

Sensibilidade de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* ao cobre e mancozeb

Luciana Meneguim^{1,2}, Dirlene A.M.F. Rinaldi³, Ana C.A. Santos¹, Ludmila S. Rodrigues¹,
Michele R.L. Silva^{1,2}, Marcelo G. Canteri² & Rui P. Leite Júnior¹

¹Área de Proteção de Plantas, Instituto Agronômico do Paraná, Cx. Postal 481, CEP 86001-970, Londrina, PR, Brasil, e-mail: ruileite@iapar.br; ²Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Cx. Postal 6001, CEP 86051-990, Londrina, PR, Brasil; ³Secretaria da Agricultura e Abastecimento - SEAB, Núcleo Regional de Maringá, R. Arthur Thomaz 410, CEP 87013-250, Maringá, PR, Brasil

Autor para correspondência: Rui P. Leite Júnior

MENEGUIM, L., RINALDI, D.A.M.F., SANTOS, A.C.A., RODRIGUES, L.S., SILVA, M.R.L., CANTERI, M.G. & LEITE JÚNIOR, R.P. Sensibilidade de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* ao cobre e mancozeb. Fitopatologia Brasileira 32:247-252. 2007.

RESUMO

O cancro cítrico, causado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Xac) é uma das principais doenças na produção de citros em diversas regiões do mundo. A aplicação de produtos químicos com ação bactericida é uma das principais medidas adotadas para o controle dessa doença. O objetivo deste estudo foi determinar a sensibilidade de isolados Xac ao cobre, bem como à mistura de cobre com mancozeb. A maior concentração de cobre em que foi observado crescimento de isolados de Xac foi de 50 µg/mL. Entretanto, 45,5 % dos isolados da bactéria provenientes de pomares que receberam aplicações frequentes de cobre cresceram na presença de 50 µg/mL de cobre, contra apenas 13,4 % dos isolados oriundos de pomares que não receberam pulverizações regulares do bactericida. A presença de mancozeb em mistura com cúpricos reduziu a sensibilidade ao cobre dos isolados de Xac. Desta forma, o mancozeb não deve ser utilizado em mistura com cobre para o controle do cancro cítrico.

Palavras-chave adicionais: cancro cítrico, resistência ao cobre, etilenobisditiocarbamate.

ABSTRACT

Sensibility of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* to copper and mancozeb

Citrus canker, caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Hasse) Vauterin *et al.* 1995 (Xac), is one of the most important problems for citrus production around the world. Spraying with copper compounds is a major measure for control of the disease. The objective of this study was to determine the sensitivity of Xac strains from the State of Parana, Brazil, to copper as well as to a mixture of copper with mancozeb. The highest copper concentration where Xac grew was 50 µg/mL. However, 45.5 % of the bacterial strains from orchards with regular sprays of copper compounds grew in the presence of 50 µg/mL of copper. In contrast, only 13.4 % of the strains from citrus orchards that never received copper sprays grew in such a copper concentration. Mixing mancozeb with copper increased the tolerance of Xac to copper. Therefore, the recommendation of mancozeb mixed with copper for control of the citrus canker bacterium should be reviewed.

Additional keywords: citrus canker, copper resistance, ethylenebisdithiocarbamate.

O cancro cítrico, causado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Hasse) Vauterin *et al.* 1995 (Xac) é um dos principais problemas para a citricultura mundial (Schubert *et al.*, 2001). A doença ocorre endemicamente em diversas regiões do Sudoeste Asiático e em alguns países da América do Sul (Leite Júnior, 1990). Nos últimos anos, o cancro cítrico tem adquirido proporções epidêmicas na Flórida, EUA, levando à adoção de medidas drásticas de erradicação, com a destruição de mais de 1,5 milhão de plantas cítricas de pomares comerciais e residenciais (Schubert *et al.*, 2001).

No Brasil, programas de erradicação têm sido implementados no Estado de São Paulo desde os anos 50, com os objetivos de restringir a disseminação da bactéria Xac e eventualmente eliminar a doença do território paulista. No Estado do Paraná tem sido adotado um programa de manejo integrado para prevenção e controle do cancro cítrico desde o final da década de 80 (Leite Júnior, 2000).

