhizobacterium* and acibenzolar-Smethyl (ASM) in resistance induction against bacterial blight and expression of defense responses in cotton *Tropical Plant Pathology* 33:27-34.

Kessman HT, Staub T, Hofmann C, Maetzke T, Herzog J, Ward E, Uknes S, Ryals J (1994) Inductions of systemic acquired resistance in plants by chemicals. *Annual Review of Phytopathology* 32:439-459.

Köehle H, Grossmann K, Jabs T, Stierl R, Gerhard M, Kaiser W, Glaab J, Conrath U, Seehaus K, Hermes S (2002) Physiological effects of the strobilurin fungicide F 500 on plants In: Lyr H, Russell PE, Dehne H-W, Sisler HD (Eds) *Modern Fungicides and Antifungal Compounds III* . pp. 61-74.

Kristensen BK, Bloch H, Rasmussen SK (1999) Barley coleoptile peroxidases Purification molecular cloning and induction by pathogens *Plant Physiology* 120:501-512.

Kuhn OJ, Pascholati SF (2010) Custo adaptativo da indução de resistência em feijoeiro mediada pela rizobactéria *Bacillus cereus* ou acibenzolar-S-metil: atividade de enzimas síntese de fenóis e lignina e biomassa Summa Phytopathologica 36(2):107-114.

Kurozawa C, Pavan MA (2005) Doenças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill). In: Kimati H, Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A, Camargo LEA (Eds) Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 4 ed. São Paulo. Editora Ceres. pp. 607-626.

Lewis MLI, Mera JR, Miller SA (2008) Evaluation of fungicides and bactericides for the control of foliar and fruit diseases of processing tomatoes. Disponível em: <<http://www.ag.ohio-state.edu/~vegnet/library/res04/tomato.pdf>>. Acesso em: 4 out. 2008.

Lopes CA, Quezado-Duval MA (2005) Doenças bacterianas In: LOPES CA, ÀVILA AC (Ed.) Doenças do tomateiro. 2 ed. Brasília. Embrapa-CNPq. pp 62-64

Louws FJ, Wilson M, Campbell HL, Cuppels DA, Jones JB, Shoemaker PB, Sahin F, Miller SA (2001) Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator. Plant Disease 85(5):481-488.

Lusso MFG, Pascholati SF (1999) Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. Summa Phytopathologica 25:244-249.

Marco GM, Stall RE (1983) Control of bacterial spot of pepper initiated by strains of *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria* that differ in sensitivity to copper Plant Disease 67(7):779-781.

Maringoni AC, Kimati H (1987) Sensibilidade *in vitro* de *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria* (Doidge) Dye de pimentão e de tomateiro a drogas. Summa Phytopathologica 13:160-172.

Mello SCM, Takatsu A, Lopes CA (1997) Escala diagramática para avaliação da mancha-bacteriana do tomateiro. Fitopatologia Brasileira 22:447-448

Miller SA, Sahin F, Denning A, Koton R, Abbasi P (1997) Management of Bacterial spot of tomato. Biological and Cultural Test 13(34):108.

Nascimento ADR (2009) Ação de produtos químicos *in vitro*, em mudas e em campo sobre a mancha bacteriana (*Xanthomonas perforans* e *X. gardneri*) em tomate para processamento industrial. 126 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Produção Vegetal) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

Quezado-Duval AM, Gazzoto Filho A, Leite Júnior RP, Camargo LEA (2003) Sensibilidade a cobre estreptomomicina e Oxitetraciclina em *Xanthomonas* spp. associadas à mancha-bacteriana do tomate para processamento industrial. Horticultura Brasileira 21(4):670-675.

Quezado-Duval AM, Leite Júnior RP, Lopes CA, Lima MF, Camargo LEA (2005) Diversity of *Xanthomonas* spp. associated with bacterial spot of processing tomatoes in Brazil. *Acta Horticulturae* 695:101-108.

Romeiro RS (2008) Indução de resistência em plantas a patógenos In: Pascholati SF, Leite B, Stangarlin JR, Cia P (Orgs) *Interação planta-patógeno: fisiologia e biologia molecular*. Piracicaba. Fealq. pp. 411-429.

Romeiro, RS (2001) *Métodos em bacteriologia de plantas*. Viçosa:UFV.

Silva JBC, Giordano LB (2000) Produção mundial e nacional In: Silva JBC, Giordano LB (Ed) *Tomate para processamento industrial* Brasília Embrapa Hortaliças pp 8-11

Silva L H C P (2002) Resistência sistêmica ativada pelo acibenzolar-S-metil contra doenças em tomateiro. 89 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Silva-Lobo VL Giordano LB Lopes CA (2005) Herança da resistência à mancha bacteriana em tomateiro. *Fitopatologia Brasileira* 30:343-349.

Soares RM, Maringoni AC, Lima GPP (2004) Ineficiência de acibenzolar-S-methyl na indução de resistência de feijoeiro comum à murcha-de-curtobacterium. *Fitopatologia Brasileira* 29(4):373-377.

Sobrinho CA, Ferreira PT, Cavalcanti LS (2005) Indutores abióticos. In: Cavalcanti LS, Di Piero RM, Cia P, Pascholati SF, Resende MLV, Romeiro RS (Eds.) *Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos*. Piracicaba. Fealq. pp. 51-80.

Thipyapong P, Steffens JC (1997) Tomato polyphenol oxidase: differential response of the polyphenol oxidase F promoter to injuries and wound signals. *Plant Physiology* 115:409-418.

Umesha S (2006) Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. *Phytoparasitica* 34(1):68-71.

Venancio WS, Rodrigues MAT, Begliomini E, Souza NL (2003) Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. *Publicatio UEPG* 9:59-68.

Vigo-Schultz SC (2008) Avaliação da indução de resistência no controle do cretamento bacteriano comum do feijão vagem. 78p. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas)-Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho, Botucatu.

Wojtaszek P (1997) Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection *Biochemistry Journal* 322:681-692.

Tabela 1. Ingrediente ativo e dose dos produtos químicos pulverizados em plantas do tomate em condições-de-casa-vegetação.

Ingrediente ativo	Sigla	Dose para 100 L de água
Acibenzolar-S-metil	ASM	2,5 g i.a.
Fluazinam	FL	25 g i.a.
Piraclostrobina	P	8 g i.a.
Piraclostrobina + methiran	P + M	20 g + 220 g i.a.
Oxicloreto de cobre	OC	150 g i.a.
Oxicloreto de cobre + mancozeb	OC + M	88 g + 60 g i.a.
Oxitetraciclina	OX	40 g i.a.

Fonte: Agrofit (2008)

Tabela 2. Avaliação de colônias de *Xanthomonas perforans* em meio de cultura de NSA contendo diferentes concentrações de fungicidas e antibiótico.

Tratamento	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)								
	0	1	5	10	50	100	500	1000	5000
ASM	+(20)*	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)
P	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)
M + P	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	-(20)	-(20)	-(20)
FL	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	+(12)	-(20)	-(20)	-(20)	-(20)
OC	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	-(20)	-(20)
OC + M	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	-(20)	-(20)	-(20)
OX	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	+(20)	-(20)	-(20)	-(20)	-(20)

+ = crescimento; - = inibição

* = (número de pontos com crescimento ou inibição)

Tabela 3. Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) da mancha bacteriana para diferentes cultivares de tomate tratadas com fungicidas e antibióticos. Avaliação da severidade da doença aos 8, 11, 14, 17 e 20 dias após a inoculação com *Xanthomonas perforans*.

Tratamento	AP 529	Gisele	Santa Clara
ASM	19,26A*	55,50A	12,83A
P + M	47,12 B	210,26 C	38,04 B
P	51,24 B	194,41 C	58,42 C
OC	84,05 C	178,40 C	66,00 D
Oxicloreto de cobre + mancozeb	58,64 B	120,72 B	51,75 C
FL	88,45 C	128,52 B	31,96 B
OX	72,59 C	131,03 B	42,00 B
TI	150,72 D	436,03 D	104,85 E
TSI**	0,0	0,0	0,0
CV%	25,46	13,15	17,04

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade

**Na testemunha sem inoculação não foi observado sintomas da doença.

Tabela 4: Atividade das enzimas em folhas de tomate tratadas com os produtos químicos e inoculadas com *Xanthomonas perforans* nos tempos de coleta de 1 dia antes, 1 dia após o tratamento, e 1, 2, 4, 6 e 8 dias após a inoculação. Atividade expressa em área abaixo da curva do progresso da produção dos compostos avaliados.

Tratamento	Enzimas-----				
	Peroxidase	Polifenoloxidase	Fenilalanina amônia liase	β -1,3 Glucanase	Protease
----- Santa Clara -----					
ASM	28,18A*	8,67A	6,47 A	312,86A	9,96A
P + M	24,12A	7,32A	6,50A	310,47A	10,45A
P	20,61B	8,40A	6,75A	229,86B	10,75A
OC	8,06D	5,34B	6,92 A	154,22C	11,64A
OC + M	8,66D	4,25B	7,16 A	154,22C	12,26A
FL	14,13C	5,25B	8,35 A	190,24C	12,46A
OX	9,59D	5,38B	8,83 A	112,06C	13,21A
TSI	11,77C	5,61B	9,13 A	144,95C	14,28A
TI	12,47C	6,30B	11,27 A	148,78C	17,69A
CV %	25,77	16,59	32,57	17,43	27,35
----- Gisele -----					
ASM	44,88 A	15,95 A	6,24 A	332,33 A	7,45 A
P + M	39,47 A	11,62 B	7,40 A	226,57 A	6,98 A
P	42,66 A	11,91 B	7,31 A	277,94 A	6,91 A
OC	21,38 C	9,76 C	8,97 A	155,01 B	8,06 A
OC + M	22,14 C	9,14 C	9,51 A	271,98 A	8,60 A
FL	31,56 B	18,06 A	6,28 A	160,37 B	7,59 A
OX	23,39 C	4,98 C	6,10 A	142,04 B	7,89 A
TSI	16,39 C	6,10 C	6,67 A	145,06 B	6,41 A
TI	31,09 B	14,52 A	6,59 A	256,23 A	10,20 A
CV %	18,18	29,64	36,48	39,37	22,03
----- AP 529 -----					
ASM	34,56 A	12,98 A	4,23 A	371,81 A	8,69 A
P + M	33,36 A	11,36 A	4,00 A	262,18 B	7,44 A
P	41,97 A	13,53 A	4,52 A	361,68 A	8,72 A
OC	29,20 B	8,58 B	4,16 A	272,58 B	6,80 A
OC + M	29,05 B	8,02 B	3,84 A	271,60 B	6,98 A
FL	28,37 B	8,63 B	3,50 A	224,36 B	10,37 A
OX	26,80 B	7,86 B	2,27 A	258,51 B	7,17 A
TSI	24,33 B	8,98 B	4,74 A	221,41 B	8,87 A
TI	27,80 B	8,41 B	3,89 A	213,06 B	6,96 A
CV %	9,48	14,75	34,78	16,40	32,97

*Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem entre si, pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 5: Atividade das enzimas em folhas de tomate tratadas com os produtos químicos e não inoculadas nos tempos de coleta de 1 dia antes do tratamento e 2, 4, 5, 7 e 9 dias após o tratamento. Atividade expressa em área abaixo da curva do progresso da produção dos compostos avaliados.

Tratamento	----- Enzimas -----				
	Peroxidase	Polifenoloxidase	Fenilalanina	β -1,3 Glucanase	Protease
----- Santa Clara -----					
ASM	45,52A*	20,60A	8,12A	263,20 A	6,85A
P	41,44A	15,57A	6,83A	286,30 A	10,40A
P + M	42,42A	16,50A	4,68A	310,42 A	8,45A
OX	24,07B	12,67B	4,24A	213,68 B	7,89A
FL	28,34B	10,10B	5,35 A	192,90 B	7,69A
TSI	23,55 B	10,16 B	5,60 A	151,88 B	9,83A
CV%	19,18	28,83	18,80	16,02	17,89
----- Gisele -----					
ASM	30,00 A	7,67 A	4,51 A	121,88 A	8,29 A
P	34,75 A	7,32 A	4,72 A	128,37 A	7,44 A
P + M	32,25 A	8,40 A	4,95 A	106,12 A	8,72 A
OX	31,50 A	5,34 A	5,12 A	113,46 A	6,60 A
FL	34,00 A	4,25 A	5,43 A	109,58 A	6,98 A
TSI	33,25 A	4,66 A	6,33 A	76,39 A	5,66 A
CV%	12,55	24,55	25,65	34,20	10,77
----- AP 529 -----					
ASM	37,12 A	12,75 A	4,63 A	233,51 A	9,05 A
P	36,66 A	12,28 A	6,58 A	280,98 A	11,40 A
P + M	41,75 A	13,44 A	5,72 A	307,84 A	7,45 A
OX	32,71 B	9,98 B	6,65 A	174,06 B	6,69 A
FL	30,04 B	7,62 B	6,20 A	195,20 B	8,69 A
TSI	26,67 B	9,24 B	5,10 A	198,08 B	5,83 A
CV%	10,56	17,77	20,26	18,98	21,89

*Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem entre si, pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

