

CIRCULAR TÉCNICA

164

Brasília, DF  
Julho, 2018

# Protocolo para avaliação da resistência à murcha bacteriana em genótipos de tomate e pimentas *Capsicum*

Carlos Alberto Lopes





# Protocolo para avaliação da resistência à murcha bacteriana em genótipos de tomate e pimentas *Capsicum*

## Introdução

A murcha bacteriana, causada pelo complexo de espécies *Ralstonia solanacearum*, destaca-se como doença de planta por afetar mais de 200 espécies distribuídas em mais de 50 famílias botânicas. De acordo com recente reclassificação desse complexo fitopatogênico (Fegan; Prior, 2005; Safni et al., 2014), no Brasil são encontradas as espécies *R. solanacearum* (Biovars 1 e 2, Filotipo II) e *R. pseudosolanacearum* (Biovar 3, Filotipo I), a primeira de distribuição geral e a segunda mais concentrada nas Regiões Norte e Nordeste, onde prevalecem temperaturas mais altas. Ambas as espécies infectam tanto o tomate (*Solanum lycopersicum*) como as pimentas e pimentão (*Capsicum* spp.), embora isolados hoje classificados como *R. pseudosolanacearum* sejam encontrados com maior frequência em *Capsicum* (Coelho Neto et al., 2004; Lopes; Boiteux, 2004).

O controle da murcha bacteriana em solanáceas tem sido um desafio para os produtores há mais de um século, quando a bactéria causadora desta doença foi inicialmente relatada. Dentre as medidas de controle mais pesquisadas, o melhoramento genético evoluiu consideravelmente nas últimas décadas, alavancado pelas novas técnicas moleculares que permitem entender cada vez melhor as características do patógeno, da planta e das suas interações. No entanto, os melhoristas têm encontrado pela frente um patógeno “variável e traiçoeiro” (Sequeira, 1994; Fegan; Prior, 2005), capaz de frustrar as expectativas de qualificadas equipes de pesquisadores: consistentemente, a proteção conferida pela resistência tem-se mostrado regional e relacionada à condição climática (Lopes; Mendonça, 2014; Lopes et al., 2015).

---

**Carlos Alberto Lopes**

Engenheiro-agrônomo, Ph.D. em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Hortaliças, Brasília, DF

O comportamento instável de genótipos considerados resistentes tem como explicações:

1. Esses genótipos são expostos a condições agro-ecológicas onde podem existir distintas espécies de *Ralstonia* spp., cada qual com seu arsenal genético que lhe conferem diferenciada capacidade patogênica e de competitividade no solo frente à comunidade microbiana. Isso requer programa de melhoramento que venha a selecionar genótipos resistentes a isolados do patógeno representativos da região e da principal época de plantio ou condição de cultivo (melhoramento regional ou customizado).
2. As fontes de resistência à murcha bacteriana até então encontradas são de natureza poligênica, que é altamente influenciada pelo ambiente, em especial temperatura e umidade. Mesmo que QTLs (Quantitative Trait Loci) já tenham sido identificados controlando a resistência em diversas hospedeiras (Carmeille et al., 2006; Wang et al., 2013), a transferência simultânea de vários genes é complicada, ainda mais que genes indesejáveis podem ser “arrastados” juntos (Lopes; Boiteux, 2012; Huet, 2014).
3. Alto nível de resistência tem sido buscado para evitar a dispersão do patógeno em infecções latentes em genótipos “tolerantes”, que hospedam o patógeno sem manifestar a doença (Huet, 2014);
4. A não ser para a produção de porta-enxertos, a resistência durável, tem que estar combinada a um conjunto de características comerciais do produto, também envolvendo grande número de genes (Lopes et al., 2015);
5. Diferentemente da resistência qualitativa, em que a distinção de genótipos resistentes e suscetíveis é evidente, o processo de avaliação de genótipos para a resistência quantitativa é mais sutil e requer metodologia precisa que evite a seleção de falsos resistentes ou que níveis intermediários de resistência deixem de ser identificados. Este fato explica resultados divergentes encontrados na literatura resultantes do uso de diferentes metodologias no processo de seleção.