Entre as práticas para o manejo integrado de cancro cítrico têm sido incluída a produção de mudas sadias, plantio de cultivares de citros mais resistentes à doença, instalação de quebra-ventos arbóreos, controle da larva minadora do citros (*Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856) e aplicações regulares de bactericidas cúpricos (Leite Júnior, 2000).

Diversos produtos cúpricos têm sido utilizados no controle de doenças bacterianas, como oxicloreto de cobre, sulfato de cobre, hidróxido de cobre e óxido cuproso. O cobre atua na proteção do tecido vegetal contra infecção por bactérias e na redução da população bacteriana na superfície foliar. Entretanto, são necessárias várias aplicações de produtos para alcançar controle adequado de doenças bacterianas (Leite Júnior, 2000). A época e o número de aplicações de cobre para controle eficiente do cancro cítrico dependem de vários fatores como susceptibilidade do cultivar, idade da planta, condições ambientais e adoção de outras medidas de controle (Leite Júnior, 2000). No entanto,

o uso prolongado de bactericidas cúpricos para o controle de cancro cítrico pode também levar ao surgimento de linhagens da bactéria resistentes ao cobre.

Resistência a cúpricos já foi reportada para patovares de *Pseudomonas syringae* (Nakajima *et al.*, 2002) e *Xanthomonas* spp. (Marco & Stall, 1983; Aguiar *et al.*, 2000). Com relação a Xac, há relatos na Argentina da ocorrência de resistência ao cobre em linhagens bacterianas provenientes de viveiros que receberam aplicações regulares de produtos à base de cobre (Canteros, 1996). Por outro lado, o exame de 21 isolados de Xac obtidos de pomares do Estado do Rio Grande do Sul não revelou a presença de resistência a cobre nessa bactéria (Maciel *et al.*, 1998). 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 (Marco & Stall, 1983). Portanto, a utilização de mancozeb em mistura com produtos cúpricos no controle de cancro cítrico poderia ser uma alternativa para evitar o aparecimento de linhagens resistentes da bactéria em pomares sob uso continuado de cobre.

Em função do uso exclusivo e continuado de bactericidas cúpricos por mais de 15 anos dentro do programa de manejo integrado de cancro cítrico no Estado do Paraná, torna-se importante o conhecimento da ocorrência de resistência em Xac a esse bactericida, bem como, a possibilidade de utilização de outros produtos químicos para controle da doença. Para tanto, foram conduzidos estudos com o objetivo de determinar a sensibilidade ao cobre de isolados de Xac provenientes de pomares do Estado do Paraná que receberam ou não, aplicações regulares de bactericidas cúpricos e também, a ação do cobre em combinação com o produto mancozeb sobre esses isolados.

O estudo foi realizado com 122 isolados de Xac obtidos a partir de lesões de cancro cítrico em folhas de diferentes espécies de citros coletadas em 84 propriedades de 24 municípios das regiões Norte e Noroeste do Estado do Paraná (Rinaldi, 1998). Entre os isolados incluídos no estudo, 55 foram obtidos de material coletado em pomares com idade entre seis e 10 anos, que receberam aplicações de bactericidas cúpricos regularmente e 67 isolados de pomares com aproximadamente 20 anos de idade, que nunca receberam aplicações desses produtos químicos.

O isolamento da bactéria foi realizado em meio Agar Nutritivo (AN) e a patogenicidade foi testada em folhas jovens de laranjeira Caipira (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) pela infiltração de suspensão de células bacterianas, ajustada para a concentração aproximada de 10^8 UFC/mL ($DO_{600} = 0,1$). O desenvolvimento de sintomas típicos de cancro cítrico na área infiltrada foi considerado como positivo para Xac. Os isolados bacterianos foram armazenados em tubos de polipropileno contendo tampão fosfato (1,5 g K_2HPO_4 , 1,0 g KH_2PO_4 , 1000 mL água destilada) e mantidos em temperatura ambiente.