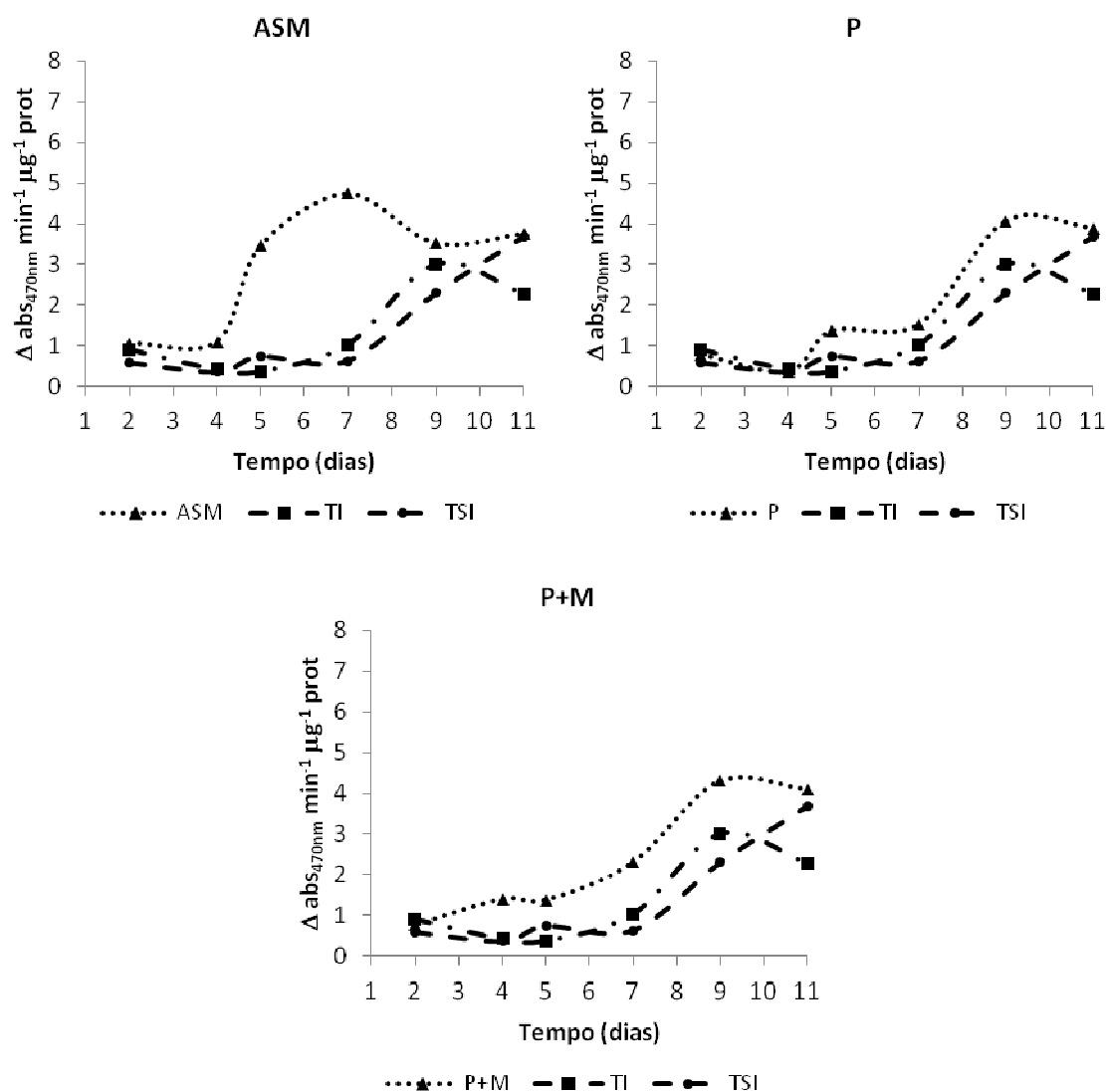


Figura 1. Atividade enzimática de peroxidase ($\Delta_{\text{abs } 470\text{nm}} \text{ min}^{-1} \mu\text{g}^{-1}$ de proteína) em folhas de tomateiro ‘Santa Clara’ tratadas (acibenzolar-S-metil - ASM; piraclostrobina - P; piraclostrobina + methiran - P+M), inoculadas (*Xanthomonas perforans*) e coletadas nos tempos de 1 dia antes, 1 dia após o tratamento, e 1, 2, 4, 6 e 8 dias após a inoculação. TI-testemunha inoculada; TSI-testemunha sem inoculação.

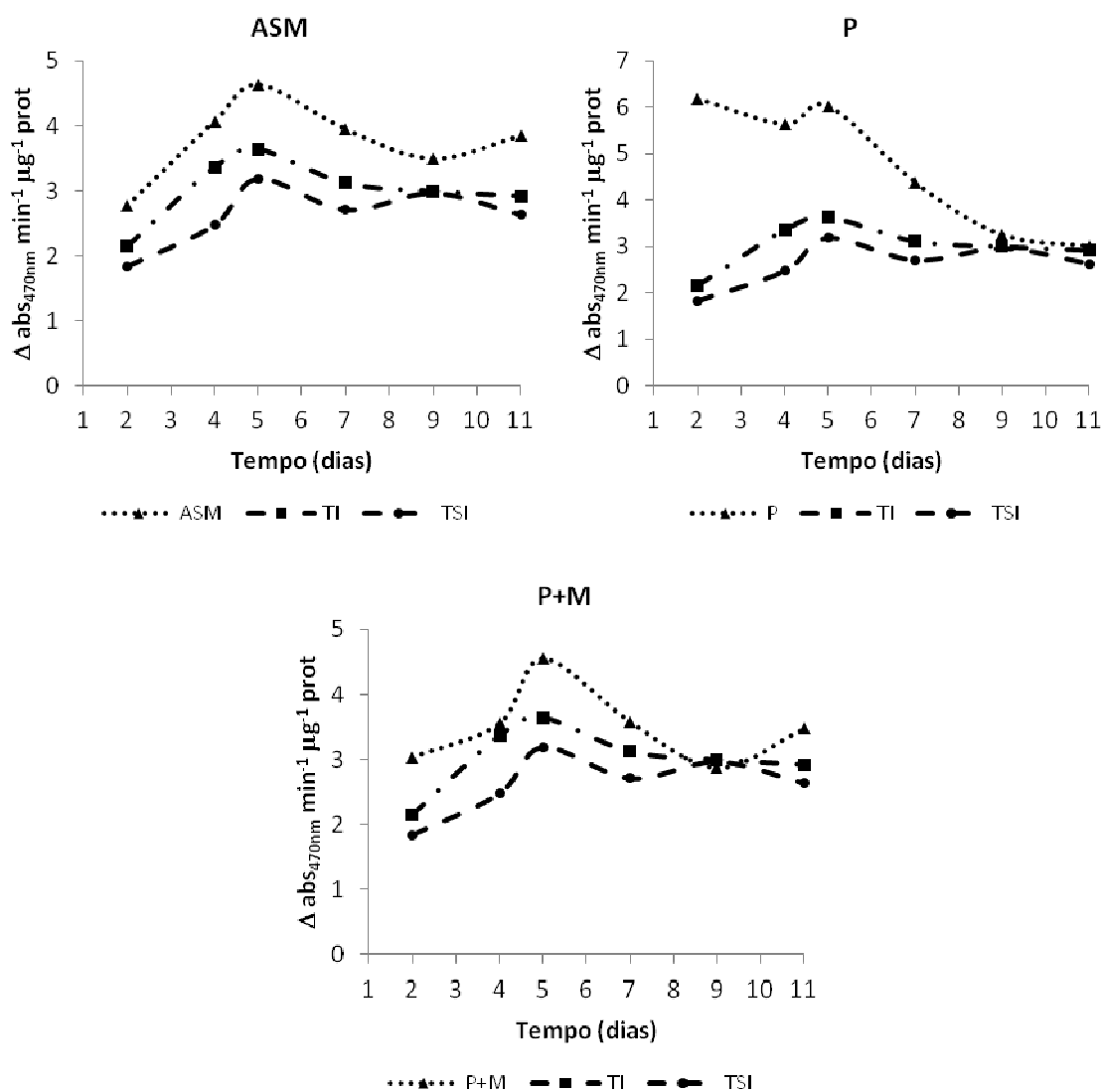


Figura 2. Atividade enzimática de peroxidase ($\Delta_{\text{abs } 470\text{nm}} \text{ min}^{-1} \mu\text{g}^{-1}$ de proteína) em folhas de tomateiro ‘AP 529’ tratadas (acibenzolar-S-metil-ASM; piraclostrobina-P; piraclostrobina + methiran-P+M), inoculadas (*Xanthomonas perforans*) e coletadas nos tempos de 1 dia antes, 1 dia após o tratamento, e 1, 2, 4, 6 e 8 dias após a inoculação. TI-testemunha inoculada; TSI-testemunha sem inoculação.

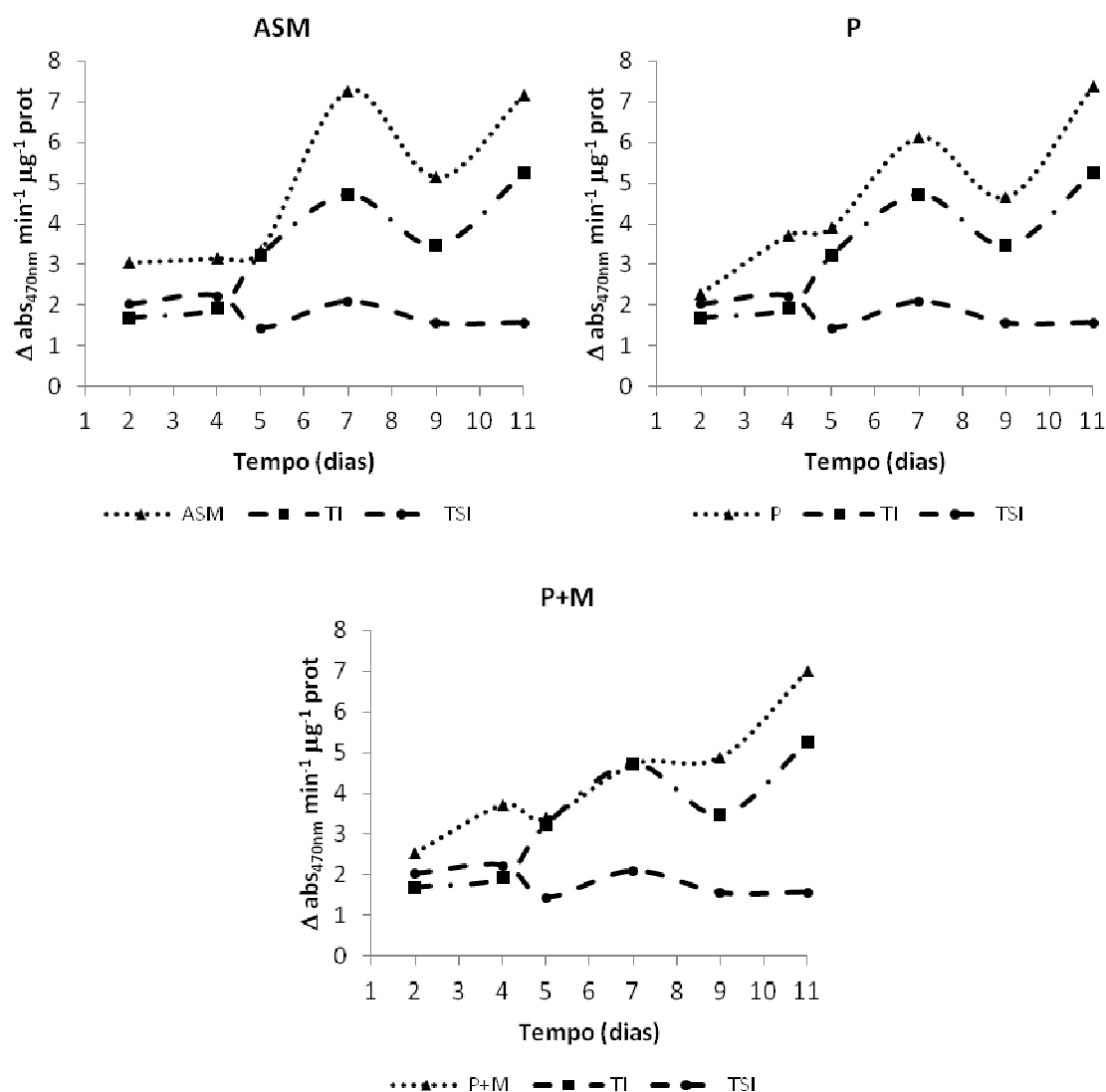


Figura 3. Atividade enzimática de peroxidase ($\Delta_{\text{abs } 470\text{nm}} \text{ min}^{-1} \mu\text{g}^{-1}$ de proteína) em folhas de tomateiro ‘Gisele’ tratadas (acibenzolar-S-metil-ASM; piraclostrobina-P; piraclostrobina + methiran-P+M), inoculadas (*Xanthomonas perforans*) e coletadas nos tempos de 1 dia antes, 1 dia após o tratamento, e 1, 2, 4, 6 e 8 dias após a inoculação. TI-testemunha inoculada; TSI-testemunha sem inoculação.

