

Circular Técnica

Número 38

ISSN 0100-6169

outubro, 1998

**OCORRÊNCIA DA MANCHA BACTERIANA DO
TOMATEIRO NO SUBMÉDIO SÃO FRANCISCO**

Embrapa

Semi-Árido

CIRCULAR TÉCNICA Nº 38

ISSN 0100-6169
Outubro 1998

**OCORRÊNCIA DA MANCHA BACTERIANA DO
TOMATEIRO NO SUBMÉDIO SÃO FRANCISCO**

Ana Rosa Peixoto
Selma C. C. de H. Tavares
Mina Karasawa



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semi-Árido
(CPATSA)**

Ministério da Agricultura e do Abastecimento
BR 428, km 152, Cx. Postal 23, Fax: (081) 862-1744
CEP 56300-000 Petrolina-PE

©Embrapa, 1998
Embrapa-CPATSA

Exemplares desta publicação podem ser solicitados ao:
Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semi-Árido - CPATSA
BR 428 km 152
Caixa Postal 23
Telefone (081) 862-1711
Fax: (081) 862-1744 E-mail: cpatsa@cpatsa.embrapa.br

Tiragem: 1.000 exemplares

Comitê de Publicações
Luiz Balbino Morgado - Presidente
Eduardo Assis Menezes
Davi José Silva
Luiz Gonzaga Neto
João Antônio Silva de Albuquerque
Edineide Maria Machado Maia

Revisão Editorial: Eduardo Assis Menezes

Composição: Nivaldo Torres dos Santos

Normalização bibliográfica: Edineide Maria Machado Maia e
Maristela Ferreira Coelho de Souza

PEIXOTO, A. R.; TAVARES, S.C.C. de H.; KARASAWA, M.
**Ocorrência da mancha bacteriana do tomateiro no
Submédio São Francisco.** Petrolina, PE: Embrapa-
CPATSA, 1998. 14 p. il. (Embrapa-CPATSA. Circular
Técnica, 38).

1. Tomate – Doença – Mancha bacteriana – Brasil –
Submédio São Francisco. 2. *Lycopersicon esculentum*. I.
Tavares, S.C.C. de H., colab. II. Karasawa, M., colab. III.
Título. IV. Série.

CDD. 635.64204932

SUMÁRIO

	pág.
INTRODUÇÃO	5
MATERIAL E MÉTODOS	7
RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
CONCLUSÕES	12
AGRADECIMENTOS	12
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	12

OCORRÊNCIA DA MANCHA BACTERIANA DO TOMATEIRO NO SUBMÉDIO SÃO FRANCISCO

Ana Rosa Peixoto Nascimento¹

Selma Cavalcanti Cruz de Holanda Tavares²

Mina Karasawa³

INTRODUÇÃO

Na região do Submédio São Francisco, a tomaticultura industrial é uma atividade agrícola de grande importância sócio-econômica, representando cerca de 50% da produção nacional desta cultura (Embrapa, 1994). Entretanto, está sujeita a uma gama considerável de patógenos, sendo as bactérias responsáveis por grandes prejuízos, chegando a ser fator limitante à exploração econômica desta solanácea (Malavolta Jr. & Rodrigues Neto, 1991). Muitas fitobactérias têm sido descritas por infectarem o tomateiro (Bradbury, 1986). Nas áreas irrigadas desta região, as bacterioses mais comuns são a murchadeira (*Ralstonia solanacearum*) e o talo oco (*Erwinia carotovora*).

Recentemente, no período de abril a setembro de 1995, foi observado nos plantios comerciais de tomateiros, em Petrolina - PE, e municípios vizinhos, um alto número de plantas apresentando manchas mais ou menos circulares, de cor marrom, espalhadas no limbo foliar, cujas lesões apresentavam tecido encharcado que se iniciavam nos primeiros dias após o transplante, quando submetidas a condições de alta umidade do ar proporcionada pela irrigação por aspersão

¹ Eng^a Agr^a, M.Sc. em Fitossanidade, Bolsista DCR-CNPq/Embrapa-Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semi-Árido (CPATSA), Cx. Postal 23, 56300-000. Petrolina-PE.

E-mail: Nascimento@netcap.com.br

² Eng^a Agr^a, M.Sc. em Fitossanidade, Pesquisador da Embrapa-CPATSA.