A sensibilidade ao cobre dos 122 isolados bacterianos foi determinada pelo plaqueamento em meio de cultura AN

contendo diferentes concentrações de sulfato de cobre. Os isolados bacterianos foram inicialmente cultivados em meio de cultura AN por 24 a 48 h a 28 °C. Após esse período, foi preparada suspensão de cada isolado em água destilada esterilizada, na concentração de aproximadamente 10^8 UFC/mL ($DO_{600} = 0,1$) e alíquotas de 5 µL foram depositadas sobre o meio AN, contendo sulfato de cobre em triplicata nas concentrações de 0, 1, 5, 10, 20, 50 e 100 µg/mL. As placas foram mantidas a 28 °C por 72 h e após esse período foi observado se houve (+) ou não (-) crescimento bacteriano confluyente nas três repetições, sendo considerado como resistentes isolados que apresentassem crescimento em concentrações maiores que 100 µg/mL de sulfato de cobre (Marco & Stal, 1983). Cinquenta e nove isolados, escolhidos aleatoriamente, foram utilizados para determinar a sensibilidade ao mancozeb seguindo o mesmo procedimento descrito anteriormente, entretanto, com concentrações finais de mancozeb de 0, 10, 20, 50, 100 e 200 µg/mL. Os resultados foram analisados pelo teste t, a 5 % de probabilidade, comparando-se as percentagens de sobrevivência em função da procedência dos isolados e das dosagens dos fungicidas utilizados.

No teste de sensibilidade ao cobre em mistura com mancozeb, os isolados 306 e 309 foram escolhidos entre os isolados testados anteriormente por serem considerados como menos sensível e mais sensível ao cobre, respectivamente (Rinaldi, 1998). Foi seguido o mesmo procedimento descrito anteriormente, porém nas concentrações de 0, 1, 5, 10, 20, 50, 100 e 200 µg/mL de sulfato de cobre e 0, 10, 20, 50, 100, 200 e 400 µg/mL de mancozeb.

A curva de sobrevivência de Xac foi determinada em soluções de oxiclreto de cobre, produto cúprico normalmente utilizado para controle de doenças bacterianas, na concentração de 100 µg/mL e de oxiclreto de cobre em mistura com mancozeb nas concentrações de 100 µg/mL e 200 µg/mL, respectivamente. As soluções foram preparadas em água destilada esterilizada com pH ajustado entre 7,0 e 7,2. Foram utilizados nesse estudo os isolados 306, considerado menos sensível ao cobre e resistente ao mancozeb e 376 considerado sensível ao cobre e resistente ao mancozeb (dados não publicados). Alíquotas de 1 mL da suspensão bacteriana de cada isolado na concentração de aproximadamente 10^8 UFC/mL ($DO_{600} = 0,1$) foram transferidas para tubos de ensaio contendo 9 mL de solução de oxiclreto de cobre ou oxiclreto de cobre em mistura com mancozeb. As suspensões de células bacterianas foram mantidas sob agitação a 28 °C durante todo o experimento. Alíquotas de 100 µL das suspensões foram plaqueadas em meio de cultura AN aos 0, 30, 60, 120, 180 e 240 min após exposição às soluções de produtos químicos. Para cada tratamento foram feitas três repetições. As placas foram mantidas a 28 °C por 72 h e após esse período foi observado se houve ou não crescimento bacteriano nas três repetições.

Nenhum isolado de Xac das regiões Norte e Noroeste do Estado do Paraná, provenientes de pomares com e sem aplicações regulares de bactericidas cúpricos, apresentou

crescimento na concentração máxima testada de sulfato de cobre, de 100 µg/mL (Tabela 1). A maior concentração de sulfato de cobre em que foi observado crescimento bacteriano foi de 50 µg/mL. Contudo, os isolados apresentaram variações na sensibilidade ao cobre para as diferentes concentrações testadas (Tabela 1).

