

Sensibilidade a cobre, estreptomicina e oxitetraciclina em *Xanthomonas* spp. associadas à mancha-bacteriana do tomate para processamento industrial

Alice Maria Quezado-Duval¹; Ademir Gazzoto Filho²; Rui P. Leite Júnior³; Luis Eduardo A. Camargo²

¹Embrapa Hortaliças, C. Postal 218, 70359-970 Brasília-DF; E-mail: alicem@cnph.embrapa.br; ²USP-ESALQ, C. Postal 09, 13418-900 Piracicaba-SP; E-mail: leacamar@carpa.ciagri.usp.br; ³IAPAR, C. Postal 481, 86001-970 Londrina-PR; E-mail: ruileite@pr.gov.br

RESUMO

Apesar de amplamente empregados em lavouras de tomate para processamento industrial no Brasil, fungicidas cúpricos e antibióticos registrados para uso agrícola nem sempre resultam em controle eficiente das bacterioses que afetam a cultura. O aparecimento de estirpes resistentes é uma das causas dessa baixa eficiência. Avaliou-se, *in vitro*, a sensibilidade a cobre, estreptomicina e oxitetraciclina de 389 isolados de *Xanthomonas* spp. associadas à mancha-bacteriana do tomateiro, sendo 92 de *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* (60 do grupo "A"/raça T1 e 32 do "C"/raça T3), 93 de *X. vesicatoria* (grupo "B"/raça T2) e 204 de *X. gardneri* (grupo "D"/raça T2). Os isolados foram obtidos de plantas doentes em campos comerciais de tomate para processamento industrial nos estados de Goiás, Minas Gerais, Pernambuco e Bahia, nos anos de 1995 a 1998 e em 2000. Aliquotas de 5 ml de suspensões bacterianas foram depositadas em meio Nutriente-Ágar suplementado com sulfato de cobre, nas concentrações de 50 e 200 µg/ml; sulfato de estreptomicina, a 25 e 200 µg/ml e cloridrato de oxitetraciclina, a 25 µg/ml. Nenhum isolado foi resistente a oxitetraciclina, como também nenhum foi resistente ao cobre na concentração de 200 µg/ml do sulfato de cobre. No entanto, houve diferença entre isolados quanto à sensibilidade ao sulfato de cobre na concentração de 50 µg/ml e ao sulfato de estreptomicina nas duas concentrações empregadas. As frequências de isolados de *X. gardneri*, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* (grupos "A" e "C") e *X. vesicatoria* resistentes à estreptomicina (25 µg/ml do produto usado) foram, respectivamente, 98%, 38% e 2%, ao passo que, ao cobre, foram, respectivamente, 48%, 4% e 74%. Todos os isolados do grupo "C" foram sensíveis à estreptomicina e 97% sensíveis ao cobre.

Palavras-chave: *Lycopersicon esculentum*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, controle químico.

ABSTRACT

Sensitivity to copper streptomycin and oxitetracyclin of xanthomonads associated to bacterial spot in processing tomatoes

Copper fungicides and antibiotics are frequently used to control bacterial pathogens in processing tomatoes in Brazil. However, failure of control is common and can be caused by the presence of resistant strains. *In vitro* tests were carried out to evaluate the sensitivity to copper, streptomycin and oxitetracyclin of 389 xanthomonads strains isolated from tomato plants with bacterial spot symptoms: 92 of *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* (60 strains group A/race T1 and 32 group C /race T3), 93 of *X. vesicatoria* (group B/race T2) and 204 of *X. gardneri* (group D/race T2). The strains were obtained from commercial fields in the states of Goiás, Minas Gerais, Pernambuco, and Bahia from 1995 to 1998 and in 2000. Bacterial suspension aliquots of 5 ml were deposited on Nutrient-Agar medium amended with copper sulfate (at concentrations of 50 and 200 µg/ml), streptomycin sulfate (25 and 200 µg/ml) or oxitetracyclin hydrochloridate (25 µg/ml). None of the strains was resistant to oxitetracyclin or to copper at 200 µg/ml of copper sulphate. However, strains differed in their sensitivity to 50 µg/ml copper and to streptomycin sulfates (both concentrations used). The frequencies of *X. gardneri*, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* (groups "A" and "C") and *X. vesicatoria* resistant strains to streptomycin (25 µg/ml of streptomycin sulphate) were, respectively, 98%, 38% and 2%, whereas to copper the frequencies were 48%, 4% and 74%, respectively. All strains of group C/race T3 were sensitive to streptomycin and 97% sensitive to copper. Ninety eight percent of '*X. gardneri*' strains, 38% of *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* and only 2% of *X. vesicatoria* were resistant to streptomycin (25 µg/ml of the product used) whereas the frequencies of copper resistant strains were 48%, 4% and 74%, respectively for the three species of *Xanthomonas*.