³ Eng^a Agr^a, Estagiária, Embrapa-CPATSA.

e pivô central. Observaram-se, também, no pecíolo e no caule, lesões alongadas de cor marrom. Nos frutos, constataram-se, ainda, lesões com coloração marrom-clara, corticosas e com bordos ligeiramente elevados (Figura 1). Testes de exsudação em gotas, através de microscópio óptico, têm sido positivos para estes casos, indicando uma etiologia bacteriana para a enfermidade.



FIG. 1. Lesões em frutos de tomateiro, causadas por *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*.

Após aproximadamente 30 dias do transplântio, estes sintomas estavam aliados aos do vira-cabeça (vírus do vira-cabeça do tomateiro - TSWY, TCSV e GRSV) caracterizados por nanismo, folíolo das folhas do ponteiro com aspecto bronzeado e/ou arroxeadado e pontos necróticos formando, algumas vezes, pequenos anéis. Esses sintomas não são novos no Brasil; já foram relatados em outras regiões do país, conforme Robbs et al. (1981).

Dada a importância econômica da cultura do tomateiro para a região e a agressividade do patógeno, o presente trabalho foi elaborado com o objetivo de identificar o possível agente causal da doença que

ocorreu, geralmente, associada ao vira-cabeça do tomateiro, cuja incidência, calculada em 30%, causou prejuízo considerável aos tomaticultores.

MATERIAL E MÉTODOS

Testes de exsudação em gota (Romeiro, 1991) foram realizados em amostras de plantas de tomateiro infectadas, coletadas nas áreas de plantio na região, transferindo-se fragmentados de lesões para gotas de água, em lâmina, observando-se, após colocação de lamínula, em menor aumento do microscópio óptico. O isolamento foi feito a partir de fragmentos de tecido foliar retirados dos bordos da área necrosada, que foram imersos em álcool a 50%, por 20 segundos, desinfestados artificialmente com hipoclorito de sódio (NaClO) a 2%, por dois minutos, macerados em uma gota de água estéril e, após quinze minutos, a suspensão semeada em meio NYDA (dextrose - 10g; extrato de levedura - 5g; extrato de carne - 3g; peptona - 5g; ágar - 18g e água destilada - 1000 ml), pela técnica de estrias ou riscas (Romeiro, 1995). As placas foram incubadas à temperatura ambiente por 48 horas. As colônias passíveis de serem da fitobactéria foram repicadas para o mesmo meio, preservadas pelo método de dessecação de Takatsu (1980), através do qual, utilizou-se uma grande quantidade de massa bacteriana (24-48 h), adicionando-a a uma solução de peptona mais dextrose, sendo, posteriormente, embebida em tiras de papel de filtro. Após secagem, foram acondicionadas em envelopes de alumínio flambados e, em seguida, guardadas em geladeira, para testes posteriores. Oito isolados da bactéria foram obtidos, a partir de órgãos vegetais infectados de diferentes origens (Tabela 1).

Tabela 1. Locais de coleta, na região do Submédio São Francisco, dos isolados bacterianos causadores de lesões em tomateiros, 1995.

Isolado	Local de Coleta
FRUT	Frutivale, Juazeiro-BA
OP	Frutivale, Juazeiro-BA
308	Orocó-PE
270	Petrolina-PE
260	Est. Exp. Bebedouro, Petrolina-PE
280	Est. Exp. do IPA, Belém de São Francisco-PE
290	Petrolândia-PE
300	Santa Maria da Boa Vista-PE

Teste de hipersensibilidade: foram preparadas as suspensões das células bacterianas dos oito isolados disponíveis, a partir de cultura, em placas de Petri, com 24 horas de idade, cujas concentrações foram ajustadas em fotocolorímetro regulado a 580 nm, correspondendo a 20% de transmitância (T%). Em seguida, as suspensões foram infiltradas em folhas de fumo com auxílio de seringa hipodérmica, conforme Klement et al. (1990). As plantas-teste foram mantidas em casa-de-vegetação e examinadas 24 e 48 horas após a infiltração.