Isolados provenientes de pomares que receberam aplicações regulares de cobre normalmente apresentaram menor sensibilidade ao cobre, quando comparados aos isolados provenientes de pomares que não receberam aplicações do bactericida. Assim, 45,5 % dos isolados provenientes de pomares que receberam pulverizações regulares de cobre foram tolerantes à concentração de 50 µg/mL do produto. Em contraste, apenas 13,4 % dos isolados provenientes de pomares que não receberam aplicações regulares do bactericida foram tolerantes a essa concentração de cobre. No entanto, para concentrações mais baixas de sulfato de cobre não foram observadas diferenças significativas entre os isolados provenientes dos dois tipos de pomares (Tabela 1).

Com relação à sensibilidade ao mancozeb, foram testados 59 isolados de Xac, sendo 39 provenientes de pomares com aplicações regulares de bactericidas cúpricos e 20 isolados provenientes de pomares sem aplicações de cobre. Todos os isolados testados cresceram nas concentrações de até 20 µg/mL de mancozeb. Diferenças significativas na sensibilidade dos isolados bacterianos ao mancozeb foram observadas nas concentrações a partir de 50 µg/mL do produto. Aproximadamente 95 % dos isolados de Xac provenientes de pomares que receberam aplicações regulares de bactericidas cúpricos foram resistentes à concentração de até 200 µg/mL de mancozeb. Por outro lado, 70 % dos isolados provenientes de pomares que não receberam aplicações de cobre foram resistentes a essa concentração de mancozeb (Tabela 1).

No teste de sensibilidade ao cobre em associação com mancozeb foram utilizados os isolados 306 e 309, considerados, respectivamente, como menos e mais sensível ao cobre e mancozeb em estudos anteriores (dados não publicados). O isolado 306 apresentou crescimento na presença de até 50 µg/mL de cobre, em ausência de mancozeb (Tabela 2). Em contraste, o isolado 309 foi sensível às concentrações superiores a 5 µg/mL de cobre. Em relação ao mancozeb, o isolado 306 apresentou crescimento até na concentração máxima testada de 400 µg/mL, já o isolado 309 cresceu somente na presença de até 50 µg/mL de mancozeb (Tabela 2).

O mancozeb teve influência na sensibilidade ao cobre dos dois isolados bacterianos. Em ambos os casos, a presença de mancozeb reduziu a sensibilidade ao cobre dos isolados de Xac. Para o isolado 306, a adição de mancozeb à solução de cobre possibilitou o crescimento desse isolado bacteriano até na concentração máxima de cobre testada de 200 µg/mL. Já para o isolado 309, a presença de mancozeb também reduziu o nível de sensibilidade ao cobre, possibilitando o crescimento do isolado na concentração de cobre de até 20 µg/mL quando em presença de 10 e 20 µg/mL de mancozeb. Em concentrações de mancozeb a partir de 100 µg/mL não foi observado crescimento bacteriano do isolado 309, independente da concentração de cobre (Tabela 2).

Os isolados 306 e 376 de Xac apresentaram curvas de sobrevivência distintas em presença de 100 µg/mL de cobre (Figura 1A). O isolado 376, mais sensível ao cobre, apresentou rápido declínio da população bacteriana, não sendo detectadas células viáveis já nos primeiros 30 minutos de exposição ao oxiclreto de cobre. Em contraste, o isolado 306, menos sensível ao cobre, apresentou declínio mais lento na população bacteriana, com células viáveis sendo detectadas até próximo de 120 min após exposição ao

TABELA 1 – Frequência de isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* com crescimento em diferentes concentrações de sulfato de cobre e mancozeb, obtidos de pomares comerciais e domésticos de *Citrus* spp. das regiões Norte e Noroeste do Estado do Paraná

Sulfato de cobre (µg/mL)	Pomar ^a			Mancozeb (µg/mL)	Pomar		
	A (%)	B (%)	(A-B)		A (%)	B (%)	(A-B)
0	100,0	100,0	0,0	0	100,0	100,0	0
1	100,0	100,0	0,0	10	100,0	100,0	0,0
5	100,0	95,5	4,5	20	100,0	100,0	0,0
10	80,0	73,1	6,9	50	100,0	80,0	20,0*
20	61,8	38,8	23,0*	100	94,6	70,0	24,6*
50	45,5	13,4	32,1*	200	94,6	70,0	24,6*
100	0,0	0,0	0,0	-	-	-	

^aA: pomar com aplicações regulares de cobre; B: pomar sem aplicação de cobre.

*Diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste t.

TABELA 2 – Sensibilidade dos isolados 306 (menos sensível) e 309 (mais sensível) de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* quando expostos à mistura de sulfato de cobre e mancozeb

Mancozeb ($\mu\text{g/mL}$)	Sulfato de cobre ($\mu\text{g/mL}$)															
	306								309							
	0	1	5	10	20	50	100	200	0	1	5	10	20	50	100	200
0	+ ^a	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
1	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
5	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
10	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
20	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-
50	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-
100	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
200	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
400	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

^a+ presença de crescimento; - ausência de crescimento

oxicloreto de cobre (Figura 1A).

A presença de mancozeb em mistura com cobre alterou significativamente a curva de sobrevivência dos dois isolados de Xac (Figura 1B). A população do isolado 376 se manteve sem alteração até 120 minutos de exposição à mistura dos dois produtos. Após esse período, houve redução gradual da população bacteriana, sendo detectadas células bacterianas viáveis até 240 min de exposição à mistura dos produtos. Em contraste, o isolado 306 manteve o mesmo nível da concentração bacteriana até o tempo máximo de exame da população bacteriana, aos 240 min de exposição à mistura dos produtos químicos (Figura 1B).

Os resultados obtidos neste estudo indicaram que até o momento não existem evidências de resistência ao cobre na população de Xac que ocorre no Estado do Paraná causando o cancro cítrico. Nenhum dos isolados de Xac testados cresceu na presença de sulfato de cobre na concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ que é a concentração base para ser considerado como resistente ao cobre (Marco & Stall, 1983). Mesmo a aplicação regular de bactericidas cúpricos por diversos anos ainda não possibilitou o surgimento de linhagens da bactéria do cancro cítrico resistentes ao cobre. O mesmo foi observado por Quezado-Duval (2003) em populações de *Xanthomonas* spp. em lavouras de tomate. No entanto, foi observada uma relativa redução na sensibilidade ao cobre na população de Xac presente em pomares cítricos que têm recebido aplicações regulares de bactericidas cúpricos (Tabela 1). Isso se deve certamente à adaptação da população bacteriana ao cobre em função de aplicações contínuas de bactericidas cúpricos. A mesma situação também foi observada para outras bactérias do gênero *Xanthomonas* (Marco & Stall, 1983). Além disso, Canteros (1996) verificou a presença de resistência ao cobre em isolados de Xac provenientes de pomares que receberam aplicações sucessivas de cobre. Por outro lado, nenhum isolado dessa bactéria obtido de pomares que nunca tinham recebido

pulverizações de cúpricos apresentou resistência a esse produto (Canteros, 1996).

Cabe ressaltar que a resistência a produtos cúpricos em bactérias fitopatogênicas foi observada pela primeira vez em *Xanthomonas* spp. associadas com doenças em pimentão (Marco & Stall, 1983). Desde então, vários outros autores reportaram a ocorrência de resistência a cobre em *Xanthomonas* spp. (Bender *et al.*, 1990; Aguiar *et al.*, 2000), bem como em *Pseudomonas* spp. (Nakajima *et al.*, 2002). Todos esses relatos referem-se a isolados bacterianos provenientes de lavouras que receberam pulverizações regulares de produtos à base de cobre por vários anos.