Keywords: *Lycopersicon esculentum*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, chemical control.

(Recebido para publicação em 10 de dezembro de 2002 e aceito em 10 de outubro de 2003)

A mancha-bacteriana, causada por bactérias do gênero *Xanthomonas* (Dowson) (Jones *et al.*, 2000), é uma das doenças mais importantes do tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) para processamento industrial no Brasil, com ocorrência freqüente em áreas irrigadas por aspersão ou pivô-central (Barbosa, 1996). As perdas causadas por esta

doença resultam da redução da produtividade em decorrência direta dos sintomas, do custo dos produtos químicos utilizados como estratégia de controle e de sua aplicação às lavouras.

Os princípios ativos que estão contidos nos produtos registrados no Brasil para o controle da mancha-bacteriana são o cobre e os antibióticos

estreptomicina e oxitetraciclina (Lopes & Quezado-Soares, 1997). No entanto, vários relatos demonstram a baixa eficácia da estreptomicina e dos produtos cúpricos, tanto em lavouras de tomate (Goode & Sasser, 1980; Maringoni *et al.*, 1986), como de pimentão (Marco & Stall, 1983; Carmo *et al.*, 2001). O aparecimento de isolados resistentes a es-

ses princípios ativos é apontado pelos autores como a principal causa dessa baixa eficácia.

Diferenças em sensibilidade à estreptomicina entre isolados *Xanthomonas* spp. causando a mancha-bacteriana foram primeiramente observadas na Flórida, EUA, no início dos anos 60 (Thayer & Stall, 1961; Stall & Thayer, 1962). Minsavage *et al.* (1990) analisaram uma coleção de estirpes dos EUA e de outros países e encontraram alta frequência de isolados resistentes em regiões onde o uso do antibiótico era intenso. Na ocasião, dos nove isolados provenientes do Brasil, três foram considerados resistentes. Ritchie & Dittapongpitch (1991) e Sahin & Miller (1996) encontraram 30% e 49% de isolados resistentes, originários, respectivamente, da Carolina do Norte e de Ohio, EUA. Isolados resistentes à estreptomicina também foram encontrados no Caribe e na América Central (Bouzar *et al.*, 1999; O'Garro, 1998). Por outro lado, na Itália, onde o uso desse antibiótico não é permitido, nenhum isolado resistente dentre os obtidos de pimentão foi detectado (Buonaurio *et al.*, 1994). Atualmente, devido a diversos fatores ligados a custo, eficácia, proteção ambiental e saúde humana, o uso de antibióticos na agricultura dos EUA é restrito, diferentemente do Brasil, sendo lá permitidos apenas para o controle de *Erwinia amylovora* em pomares de maçã e pêra, bacterioses de plantas ornamentais e na produção de mudas (McManus & Stockwell, 2002). Genes de resistência à estreptomicina em *Xanthomonas* spp. associadas à mancha-bacteriana podem ocorrer em plasmídeos de diferentes tamanhos e no cromossomo (Cooksey, 1990).

Ao contrário da estreptomicina, ainda não há relatos de resistência à oxitetraciclina em representantes do gênero *Xanthomonas*. Porém, isolados de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* resistentes foram detectados em pereiras em Oregon, EUA (Spotts & Cervantes, 1995), bem como de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* em lavouras de tomate para processamento industrial no Brasil (Silva & Lopes, 1995a).