Este documento tem como objetivo apresentar a metodologia desenvolvida e aprimorada nas últimas décadas na Embrapa Hortaliças para identificar acessos com resistência parcial (quantitativa) à murcha bacteriana em tomate e pimentas do gênero *Capsicum* em casa de vegetação. A seguir, são

apresentados os passos críticos que devem ser levados em consideração para se obter uma seleção confiável visando a obtenção de genótipos com resistência estável:

## Planejamento

Inicialmente, recomenda-se a participação de estatístico para, juntamente com a equipe, definir o delineamento experimental, o tamanho adequado das parcelas e o número de repetições, tudo em função do número de genótipos da hospedeira e o número de isolados do patógeno a serem avaliados. Altos coeficientes de variação, que levam a falhas na interpretação dos resultados, são frequentemente observados quando se usa número insuficiente de plantas na parcela experimental. Isto porque escapes são comuns para doenças causadas por patógenos de solo, como é o caso da murcha bacteriana. Por outro lado, parcelas muito grandes restringem o número de tratamentos em função da infraestrutura normalmente disponível na instituição. Deve ser levado em consideração que, para tais patossistemas, a chance de haver interação isolado x genótipo é grande.

Em caso de seleção preliminar, quando se dispõe de muitos acessos para avaliar, sugere-se 10 plantas de cada acesso e apenas um isolado representativo do patógeno para aquela hospedeira. Após essa primeira seleção, os genótipos mais resistentes poderão ser então desafiados com, pelo menos, três isolados representativos do grupo taxonômico ou da região alvo, cujas virulências tenham sido previamente testadas. Neste caso, são recomendadas parcelas de seis vasos replicadas três vezes, cada vaso de meio litro com uma planta. Por exemplo, se forem avaliados 10 genótipos (inclusive as testemunhas), para três isolados com três repetições de seis plantas, são necessários 540 vasos (10x3x3x6). Este número não deve ser ultrapassado, pois está no limite superior da capacidade de inoculação em um único dia, considerando uma equipe de quatro pessoas.

## Preparo das plantas

De acordo com o exemplo acima, são necessárias 54 mudas de cada genótipo (18x3); recomenda-se a semeadura de uma bandeja de 128 células para garantir a escolha de plantas uniformes por ocasião da inoculação (10

genótipos = 10 bandejas). Neste caso, 180 mudas (540/3 ou 10x3x6) serão inoculadas com cada um dos três isolados da bactéria.

É importante que as plantas a serem inoculadas sejam uniformes e vigorosas (Figura 1). Mudas com idades fisiológicas distintas podem mascarar a reação do genótipo. Plantas mais desenvolvidas normalmente são mais “resistentes” que plantas novas e resultam em maior número de escapes. Deve-se evitar, portanto, o uso de sementes velhas, de germinação desuniforme. Deve-se evitar também avaliar acessos de espécies diferentes de *Solanum* e de diferentes grupos varietais de pimentas *Capsicum* em um mesmo experimento, pois algumas delas têm germinação mais demorada que as variedades comerciais, por exemplo.



Fotos: Carlos Alberto Lopes

**Figura 1.** Mudas de *Capsicum* sp. (A) e tomate (B) em ponto de inoculação com *Ralstonia* sp.

Para o enchimento das bandejas, o substrato deve ser estéril, adquirido de firma idônea, e ser fertilizado com adubos de solubilização lenta. A quantidade de adubo deve ser ajustada conforme instrução do fabricante.

A semeadura é feita com duas sementes por célula em bandejas de plástico ou de isopor de 128 células, novas ou devidamente desinfestadas com produtos à base de cloro, amônia quaternária ou outro desinfestante. É deixada uma muda por célula em caso de ambas germinarem, com desbaste feito em mudas com aproximadamente 2 cm de comprimento. Para facilitar a operação, a semeadura deve ser feita logo após o enchimento das bandejas, quando o substrato ainda se encontra ligeiramente úmido. Sugere-se usar

um molde padronizador de profundidade, que facilita a semeadura e permite a emergência uniforme das mudas.

A clara identificação dos genótipos em etiquetas de plástico, com lápis ou marcador que não se apague com a irrigação, é necessária, sendo recomendável ainda um mapa da posição dos genótipos. Quando mais de um genótipo é semeado em uma bandeja, deve-se deixar uma fileira de células vazia para separar esses genótipos.