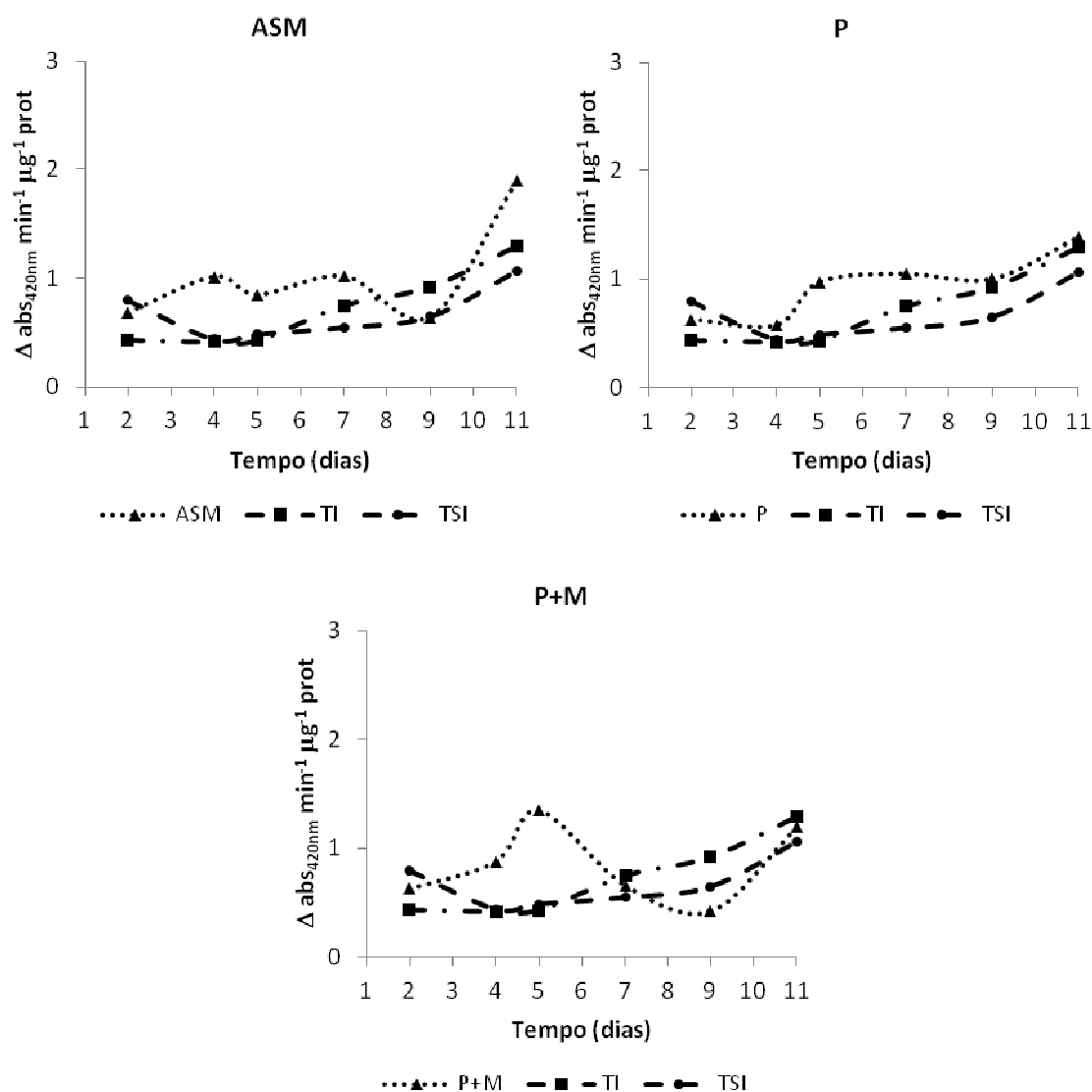


Figura 4. Atividade enzimática de polifenoloxidase ($\Delta_{\text{abs}} 420\text{nm min}^{-1} \mu\text{g}^{-1}$ de proteína) em folhas de tomateiro ‘Santa Clara’ tratadas (acibenzolar-S-metil-ASM; piraclostrobina-P; piraclostrobina + methiran-P+M), inoculadas (*Xanthomonas perforans*) e coletadas nos tempos de 1 dia antes, 1 dia após o tratamento, e 1, 2, 4, 6 e 8 dias após a inoculação. TI-testemunha inoculada; TSI-testemunha sem inoculação.

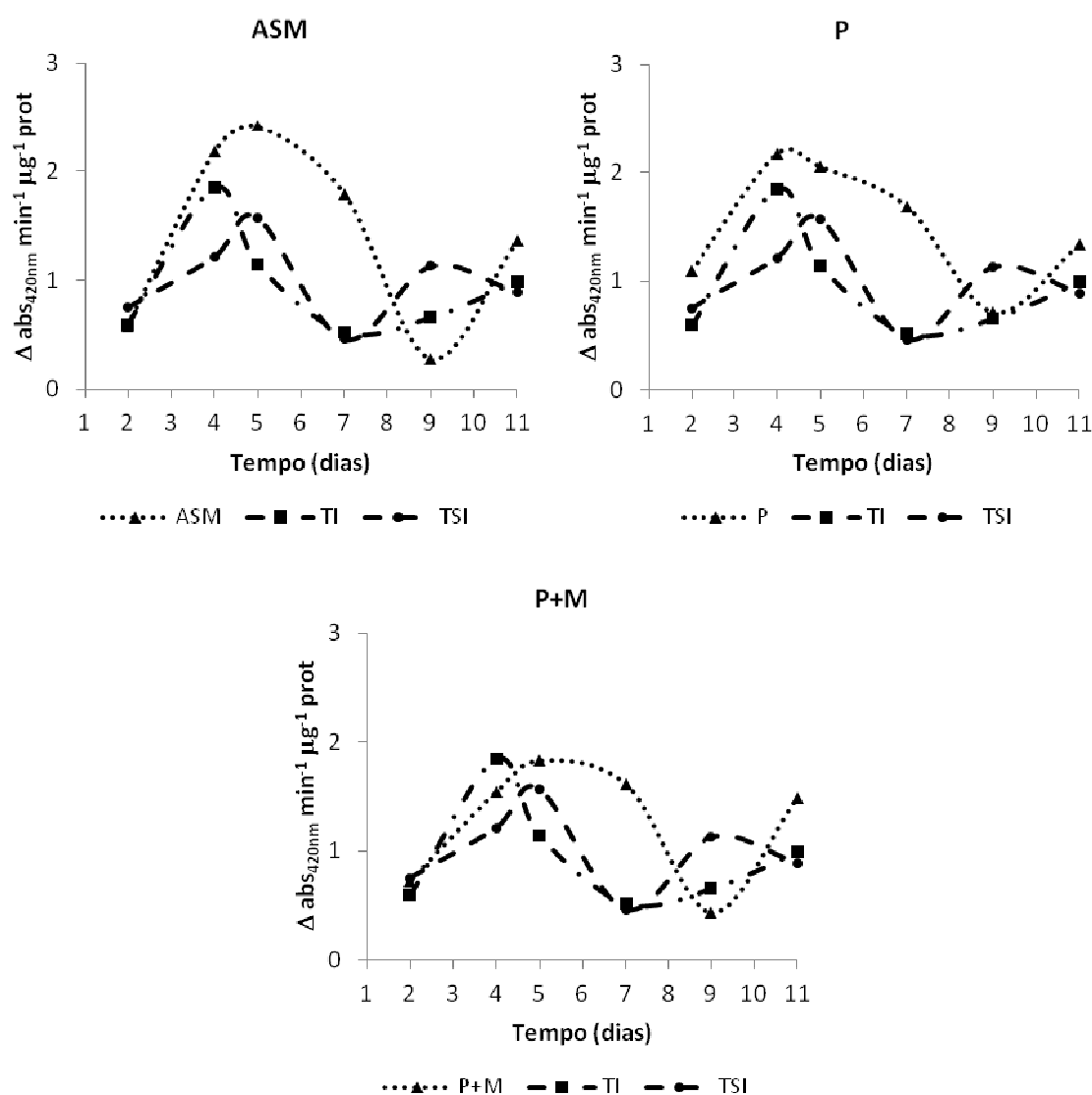


Figura 5. Atividade enzimática de polifenoloxidase ($\Delta_{\text{abs } 420\text{nm}} \text{ min}^{-1} \mu\text{g}^{-1}$ de proteína) em folhas de tomateiro ‘AP 529’ tratadas (acibenzolar-S-metil-ASM; piraclostrobina-P; piraclostrobina + methiran-P+M), inoculadas (*Xanthomonas perforans*) e coletadas nos tempos de 1 dia antes, 1 dia após o tratamento, e 1, 2, 4, 6 e 8 dias após a inoculação. TI-testemunha inoculada; TSI-testemunha sem inoculação.

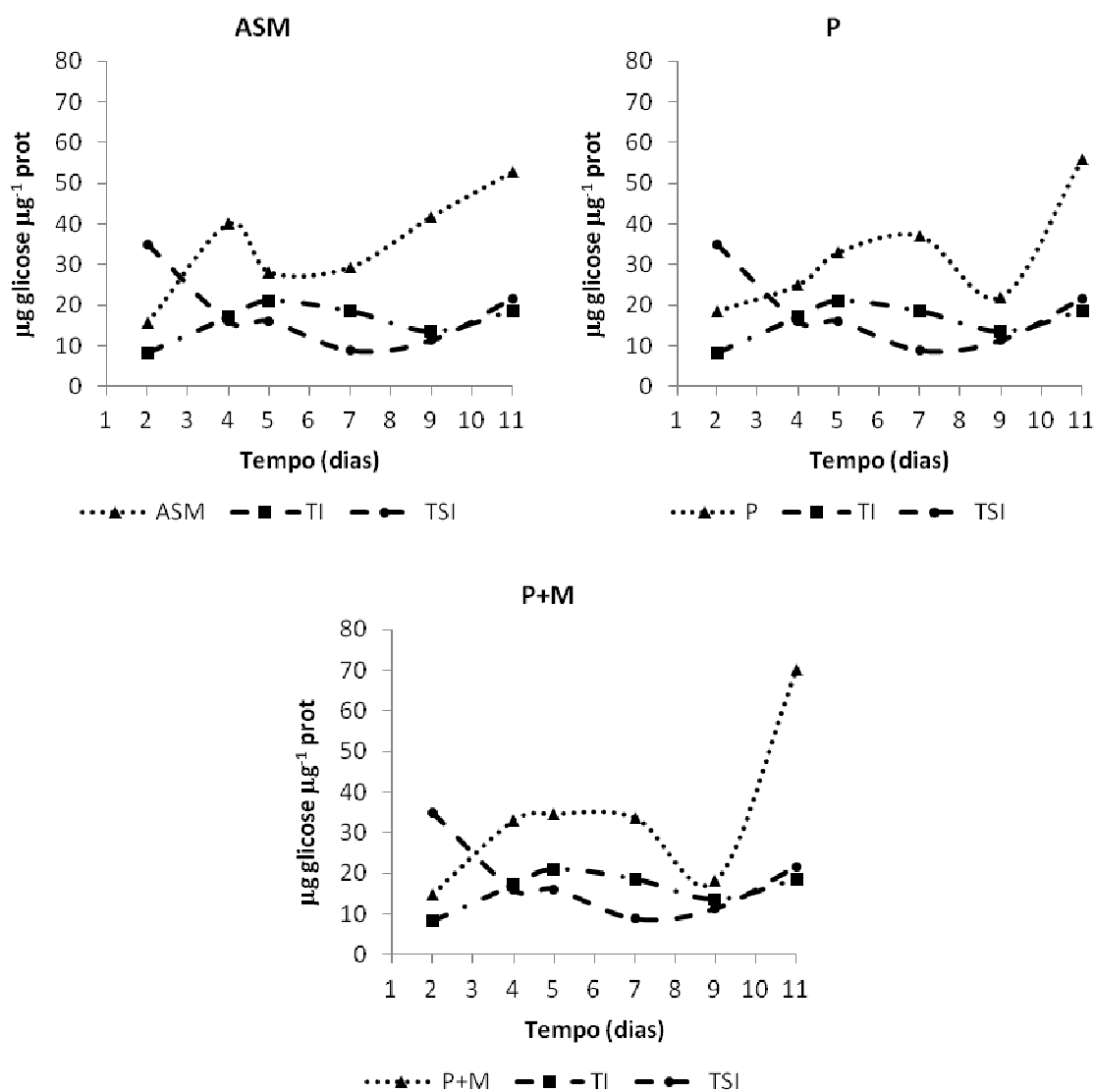


Figura 6. Atividade enzimática de β -1,3 glucanase (μg glicose μg^{-1} de proteína) em folhas de tomateiro ‘Santa Clara’ tratadas (acibenzolar-S-metil-ASM; piraclostrobina-P; piraclostrobina + methiran-P+M), inoculadas (*Xanthomonas perforans*) e coletadas nos tempos de 1 dia antes, 1 dia após o tratamento, e 1, 2, 4, 6 e 8 dias após a inoculação. TI-testemunha inoculada; TSI-testemunha sem inoculação.

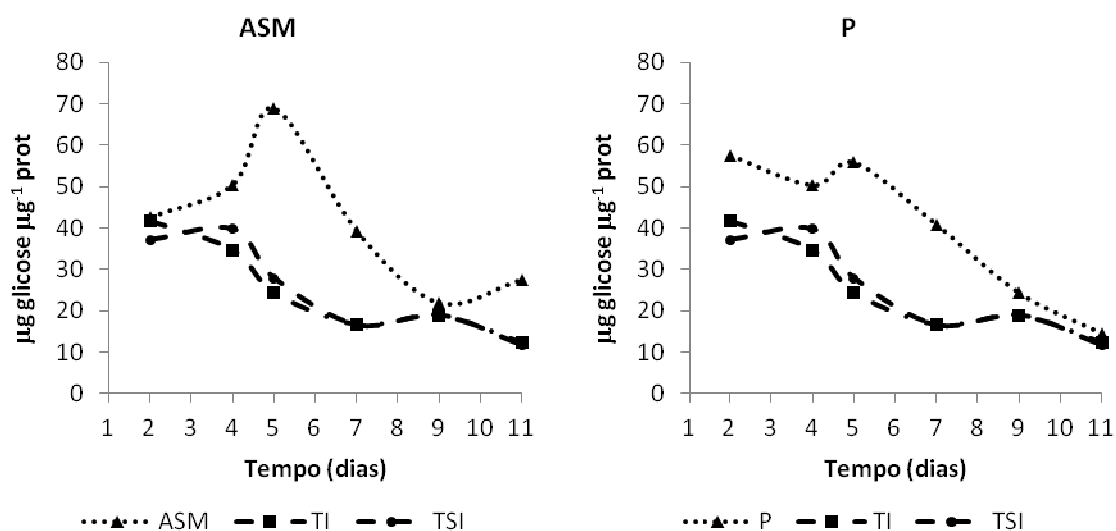


Figura 7. Atividade enzimática de β -1,3 glucanase (μg glicose μg^{-1} de proteína) em folhas de tomateiro ‘AP 529’ tratadas (acibenzolar-S-metil-ASM; piraclostrobina-P; piraclostrobina + methiran-P+M), inoculadas (*Xanthomonas perforans*) e coletadas nos tempos de 1 dia antes, 1 dia após o tratamento, e 1, 2, 4, 6 e 8 dias após a inoculação. TI-testemunha inoculada; TSI-testemunha sem inoculação.