Teste de patogenicidade: mudas de tomateiro da cultivar IPA-5, produzidas em bandejas de poliestireno com substrato Plantcel, foram transplantadas, aos 20 dias após o semeio, para sacos plásticos com capacidade para 3,0 kg contendo solo areno-argiloso desinfestado com brometo de metila. Passados oito dias do transplante, as plântulas foram preparadas para a inoculação com o fitopatógeno, através de câmara úmida, obtida por meio da cobertura com saco plástico umedecido por 24 horas, cuja finalidade foi proporcionar a abertura

dos estômatos das folhas, os quais serviriam de porta de entrada para a bactéria. As plantas mantidas em condições de casa-de-vegetação foram inoculadas com suspensão de inóculo dos oito isolados em teste, sendo preparadas conforme já descrito para o teste de hipersensibilidade. Após 24 horas, retirou-se a câmara úmida (sacos plásticos) dos tomateiros e a inoculação foi conduzida por atomização com auxílio do pulverizador Devilbiss. Em seguida, as plantas foram colocadas em câmara úmida por 24 horas para proporcionar condições favoráveis ao desenvolvimento do fitopatógeno. As plantas utilizadas como testemunha foram igualmente tratadas, recebendo pulverização com água destilada e esterilizada.

Oito dias após a aplicação das suspensões, foi feita uma avaliação para visualização dos sintomas, de acordo com a seguinte escala de notas proposta por Lawson & Summers (1984):

Nota 0 - sem lesão;

Nota 1 - De 1 a 3% da área da folha necrótica;

Nota 2 - De 3 a 6% da área da folha necrótica;

Nota 3 - De 6 a 12% da área da folha necrótica;

Nota 4 - Mais de 12% da área da folha necrótica.

Identificação do isolado bacteriano: culturas dos oito isolados bacterianos obtidos foram levadas ao laboratório de Fitobacteriologia da UFRPE, Recife-PE, para realização de testes bioquímicos e análise das características culturais. Teste de coloração de Gram foi feito como descrito por Ackerman-Brown (1978). Produção de xantomonadinas (pigmento amarelo) foi investigada conforme metodologia descrita por Lelliott & Stead (1987). Utilização de asparagina como fonte de C e N foi estudada em meio descrito por Starr (1981). Relação dos isolados com o oxigênio, catalase e oxidase foi obtida como proposto por Shaad (1988).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Submetendo-se folhas de tomateiro com sintomas típicos da enfermidade ao teste de exsudação em gota, observou-se abundante exsudação de células bacterianas sob forma de massa hialina.

Todos os isolamentos realizados em meio de NYDA resultaram sempre no aparecimento de colônias amarelas (Figura 2), cujas características culturais encontram-se enumeradas na Tabela 2.



Fig. 2. Crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* em meio de cultura.

Tabela 2. Características culturais e bioquímicas dos diferentes isolados bacterianos obtidos de tomateiros, na região do Submédio São Francisco. Petrolina-PE, 1995.

CARACTERÍSTICAS DIFERENCIADORAS	RESULTADOS
Cromogênese	Amarela
Dimensões das colônias	0,7 x 0,9 µm
Forma	Circular
Elevação	Convexa
Superfície	Lisa
Bordo	Inteiro
Consistência	Viscosa
Detalhe óptico das culturas	Opaco
Gram	Negativo
Forma das células	Bastonete
Catalase	Positiva
Oxidase	Negativa
Utilização da asparagina como fonte de C e N	Negativa
Crescimento em extrato de levedura, dextrose e carbonato de cálcio (YDC)	Colônias grandes, lisas, convexas, mucóides e amarelas

Os oito isolados obtidos induziram reação de hipersensibilidade em folhas de fumo, mostraram-se patogênicos às mudas de tomateiros inoculadas, bem como reproduziram os sintomas após oito dias da inoculação, enquanto que as plantas testemunhas mantiveram-se saudáveis. Dos oito isolados inoculados, os que apresentaram maior virulência foram OP, FRUT, 308 e 270, respectivamente, com as notas 4, 4, 3 e 3. Assim, observa-se que estas notas correspondem aos níveis mais altos de infecção para o fitopatógeno, ou seja, a nota 3 representa de 6 a 12% da área foliar necrosada, enquanto que a nota 4 corresponde a mais de 12% da área da folha necrosada, confirmando-se, desta maneira, além da patogenicidade, a alta virulência dos isolados testados, em relação às plantas de tomateiros.

Testes realizados para identificar o isolado fitopatogênico (Tabela 2) permitem posicionar os isolados em estudo como *Xanthomonas campestris* englobando o patovar *vesicatoria*, em função, principalmente, dos critérios de patogenicidade e especificidade ao tomateiro (Young et al., 1978 e Krieg & Holt, 1984). A doença, conhecida como mancha bacteriana, foi descrita no Nordeste por Batista (1947), sendo de incidência severa não só nessa cultura, mas também no pimentão e na berinjela.