O primeiro relato de resistência ao cobre foi feito na Flórida (Marco & Stall,

1983). No entanto, essa resistência deveria estar presente nas populações bacterianas mesmo antes deste relato, já que isolados coletados anteriormente também se mostraram resistentes (Cooksey, 1990). No México, isolados resistentes foram obtidos de lavouras comerciais de pimentão onde compostos cúpricos foram usados por mais de 30 anos (Adaskaveg & Hine, 1985). Nos estudos realizados na Itália e nos EUA, mencionados anteriormente, 45% e 38% dos isolados, respectivamente, foram considerados resistentes ao cobre (Ritchie & Dittapongpitch, 1991; Buonaurio *et al.*, 1994; Sahin & Miller, 1996). No Caribe e na América Central, a porcentagem de isolados resistentes ao cobre variou com a região (O'Garro, 1998; Bouzar *et al.*, 1999). No Brasil, Aguiar *et al.* (2000) detectaram isolados de *Xanthomonas* spp. resistentes ao cobre associados à mancha-bacteriana do tomate e pimentão originados, principalmente, dos estados do Rio de Janeiro e de São Paulo.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a frequência de isolados resistentes ao cobre e aos antibióticos estreptomicina e oxitetraciclina em amostras de populações de *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, *X. vesicatoria* e *X. gardneri* oriundas de campos comerciais de tomate para processamento industrial no centro-sul e nordeste do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Trezentos e oitenta e nove isolados pertencentes às espécies *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, *X. vesicatoria* e *X. gardneri* foram analisados (Tabela 1). Para obtenção dos isolados, folhas e frutos apresentando sintomas de mancha-bacteriana foram coletados em campos com alta incidência da doença (50-100% das plantas infectadas) localizados nos estados de Goiás, Minas Gerais, Pernambuco e Bahia, a partir de 1995 (Tabela 1). Foi coletada uma amostra por planta, tomada ao acaso, percorrendo-se o campo transversalmente. O número de amostras foi variável e o isolamento foi feito em meio Nutriente-Ágar (NA) (Schaad, 2001). Os isolados foram previamente identificados em nível

de espécie/grupos genéticos e raças por meio de análise de perfis genômicos através de eletroforese de campo pulsado, testes de patogenicidade, atividade amidolítica e pectolítica e utilização de diferentes fontes de carbono (Quezado-Duval, 2003). Foram avaliados 92 isolados de *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* (60 grupo PFGE A, raça T1 e 32 grupo PFGE C, raça T3), 93 de *X. vesicatoria* (grupo PFGE B, raça T2) e 204 de *X. gardneri* (grupo PFGE D, raça T2). Além disso, a evolução da frequência de isolados resistentes foi analisada no município de Morrinhos em 1998, onde três lavouras ("A" e "B" na Fazenda Córrego Fundo, e "C" na Fazenda Campo Alegre) foram amostradas em dois períodos. Nessas lavouras haviam sido realizadas várias pulverizações com produtos à base de cobre e duas a três com um produto contendo estreptomicina e oxitetraciclina em sua formulação.

Para realização dos testes de sensibilidade, isolados mantidos em tampão fosfato foram transferidos para meio NA e incubados por 48 horas a 28°C. A massa bacteriana coletada com alça de platina de 3 mm de diâmetro foi colocada em 10 ml de água destilada e esterilizada para o preparo das suspensões. Aliquotas de 5 µl dessas suspensões foram depositadas em triplicata sobre meio NA suplementado com sulfato de cobre (CuSO₄·5H₂O - Merk, Rio de Janeiro, RJ), sulfato de estreptomicina (Sigma, St. Louis, EUA) ou cloridrato de oxitetraciclina (Pfizer, Guarulhos, SP) nas concentrações desejadas. Para o sulfato de cobre, foram utilizadas as concentrações de 200 µg/ml (Bouzar *et al.*, 1999) e de 50 µg/ml. O sal foi diluído em água destilada por agitação por 20 minutos e adicionado ao meio antes de sua autoclavagem. O pH do meio foi então ajustado para 7,0 - 7,2 com hidróxido de sódio. O cloridrato de oxitetraciclina e o sulfato de estreptomicina foram utilizados na concentração de 25 µg/ml (Bouzar *et al.*, 1999). Isolados que demonstraram resistência ao sulfato de estreptomicina nessa concentração foram posteriormente submetidos à concentração de 200 µg/ml. Foram preparadas soluções-estoques do antibiótico filtradas em filtro Millex - GS de 0,22 µm (Milipore Co.,

Tabela 1. Número de isolados resistentes aos sulfatos de cobre (50 mg/ml) e de estreptomicina (25 mg/ml) de espécies de *Xanthomonas* associadas à mancha-bacteriana, obtidos de amostras coletadas em lavouras comerciais de tomate para processamento industrial no período 1995-2000. Piracicaba, ESALQ, 2002.