As bandejas devem ficar em ambiente com temperatura amena e bem iluminado para evitar o estiolamento das mudas. Devem ser apoiadas em fios de arame para que as raízes das mudas fiquem restritas ao cone de substrato das células. Quando colocadas em superfície lisa, as raízes crescem e enovelam embaixo das bandejas, fragilizando assim as mudas quando arrancadas, além de poderem ser contaminadas com outros patógenos eventualmente presentes na superfície da bancada. Em média, sob temperatura de 20° C-26 °C, mudas de pimentão estarão prontas para inoculação entre 45-50 dias após a semeadura, enquanto mudas de tomate necessitam cerca de 30 dias. Em ambiente bem iluminado, as mudas com esta idade deverão medir em torno de 15 cm. Testemunhas suscetíveis, que servirão para comprovar a efetividade do inóculo, e testemunhas resistentes, para aferir se o método de inoculação não é excessivamente drástico, são essenciais. As testemunhas resistentes usadas na Embrapa Hortaliças são Hawaii 7996 (CNPH 1048) e MC-4 (CNPH 143) para tomate e pimentão, respectivamente, e as testemunhas suscetíveis são L390 e Yolo Wonder, respectivamente.

## Preparo do inóculo

Devem ser selecionados isolados representativos de *Ralstonia* sp., de acordo com a necessidade do programa de melhoramento. Como este é um patógeno variável, é necessário que as plantas sejam desafiadas com isolados representativos das regiões para as quais se busca a resistência. Isolados mais recentemente obtidos de plantas naturalmente murchas geralmente são mais agressivos que isolados mantidos em coleções por longos períodos. A perda de virulência de isolados em coleções é comum, em

alguns isolados bem mais acelerada do que em outros. Em caso de dúvida sobre que isolado usar, um conjunto deles deve ser previamente inoculado em tomate e pimentão suscetíveis para que sejam selecionados os mais virulentos/agressivos.

De um modo geral, isolados de *R. pseudosolanacearum* são mais virulentos em pimentas *Capsicum*, enquanto *R. solanacearum* o são para o tomateiro, em especial na Região Norte do Brasil (Coelho Netto et al., 2004). No entanto, vale reforçar que as reações têm-se mostrado consistentemente isolado-específicas, o que requer uma estratégia de escolha de isolado mais dependente da região para a qual se quer obter a resistência do que da própria espécie do patógeno (Lopes; Boiteux, 2012).

Culturas com colônias típicas da bactéria armazenadas em tubos com água devem ser riscadas em meio de cultura de CPG (ou meio Kelman sem tetrazólio) (Adaptado de Denny & Hayward, 2001), pelo menos duas placas por isolado, de modo a se certificar que o inóculo não está contaminado e para se obter colônias individuais.

#### **Meio de cultura CPG (ou meio Kelman sem tetrazólio)**

- Para 1 litro de meio de cultura (suficiente para verter 50 - 60 placas de Petri):

Caseína hidrolisada.....1 g

Peptona .....10 g

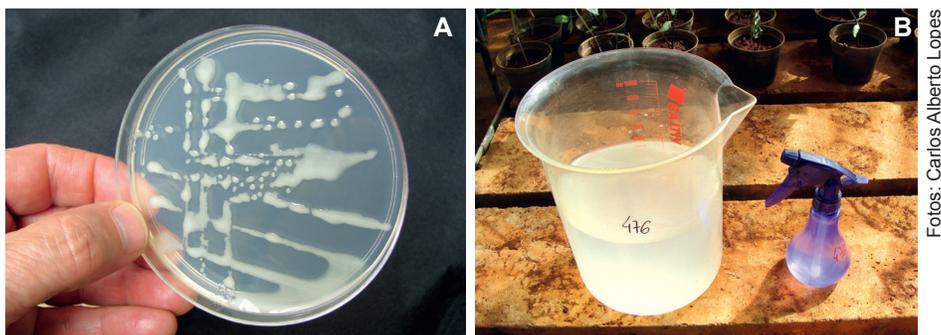
Glicose .....5 g

Agar .....18 g

As placas devem ser mantidas por 48 horas em incubadora (BOD) a 28 °C. A seguir, placas contendo o mesmo meio de cultura devem ser semeadas com alça de platina estéril que tenha sido tocada em colônia típica e isolada da bactéria. A quantidade de placas a ser preparada depende do número de plantas a ser inoculado, da concentração de inóculo e do método de inoculação, conforme item a seguir.