CONCLUSÕES

- A enfermidade bacteriana do tomateiro, constatada na região do Submédio São Francisco, cuja ocorrência estava associada à do "vira cabeça", foi identificada através dos testes bioquímicos e culturais realizados em laboratório, como mancha bacteriana, incitada por *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*;

- Os isolados bacterianos testados apresentaram-se altamente virulentos e agressivos aos tomateiros inoculados, justificando, dessa forma, os altos prejuízos causados pela bactéria aos tomaticultores desta região.

AGRADECIMENTOS

As autoras expressam seus sinceros agradecimentos à Dra. Rosa de Lima Ramos Mariano, Profa. de Fitobacteriologia da UFRPE, Recife-PE, pelo apoio técnico prestado, bem como pela concessão do uso do laboratório de Fitobacteriologia para identificação do fitopatógeno estudado neste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKERMAN-BROWN, A.M. **General microbiology manual** - 2.ed. Columbus: Ohio State University, Department of Microbiology, 1978. 130p. (Microbiology 602).

- BATISTA, A.C. **Principais doenças das plantas cultivadas em o Nordeste**. Boletim da Secretaria de Agricultura Industrial e Comércio do Estado de Pernambuco, v.14, n.1, p.5-46, 1947.
- BRADBURY, J.F. **Guide to plant pathogenic bacteria**. Slough: CAB International Mycological Institute, 1986. 332p.
- EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semi-Árido (Petrolina-PE). **Recomendações Técnicas para o cultivo do tomate industrial em condições irrigadas**. Petrolina, PE: EMBRAPA-CPATSA/FUNDESTONE, 1994. 52p. (EMBRAPA-CPATSA. Circular Técnica, 30).
- KLEMENT, Z.; RUDOLPH, K.; SANDS, D.C. ed. **Methods in phytobacteriology**. Budapest: Akadémiai Kiadó, 1990. 568p.
- KRIEG, N.; HOLT, J.G. (eds). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984. v.1, 660p.
- LAWSON, V.F.; SUMMERS, W.L. Disease reation of disease sources of *Lycopersicon* to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* pepper strain race 2. **Plant Disease**, Ames, v.68, n.2, p.117-119, 1984.
- LELLIOT, R.A.; STEAD, D.E. **Methods for the diagnosis of bacterial plant disease**. Oxford: Blakwell Scientific 1987. 216p.
- MALAVOLTA JÚNIOR, V.A.; RODRIGUES NETO, J. Controle de doenças causadas por bactérias em tomateiro. In: ENCONTRO NACIONAL DE PRODUÇÃO E ABASTECIMENTO DE TOMATE, 2., 1991, Jaboticabal, SP. **Anais...** Jaboticabal: UNESP-FCAV/FUNEP/SOB, 1991. p.166-182.
- ROBBS, C.F.; RODRIGUES NETO, J.; RIBEIRO, R.L.D.; KIMURA, O. A Commented list of bacterial plant pathogens occuring in Brazil. In: INTERNACIONAL CONFERENCE OF PLANT PATHOGENS BACTERIA, 5, 1981, Cali, Colômbia. **Proceedings**: Cali: CIAT, 1981, p.601-613.

- ROMEIRO, R.S. **Bactérias fitopatogênicas**. Viçosa: UFV Imprensa Universitária, 1995. 283p.
- ROMEIRO, R.S. **Métodos em bacteriologia de plantas III - Isolamento de bactérias fitopatogênicas**. Viçosa, MG: UFV Departamento de Fitopatologia, 1991. 55p. (Mimeografado).
- SHAAD, N.W. ed. **Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria**. 2.ed., St. Paul: American Phytopathological Society, 1988. 158p.
- STARR, M.P. The genus *Xanthomonas*. In: STARR, M.P. *et al.* (ed). **The Prokaryotes**. Berlin: Springer-Verlag, 1981. p.742-763.
- TAKATSU, A. **Preservação de bactérias fitopatogênicas pelo método de dessecação**. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.5, n.3, p.469, 1980.
- YOUNG, J.M.; DYE, D.W.; BRADBURY, C.G.; PANAGOPOULUS, C.G.; ROBBS, C.F. A proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. **New Zeland Journal of Agricultural Research**, v.21, n. p.153-157, 1978.