| Ano/ | Local | Número de isolados | | | Número de isolados resistentes | | | | | | | | | |
|----------------|-------------------|--------------------|---------------------------|----|--------------------------------|-------|----|----|----------------|----|-----|--------------------|----|----|
| | | Total | Por espécies ¹ | | | Cobre | | | Estreptomicina | | | C + E ² | | |
| | | | XAV | XV | XG | XAV | XV | XG | XAV | XV | XG | XAV | XV | XG |
| Centro-sudeste | | | | | | | | | | | | | | |
| 1995 | Itapaci-GO | 93 | 2 | 91 | - | 0 | 67 | - | 1 | 0 | - | 0 | 0 | - |
| 1997 | Itapaci-GO | 22 | - | 2 | 20 | - | 2 | 11 | - | 2 | 18 | - | 2 | 10 |
| 1997 | Rio Verde-GO | 47 | - | - | 47 | - | - | 9 | - | - | 46 | - | - | 9 |
| 1998 | Morrinhos-GO | 68 | 6 | - | 62 | 0 | - | 25 | - | - | 61 | 0 | - | 25 |
| 1998 | Patos de Minas-MG | 11 | - | - | 11 | - | - | 3 | - | - | 11 | - | - | 3 |
| 2000 | Morrinhos-GO | 64 | - | - | 64 | - | - | 49 | - | - | 64 | - | - | 49 |
| Nordeste | | | | | | | | | | | | | | |
| 1996 | Petrolina-PE | 36 | 36 | - | - | 1 | - | - | 34 | - | - | 1 | - | - |
| 1998 | Abaré-BA | 16 | 16 | - | - | 2 | - | - | 0 | - | - | 0 | - | - |
| 1998 | Juazeiro-BA | 4 | 4 | - | - | 0 | - | - | 0 | - | - | 0 | - | - |
| 1998 | Petrolina-PE | 18 | 18 | - | - | 1 | - | - | 0 | - | - | 0 | - | - |
| 1998 | Orocó-PE | 10 | 10 | - | - | 0 | - | - | 0 | - | - | 0 | - | - |
| Total | | 389 | 92 | 93 | 204 | 4 | 69 | 97 | 35 | 2 | 200 | 1 | 2 | 96 |

¹ XAV: *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*; XV: *X. vesicatoria*; XG: '*X. gardneri*'. Os isolados de XAV dos campos de Juazeiro, Petrolina-1998 e Orocó são raça T3 e grupo PFGE C, enquanto os demais XAV são raça T1 e grupo PFGE A. Isolados XV e XG são raça T2 e grupos PFGE B e D, respectivamente (Quezado-Duval, 2003).

² C+E: isolados que foram resistentes no teste com cobre (50 mg/ml) e no teste com estreptomicina (25 mg/ml).

“-”: a presença da espécie não foi constatada.

Bedford, EUA) e adicionadas asépticamente no momento em que o meio esterilizado foi vertido nas placas de Petri. A viabilidade dos isolados foi concomitantemente avaliada em meio NA não-suplementado com os agentes químicos. Todas as placas foram incubadas por 96 horas a 28°C. Após esse período, foi feita a avaliação, considerando-se como resistentes isolados que apresentaram crescimento confluyente em três repetições. O percentual das populações referente a isolados resistentes foi calculado para cada espécie e evento de coleta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nenhum isolado foi resistente à oxitetraciclina. Apenas dois relatos sobre a resistência de bactérias fitopatogênicas à oxitetraciclina foram encontrados, um sobre *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* procedente de pomares de pêra nos EUA (Spotts & Cervantes, 1995) e outro sobre *P. syringae* pv. *tomato* em lavouras de tomate para indústria no Brasil (Silva & Lopes, 1995a). Em ambos os casos re-

gistou-se o emprego regular do antibiótico no cultivo do tomateiro no ano de coleta. No caso da estreptomicina, por outro lado, a frequência de isolados resistentes foi elevada em *X. gardneri* (98%) e em *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* (38%), porém muito baixa em *X. vesicatoria* (2%) (Tabela 1, Figura 1). Vale ressaltar que todos os isolados de *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, identificados como raça T3 e coletados em Juazeiro, Petrolina-1998 e Orocó, foram sensíveis ao antibiótico (Tabela 1, Figura 1). Isolados dessa raça encontrados na Flórida (Jones *et al.*, 1995) e no México (Bouzar *et al.*, 1996) também foram sensíveis.