A concentração a ser usada pelo método de inoculação pela pulverização das raízes é de aproximadamente  $10^8$  e  $5 \times 10^7$  UFC (unidades formadoras

de colônia) por mL para *Capsicum* e tomate, respectivamente, aferidas por meio de colorímetro e baseado em curvas de aferição pré-definidas. Na Embrapa Hortaliças, a leitura 0,2 do colorímetro e comprimento de ondas de 550 nanômetros corresponde a aproximadamente  $10^8$  UFC/mL. Para se obter a concentração desejada, necessita-se de 10 placas de Petri da bactéria cultivada por 48 horas a 28 °C em meio Kelman (Figura 2A) para se preparar 1 L de suspensão a  $10^8$  UFC/mL (para *Capsicum*) e cinco placas para se fazer 1 L de suspensão a  $5 \times 10^7$  UFC/mL (para tomate) (Figura 2B). Como são necessários 5 mL de inóculo para cada planta, pelo método de inoculação abaixo mencionado, são necessários 900 mL de suspensão de inóculo de cada isolado para o exemplo do item 3 (180 mudas inoculadas por isolado).



**Figura 2.** Colônias típicas de *Ralstonia* sp. em placa de Petri (A) e suspensão de inóculo ao lado de pulverizador (B).

## Inoculação

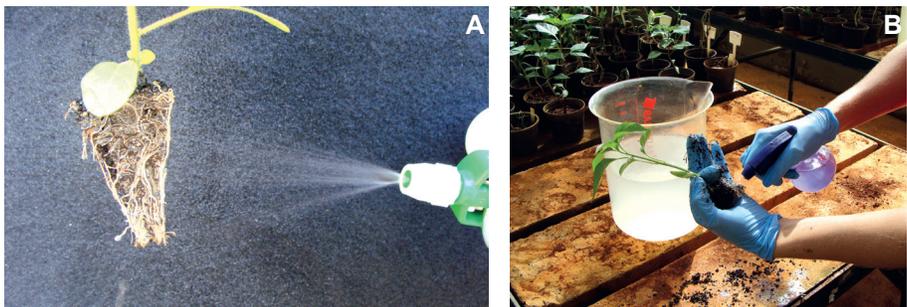
Um método adequado de inoculação é aquele que, dependendo da idade da planta, da virulência do isolado bacteriano e da concentração de inóculo, permite diferenciar os genótipos resistentes dos suscetíveis. Este método deve se aproximar ao máximo do modo de infecção natural do patógeno, evitando assim que barreiras naturais de defesa da planta sejam suplantadas quando se usam métodos muito drásticos (Tabela 2 e Figura 3). Ademais, para métodos mais drásticos, a concentração de inóculo deve ser menor e/ou mudas mais velhas usadas.

Na Embrapa Hortaliças, o método de inoculação preferido para tomate e pimentas *Capsicum* é o da pulverização das raízes, expostas ao se retirar as mudas das bandejas, situação que ocorre naturalmente nos sistemas de produção das duas espécies olerícolas.

A inoculação é feita usando pulverizador de meio litro (Figura 2B), com o qual se aplicam quatro esguichos, que liberam aproximadamente 5 mL da suspensão de inóculo por muda (Figura 3A). Este volume pode variar de pulverizador para pulverizador, motivo pelo qual deve ser previamente aferido. O ajuste de volume de suspensão é também necessário em caso de se usar bandejas com células de tamanho diferente.

Quando mais de um isolado do patógeno for usado na inoculação, deve-se usar pulverizadores iguais, porém aferidos para o mesmo volume dispensado. Caso se use um único pulverizador, este deve ser lavado, esterilizado com álcool 70% e exaustivamente enxaguado em água estéril a cada troca de isolado. A mesma pessoa deverá realizar a inoculação para garantir uniformidade da operação.