CAPÍTULO 2

“Controle da mancha bacteriana do tomateiro e ativação de proteínas relacionadas à indução de resistência por fungicidas e antibiótico, sob condições de campo”

Controle da mancha bacteriana do tomateiro e ativação de proteínas relacionadas à indução de resistência por fungicidas e antibiótico, sob condições de campo

A.T. Itako; L.A.R.Demant; A.C.Maringoni

Departamento de Produção Vegetal-Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP. CP 237, Botucatu, SP, 18610-307. Autor para correspondência: Adriana Terumi Itako <atitako@yahoo.com.br>

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o controle da mancha bacteriana, a produção de tomate e a indução de resistência pela aplicação de produtos químicos, foram conduzidos dois ensaios sob condições de campo em anos consecutivos (2009/10 e 2010/11). Trinta dias após o transplântio, as plantas de tomateiro híbrido AP 529 foram pulverizadas com os produtos químicos: acibenzolar-S-metil (2,5 g i.a./100 L), fluazinam (25 g i.a./100 L), piraclostrobina (8 g i.a./100 L), piraclostrobina + methiran (20 g + 220 g i.a./100L), oxicleto de cobre (150 g i.a./100 L), oxicleto de cobre + mancozeb (88 g + 60 g i.a./100 L) e oxitetraciclina (40 g i.a./100 L) e posteriormente a cada 14 dias, totalizando cinco pulverizações durante a condução da cultura. Semanalmente as plantas foram pulverizadas com clorotalonil e inseticidas recomendados para a cultura visando o controle preventivo de doenças fúngicas foliares e pragas. Aos 40 dias após o transplântio, as plantas foram inoculadas com um isolado de *Xanthomonas perforans* (10^7 UFC/mL). Foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) com as avaliações da doença realizadas aos 10, 19, 29 e 36 dias após a inoculação. Todos os tratamentos diferiram da testemunha, em especial o acibenzolar-S-metil, piraclostrobina e piraclostrobina + methiran. No primeiro ensaio os tratamentos que diferiram da testemunha para as variáveis massa total dos frutos (Kg) e número de frutos foram piraclostrobina + methiran, seguida de fluazinam, oxicleto de cobre + methiran, oxicleto de cobre e piraclostrobina e no segundo ensaio, para esses parâmetros, apenas os tratamentos com piraclostrobina + methiran e piraclostrobina que se destacaram. Análises químicas (°Brix, pH, acidez total) foram feitas com os frutos colhidos nas duas safras, porém não foram verificadas diferenças no °Brix e acidez total, somente no pH no primeiro ensaio foi observada diferença entre os tratamentos com a testemunha. Em relação às atividades enzimáticas, no primeiro

ensaio somente a enzima polifenoloxidase foi induzida e no segundo ensaio tanto as enzimas polifenoloxidase e peroxidase nos tratamentos com acibenzolar-S-metil, piraclostrobina e piraclostrobina + methiran tiveram suas atividades aumentadas. Os fungicidas à base de piraclostrobina reduziram a severidade da doença e aumentaram a atividade de algumas enzimas, mas sem redução da produtividade, mostrando serem promissoras no controle da mancha bacteriana.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum*, controle químico, produtividade, peroxidase.

ABSTRACT

In order to evaluate the control of bacterial spot, the tomato production and the resistance induction by application of chemicals, it was conducted two field trials in consecutive years (2009/10 and 2010/11). Thirty days after transplanting the hybrid tomato plants (cv. AP529) were pulverized with chemicals acibenzolar-S-methyl (2.5 g a.i./100 L), fluazinam (25 g a.i./100 L), pyraclostrobin (8 g a.i./100 L), pyraclostrobin + methiran (20 g + 220 g a.i./100 L), copper oxychloride (150 g a.i./100 L), copper oxychloride + mancozeb (88 g + 60 g a.i./100 L) and oxytetracycline (40 g a.i./100 L), and then for every 14 days a total of five sprays during the cultivate. Every week the plants were sprayed with chlorothalonil and insecticides recommended for crop aimed at the preventive control of fungal foliar diseases and pests. Inoculation with an isolate bacterium *X. perforans* (10^7 CFU/mL) was performed 40 days after transplanting the plants to the trial field. We calculated the area under the disease progress curve (AUDPC) through the assessments of the disease at 10, 19, 29 and 36 days after inoculation. All treatments differed from the control for disease severity variable, in particular the acibenzolar-S-methyl, pyraclostrobin and pyraclostrobin + methiran. In the first trial treatments that differed from the control for the variables of total mass of fruits (kg) and number of fruits were pyraclostrobin + methiran, followed by fluazinam, methiran + copper oxychloride, copper oxychloride and pyraclostrobin. For the second trial, for these parameters, only the treatments using pyraclostrobin + methiran and pyraclostrobin which were noteworthy. Chemical analysis (°Brix, pH, total acidity) were performed with the harvested fruits in two seasons, but were not observed significant differences in the level of total acidity and °Brix, only for pH in the first test, it was observed a difference between treatments when compared with the control. Regarding the enzymatic activities, in the first trial only

polifenoloxidase was induced and in the second test both enzymes polyphenol oxidase and peroxidase in the treatments with acibenzolar-S-methyl, pyraclostrobin, and pyraclostrobin + methiran had their activities increased. The fungicides pyraclostrobin-based reduced the disease severity and increased the activity of some enzymes, furthermore no reduction in productivity was observed. This shows that fungicides pyraclostrobin-based are very promising in controlling bacterial spot.

key word: *Solanum lycopersicum*; chemical control, yield, peroxidase.

INTRODUÇÃO

A mancha bacteriana é considerada umas das doenças mais importantes do tomateiro para processamento industrial, levando à redução da produtividade pela destruição da área foliar, queda precoce de flores e frutos em formação e queima de frutos expostos diretamente ao sol (Gitaitis et al., 1992; Lopes e Quezado-Duval, 2005; Vale et al., 2004).

O controle químico da mancha bacteriana tem sido feito com antibióticos para uso em agricultura e produtos à base de cobre (Lopes e Quezado-Soares, 2005). No entanto, vários relatos apontam para a baixa eficiência dos mesmos, tendo como uma possível causa o aparecimento de indivíduos resistentes nas populações bacterianas (Marco e Stall, 1983; Bouzar et al., 1999; Aguiar et al., 2000; Quezado-Duval, et al., 2003).

O êxito ou fracasso do controle químico da bactéria pode ser em parte, atribuído à maior ou menor eficácia dos princípios ativos aplicados, aos cuidados e épocas de tratamento e, principalmente, à sensibilidade ou resistência das populações do patógeno aos bactericidas comumente empregados (Stall, 1993). Independente deste fato, esses compostos continuam sendo aplicados, juntamente com outros produtos, primeiro por falta de alternativas e, segundo, por ainda possuírem ação contra alguns fitopatógenos, mesmo com eficiência reduzida.

A busca por outras opções de controle da mancha bacteriana do tomateiro tem se mostrado um desafio atualmente, frente a pouca disponibilidade de produtos eficazes. Entre as novidades, podemos destacar os produtos químicos do grupo das estrobilurinas, atualmente registrados como fungicidas, mas que vem demonstrando capacidade de promover alterações fisiológicas (Venancio, 2003) e bioquímicas nas plantas (Herms et al. 2002). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de controle da mancha bacteriana, a produção de tomate e

na indução de enzimas relacionadas à resistência, pela aplicação de produtos químicos em tomateiro híbrido AP-529 para processamento industrial, em dois ensaios conduzidos em campo durante os anos agrícolas de 2009/2010 e 2010/2011.

MATERIAL E MÉTODOS

Instalação do experimento no campo

Foram conduzidos dois ensaios em dois anos agrícolas consecutivos, durante os meses de outubro a janeiro de 2009/10 e 2010/11. Os experimentos foram instalados em uma propriedade localizada no município de Botucatu-SP (latitude: 22° 57' S, longitude 48° 22' O). Foi utilizado o híbrido 'AP-529' cujas características são ciclo de 110 a 120 dias, frutos do tipo pêra e massa média de 80 a 90 g. As mudas foram produzidas em bandejas de isopor preenchidas com substrato Plantmax® e com 30 dias de idade foram transplantadas para a área experimental.

A área experimental total consistiu de um quadrilátero com dimensões de 24 x 12 m, totalizando 288 m², dividida em 12 linhas de 24,0 m de comprimento espaçadas entre si em 1,0 m. Cada parcela experimental foi representada por 3 linhas de 3,00 m de comprimento, totalizando 9 m². Para as avaliações, foi considerada a linha central da parcela com área útil de 3 m².

As mudas de tomate foram transplantadas em espaçamento de 0,3 m, sendo que em cada parcela existiam 30 plantas no total, e foram avaliadas somente as 10 plantas centrais. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com 4 repetições.

A adubação foi realizada sete dias antes do transplântio das mudas no campo e posteriormente em cobertura, conforme Gomes et al. (1999), e os tratos culturais foram realizadas conforme a necessidade, dentro das indicações para a cultura. Foi instalado um sistema de irrigação por aspersão para atender as necessidades hídricas da cultura.

Tratamentos realizados na cultura do tomate

Trinta dias após o transplântio as plantas receberam pulverização com os produtos químicos listado na tabela 1. A aplicação foi realizada com um pulverizador costal de barra, de pressão constante, à base de CO₂. Os volumes de calda utilizados variaram de acordo com o necessário ao completo molhamento da parte aérea das plantas.

Os tratamentos foram aplicados a cada 14 dias, totalizando cinco aplicações ao longo do ciclo da cultura e também foi realizada pulverização semanal com clorotalonil (150 g /100 L água) e inseticidas recomendados para o controle de pragas que surgiram na cultura no decorrer da condução dos ensaios (Agrofit, 2008). No tratamento testemunha foi pulverizado apenas clorotalonil e inseticidas.

Severidade da mancha bacteriana

Foi realizada a inoculação artificial das plantas com o isolado Tom-3051 de *Xanthomonas perforans*, da coleção de bactérias fitopatogênicas do Laboratório de Bacteriologia Vegetal, Departamento de Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agrônomicas – UNESP. A bactéria foi cultivada em 500 mL de nutriente líquido (peptona – 5 g, extrato de carne – 3 g e 1000 mL de água), por 24 horas, a 28 °C, e depois deste período foi diluída em na proporção 1:10 em água destilada, com concentração final aproximada de 10^7 UFC.mL⁻¹. A inoculação ocorreu aos 40 dias após o transplantio, 10 dias após a primeira aplicação dos produtos, com auxílio de pulverizador costal manual.

A avaliação da severidade da doença (terço médio da planta) foi feita através da escala diagramática de área foliar lesionada pela mancha bacteriana, conforme Mello *et al.* (1997). As avaliações foram realizadas aos 10, 19, 29 e 36 dias após a inoculação (DAI). Com os valores de severidade obtidos foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), conforme Campbell e Madden (1990). Após tabulação dos dados de severidade, os valores de AACPD foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knot a 5% de probabilidade.

Colheita e análise químicas dos frutos

Para avaliar a produtividade do tomateiro foi realizada a colheita manual dos frutos, determinando-se a massa total (Kg), número de frutos e a massa média de frutos (g) em cada parcela. A colheita dos frutos foi realizada em duas etapas, a primeira colheita foi realizada aos 90 dias após o transplantio e a segunda colheita 105 dias após o transplantio.

Um total de cinco frutos retirados aleatoriamente de cada parcela foi submetido a análises químicas. As determinações de pH, acidez total titulável (ATT) e teor de sólidos solúveis (°Brix) foram realizadas nas dependências do Laboratório de Frutas e Hortaliças do

Departamento de Horticultura (UNESP-Botucatu). O teor de sólidos solúveis totais foi determinado utilizando-se um refratômetro, homogeneizando-se a amostra em liquidificador e transferindo 1 gota para o prisma do refratômetro, desprezando-se partículas grandes de polpa. Os resultados foram expressos em °Brix. O pH foi determinado, na amostra triturada, utilizando-se um potenciômetro digital. A acidez total titulável foi determinada conforme as normas as Normas do Instituto Adolfo Lutz (2008), utilizando hidróxido de sódio (NaOH 0,1 M). Com os indicadores de produtividade e análises químicas foi realizado análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knot a 5% de probabilidade.

Atividade enzimática de folhas tratadas e inoculadas com *X. perforans*

Para avaliar a atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase, β -1,3-glucanase, fenilalanina amônia-liase, protease e conteúdo protéico, amostras de folhas foram coletadas 5 dias antes da inoculação 6, 15 e 25 dias após a inoculação. As folhas foram resfriadas em gelo durante o transporte até o laboratório onde foram armazenadas a -20 °C.

As amostras foram homogeneizadas mecanicamente em 4 ml de tampão acetato de sódio 100 mM (pH 5,0). O homogenato foi centrifugado a 10.000g durante 25 min a 4 °C, e o sobrenadante obtido foi considerado como extrato enzimático.

A atividade da enzima peroxidase foi determinada a 30 °C através do método direto espectrofotométrico, pela medida da conversão do guaiacol em tetraguaiacol a 470 nm (Lusso e Pascholati, 1999). A atividade da peroxidase foi expressa como atividade específica e os resultados foram expressos em $\Delta_{\text{abs}} 470\text{nm min}^{-1} \mu\text{g}^{-1}$ de proteína.

A atividade de polifenoloxidase foi obtida pelo método de Duangmal e Apentem (1999). Os resultados foram expressos em $\Delta_{\text{abs}} 420 \text{ nm min}^{-1} \mu\text{g}^{-1}$ de proteína.

A enzima β -1,3 glucanase foi determinada pela quantificação colorimétrica de glicose liberada de laminarina, por meio do uso da hidrazida do ácido p -hidroxibenzóico (PAHBAH) (Lever, 1972). As amostras tiveram suas absorbâncias determinadas a 410 nm, contra o tampão de extração.

A atividade da fenilalanina amônia-liase foi determinada pela quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico liberado do substrato fenilalanina (Umesha, 2006). As leituras de absorbância foram plotadas em curva padrão para o ácido trans-cinâmico e a atividade enzimática expressa em μg de ácido trans-cinâmico $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína.

A atividade da protease foi obtida de acordo com a metodologia utilizada por Fialho (2004). A leitura da absorbância foi efetuado a 280 nm e o resultado expresso em unidades de absorbância mg^{-1} de proteína.

A quantificação de proteínas totais presentes nos extratos foi determinada utilizando-se o método de Bradford (1976).

Com os resultados obtidos nas diferentes épocas de coleta das amostras foliares, foi calculada a área abaixo da curva do progresso da produção dos compostos avaliados (enzimas), em função do tempo (coletas), conforme Soares et al.(2004), e os dados submetidos à análise de variância, empregando-se o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

RESULTADOS

Severidade da mancha bacteriana e produtividade

Os resultados referentes à severidade da doença (AACPD) obtidos no primeiro e segundo ensaios estão apresentados na Tabela 2. Nos dois ensaios os valores da AACPD de todos os tratamentos diferiram da testemunha. A menor AACPD foi obtida com acibenzolar-S-metil, seguida de fluazinan e oxicleto de cobre + mancozeb, primeiro ensaio, enquanto que no segundo ensaio, os menores valores da AACPD foram obtidos com os tratamentos piraclostrobina + methiran, acibenzolar-S-metil e oxicleto de cobre + mancozeb.