Sessenta e oito por cento dos isolados resistentes a 25 mg/ml de estreptomicina também o foram a 200 mg/ml, sendo 100% dos isolados de *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* (22/22) e de *X. vesicatoria* (2/2) e 51% (21/41) dos isolados de *X. gardneri*. A presença de isolados de bactérias incitantes de mancha-bacteriana resistentes à estreptomicina no Brasil já havia sido relatada por Minsavage *et al.* (1990), mas sem menção da planta hospedeira

e do local de origem desses isolados. Em geral, no caso da estreptomicina (Davies, 1986, citado por Minsavage *et al.*, 1990), a resistência se manifesta apenas em baixos níveis de concentração. No entanto, este mesmo autor revelou a existência de um grupo de isolados resistentes a uma concentração maior do produto (200 mg/ml de sulfato de estreptomicina), o que pode indicar diferentes mecanismos de resistência (Minsavage *et al.*, 1990). Níveis diferenciais de resistência à estreptomicina em *Xanthomonas* spp. associadas à mancha-bacteriana foram anteriormente relatados (Ritchie & Dittapongpitch, 1991; Sahin & Miller, 1996).

Na Tabela 2 estão compilados os dados relativos às coletas realizadas no município de Morrinhos em 1998. A alta frequência de isolados resistentes à estreptomicina (88 a 100%), tanto na primeira como na segunda amostragem em cada lavoura, provavelmente se explica pela existência de uma população inicial já resistente. O fato de que as mudas utilizadas nos três plantios tiveram a mesma procedência, aliado à

Tabela 2. Frequência de isolados de *Xanthomonas* spp. associadas à mancha-bacteriana, resistentes aos sulfatos de cobre (50 µg/ml) e de estreptomicina (25 µg/ml) em testes *in vitro*, obtidos de amostras coletadas em lavouras comerciais de tomate para processamento industrial em Morrinhos, GO, em 1998. Piracicaba, ESALQ, 2002.

| Fazenda | Estádio da lavoura (dias) ¹ | Área cultivada ² | Cultivar | Nº de isolados | Resistência | | Controle químico ³ |
|---------------|--|-----------------------------|-----------------------|----------------|-------------|--------------------|-------------------------------|
| | | | | | Cobre (%) | Estreptomicina (%) | |
| Córrego Fundo | 40 | A | Hypeel 45, Hypeel 108 | 9 | 11 | 88 | OC (4) |
| | 100 | | Hypeel 45 | 15 | 100 | 100 | OC (6) HC (3) E+ O (3) |
| | 20 | B | Hypeel 108 | 5 | 20 | 100 | OC (2) |
| | 80 | | Hypeel 108 | 9 | 22 | 100 | OC (4) HC (3) E+ O (3) |
| Campo Alegre | 04 | C | Hypeel 45 | 6 | 0 | 100 | E+ O (1-2) OC+ M (6) |
| | 60 | | Hypeel 45 | 26 | 15 | 100 | E+ O (2) OC (7) |

¹ Após o transplante.

² Áreas dentro do pivô-central com plantio e tratamentos fitossanitários realizados na mesma época.

³ Utilização de princípios ativos para controle da mancha-bacteriana. Os tratamentos foram iniciados na mesma data para todas as projeções indicadas e referem-se ao período compreendido entre o transplante e a coleta das amostras. E+O= estreptomicina + oxitetraciclina (Agrimicina®); OC= oxiclreto de cobre (Funguran®, Dacobre®); HC= hidróxido de cobre + clorotalonil (Garant®); OC+M= oxiclreto de cobre (Funguran®) misturado ao mancozeb (Manzate®). Números entre parênteses indicam o número de pulverizações.

⁴ Amostragem feita em plântulas em bandejas de isopor no campo no dia do transplante.

detecção de isolados resistentes na fase de sementeira na Fazenda Campo Alegre, reforçam essa hipótese. Nesses casos, portanto, a utilização da estreptomicina para controle da mancha-bacteriana já estava fadada ao insucesso. A permanência de isolados resistentes nos referidos campos dependeria de fatores relacionados às práticas culturais (rotação de culturas, eliminação de plantas voluntárias e de restos culturais, entre outras) e da estabilidade da resistência ao agente químico na ausência da pressão de seleção, caso o uso do antibiótico viesse a ser descontinuado. Em *P. syringae* pv. *syringae*, por exemplo, o fato de a resistência à estreptomicina ser altamente estável *in vitro* explicaria a sua persistência em pomares de pêra independentemente do regime de emprego do bactericida (Spotts & Cervantes, 1995).