Antes de iniciar a inoculação, deve-se fazer a borrifação com água, da mesma maneira, nos tratamentos testemunha. Quando se mudar o isolado do patógeno, as pessoas responsáveis pela inoculação e plantio das mudas devem lavar as mãos, desinfestá-las com álcool e usar luvas novas (Figura 3B).



Fotos: Carlos Alberto Lopes

**Figura 3.** Inoculação do sistema radicular de muda com suspensão de *Ralstonia* sp.

Caso se opte por método de inoculação que não seja a aspersão de raízes (Tabela 1), deve-se atentar para ajustar a idade da planta e a concentração de inóculo, conforme sugerido na Tabela 2.

**Tabela 1.** Métodos usados para a inoculação de *Ralstonia* spp. em plantas de diversas hospedeiras para fins de seleção de resistência à murcha bacteriana (Ver Figura 1).

**Métodos drásticos:** fermento do caule por inserção de palito ou alfinete contaminado; injeção da bactéria diretamente nos vasos; corte de limbo e pecíolo de folhas com tesoura contaminada; mergulhia de raízes nuas, lavadas e feridas (podadas), em suspensão de inóculo antes do transplante.

**Métodos intermediários:** mergulhia de raízes nuas em suspensão de inóculo antes do transplante; corte das raízes das mudas com bisturi antes de verter suspensão de inóculo no solo; pulverização das raízes, expostas ao se retirar o bloco da muda, com suspensão de inóculo.

**Métodos suaves:** mergulhia em raízes sem ferimentos; suspensão de inóculo vertido no colo da planta; exposição de plantas a infecção natural em campo.

**Tabela 2.** Exemplos da combinação da concentração de inóculo, do método de inoculação e da idade da planta na efetividade\* da separação entre genótipos resistentes e suscetíveis (resistência quantitativa) à murcha bacteriana em tomate e pimenta *Capsicum*.

Concentração de inóculo (UFC/mL)	Plântula ( <i>seedling</i> ) – até 20 cm**				Planta – 20cm-40 cm**			
	Método drástico		Método interm.		Método drástico		Método interm.	
	Tom	Pim	Tom	Pim	Tom	Pim	Tom	Pim
10 <sup>7</sup>	++	+	+	-	+	-	-	-
5x10 <sup>7</sup>	++	++	+++	++	++	++	++	+
10 <sup>8</sup>	+	+	++	+++	++	++	++	++

\* Efetividade relativa da metodologia: (+) pouco efetiva; (++) efetividade média; (+++) muito efetiva.

\*\*Plantas não estioladas

## Ambiente pré e pós-inoculação

Para evitar sobrecarga de trabalho por ocasião da inoculação e para reduzir a chance de ocorrerem erros experimentais, os vasos, mais comumente de meio litro contendo mistura em igual partes de substrato comercial e solo esterilizados, devem ser distribuídos com antecedência nas bancadas para facilitar o ordenamento dos trabalhos. Vasos de meio litro devem receber

somente uma planta, enquanto vasos de um litro podem acomodar duas plantas. As etiquetas identificadoras dos tratamentos devem ser preparadas também com antecedência, contendo informações essenciais, tais como: identificação do genótipo da hospedeira, identificação do isolado do patógeno, número da repetição, data de inoculação e nome dos responsáveis pelo experimento, as duas últimas não necessitando constar de todas as etiquetas. Dependendo do arranjo experimental, todos os vasos devem ser etiquetados para evitar dúvidas de tratamentos e repetições (Figura 4A).

No preparo para a inoculação, o solo deve ser molhado com um dia de antecedência de modo a facilitar a confecção de pequena cova no centro do vaso onde a muda inoculada será transplantada (Figura 4B). Esta operação poderá ser ajustada de acordo com o método de inoculação a ser usado.