Os valores da massa total de frutos (kg), número de frutos e a massa média de frutos (g) do primeiro e segundo ensaio estão nas Tabelas 3 e 4, respectivamente. No primeiro ensaio (Tabela 3) os tratamentos que diferiram significativamente da testemunha para as variáveis massa total dos frutos (Kg) e número de frutos foram piraclostrobina + methiran, seguida de fluazinan, oxicleto de cobre + mancozeb, oxicleto e piraclostrobina. Já para o segundo ensaio (Tabela 4) os tratamentos que diferiram da testemunha foram somente os tratamentos com piraclostrobina + methiran e piraclostrobina. Para a variável massa média de frutos não foi observada diferença significativa entre nenhum dos tratamentos (Tabela 4).

De maneira geral, os fungicidas à base de cobre nas concentrações utilizadas nos dois ensaios, apresentaram resultados satisfatórios no controle da mancha bacteriana nas concentrações avaliadas (Tabela 2). Já em relação à massa total somente no primeiro ensaio os produtos oxicleto e oxicleto + methiran, juntamente com outros produtos, diferiram

significativamente da testemunha (Tabela 3) não se repetindo no segundo ensaio (Tabela 4). Já em relação aos produtos à base de piraclostrobina, nos dois ensaios verificou-se efeitos satisfatórios tanto na redução da AACDP da mancha bacteriana (Tabela 2) como também em um aumento na massa (kg) e número de frutos (Tabelas 3 e 4).

Análise químicas dos frutos

Em relação às análises químicas no primeiro ensaio foi observado uma diferença significativa no pH nos tratamentos em relação à testemunha (Tabela 5). Já em relação à acidez total e °Brix não foram observados diferenças dos tratamentos em relação à testemunha, tanto no primeiro como no segundo ensaio. Em relação ao °Brix, apesar de não ter diferido nos tratamentos com a testemunha o °Brix obtido foi próximo ao valor médio nas indústrias brasileiras. No primeiro ensaio o maior °Brix foi 4,21 comparado com a testemunha que foi de 3,84, já no segundo ensaio o °Brix de maior valor foi 5,33 em relação à testemunha na qual o °Brix ficou em torno de 4,85.

Atividade enzimática

Os resultados em relação à ativação das enzimas estão apresentados na tabela 6. No primeiro ensaio tanto a enzima peroxidase como a polifenoloxidase tiveram suas atividades aumentadas no tratamento com acibenzolar-S-metil, piraclostrobina e piraclostrobina + methiran. No segundo ensaio somente a enzima polifenoloxidase teve sua atividade aumentada nos tratamentos com acibenzolar-S-metil, piraclostrobina e piraclostrobina+methiran. Em nenhum dos dois ensaios as enzimas fenilalanina amônia-liase, protease e glucanase tiveram aumento nas atividades tanto com o indutor acibenzolar-S-metil como a aplicação dos fungicidas e antibiótico.

DISCUSSÃO

Resultados satisfatórios utilizando a aplicação de acibenzolar-S-metil no controle da mancha bacteriana foram obtidos por Silva (2002), avaliando apenas a severidade da mancha bacteriana nas plantas tratadas, pois apresentaram em média a redução de 56,27 % dos sintomas em relação às plantas não tratadas. Reduções significativas da severidade da mancha bacteriana do tomateiro em plantas tratadas com acibenzolar-S-metil também foram

observadas por Inbar et al. (1998). Já em relação ao potencial do acibenzolar-S-metil no controle da mancha bacteriana correlacionando com a produtividade, Lewis et al. (2005) obtiveram bom controle da mancha bacteriana e outras doenças em um programa de pulverização foliar combinando pulverizações de acibenzolar-S-metil e pulverizações com Tanos® em mistura com hidróxido de cobre e mancozeb em alternância com hidróxido de cobre misturado ao mancozeb apenas. Nesse experimento, no entanto, não foi detectado diferenças significativas em produtividade, apenas na porcentagem de frutos comercializáveis.

Quezado-Duval et al. (2005) relataram que em um ensaio de tomate para processamento industrial em campo com a cultivar AP 533, apesar de resultar em menor AACPD, em 10 aplicações semanais, o acibenzolar-S-metil resultou na menor produtividade do ensaio, não diferindo da testemunha. Também Paradela et al. (2001), em tomate envarado, observaram bons resultados em reduzir a severidade com o emprego do acibenzolar-S-metil em cinco e sete aplicações sem ação efetiva na produtividade.

Romero et al. (2001) observaram que aplicações de acibenzolar-S-metil a cada duas semanas em parcelas de pimentão causaram redução em produtividade em uma das seis variedades testadas. Louws et al. (2001) detectaram efeito positivo do acibenzolar-S-metil no controle das bacterioses do tomateiro causadas por *Xanthomonas vesicatoria* e por *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, em ensaios de campo. O produto proporcionou controle igual ou superior ao de compostos cúpricos. O peso seco e o crescimento de mudas na fase de transplantio foram, contudo, negativamente afetados. Estes resultados corroboram com os obtidos neste trabalho, pois apesar do produto acibenzolar-S-metil reduzir a AACDP não refletiu em uma maior produtividade de frutos nos dois ensaios.

Portanto, a maioria dos trabalhos científicos publicados confirmam o efeito do indutor de resistência (ASM) em reduzir a incidência e/ou severidade das doenças, apesar de muitas vezes haver comprometimento da produtividade das plantas (Dietrich et al., 2005, Godard et al., 1999). Plantas que alocam seus recursos em defesa na ausência de patógenos podem arcar com custos que refletirão na diminuição produtividade, uma vez que as alterações metabólicas que levam à resistência possuem um custo adaptativo associado, o qual pode pesar mais do que o benefício (Iriti ; Faoro, 2003).

A observação da redução de severidade em detrimento de um eventual aumento ou redução na produtividade ressalta a importância da realização de ensaios de campos, em

complementação aos ensaios de casa-de-vegetação onde são tomados apenas dados de severidade (Silva, 2002).

Em relação à baixa produtividade, é possível afirmar que a queda na produtividade observada foi decorrente de um menor número de frutos produzido por parcela, possivelmente devido ao abortamento de flores causado pela doença, pois além da necrose foliar, que pode expor os frutos à escaldadura (queima pelo sol), a doença pode provocar redução do tamanho dos frutos, depreciação da sua qualidade por causa das manchas causadas pela doença e queda de flores e frutos (Vale et al., 2004).

Os produtos à base de cobre e antibióticos ainda estão sendo utilizados de uma forma rotineira em campo para controle dessa doença. A sensibilidade ao princípio ativo, característica intrínseca das estirpes do patógeno, é fato documentado em relação a antibióticos e ao cobre (Marco ; Stall, 1983; Aguiar et al., 2000; Quezado-Duval et al., 2005). Devido a isto, sua eficiência tem sido variável conforme relatado na literatura. Diferente dos resultados obtidos neste trabalho, Maringoni et al. (1986) testaram vários fungicidas à base de cobre e antibióticos no controle dessa doença em condições de campo. Segundo esses autores, os fungicidas e os antibióticos nas concentrações e intervalos de aplicações utilizados nos ensaios, não apresentaram resultados satisfatórios no controle dessa doença. Outros parâmetros foram avaliados, tais como: número de frutos com sintomas da doença, número de frutos com queimadura de sol e a produção total. Concluíram, que a pulverização com fungicidas cúpricos não reduziram a área foliar afetada pela bactéria e nem aumentaram significativamente a produção dos frutos.

Na cultura do pimentão, McCarter (1992) conseguiu através de pulverizações semanais de hidróxido de cobre + mancozeb, o controle satisfatório do agente da mancha-bacteriana em pimentão, com incrementos em produtividade da ordem de 76%, 117% e 83%, nas safras de 1987, 1988 e 1989, respectivamente. Carmo et al (2001), no entanto, observaram em cinco ensaios eficiência variável do controle da mancha-bacteriana do pimentão (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) com oxicleto de cobre e nenhuma relação, a princípio, com a seleção de isolados sensíveis ao cobre, resultados parecidos com os obtidos neste trabalho.

O êxito ou fracasso do controle químico da bactéria pode ser em parte, atribuído à maior ou menor eficácia dos princípios ativos aplicados, a cuidados e épocas de tratamento e,

principalmente, à sensibilidade ou resistência das populações do patógeno a bactericidas comumente empregados (Stall, 1993). Independente deste fato, esses compostos continuam sendo aplicados, juntamente com outros produtos, primeiro por falta de alternativas e, segundo, por ainda possuírem ação contra fitopatógenos, mesmo com eficiência reduzida.

Trabalhos utilizando produtos à base de piraclostrobina foram realizados por Nascimento (2009) na qual avaliaram vários produtos químicos em mudas e em campo sobre a mancha bacteriana em tomate para processamento industrial (híbrido Heinz 9992). Foi verificado que o tratamento com methiran + piraclostrobina, mesmo não se detectando diferenças significativas resultou, nos dois experimentos, na segunda maior produtividade registrada (70 t.ha^{-1} e 101 t.ha^{-1} , respectivamente).

Em relação a análises químicas dos frutos, em tomate é desejável um pH inferior a 4,5 para impedir a proliferação de microorganismos, pois valores superiores a este requerem períodos mais longos de esterilização da matéria prima em um processamento térmico, ocasionando maior consumo de energia e maior custo de processamento (Monteiro et al., 2008).

Como o pH, a acidez total influencia o sabor, esse parâmetro é avaliado por meio de titulação com NaOH, sendo os resultados expressos em concentração de ácido cítrico. Frutos apresentando valores de ácido cítrico abaixo de 350 mg/100g de peso fresco requerem aumento no tempo e na temperatura de processamento, para evitar a proliferação de microorganismos nos produtos processados (Monteiro et al., 2008).

O balanço entre acidez e açúcares é extremamente importante do ponto de vista sensorial porque estes compostos são os principais responsáveis pelo sabor característico do tomate. Os açúcares do tomate são constituídos basicamente por glicose e frutose (Gould, 1992). Quanto maior o teor de SST ($^{\circ}\text{Brix}$) maior é o rendimento quando se trata de tomate industrial e menor gasto de energia no processo de concentração de polpa. Em termos práticos, para cada grau $^{\circ}\text{Brix}$ de aumento na matéria-prima há um incremento de 20% no rendimento industrial (Silva e Giordano, 2000). Os valores médios de $^{\circ}\text{Brix}$ na matéria-prima recebida pelas indústrias no Brasil têm sido em torno de 4,5 $^{\circ}\text{Brix}$ (Raupp et al., 2009).

O teor de sólidos solúveis no fruto, além de ser uma característica genética do cultivar, é influenciado pela adubação, temperatura e irrigação. Já em tomate para processamento industrial a doença mancha bacteriana favorece a diminuição de sólidos

solúveis (°Brix) nos frutos pela exposição direta ao sol, provocada pela diminuição da área foliar (Lopes e Quezado-Duval, 2005).

Face aos resultados obtidos em relação as atividades enzimáticas, constata-se que o acibenzolar-S-metil induziu a produção das enzimas peroxidase e polifenoloxidase e estas podem estar envolvidas na redução da severidade da doença (Tabela 2), porém este gasto energético reduziu a massa total (kg) dos frutos, fato já discutido anteriormente.

Os produtos à base de piraclostrobina induziram as atividades das enzimas peroxidase e polifenoloxidase e estas também podem estar envolvidas na redução da AACPD (Tabela 2), corroborando com os resultados obtidos por Itako et al. (2011) (dados não publicados) na qual verificaram em condições de casa-de-vegetação a indução das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e 1,3 β -glucanase em três cultivares de tomateiros pulverizados com esses produtos. Os resultados aqui obtidos concordam parcialmente com os de Vigo-Schultz (2008), pois foi verificado que acibenzolar-S-metil e piraclostrobina pulverizados em plantas de feijão-vagem propiciaram maiores níveis de polifenoloxidase, peroxidase e proteínas solúveis totais, sugerindo seu envolvimento nos mecanismos de indução de resistência ao cretamento bacteriano comum, causado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*.

A utilização de produtos à base de piraclostrobina mostra uma alternativa uma vez que os mesmos em condições de campo reduziram significativamente a severidade da mancha bacteriana e isto refletiu positivamente em uma maior produção de frutos, nas condições testadas neste trabalho.

Considerando que mecanismos bioquímicos de resistência podem estar envolvidos nestes resultados, os produtos que podem induzir resistência sem refletir em gasto energético podem ser promissores no controle de doenças de plantas uma vez que uma planta induzida tem um efeito protetor que pode durar desde poucos dias até por períodos mais longos (Bokshi et al., 2003).

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pelo auxílio financeiro recebido para o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agrofit. Sistema de agrotóxico fitossanitário. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 29 dez. 2008.

Aguiar, L.; Kimura, O.; Castilho, A.M.C.; Castilho, K.S.C.; Ribeiro, R.L.D.; Akiba, F.; Carmo, M.G.F., 2000. Resistência ao cobre em isolados nacionais de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* de pimentão e tomateiro. *Agronomia, Seropédica*, 34, 78-82.

Bokshi, A.I.; Morris, S.C.; Deverall, B.J., 2003. Effects of benzothiadiazole and acetylsalicylic acid on β -1,3-glucanase activity and disease resistance in potato. *Plant Pathology*, London, 52, 22-27.

Bouzar, H.; Louws, F. J.; Schneider, M.; Rademaker, J. L. W.; Bruijn, F. J.; Jackson, L. E., 1999. Multiphasic analysis of *Xanthomonas* causing bacterial spot disease on tomato and pepper in the Caribbean and Central America: Evidence for common lineages within and between countries. *Phytopathology* 89,328-335.

Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, New York, 72, 248-254.

Campbell, C.L.; Madden, L.V., 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. New York. John Wiley ; Sons.

Carmo, M.G.F.; Macagnan, D.; Carvalho, A.O., 2001. Progresso da mancha-bacteriana do pimentão a partir de diferentes níveis iniciais de inóculo e do emprego ou não do controle com oxiclóreto de cobre. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 19,342-347.

Dietrich, R.; Ploss, K.; Heil, M., 2005. Growth responses and fitness cost after induction of pathogen resistance depend on environmental condition. *Plant Cell and Environment*, Oxford, 28, 211-222.