Nenhum isolado de *Xanthomonas* spp. usado neste estudo foi resistente ao cobre na concentração de 200 mg/ml. Contudo, isolados resistentes foram detectados para a concentração mais bai-

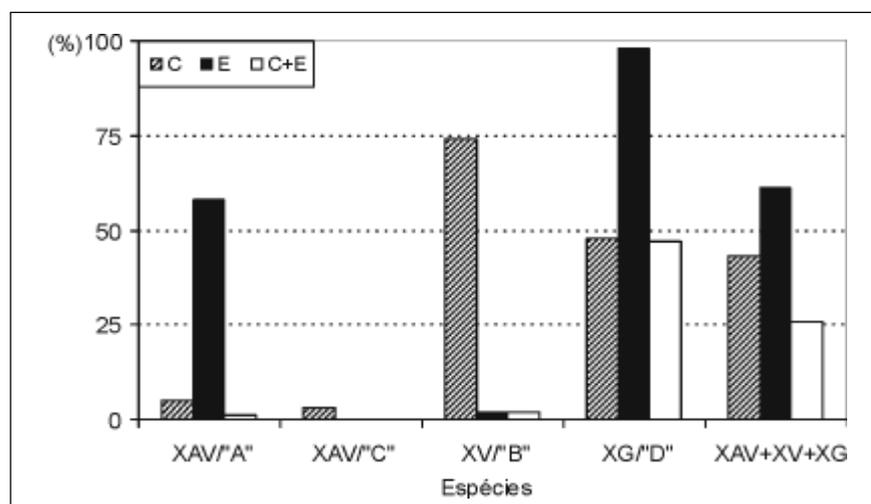


Figura 1. Frequência de isolados de espécies de *Xanthomonas* associadas à mancha-bacteriana, resistentes aos sulfatos de cobre (C; 50 mg/ml) e de estreptomicina (E; 25 mg/ml) e aos dois princípios ativos (C+E), nas respectivas concentrações. As amostras foram coletadas em lavouras comerciais de tomate para processamento industrial no centro-sudeste e nordeste do Brasil, no período de 1995 a 1998 e 2000. XAV: *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* (grupos PFGE A e C); XV: *X. vesicatoria* (grupo PFGE B); XG: *X. gardneri* (grupo PFGE D). Piracicaba, ESALQ, 2002.

xa (50 mg/ml). Crescimento bacteriano em meio de cultura suplementado com 200 mg/ml de sulfato de cobre tem sido

considerado para avaliar a resistência de isolados de *Xanthomonas* spp. associadas à mancha-bacteriana (Bouzar *et al.*,

LITERATURA CITADA

1999; Ritchie & Dittapongpitch, 1991). A quantidade disponível e que responderá pelo efeito tóxico, no entanto, é variável de acordo com a capacidade do meio em complexar o cobre (Menkissoglu & Lindow, 1991). Resistência a teores baixos de cobre, como detectada no presente trabalho, foi também relatada em *Xanthomonas* spp. associadas à mancha-bacteriana do pimentão (Sahin & Miller, 1996; Aguiar et al., 2000), *X. axonopodis* pv. *citri* (Rinaldi, 1998), *P. syringae* pv. *syringae* (Spotts & Cervantes, 1995) e *P. syringae* pv. *tomato* (Silva & Lopes, 1995b).

Considerando-se as três espécies de *Xanthomonas* em conjunto, a frequência de isolados resistentes ao cobre foi inferior àquela referente à estreptomicina e superior à de isolados com resistência a ambos os princípios ativos (Figura 1). A frequência de isolados resistentes ao cobre foi de 48%, 4% e 74%, respectivamente, para *X. gardneri*, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* e *X. vesicatoria* (Figura 1). A maior frequência desses isolados foi detectada no centro-sudeste do país (98%), de onde originaram-se todos os isolados de *X. gardneri* e a maioria dos isolados de *X. vesicatoria* (Tabela 1). A ocorrência de isolados resistentes ao cobre provenientes das culturas de tomate e de pimentão, inclusive no Brasil, foi relatada por vários autores (Marco & Stall, 1983; Adaskaveg et al., 1985; Buonauro et al., 1990; Minsavage et al. 1990; Ritchie & Dittapongpitch, 1991; O'Garro, 1998; Bouzar et al., 1999; Aguiar et al., 2000). Porém, apenas alguns desses relatos, entre os mais recentes, classificam os isolados com relação à espécie a que pertencem (Jones et al., 2000). 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. Estudos subsequentes podem elucidar se os genes envolvidos na resistência ao cobre de isolados de diferentes espécies compartilham a mesma história evolutiva e se a resistência é ou não derivada do plasmídeo pXvCu (Stall et al., 1986).