Após a inoculação, as mudas devem ser colocadas em ambiente propício para o desenvolvimento da murcha bacteriana, ou seja, alta temperatura e alta umidade. As bancadas devem estar limpas e desinfestadas e os tratamentos com diferentes isolados devidamente separados fisicamente para evitar contaminações secundárias (Figura 4C). Temperaturas noturnas baixas, abaixo de 20°C, devem ser evitadas, pois provocam escapes. Na Embrapa Hortaliças, as mudas inoculadas são colocadas em casa de vegetação de teto e paredes de vidro, com aberturas laterais (Figura 4D). O espaço permite



Fotos: Carlos Alberto Lopes

**Figura 4.** Preparo de vasos antes (A e B), durante (C) e após a inoculação (D) em casa de vegetação.

aquecimento noturno por meio de ventiladores acoplados a resistências, que são ligados automaticamente sempre que a temperatura atingir 20 °C. Durante todo o período de avaliação da doença, que dura normalmente 20 dias, a amplitude térmica é de 20 °C (20°C-40°C). A irrigação é feita diariamente com mangueiras com chuveirinho na extremidade. As parcelas são distribuídas nas bancadas em delineamento inteiramente casualizado, visto que as condições ambientais são uniformes neste local.

Como o controle de temperatura e umidade é fator determinante para o desenvolvimento da murcha bacteriana, em especial nos dois dias seguintes à inoculação, deve-se evitar inoculações às sextas-feiras, de modo que seja possível um acompanhamento da normalidade dessas variáveis e ajustes sejam feitos, se necessário.

## Avaliação

Para avaliar o grau de resistência de modo a diferenciar os genótipos adequadamente, utiliza-se, na maioria das vezes, a leitura da incidência (porcentagem de plantas murchas) em cada parcela a cada dia, nos primeiros cinco dias a partir do terceiro dia, e então a cada dois dias, até que os sintomas estejam estabilizados, tendo como referência a murcha de todas as plantas da testemunha suscetível (Figuras 5A e 5B). Considera-se a planta murcha quando mais da metade das folhas encontram-se murchas. Embora existam escalas de medição de severidade da doença baseadas no número e intensidade de folíolos ou folhas murchas ou secas (Figura 5C), esta medida tem sido evitada nos casos de tomate e pimentas *Capsicum*. Pelo fato de serem hospedeiras muito suscetíveis, diferenças de severidade ocorrem no mesmo dia em função da variação de temperatura devida ao horário de leitura ou presença de nebulosidade. A leitura de severidade, entretanto, pode ser útil em caso de inoculação em plantas mais velhas e em hospedeiras naturalmente mais resistentes à murcha bacteriana, em que os sintomas se desenvolvem mais lentamente, como eucalipto, gerânio, café, banana e pimenta longa.



**Figura 5.** Clara distinção entre genótipos de *Capsicum* (A) e tomate (B) resistentes e suscetíveis à murcha bacteriana e escala de notas de severidade em tomate (C).

## Análise estatística

A análise estatística para diferenciar os graus de resistência entre os fenótipos pode ser feita com os valores de uma única leitura, de preferência aquela que proporcionou maiores diferenças entre os genótipos, inclusive as testemunhas resistentes e suscetíveis. Caso a evolução da doença tenha sido regularmente acompanhada por período que tenha proporcionado a confecção de uma curva de progresso baseada em pelo menos seis leituras de incidência, uma maneira clássica e elegante de separar estatisticamente os genótipos é fazer a análise da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), usando programas desenvolvidos para esta finalidade (Bergamin Filho, 1995).

Normalmente se usam testes de agrupamentos que separam os indivíduos com diferentes graus ou níveis de resistência. Em caso de o número de genótipos avaliados ser grande (acima de 30), não se recomenda o teste de separação de médias (Tukey, Duncan, Kruskal-Wallis) e sim os que separam os genótipos das testemunhas (Dunnett) ou em grupos de resistência (Scott-Knott). Para evitar erros de interpretação e dificuldades desnecessárias na análise, um estatístico deve ser sempre consultado antes da instalação do experimento, conforme indicado no item de planejamento.