Duangmal, K.; Apenten, R.K.O., 1999. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. *romano*). *Food Chemistry*, London, 64, 351-359.

Ferreira, D.F. Sistema de análises de variância para dados balanceados. Lavras: UFLA, 2000. (SISVAR 4. 1. pacote computacional).

Fialho, M.B. Efeito *in vitro* de *Saccharomyces cerevisiae* sobre *Guignardia citricarpa*, agente causal de pinta preta dos citros. 2004. 60p. Dissertação (Mestrado na área de fitopatologia), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

Gitaitis, R.; McCarter, S.; Jones, J.B. 1992. Disease control in tomato transplants produced in Georgia and Florida. *Plant Disease*, Saint Paul, 7, 651-656.

Godard, J.F.; Ziadi, S.; Monot, C.; Corre, D.; Silué, D., 1999. Benzo-thiadiazole (BTH) induces resistance in cauliflower (*Brassica oleracea* var *botrytis*) to downy mildew of crucifers caused by *Peronospora parasitica*. *Crop Protection*, Guildford, 18, 397-405.

Gomes, L. A. A.; Silva, E. C. da; Faquin, V., 1999. Recomendações de adubação para cultivos em ambiente protegido. In: Ribeiro, A. C.; Guimarães, P. T. G.; Alvarez, V. H. (Ed.). *Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação*. Viçosa – MG: UFV.

Gould, W.A. 1992. *Tomato Production, Processing ; Technology*; 3ed.; CTI Pub. Inc.; Baltimore.

Hermes, S.; Seehaus, K.; Koehle, H.; Conrath, U., 2002. A strobilurin fungicide enhances the resistance of tobacco against tobacco mosaic virus and *Pseudomonas syringae* pv *tabaci*. *Plant Physiology* 130, 120-127.

Inbar, M.; Doostar, H.; Sonoda, R. M.; Leibe, G. L.; Mayer, T., 1998. Elicitors of plant defensive system reduce insect densities and disease incidence. *Journal of Chemical Ecology*, New York, 24, 135-149.

Instituto Adolfo Lutz. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 2008. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. Digital. São Paulo: IMESP, v.1.

Iriti, M.; Faoro, F., 2003. Benzothiadiazole (BTH) induces cell-death independent resistance in *Phaseolus vulgaris* against *Uromyces appendiculatus*. *Journal of Phytopathology*, Berlin, 151, 171-180.

Lever, M., 1972. A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates. *Analytical Biochemistry*, New York. 47, p. 273-279.

Lewis, M. L. I; Mera, J. R.; Miller, S. A., 2005. Evaluation of fungicides and bactericides for the control of foliar and fruit diseases of processing tomatoes. 2005. Disponível em: <<http://www.ag.ohio-state.edu/~vegnet/library/res04/tomato.pdf>>. Acesso em: 4 out. 2009.

Lopes, C. A.; Quezado-Duval, M. A., 2005. Doenças bacterianas. In: LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C. (Ed.) *Doenças do tomateiro*. Brasília: EMBRAPA-CNPq, p. 62-64.

Louws, F. J., Wilson, M., Campbell, H. L., Cuppels, D. A., Jones, J. B., Shoemaker, P. B., Sahin, F., And Miller, S. A., 2001. Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator. *Plant Disease*, Saint Paul, 85, 481-488.

Lusso, M.F.G.; Pascholati, S.F., 1999. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. *Summa Phytopathologica, Botucatu*, 25, 244-249.

Marco, G.M., Stall, R.E., 1983. Control of bacterial spot of pepper initiated by strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* that differ in sensitivity to copper. *Plant Disease, Beltsville*, 67, 779-781.

Maringoni, A.C.; Kurozawa, C., Barbosa, V., Silva Neto, J.M., 1986. Controle químico da mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye) do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Summa Phytopathologica, Piracicaba*, 12, 92-101.

Mccarter, S.M., 1992. Effects of bactericide treatments on bacterial spot severity and yield of different pepper genotypes and on populations of certain insects. *Plant Disease*, v. 76, p. 1042-1045.

Mello, S.C.M., Takatsu, A.; Lopes, C.A.; 1997 Escala diagramática para avaliação da mancha-bacteriana do tomateiro. *Fitopatologia Brasileira* 22, 447-448.

Monteiro, C.S.; Balbi, M.E.; Miguel, O.G.; Penteado, P.T.P.S.; Haracemiv, S.M.C., 2008. Nutritional quality the antioxidants of the tomato “Italian type”. *Alim. Nutr., Araraquara*, 19, 25-31.

Nascimento, A. D. R. Ação de produtos químico *in vitro*, em mudas e em campo sobre a mancha bacteriana (*Xanthomonas perforans* e *X. gardneri*) em tomate para processamento industrial. 126 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Produção Vegetal) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

Paradela, A. L., Scachetti, A. P., Munhoz, R., Borim, Jr. N., Calafiori, M. H., Galli, M. A., 2001. Eficiência de Bion (acibenzolar-S- methyl) como indutor de resistência para o complexo bacteriano (*Xanthomonas vesicatoria* *pseudomonas syringae* pv *tomato* e *Clavibacter michiganense* subsp *michiganense*) e insetos vetores de fitovirose na cultura do tomate (*Lycopersicon esculentum* L.). *Revista Ecosistema, São José dos Pinhais*, 26, 17-22.

Quezado-Duval, A.M.; Leite Júnior, R.P.; Lopes, C.A.; Lima, M.F.; Camargo, L.E.A., 2005. Diversity of *Xanthomonas* spp. associated with bacterial spot of processing tomatoes in Brazil. *Acta Horticulturae, Belgium*, 695, 101-108.

Quezado-Duval, A.M.; Gazzoto Filho, A.; Leite Júnior, R.P.; Camargo, L.E.A., 2003. Sensibilidade a cobre, estreptomicina e oxitetraciclina em *Xanthomonas* spp. associadas à mancha-bacteriana do tomate para processamento industrial. *Horticultura Brasileira*, 21, 670-675.

Raupp, D.S.; Gardino, J.R.; Schebeski, L.S.; Amadeu, C.A.; Borsato, A.V. 2009. Processamento de tomate seco de diferentes cultivares. *Acta Amaz. Manaus*.

Romero, A.M.; Kousik, C.S; Ritchie, D. F., 2001. Resistance to bacterial spot in bell pepper induced by acibenzolar-S-methyl. *Plant Disease*, Beltsville,. 85, 189-194.

Silva, J.B.C.; Giordano, L.B.,2000. Produção Mundial E Nacional. In: Silva, J.B.C. Giordano, L. B. (Ed.). *Tomate para processamento industrial*. Brasília: Comunicação para transferência de tecnologia/Embrapa Hortaliças, p. 8-11.

Silva, L. H. C. P. da, Resistência sistêmica ativada pelo acibenzolar-S-metil contra doenças em tomateiro. 2002. 89 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

Soares, R.M.; Maringoni, A.C.; Lima, G.P.P., 2004. Ineficiência de acibenzolar-S-methyl na indução de resistência de feijoeiro comum à *murcha-de-curtobacterium*. *Fitopatologia Brasileira*, Fortaleza, 29, 373-377.

Stall, R.E.,1993. *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*: cause of bacterial spot of tomato and pepper. In: Swings, J.G.; Civerolo, EL.L. (Ed.). *Xanthomonas*. London: Chapman ; Hall, p.57-60.

Umesha, S., 2006. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. *Phytoparasitica*, Bet Dagan, 34, 68-71.

Vale, F.X.R.; Zambolim, L.;Zambolim, E.M. Alvarenga, M.A.R., 2004. Manejo integrado das doenças do tomateiro: Epidemiologia e Controle. In.: Alvarenga, M.A.R. (Ed.). *Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia*. Lavras: Editora UFLA, p. 217-302.

Venancio, W.S.;Rodrigues, M.A.T.; Begliomini, E., Souza, N. L., 2003.Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. *Ciências Agronômicas e Engenharia*. 9, 59-68.

Vigo-Schultz, S. C. Avaliação da indução de resistência no controle do cretamento bacteriano comum do feijão vagem.2008. 78p. Doutorado (Doutorado na área de Proteção de Plantas), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho, Botucatu,2008.

Tabela 1. Ingrediente ativo e dose dos produtos químicos pulverizados na cultura do tomate (híbrido AP 529) em condições de campo.

Ingrediente ativo	Sigla	Dose para 100 L de água
Acibenzolar-S-metil	ASM	2,5 g i.a.
Fluazinam	FL	25 g i.a.
Piraclostrobina	P	8 g i.a.
Piraclostrobina + methiran	P + M	20 g + 220 g i.a.
Oxicloreto de cobre	OC	150 g i.a.
Oxicloreto de cobre + mancozeb	OC + M	88 g + 60 g i.a.
Oxitetraciclina	OX	40 g i.a.

Fonte: Agrofit (2008)

Tabela 2. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para os anos agrícolas de 2009/2010 e 2010/2011 de plantas de tomateiro híbrido AP-529 inoculadas com *Xanthomonas perforans*.

Tratamento	-----AACPD -----			
	2009/2010		2010/2011	
ASM	405,54	A*	383,45	A
P + M	440,18	A	366,36	A
P	447,24	A	404,09	A
OC	499,28	A	409,42	A
OC + M	432,79	A	386,13	A
FL	412,48	A	435,91	A
OX	453,71	A	431,24	A
TI	815,87	B	716,89	B
CV %	8,17		11,84	

*Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem entre si, pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Massa total de frutos por parcela (kg), número de frutos total e massa média (g) do tomateiro híbrido AP-529 tratados com os fungicidas e antibiótico em tomateiro híbrido AP-529 e inoculadas com *Xanthomonas perforans* para o ano agrícola de 2009/2010.

Tratamento	Massa total (kg/parcela)		Número total		Massa média (g)	
ASM	6,27	B*	87,2	B	73,75	A
P + M	10,76	A	144,7	A	74,00	A
P	8,36	A	127,0	A	67,50	A
OC	9,52	A	123,7	A	77,50	A
OC + M	9,57	A	133,0	A	72,50	A
FL	10,71	A	135,7	A	81,00	A
OX	5,37	B	69,5	B	78,25	A
TI	4,30	B	54,2	B	80,75	A
CV	27,37		25,98		10,49	

*Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem entre si, pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Massa total de frutos por parcela (kg), número de frutos total e massa média (g) do tomateiro híbrido AP-529 tratados com os fungicidas e antibiótico em tomateiro híbrido AP-529 e inoculadas com *Xanthomonas perforans* para o ano agrícola de 2010/2011.

Tratamento	Massa total (kg/parcela)		Número total		Massa média (g)	
ASM	12,1	B*	260,0	B	46,2	A
P + M	16,7	A	364,0	A	46,3	A
P	15,7	A	341,7	A	45,5	A
OC	11,8	B	286,0	B	41,5	A
OC + M	11,1	B	237,5	B	47,2	A
FL	10,9	B	243,7	B	47,8	A
OX	10,2	B	237,7	B	42,7	A
TI	10,3	B	220,5	B	47,0	A
CV	24,63		24,0		11,22	

*Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem entre si, pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 5: Valores de pH, acidez total e sólidos solúveis (°Brix) do tomate Híbrido AP-529 tratados com fungicidas e antibióticos e inoculados com *Xanthomonas perforans*.

Tratamento	----- 2009/2010 -----			----- 2010/2011 -----		
	°Brix	pH	Acidez total (mg ac.cítrico/100g)	°Brix	pH	Acidez total (mg ac.cítrico/100g)
ASM	4,14A*	4,33A	397,05A	5,07A	4,04A	380,40A
P + M	4,14A	4,33A	366,31A	5,23A	3,92A	391,33A
P	4,21A	4,33A	393,27A	5,14A	4,01A	398,04A
OC	4,11A	4,34A	382,96A	5,33A	3,90A	305,90A
OC + M	4,11A	4,29A	353,88A	5,11A	3,89A	412,85A
FL	4,15A	4,34A	381,68A	5,33A	3,67A	379,97A
OX	4,08A	4,33A	368,81A	5,10A	4,35A	382,53A
TI	3,84A	4,51B	338,98A	4,85A	4,58A	347,09A
CV	7,09	1,04	15,05	4,13	11,42	18,09

*Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem entre si, pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 6: Atividade expressa em área abaixo da curva do progresso da produção dos compostos avaliados. Atividade das enzimas de folhas de tomate tratadas com os produtos químicos nos tempos de coleta de 5 dias antes da inoculação 6, 15 e 25 após a inoculação com *Xanthomonas perforans*.

Tratamento	Enzimas-----				
	Peroxidase	Polifenol	Fenilalanina	β -1,3 Glucanase	Protease
----- Primeiro ano -----					
ASM	170,71A*	56,71A	8,81A	142,76A	23,41A
P + M	179,61A	68,19A	9,26A	137,60A	38,19A
P	179,61A	66,84A	10,15A	147,88A	48,19A
OC	125,90B	29,38B	10,32A	165,27A	27,67A
OC + M	117,33B	31,09B	11,22A	183,45A	18,77A
FL	148,19B	46,33B	13,07A	191,11A	26,52A
OX	121,90B	31,56B	12,70A	213,35A	31,56A
TI	118,20B	33,89B	9,11A	220,90A	28,89A
CV	15,71	26,93	21,86	39,40	40,13
----- Segundo ano -----					
ASM	114,90 A	33,31A	8,20A	204,56A	48,45A
P + M	110,40 A	31,37A	7,84A	193,23A	49,51A
P	114,11 A	30,63A	10,72A	144,50A	30,89A
OC	117,22 A	21,96B	10,94A	136,99A	41,63A
OC + M	131,11 A	19,28B	8,26A	166,78A	37,99A
FL	121,88 A	21,79B	10,32A	220,22A	45,25A
OX	133,21 A	21,75B	10,15A	182,55A	34,60A
TI	130,50 A	20,89B	13,94A	145,69A	41,58A
CV	15,19	26,71	25,5	41,50	32,43

*Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem entre si, pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3 CONCLUSÕES

Sob condições de casa-de-vegetação nos tomateiros ‘AP 529’, ‘Gisele’ e ‘Santa Clara’ a pulverização da parte aérea com acibenzolar-S-metil, piraclostrobina + methiran, piraclostrobina, oxicloreto de cobre, oxicloreto de cobre + mancozeb, fluazinam e oxitetraciclina, nas doses empregadas, apresentaram ação no controle da mancha bacteriana;

As enzimas peroxidase, polifenoloxidase e β -1,3 glucanase apresentaram maior ativação nas folhas dos tomateiros ‘AP 529’ e ‘Santa Clara’ pulverizados com acibenzolar-S-metil, piraclostrobina + methiran e piraclostrobina, sob condições de casa-de-vegetação; com exceção da β -1,3 glucanase para o tomateiro ‘AP 529’ pulverizado com piraclostrobina + methiran;

Em condições de campo, no tomateiro ‘AP 529’ houve maior produção apenas das enzimas peroxidase e polifenoloxidase em plantas pulverizadas com acibenzolar-S-metil, piraclostrobina e piraclostrobina + methiran.