Ainda em relação ao cobre, a análise dos dados relativos às coletas nas Fazendas Córrego Fundo e Campo Alegre permitiu evidenciar um aumento na proporção de isolados resistentes ao longo do tempo (Tabela 2). Esse aumento talvez tenha sido resultante da pressão de seleção exercida pelo emprego continuado do princípio ativo. O mesmo não foi constatado para a lavoura onde houve menor número de pulverizações de produtos cúpricos até o momento da segunda amostragem (Tabela 2). Outros fatores, entretanto, como variedade plantada, estágio de crescimento das plantas ou problemas de amostragem podem estar relacionados ao resultado obtido.

A exemplo de outros países, as perspectivas do controle da mancha-bacteriana pelo emprego de estreptomicina e de produtos à base de cobre não são muito promissoras para a cultura do tomate para processamento industrial no Brasil. Apesar de alguns campos na Região Nordeste estarem aparentemente livres da ocorrência de isolados resistentes a esses princípios ativos, uma eventual introdução desse tipo de isolado via sementes ou mudas contaminadas poderia resultar em populações predominantemente resistentes, com o conseqüente insucesso do controle. O mesmo poderia vir a ocorrer com a oxitetraciclina ou outro antibiótico que venha a obter registro para uso na cultura. Assim, medidas alternativas, tais como o uso de sementes e mudas garantidamente sadias, cultivares resistentes ou tolerantes, rotação de culturas e eliminação de restos culturais devem ser adotadas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Luiz Cláudio Rodrigues (Olé Alimentos), Rafael Sant'Ana (Arisco), Leonardo Costa da Fonte (Vanden Bergh Alimentos) e Carlos Alberto Lopes (Embrapa Hortaliças) pelo auxílio nas coletas de amostras nos estados de Goiás e Minas Gerais, e a Mirtes Freitas Lima (Embrapa Semi-Árido) pela coleta das amostras na região Nordeste. Este trabalho foi parcialmente financiado pelo CNPq e pela FAPESP.

ADASKAVEG, J.E.; HINE, R.B. Copper tolerance and zinc sensitivity of Mexican strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causal agent of bacterial spot of pepper. *Plant Disease*, v. 69, n. 11, p. 993-996, 1985.

AGUIAR, L.; KIMURA, O.; CASTILHO, A.M.C.; CASTILHO, K.S.C.; RIBEIRO, R.L.D.; AKIBA, F.; CARMO, M.G.F. Resistência ao cobre em isolados nacionais de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* de pimentão e tomateiro. *Agronomia*, v. 34, n. 1/2, p. 78-82, 2000.

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, PE. *Proceedings...* Recife: IPA/ASHS, 1997. p. 94-97.

BOUZAR, H.; JONES, J.B.; SOMODI, G.C.; STALL, R.E.; DAOUZLI, N.; LAMBE, R.C.; FELIX-GASTELUM, R.; TRINIDAD-CORREA, R. Diversity of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in tomato and pepper fields of Mexico. *Canadian Journal of Plant Pathology*, v. 18, n. 1, p. 75-77, 1996.

BOUZAR, H.; JONES, J.B.; STALL, F.J.; LOUWS, F.J.; SCHNEIDER, M.; RADEMAKER, J.L.W.; BRUIJN, de; JACKSON, L.E. Multiphasic analysis of xanthomonads causing bacterial spot disease on tomato and pepper in the Caribbean and Central America: evidence for common lineages within and between countries. *Phytopathology*, v. 89, n. 4, p. 328-335, 1999.

BUONAURIO, R.; STRAVATO, V.M.; SCORTICHINI, M. Characterization of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from *Capsicum annum* L. in Italy. *Plant Disease*, v. 78, n. 3, p. 296-299, 1994.

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 oxicloreto de cobre. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 19, n. 3, p. 342-347, 2001.

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

GOODE, M.J.; SASSER, M. Prevention – the key to controlling bacterial spot and bacterial speck of tomato. *Plant Disease*, v. 64, n. 9, p. 831-834, 1980.