## Referências

- BERGAMIN FILHO, A. Avaliação de danos e perdas. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 672-690.
- CARMEILLE, A.; PRIOR, P.; KODJA, H.; CHIROLEAU, F.; LUISETTI, J.; BESSE, P. Evaluation of resistance to race 3, biovar 2 of *Ralstonia solanacearum* in tomato germplasm. **Journal of Phytopathology**, v. 154, p. 398-402, 2006.
- COELHO NETTO, R. A.; PEREIRA, B. G.; NODA, H.; BOHER, B. Murcha bacteriana no estado do Amazonas, Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 21-27, 2004.
- DENNY, T. P.; HAYWARD, A. C. Gram-negative bacteria – *Ralstonia*. In: SCHAAD, N. W.; JONES, J. B.; CHUN, W. (Ed.). **Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria**. St. Paul: APS Press, 2001. p. 151-174.
- FEGAN, M.; PRIOR, P.; How complex is the “*Ralstonia solanacearum* species complex”? In: ALLEN, C.; PRIOR, P.; HAYWARD, A. C. (Ed.). **Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex**. St. Paul: APS Press, 2005. p. 449-461.
- HUET, G. Breeding for resistances to *Ralstonia solanacearum*. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 1-5, 2014.
- LOPES, C. A.; BOITEUX, L. S. Biovar-specific and broad-spectrum sources of resistance to bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) in *Capsicum*. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 4, p. 350-355, 2004.
- LOPES, C. A.; BOITEUX, L. S. Melhoramento para resistência a doenças bacterianas. In: FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. **Melhoramento de plantas para condições de estresses bióticos**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2012. p. 25-59.
- LOPES, C. A.; BOITEUX, L. S.; ESCHEMBACK, V. Eficácia relativa de porta-enxertos comerciais de tomateiro no controle da murcha bacteriana. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 1, p. 125-130, jan./mar. 2015. Disponível em: < <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1010378>>. Acesso em: 06 jun. 2018.
- LOPES, C. A.; MENDONÇA, J. L. de. **Enxertia em tomateiro para controle da murcha bacteriana**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2014. 8 p. (Embrapa Hortaliças. Circular técnica, 131). Disponível em: < <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/991852>>. Acesso em: 06 jun. 2018.
- SAFNI, I.; CLEENWERCK, I.; DE VOS, P.; FEGAN, M.; SLY, L.; KAPPLER, U. Polyphasic taxonomic revision of the *Ralstonia solanacearum* species complex: proposal to emend the descriptions of *Ralstonia solanacearum* and *Ralstonia syzygii* and reclassify current *R. syzygii* strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* subsp. nov., *R. solanacearum* phylotype IV strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis* subsp. nov., banana blood disease bacterium strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* subsp. nov. and *R. solanacearum* phylotype I and III strains as *Ralstonia pseudosolanacearum* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 64, p. 3087-3103, 2014.

SEQUEIRA, L. Epilogue: life with a mutable and treacherous tribe. In: HAYWARD, A. C.; HARTMAN, G. L. (Eds.). **Bacterial wilt**: the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. Wallingford: CAB International, 1994. p. 235-247.

WANG, J. F.; HO, F. I.; TRUONG, H. T. H.; HUANG, S. M.; BALATERO, C. H.; DITTAPONGPITCH, V.; HIDAYATI, N. Identification of major QTLs associated with stable resistance of tomato cultivar "Hawaii 7996" to *Ralstonia solanacearum*. **Euphytica**, v. 190, p. 241-252, 2013.

Exemplares desta publicação  
podem ser adquiridos na:

**Embrapa Hortaliças**

Rodovia BR-060,  
trecho Brasília-Anápolis, km 9  
Caixa Postal 218  
Brasília-DF  
CEP 70.351-970  
Fone: (61) 3385.9000  
Fax: (61) 3556.5744  
www.embrapa.br/fale-conosco/sac  
www.embrapa.br

1ª edição

1ª impressão (2018): 1.000 exemplares

Impressão e acabamento  
Nome da gráfica



Comitê Local de Publicações  
da Embrapa Hortaliças

Presidente

*Jadir Borges Pinheiro*

Editora Técnica

*Mariana Rodrigues Fontenelle*

Secretária

*Gislaine Costa Neves*

Membros

*Carlos Eduardo Pacheco Lima, Raphael Augusto de Castro e Melo, Alilton Reis, Giovani Olegário da Silva, Iriani Rodrigues Maldonado, Alice Maria Quezado Duval, Jairo Vidal Vieira, Rita de Fátima Alves Luengo*

Supervisão Editorial

*Caroline Pinheiro Reyes*

Normalização bibliográfica

*Antônia Veras de Souza*

Tratamento das ilustrações

*André L. Garcia*

Projeto gráfico da coleção

*Carlos Eduardo Felice Barbeiro*

Editoração eletrônica

*André L. Garcia*

Foto da capa

*Carlos Alberto Lopes*