A pulverização de acibenzolar-S-metil no tomateiro ‘AP 529’ interferiu negativamente na produção e no número de frutos produzidos, sob condições de campo.

Não houve interferência da pulverização dos fungicidas e antibiótico na qualidade química (°Brix e acidez total) dos frutos do tomateiro 'AP-529', somente no pH no primeiro ensaio em campo.

Os fungicidas à base de piraclostrobina reduziram a severidade da doença e aumentaram a atividade de algumas enzimas sem redução da produção, mostrando serem promissores no controle da mancha bacteriana.

4 REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL: anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria, 2010. p. 348-491.
- AGRIOS, G. **Plant pathology**. 5th. ed. New York: Academic Press, 2005. 952 p.
- AGUIAR, L. et al. Resistência ao cobre em isolados nacionais de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* de pimentão e tomateiro. **Agronomia**, Seropédica, v. 34, n. 1, p. 78-82, 2000.
- AL-DAHMANI, J. H. et al. Supression of bacterial spot of tomato with foliar sprays of compost extracts under greenhouse and field conditions. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 87, n. 8, p. 913-919, 2003.
- ALVARENGA, M. A. R. **Tomate**: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia. Lavras: Editora UFLA, 2004. 400 p.
- ARAÚJO, E. R. **Competitividade entre espécies de *Xanthomonas* causadoras da mancha bacteriana do tomateiro**. 2010. 82 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2010.
- BALDINI, E. M.; KUROZAWA, C. Comportamento de genótipos de tomateiro inoculados com *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, agente da mancha bacteriana do tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 15, p. 177-182, 1990.
- BARBOSA, V. The processing tomato growing system under tropical and subtropical conditions: the Brazilian experience. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE PROCESSING TOMATO, 1., 1996, Recife. **Proceedings...** Recife: IPA/ASHS, 1997. p. 94-97.

BARRETO, M.; SCALOPPI, E. G. (2000) Sistemas de previsão de hortaliças. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Manejo integrado de doenças, pragas e plantas daninhas**. Viçosa, MG: Suprema Gráfica e Editora, 2000. p. 169-186.

BAZZI, C.; MAZZUCCHI, U. Update on the most important bacterial diseases of fruit crops in the nursery. **L'informatore Agrario**, Verona, v. 34, p. 51-62, 1984.

BENHAMOU, N.; BÉLANGER, R.R. Benzothiadiazole-mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* in tomato. **Plant Physiology**, Rockville, v. 118, p. 1203-1212, 1998.

BONALDO, S. M.; PASCHOLATI, S. F.; ROMEIRO, R. S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTI, L. S. et al. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 11-28.

BOUZAR, H. et al. Multiphasic analysis of *Xanthomonas* causing bacterial spot disease on tomato and pepper in the Caribbean and Central America: Evidence for common lineages within and between countries. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 89, p. 328-335, 1999.

BOWLES, D. J. Defense-related proteins in higher plants. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 59, p. 837-907, 1990.

BRADBURY, J. F. **Guide to plant pathogenic bacteria**. Slough: CAB International, 1993. 332 p.

BUZI, A. et al. Induction of resistance in melon to *Didymella bryoniae* and *Sclerotinia sclerotiorum* by seed treatments with acibenzolar-S-methyl and methyl jasmonate but not with salicylic acid. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 152, p. 34-42, 2004.

CABRAL, C. P. et al. Efeito de acibenzolar-S-metil, mananoligossacarídeo e bioflavonóides cítricos no controle da mancha-aquosa e no crescimento do meloeiro. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v. 35, n. 2, p.119-123, 2010.

CAMARGO FILHO, W. P.; MAZZEI, A. R. Necessidade de Reconversão da Produção de Tomate em São Paulo: ações na cadeia produtiva. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 26, n. 6, p. 105-115, jun. 1996.

CAMPOS, A. D. et al. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 39, n. 7, p. 637-643, 2004.

CANÇADO JÚNIOR, F. L. et al. Aspectos econômicos da produção e comercialização do tomate para mesa. **Informe Agropecuário**, Cidade Nova, MG, v. 24, n. 219, p. 7-18, 2003.

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

CAVALCANTI, F. R. et al. Atividades de quitinase e beta-1,3-glucanase após eliciação das defesas do tomateiro contra a mancha-bacteriana. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, DF, v. 41, p. 1721-1730, 2006.

CIPOLLINI, D. F. Does competition magnify the fitness costs of induced responses in *Arabidopsis thaliana*? A manipulative approach. **Oecologia**, Berlin, v. 131, p. 514-520, 2002.

COOKSEY, D. A. Genetics of bactericide resistance in plant pathogenic bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 28, n. 1, p. 201-219, 1990.

CORNELISSEN, B. J. C.; MELCHERS, L. S. Strategies for control of fungal diseases with transgenic plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 101, p. 709-712, 1993.

COSTA, H. S.; RIOS-RUIZ, W.; LAMBAIS, M. R. Ácido silicílico inibe a formação de micorrizas arbusculares e modifica a expressão de quitinases e β -1,3 glucanases em raízes de feijoeiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 1, p. 1-14, 2000.

CUTT, J. R.; KLESSIG, D. F. Pathogenesis-related proteins. In: BOLLER, T.; MEINS, F. Jr. **Plant gene research: genes involved in plant defense**. Wien: Springer-Verlag, 1992. p. 209-243.

DANN, E. K. et al. The effect of pathogen inoculation or chemical treatment on activities of chitinase and β -1,3-glucanase and accumulation of salicylic acid in leaves of green bean, *Phaseolus vulgaris* L. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 49, p. 307-319, 1996.

DIETRICH, R.; PLOSS, K.; HEIL, M. Growth responses and fitness cost after induction of pathogen resistance depend on environmental condition. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 28, p. 211-222, 2005.

DIXON, R. A.; PAIVA, N. L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **Plant Cell**, Baltimore, v. 7, p. 1085-1097, 1995.

DUVAL-QUEZADO, A. M.; CAMARGO, L. E. A. Raças de *Xanthomonas* spp. associadas à mancha-bacteriana em tomate para processamento industrial no Brasil. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 22, n. 1, p. 80-86, 2004.

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

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2008. 421 p.

- FLURKEY, W. H. Polypeptide composition and amino-terminal sequence of broad bean polyphenoloxidase. **Plant Physiology**, Rockville, v. 91, p. 481-483, 1989.
- FRIEDRICH, L. et al. Benzothiadiazole derivate induces systemic acquired resistance in tobacco. **Plant Journal**, Oxford, v. 10, p. 61-70, 1996.
- FRY, S.C. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. **Annual Review of Plant Physiology**, Stanford, v. 37, p. 165-186, 1986.
- GARDNER, M. W.; KENDRICK, J. B. Bacterial spot of tomato. **Journal of Agricultural Research**, Pakistan, v. 21, p. 123-156. 1921.
- GARRITY, G. M.; HOLT, J. G. An overview of the road map to the manual. **Systematic bacteriology**. 2nd. ed. New York: Springer, 2000. 20 p. (Bergey's manual).
- GAYET, J. P. et al. **Tomate para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita**. Brasília: EMBRAPA, 1995. 34 p. (Série Publicações técnicas FRUPEX, 13).
- GITAITIS, R.; McCARTER, S.; JONES, J. B. Disease control in tomato transplants produced in Georgia and Flórida. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 76, n. 7, p. 651-656, 1992.
- GODFREY, T.; WEST, S. **Industrial enzymology**. 2nd. ed. New York: Macmillan, 1996. p. 3.
- GOODE, M. J.; SASSER, M. Prevention the key to controlling bacterial spot and bacterial speck of tomato. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 64, p. 831-834, 1980.
- GOODMAN, R. N.; KIRALY, Z.; WOOD, K. R. **The biochemistry and physiology of plant disease**. University of Missouri Press: Columbia, 1986. 435 p.
- GOTO, R.; TIVELLI, S. W. **Produção de hortaliças em ambiente protegido: condições subtropicais**. São Paulo: Fundação Editora da UNESP, 1998. 319 p.
- HAMMERSCHMIDT, T.; NUCKLES, E. M.; KUĆ, J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 20, n.1, p. 73-82, Jan. 1982.
- HARVEY, M.; QUILLEY, S.; BEYNON, H. **Exploring the tomato: transformations of nature, society and economy**. Cheltenham, UK: Edward Elgar, 2002. 324 p.
- HERMS, S. et al. A strobilurin fungicide enhances the resistance of tobacco against tobacco mosaic virus and *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. **Plant Physiology**, Brasília, DF, v. 130, p. 120-127, 2002.
- HIRAGA, S. et al. A large family of class III plant peroxidases. **Plant and Cell Physiology**, Tokio, v. 42, n. 5, p. 462-468, 2001.

HOAGLAND, R. E. Biochemical responses of plants to pathogens. In: HOAGLAND, R. E. (Ed.). **Microbes and microbial products as herbicides**. Washington, DC: American Chemical Society, 1990. p. 87-113.

ISHIGE, F. et al. Identification of a vasic glycoprotein induced by ethylene in primary leaves of azuki bean as c cationic peroxidase. **Plant Physiology**, Rockville, v. 101, p. 193-199, 1993.

JONES, J. B. Bacterial spot. In: JONES, J. B. et al. (Ed.). **Compendium of tomato diseases**. Saint Paul: APS Press, 1997. 27 p.

JONES, J. B. et al. Systematic analysis of xanthomonads (*Xanthomonas* spp.) associated with pepper and tomato lesions. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Washington, DF, v. 50, p. 1211-1219, 2000.

JONES, J. B. et al. Bacteriaspot -Worldwide distribution, importance and review. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 695, p. 27-33, 2005.

JONES, J. B. et al. Reclassification of the *Xanthomonas* associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 27, p. 755-762, 2004.

JONES, J. B.; STALL, R. E. Diversity among *Xanthomonas* pathogenics on pepper and tomato. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 36, p. 41-58, 1998.

JONES, J. B.; STALL, R. E.; BOUZAR, H. Diversity among *xanthomonas* pathogenic on pepper and tomato. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 36, p. 41-58, 1998.

KAGALE, S. et al. Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura metel* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 65, p. 91-100, 2004.

KESSMAN, H. et al. Inductions of systemic acquired resistance in plants by chemicals. **Annual Review of Phytopathology**, Stanford, v. 32, p. 439-459, 1994.

KNYAZWA, Z. V. Bacterial diseases of tomato. **Review of Plant Pathology**, Wallingford, v. 60, n. 1, p. 47-48, 1981.

KÖEHLE, H. et al. Physiological effects of the strobilurin fungicide F 500 on plants. In: LYR, H. et al. (Eds.). **Modern fungicides and antifungal compounds III**. Andover, 2002. p. 61-74.

KOIKE, N. et al. Induction of systemic resistance in cumcuber against several disease by plant growth-promoting fungi: lignification and superoxide generation. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 107, n. 5, p. 523-533, 2001.

KOLLER, W. Chemical approach to managing plant pathogens. In: RUBERSON, J.R. (Ed.). **Handbook of integrated pest management**. New York: Dekker, 1998. chap. 1, p. 1-38.

KRISTENSEN, B. K.; BLOCH, H.; RASMUSSEN, S. K. Barley coleoptile peroxidases. Purification, molecular cloning, and induction by pathogens. **Plant Physiology**, Rockville, v. 120, p. 501-512, 1999.

KUHN, O. J.; PASCHOLATI, S. F. Custo adaptativo da indução de resistência em feijoeiro mediada pela rizobactéria *Bacillus cereus* ou acibenzolar-S-metil: atividade de enzimas, síntese de fenóis e lignina e biomassa. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 2, p. 107-114, 2010.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A. Doenças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Editora Ceres, 2005. v. 2, p. 607-626.

LAI, M.; SAFFER, W.; PANAPOULOS, N. J. Stability of plasmid-borne antibiotics resistance in *Xanthomonas vesicatoria* in infected tomato leaves. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 67, n. 12, p. 1527-1530, 1977.

LAMB, C.; DIXON, R. A. The oxidative burst in plant disease resistance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 4, p. 251-275, 1997.

LAWTON, K. et al. Benzothiadiazole induces disease resistance in *Arabidopsis* by activation of systemic acquired resistance signal transduction pathway. **The Plant Journal**, Oxford, v. 10, n. 1 p. 71-82, 1996.

LEWIS, M. L. I.; MERA, J. R.; MILLER, S. A. Evaluation of fungicides and bactericides for the control of foliar and fruit diseases of processing tomatoes. Disponível em: <<http://www.ag.ohio-state.edu/~vegnet/library/res04/tomato.pdf>>. Acesso em: 4 out. 2008.

LINDEMANN, J.; ARNY, D. C.; UPPER, C. D. Epiphytic populations of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* on snap bean and nonhost plants and the incidence of bacterial brown spot disease in relation to cropping patterns. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 74, p.1329-1333, 1984.

LOPES, C. A.; QUEZADO-DUVAL, M. A.; Doenças bacterianas. In: LOPES, C. A.; ÀVILA, A. C. (Ed.). **Doenças do tomateiro**. 2. ed. Brasília, DF: EMBRAPA, CNPH, 2005. cap. 2, p. 62-64.

LOPES, C. A.; QUEZADO-SOARES, A. M. Controle químico da mancha-bacteriana em tomateiro para processamento industrial. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 25, n.1, p.21-22, 1999.

LOPES, C. A.; QUEZADO-SOARES, A. M. **Doenças das hortaliças: diagnose e controle**. Brasília, DF: Embrapa, CNPH, 1997. 70 p.