JONES, J.B.; BOUZAR, H.; STALL, R.E.; ALMIRA, E.C.; ROBERTS, P.D.; BOWEN, B.W.; SUDBERRY, P.M.; STRICKLER, P.M.; CHUN, J. Systematic analysis of xanthomonads (*Xanthomonas* spp.) associated with pepper and tomato lesions. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 50, p. 1211-1219, 2000.

JONES, J.B.; STALL, R.E.; SCOTT, J.W.; SOMODI, G.C.; BOUZAR, H. A third tomato race of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Plant Disease*, v. 79, n. 4, p. 395-398, 1995.

LOPES, C.A.; QUEZADO-SOARES, A.M. *Doenças bacterianas das hortaliças – diagnose e controle*. 1. ed. Brasília: EMBRAPA-CNPq, 1997. 70 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*, v. 67, n. 7, p. 779-781, 1983.
- MARINGONI, A.C.; KUROZAWA, C.; BARBOSA, V.; SILVA NETO, J.C. Controle químico da mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye) do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Summa Phytopathologica*, v. 12, n. 1-2, p. 92-101, 1986.
- MCMANUS, P.; STOCKWELL, V. Antibiotics for plant disease control: silver bullets or rusty sabers? *APSnet Feature Story*, St. Paul, jun. 2000. Disponível em <<http://www.APSFeatures\APSFea-antibiotics.html>>. Acesso em 8/6/00.
- MENKISSOGLU, O.; LINDOW, S.E. Relationship of free ionic copper and toxicity to bacteria in solutions of organic compounds. *Phytopathology*, v. 81, n. 10, p. 1258-1263, 1991.
- MINSAVAGE, G.V.; DAHLBECK, D.; WHALEN, M.C.; KEARNEY, B.; BONAS, U.; STASKAWICZ, B.J.; STALL, R.E. Gene-for-gene relationships specifying disease resistance in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*-pepper interactions. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, v. 3, n. 1, p. 41-47, 1990.
- O'GARRO, L.W. Bacterial spot of tomato and pepper on four East Caribbean islands: races, their abundance, distribution, aggressiveness, and prospects for control. *Plant Disease*, v. 82, n. 8, p. 864-870, 1998.
- QUEZADO-DUVAL, A.M. *Diversidade de Xanthomonas spp. associadas à mancha-bacteriana em tomateiro para processamento industrial no Brasil*. Piracicaba: ESALQ, 2003. 111 p. (Tese doutorado)
- RINALDI, D.A.M.F. Estudo da sensibilidade ao cobre e estreptomicina e caracterização do perfil de plasmídeos em *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 1998. 67 p. (Tese mestrado)
- RITCHIE, D.F.; DITTAPONGPITCH, V. Copper- and streptomycin-resistant strains and host differentiated races of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in North Carolina. *Plant Disease*, v. 75, n. 7, p. 733-736, 1991.
- SAHIN, F.; MILLER, S.A. Characterization of Ohio strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causal agent of bacterial spot of pepper. *Plant Disease*, v. 80, n. 7, p. 773-778, 1996.
- SCHAAD, N.W. Initial identification of common genera. In: Schaad, N.W., Jones, J.B., and Chun, W. (eds). *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. p. 1-15. St. Paul: American Phytopathological Society, 2001.
- SILVA, V.L.; LOPES, C.A. Isolados de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* resistentes a estreptomicina e oxitetraciclina em tomates pulverizados ou não com antibióticos agrícolas. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 20, n. 1, p. 80-84, 1995a.
- SILVA, V.L.; LOPES, C.A. Isolados de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* resistentes a cobre em tomates pulverizados com fungicidas cúpricos. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 20, n. 1, p. 85-89, 1995b.
- SPOTTS, R.A.; CERVANTES, L.A. Copper, oxytetracycline, and streptomycin resistance of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strains from pear orchards in Oregon and Washington. *Plant Disease*, v. 79, n. 11, p. 1132-1135, 1995.
- STALL, R.E.; LOSCHKE, D.C.; JONES, J.B. Linkage of copper resistance and avirulence loci on a self-transmissible plasmid in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Phytopathology*, v. 76, n. 2, 1986.
- STALL, R.E.; THAYER, P.L. Streptomycin resistance of the bacterial spot pathogen and control with streptomycin. *Plant Disease Reporter*, v. 46, n. 6, p. 389-392, 1962.
- THAYER, P.L.; STALL, R.E. Effect of variation in the bacterial spot pathogen of pepper and tomato on control with streptomycin. *Phytopathology*, v. 51, n. 8, p. 568-572, 1961.