A resistência a cobre em *Xanthomonas* spp. está normalmente associada à presença de plasmídeos, que apresentam dimensões grandes e são autotransmissíveis (Bender *et al.*, 1990; Stall *et al.*, 1986). A associação de resistência ao cobre com esses tipos de plasmídeos tem sido relacionada com o aumento da ocorrência da resistência a esse metal pesado em bactérias fitopatogênicas no campo. Entretanto, não foram encontradas evidências da presença de plasmídeos que poderiam eventualmente estar associados à resistência a cobre nos isolados incluídos no presente estudo (Rinaldi, 1998) bem como para outros isolados brasileiros de Xac (Maciel *et al.*, 1998). Vários mecanismos têm sido sugeridos para explicar a resistência ao cobre em bactérias fitopatogênicas, como o controle da entrada de cobre e o seu manejo no interior da célula como também, seqüestro do cobre por proteínas presentes no espaço periplasmático e na membrana externa da célula bacteriana (Cooksey, 1993). No entanto, há necessidade de estudos adicionais para elucidar o mecanismo de resistência ao cobre envolvido com a bactéria Xac.

O total de 122 isolados de Xac utilizados no presente estudo é relativamente grande quando comparado aos trabalhos realizados anteriormente. Assim, as informações geradas permitiram avaliar com segurança a sensibilidade

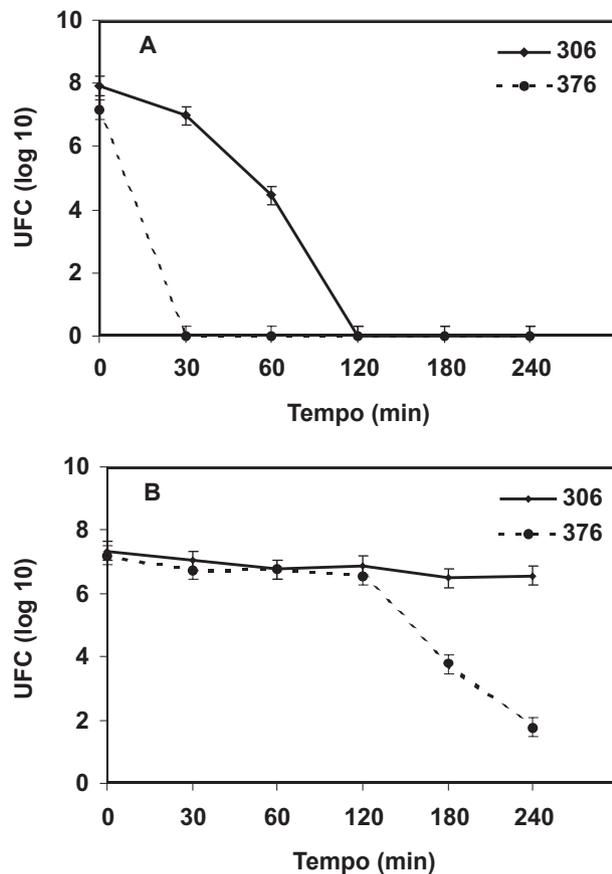


FIG. 1. - Curva de sobrevivência dos isolados 306 e 376 de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, em presença de (A) oxicleto de cobre (100 µg/mL) e (B) oxicleto de cobre (100 µg/mL) em mistura com mancozeb (200 µg/mL).

ao cobre de Xac que ocorre no Estado do Paraná. O presente estudo também mostrou que o cobre ainda é um produto seguro do ponto de vista bacteriológico para ser utilizado no controle de cancro cítrico. Entretanto, sua aplicação freqüente pode levar à seleção de linhagens de Xac com maior tolerância ou até mesmo resistentes ao produto.

A utilização de mancozeb aumentou a tolerância ao cobre tanto de isolados de Xac menos sensíveis como mais sensíveis ao cobre (Figura 1B). Entretanto, estudos realizados com a combinação de fungicidas cúpricos e etilenobisditiocarbamatos no controle de doenças bacterianas mostraram ser superior quando comparado à utilização do cobre sozinho (Marco & Stall, 1983). Os compostos etilenobisditiocarbamatos, tais como mancozeb e maneb, são normalmente recomendados para serem utilizados em mistura com cúpricos, pois aumentam a eficiência no controle de doenças bacterianas e diminuem a fitotoxicidade causada por cobre nas plantas. Entretanto, no presente estudo, a adição de mancozeb propiciou aumento na tolerância ao cobre dos isolados de Xac, sugerindo que são necessárias concentrações mais elevadas de cobre para inibir o crescimento bacteriano (Figura 1B). O efeito inibitório do