LOUWS, E. J. et al. Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator. **Plant Disease**, Beltsville, v. 85, p. 481-488, 2001.

LYON, G. D.; NEWTON, A. C. Do resistance elicitors offer new opportunities in integrated disease control strategies? **Plant Pathology**, London, v. 46, p. 636-641, 1997.

MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS; UFLA, FAEPE, 2000. 138 p.

MARCO, G. M.; STALL, R. E. Control of bacterial spot of pepper initiated by strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* that differ in sensitivity to copper. **Plant Disease**, Beltsville, v. 67, n. 7, p. 779-781, 1983.

MARINGONI, A. C.; KIMATI, H. Sensibilidade *in vitro* de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye de pimentão e de tomateiro a drogas. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 13, p. 160-172, 1987.

MARINGONI A. C.; KUROZAWA, C. Erradicação de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* em sementes de tomateiro. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 16, p. 191-194, 1994.

MARINGONI, A. C. et al. Controle químico da mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye) do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 12, n. 1/2, p. 92-101, 1986.

MAUCH, F.; STAEHELIN, L. A. Functional implications of the subcelular localization of ethylene-induced chitinase and β -1,3-glucanase in bean leaves. **Plant Cell**, Baltimore, v. 1, p. 447-457, 1989.

MAYER, A. M.; HAREL, E. Polyphenol oxidases in plants. **Phytochemistry**, New York, v. 18, p. 193-215, 1979.

MCMANUS, P.; STOCKWELL, V. Antibiotics for plant diseases control: silver bullets or rusty sabers. **APSnet Features Online**. 2000. Disponível em: <<http://www.apsnet.org/publications/apsnetfeatures/Pages/AntibioticsForPlants.aspx>> Acesso em: 10 jun. 2008.

MELLO, S. C. M.; LOPES, C. A.; TAKATSU, A. Avaliação de resistência em genótipos de tomateiro à mancha-bacteriana, em campo e em casa-de-vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 22, n. 4, p. 496-501, 1997.

MELLO, S. C. M., LOPES, C. A., TAKATSU, A. Avaliação de virulência de isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* ao tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 21, n. 3, p. 39-43, 1996.

- MENTEN, J. O. M. Importância do tratamento de sementes. In: MENTEN, J. O. M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: ESALQ; FEALQ, 1991. p. 203-224.
- MICKAIL, K.Y. et al. Tomato seed treatments and seed storage to control bacteria spot or scab. **Agricultural Research Review**, Oklahoma, v. 48, p. 23-27, 1970.
- MINAMI, K. **O tomateiro**. Piracicaba: Fundação Cargill; ESALQ-USP, 1978. 350 p.
- MOHAMMADI, M.; KAZEMI, H. Changes in peroxidases and polyphenol oxidases activities in susceptible and resistance wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced resistance. **Plant Science**, Shannon, v. 162, p. 491-498, 2002.
- MORAES, M. G. Mecanismos de resistência sistêmica adquirida em plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 6, p. 261-284, 1998.
- NASCIMENTO, A. D. R. **Ação de produtos químico *in vitro*, em mudas e em campo sobre a mancha bacteriana (*Xanthomonas perforans* e *X. gardneri*) em tomate para processamento industrial**. 2009. 126 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Produção Vegetal)-Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.
- NASCIMENTO, W. M.; MIRANDA, J. E. C.; MORAES, M. H. D. Avaliação da qualidade de sementes de tomate para indústria. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 8, n. 2, p. 31, 1990.
- PAGLIUCA, L. G.; DELEO, J. P. B. Gestão de custos: princípios para gestão econômica sustentável da propriedade de tomate de mesa. **Hortifruti Brasil**, Piracicaba, v.7, n. 69, p. 8-22, 2008.
- PARADELA, A. L. et al. Eficiência de Bion (acibenzolar -S-methyl) como indutor de resistência para o complexo bacteriano (*Xanthomonas vesicatoria*, *Pseudomonas syringae* pv *tomato* e *Clavibacter michiganense* subsp *michiganense*) e insetos vetores de fitoviroses na cultura do tomate (*Lycopersicon esculentum* L.). **Revista Ecosystema**, São José dos Pinhais, v. 26, n. 1, p. 17-22, 2001.
- PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: Mecanismos de resistência. In. BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H., AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, cap. 22, p. 417-454.
- PENG, X.; ZHANG, H.; BAI, Z.; LI, B. Induced resistance to *Cladosporium cucumerinum* in cucumber by pectinases extracted from *Penicillium oxalicum*. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 32, p. 377-387, 2004.

PERALTA, I. E.; KNAPP, S.; SPOONER, D. M. New species of wild tomatoes (*Solanum* section *Lycopersicon*: Solanaceae) from Northern Peru. **Systematic Botany**, Laramie, v. 30, p. 424-434, 2005.

PEREIRA, R. C. **Ocorrência, identificação e caracterização das espécies de *Xanthomonas*, causadoras de mancha bacteriana em tomate para mesa no Brasil**. 2010. 90 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2010.

QUEZADO-DUVAL, A. M. **Diversidade de *Xanthomonas* spp. associadas à mancha bacteriana em tomateiro para processamento industrial no Brasil**. 2003. 111 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

QUEZADO-DUVAL, A. M. Período chuvoso aumenta incidência de doenças bacterianas. **Campos e Negócios**, Uberlândia, v. 1, n. 5, p. 27-28, 2006.

QUEZADO-DUVAL, A. M. et al. Outbreaks of bacterial spot caused by *Xanthomonas gardneri* on processing tomato in central-west Brazil. **Plant Disease**, Beltsville, n. 88, p. 157-161, 2004.

QUEZADO-SOARES, A. M. et al. Redução da produtividade de tomateiro para processamento industrial devido à mancha-bacteriana. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 38., 1998, Petrolina. **Resumos...** Petrolina: SOB, 1998. p. 266.

QUEZADO-DUVAL, A. M. et al. Sensibilidade a cobre, estreptomicina e oxitetraciclina em *Xanthomonas* spp. associadas à mancha-bacteriana do tomate para processamento industrial. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 21, n. 4, p. 670-675, 2003.

RAMOS, G. B. A. **Caracterização da resistência ao cobre em *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria***. 1994. 71 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)-Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.

RASMUSSEN, J. B. et al. cDNA cloning and systemic expression of acidic peroxidases associated with systemic acquired resistance to disease in cucumber. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 46, p. 389-400, 1995.

RITTER, H.; SCHULZ, G.E. Structural basis for the entrance into the phenylpropanoid metabolism catalyzed by phenylalanine ammonia-lyase. **Plant Cell**, Baltimore, v. 16, p. 3426-3436, 2004.

RODRIGUES NETO, J. Doenças bacterianas do tomateiro. In: SINIGAGLIA, C. et al. **Manejo integrado de pragas e doenças do tomateiro**. São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento, 2000. p. 42-52. (Manual técnico, 6).

RODRIGUES NETO, J.; SUGIMORI, M. H.; MALAVOLTA JÚNIOR, V. A. Raças de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye, no Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 51, n. 1/4, p. 13-16, 1984.

RODRIGUES NETO, J.; MALAVOLTA JUNIOR, V. A.; SINIGAGLIA, C.; RAMOS, R. S. Ocorrência de *Pseudomonas corrugata* em tomateiro no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 15, p. 20, 1989.

RODRIGUES, A. A.; BEZERRA NETO, E.; COELHO, R. S. B. Indução de resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* em Caupi: eficiência de indutores abióticos e atividade enzimática elicitada. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 31, n. 5, p. 492-499, 2006.

ROMEIRO, R. S. **Bactérias fitopatogênicas**. Viçosa: Imprensa Universitária UFV, 1995. 367 p.

ROMEIRO, R. S. Indução de resistência em plantas a patógenos. In: PASCHOLATI, S. F. et al. (Org.). **Interação planta-patógeno: fisiologia e biologia molecular**. Piracicaba: Fealq, 2008. p. 411-429.

ROMEIRO, R. S.; KIMURA, O. Induced resistance in pepper leaves infiltrated with purified bacterial elicitors from *Xanthomonas campestris* pv. *versicatoria*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 145, p. 495-498, 1997.

ROMERO, A. M.; KOUSIK, C. S.; RITCHIE, D. F. Resistance to bacterial spot in bell pepper induced by acibenzolar-S-methyl. **Plant Disease**, Beltsville, v. 85, n. 2, p. 189-194, 2001.

SABIO, R. P.; PAGLIUCA, L. G. Tomate: um excelente ano para a tomaticultura. **Hortifruti Brasil**, Piracicaba, v. 6, n. 64, p. 16-19, dez. 2008.

SALLES, I. I.; BLOUNT, J. W.; DIXON, R. A.; SCHUBERT, K. Phytoalexin induction and β -1,3-glucanase activities in *Colletotrichum trifolii* infected leaves of alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 61, p. 89-101, 2002.

SÁNCHEZ, E. et al. Phenolic compounds and oxidative metabolism in green bean plants under nitrogen toxicity. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v. 27, p. 973-978, 2000.

SARMA, A. D.; SREELAKSHMI, Y.; SHARMA, R. Differential expression and properties of phenylalanine ammonia-lyase isoforms in tomato leaves. **Phytochemistry**, Oxford, v. 49, n. 8, p. 2233-2243, Dec. 1998.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S. et al. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: Fealq, 2005. p. 125-138.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. In: PASCHOLATI, S. F. et al. **Interação planta-patógeno: fisiologia e biologia molecular**. Piracicaba: Fealq, 2008. p. 227- 247.

SCOTT, J. W.; JONES, J. B. Inheritance of resistance to foliar bacterial spot of tomato incited by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. **Journal of the American Society Horticultural Science**, Mount Vernon, v.114, N. 1, p.111-114. 1989.

SEDIYAMA, M. A. N.; FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. Práticas culturais adequadas ao tomateiro. **Informe Agropecuário**, Cidade Nova, MG, v. 24, n. 219, p. 19-25, 2003.

SILVA, A. M. S. et al. Termoterapia via calor seco no tratamento de sementes de tomate: eficiência na erradicação de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* e efeitos sobre a semente. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, p. 586-593, 2002.

SILVA, J. B. C.; GIORDANO, L. B. Produção mundial e nacional. In: SILVA, J. B. C. GIORDANO, L. B. (Ed.). **Tomate para processamento industrial**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2000. cap. 1, p. 8-11.

SILVA-LOBO V. L.; GIORDANO, L. B.; LOPES, C. A. Herança da resistência à mancha bacteriana em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 30, p. 343-349, 2005.

SOBRINHO, C.A., FERREIRA, P.T., CAVALVANTI, L.S. Indutores abióticos. In: CAVALCANTI, L. S. et al. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: Fealq, 2005. p. 51-80.

STALL, R. E. *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*: cause of bacterial spot of tomato and pepper. In: SWINGS, J. G.; CIVEROLO, E. L. L. (Ed.). **Xanthomonas**. London: Chapman ; Hall, 1993. chap. 1.10, p. 57-60.

STALL, R. E.; LOSCHKE, D. E.; RICE, R. W. Conjugation transfer of copper resistance and virulence to pepper within strain of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. **Phytopathology**, Saint Paul, n. 74, p. 797, 1984. Abstract.

STALL, R. E.; THAYER, P. L. Streptomycin resistance of the bacterial spot pathogen and control with streptomycin. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 46, n. 6, p. 389-392, 1962.

THIPYAPONG, P.; HUNT, M. D.; STEFFENS, J. C. Antisense downregulation of polyphenol oxidases results in enhanced disease susceptibility. **Planta**, Berlin, v. 220, p. 105-117, 2004.

TREMACOLDI, C. R. Proteases e inibidores de proteases na interação planta-microrganismo. In: PASCHOLATI, S. F. et al. (Org.). **Interação planta-patógeno: fisiologia e biologia molecular**. Piracicaba: Fealq, 2008. p. 373-386.

UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 34, n. 1, p. 68-71, 2006.

VAKILI, N.G. Importance of wounds in bacterial spot (*Xanthomonas vesicatoria*) of tomatoes in the field. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 57, p. 1099-1003, 1967.

VALE, F. X. R. et al. Manejo integrado das doenças do tomateiro: Epidemiologia e Controle. In.: ALVARENGA, M.A.R. (Ed.). **Tomate**: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia. Lavras: Editora UFLA, 2004. p. 217-302.

VAN DER HOORN, R. A. L.; JONES, J. D. G. The plant proteolytic machinery and its role in defence. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 7, p. 400-407, 2004.

VAN LOON, L. C. Induced resistance in plant and the role of pathogenesis related proteins. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 103, n. 9, p. 753-765, 1997.

VAN LOON, L. C.; VAN STRIEN, E. A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 55, n. 2, p. 85-97, 1999.

VAN LOON, L. C. et al. Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. **Plant Molecular Biology Reporter**, Berlin, v. 12, n. 3, p. 245-264, Sept. 1994.

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

VENANCIO, W. S. et al. Efeitos fisiológicos de fungicidas sobre plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 13, p. 49-73, 2005.

VENANCIO, S. et al. Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. **Publicatio UEPG**, Ponta Grossa, v. 9, p. 59-68, 2003.

VERA, P.; TORNERO, P.; CONEJERO, V. Cloning and expression analysis of a viroid induced peroxidase from tomato plants. **Molecular Plant Microbe Interactions**, Saint Paul, v. 6, p. 790-794, 1993.

WOJTASZEK, P. Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection. **Biochemistry Journal**, London, v. 322, p. 681-692, 1997.

XIANG, L.; MOORE, B. S. Biochemical characterization of a prokaryotic phenylalanine ammonia lyase. **Journal of Bacteriology**, Washington, DC, v. 187, p. 4286-4289, 2005.

YANG, W. et al. Mining tomato genome sequence databases for molecular markers: application to bacterial resistance and marker assisted selection. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 695, p. 241-250, 2004.

ZAVALA, J. A. et al. Constitutive and inducible trypsin proteinase inhibitor production incurs large fitness costs in *Nicotiana attenuate*. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, Washington, DC, v. 101, p. 1607-1612, 2004.

ZIMMERLI, L. et al. Potentiation of pathogen-specific defense mechanisms in Arabidopsis by β -aminobutyric acid. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, Washington, DC, v. 97, p. 12912-12925, 2000.