cobre em bactéria é dependente da concentração de íons livres de cobre na solução (Lee *et al.*, 1993). Entretanto, a adição de mancozeb à solução de bactericida cúprico reduz a concentração de íons livres desse metal na solução (dados não publicados). Conseqüentemente, a maior tolerância de Xac ao cobre quando da mistura com mancozeb se deve provavelmente à redução na concentração de íon cobre livre na solução. Para isolados bacterianos sensíveis e resistentes ao mancozeb, como os isolados 309 e 376 de Xac, respectivamente, níveis elevados desse fungicida apresentariam ação inibitória, enquanto que bactericidas cúpricos nessa mistura perderiam seu efeito inibitório sobre a bactéria. Desta forma, a utilização de mancozeb em mistura com cobre para o controle da bactéria do cancro cítrico deve ser revista.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, L.A., KIMURA, O., CASTILHO, A.M., 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* 34:78-82. 2000.
- BENDER, C.L., MALVICK, D.K., CONWAY, K.E., GEORGE, S. & PRATT, P. Characterization of pXV10A, a copper resistance plasmid in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Applied and Environmental Microbiology* 56:170-175. 1990.
- CANTEROS, B.I. Copper resistance in *Xanthomonas campestris* pv. *citri*. *Proceedings, 9th. International Conference of Plant Pathogenic Bacteria*. Madras, Índia, 1996. pp. 455-459.
- CAZORLA, F.M., ARREBOLA, E., SESMA, A., PÉREZ-GARCÍA, A., CODINA, J. C., MURILLO, J. & DE VICENTE, A. Copper resistance in *Pseudomonas syringae* strains isolated from mango is encoded mainly by plasmids. *Phytopathology* 92:909-916. 2002.
- COOKSEY, D.A. Copper uptake and resistance in bacteria. *Molecular Microbiology* 7:1-5. 1993.
- LEE, Y.A., SCHROTH, M.N., HEDSON, M., LINDOW, S.E., WANG, X.L., ONSON, B., BUCHNER, R.P. & TEVIOTDALE, B. Increased toxicity of iron-emended copper-containing bactericides to the walnut blight pathogen *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis*. *Phytopathology* 83:1460-1465. 1993.
- LEITE JÚNIOR, R.P. Surviving with Citrus Canker in Brazil. *Proceedings, 9th Congress of the International Society for Citriculture*. Orlando FL. 2000. pp. 890-896.
- MACIEL, J.L.N., DUARTE, V. & AYUB, M.A.Z. Plasmid DNA restriction profile and copper sensitivity of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* from Rio Grande do Sul, Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 23:116-120. 1998.
- 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* 67:779-781. 1983.
- NAKAJIMA, M., GOTO, M. & HIBI, T. Similarity between copper

resistance genes from *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* and *P. syringae* pv. *tomato*. Journal of General Plant Pathology 68:68-74. 2002.

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

RINALDI, D.A.M.F. Estudo da sensibilidade ao cobre e estreptomicina e caracterização do perfil de plasmídeos em *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. Dissertação de Mestrado. Maringá PR. Universidade Estadual de Maringá. 1998.

SCHUBERT, T.S., RIZVI, S.A., SUM, X., GOTTWALD, T.R. GRAHAN, J.H. & DIXON, W.N. Meeting the challenge of eradicating citrus canker in Florida again. Plant Disease 85:340-356. 2001.

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 76:240-243. 1986.

SUNDIN, G.W., JONES, A.L. & FULBRIGTH, D.W. Copper resistance in *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* from cherry orchards and its associated transfer *in vitro* and *in planta* with a plasmid. Phytopathology 79:861-865. 1989.

Recebido 21 Março 2006 - Aceito 30 Março 2007 - FB 6033