

NADSON DE CARVALHO PONTES

**MANCHA BACTERIANA EM TOMATE INDUSTRIAL: MÉTODOS DE  
INOCULAÇÃO, QUANTIFICAÇÃO DA DOENÇA E OTIMIZAÇÃO DO  
CONTROLE COM ACIBENZOLAR-S-METIL**

Tese apresentada à Universidade  
Federal de Viçosa, como parte  
das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Fitopatologia,  
para obtenção do título de *Doctor  
Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2012

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

P814m  
2012

Pontes, Nadson de Carvalho, 1984-

Mancha bacteriana em tomate industrial : métodos de  
inoculação, quantificação da doença e otimização do controle  
com acibenzolar-S-metil / Nadson de Carvalho Pontes.

– Viçosa, MG, 2012.

xi, 86f. : il. ; 29cm.

Orientador: José Rogério de Oliveira.

ese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Tomate - Doenças e pragas.

2. *Solanum lycopersicum* L.. 3. *Xanthomonas perforans*.

4. Mancha-bacteriana. I. Universidade Federal de Viçosa. II.

Título.

CDD 22. ed. 635.642932

NADSON DE CARVALHO PONTES

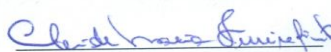
**MANCHA BACTERIANA EM TOMATE INDUSTRIAL: MÉTODOS DE  
INOCULAÇÃO, QUANTIFICAÇÃO DA DOENÇA E OTIMIZAÇÃO DO  
CONTROLE COM ACIBENZOLAR-S-METIL**

Tese apresentada à Universidade  
Federal de Viçosa, como parte  
das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Fitopatologia,  
para obtenção do título de *Doctor  
Scientiae*.

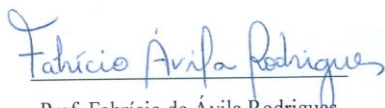
Aprovada em: 28/08/2012



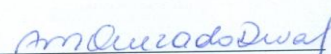
Dr. Trazilbo José de Paula Júnior



Dra. Cleide Maria Ferreira Pinto



Prof. Fabricio de Ávila Rodrigues



Dra. Alice Maria Quezado-Duval

(Coorientadora)



Prof. José Rogério de Oliveira

(Orientador)

**À Raimundo Urias de  
Carvalho (*in memoriam*)**

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitopatologia, por possibilitar a realização deste curso.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela bolsa concedida durante o curso.

À Dra. Alice Maria Quezado-Duval e ao Professor José Rogério de Oliveira, pela amizade, orientação e confiança dedicadas a mim durante a realização deste trabalho.

Ao Professor Luiz Antonio Maffia, pela colaboração durante o desenvolvimento dos experimentos.

Ao Professor Fabrício de Ávila Rodrigues e aos pesquisadores Dr. Trazilbo José de Paula Júnior e Dra. Cleide Maria Ferreira Pinto, pelas sugestões apresentadas, pela atenção e pela disponibilidade em participar da banca de defesa de tese.

À Professora Abadia dos Reis Nascimento, companheira de todas as horas, e que muito contribuiu para a realização destes trabalhos.

Aos profissionais da Embrapa Hortaliças, em especial ao Dr. Carlos Alberto Lopes, pelas sugestões, ensinamentos e amizade, e aos funcionários Arnould Araújo, José Luís Pereira e Luana Maria, sem os quais este trabalho não teria sido realizado.

Aos colegas do Instituto Federal Goiano, em especial aos professores Adelmo e Anselmo Golynski, pelo auxílio na realização dos trabalhos e pelo apoio e amizade dedicados a mim.

À equipe do Laboratório de Bacteriologia e Patologia de Sementes, da Universidade Federal de Viçosa, pela força e companheirismo durante minha estada em Viçosa.

Aos companheiros de trabalho do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Hortaliças, estudantes e pesquisadores, os quais foram sempre solícitos, além da amizade dedicada a mim.

Aos professores do Departamento de Fitopatologia, pelos ensinamentos passados ao longo deste curso.

Aos colegas de fitopatologia e demais amigos de Viçosa, em especial aos amigos Rodrigo, Daniel e Luciano, pelo auxílio e amizade.

Aos companheiros de república, seja em Viçosa (Danilo, Cassiano, Samuel, Ueder e Fabrício) ou Brasília (Fred, Márcio, Henrique e Câmara), pela amizade e apoio.

À Miriam Fumiko Fujinawa, pelo companheirismo e dedicação.

Aos meus pais, Pontes e Nazidir, pelo carinho, educação, apoio e confiança tidos a mim durante toda a minha existência.

Ao meu irmão Raifran, pelo incentivo e amizade.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta conquista.

## **BIOGRAFIA**

NADSON DE CARVALHO PONTES, filho de Raimundo Ferreira Pontes e Maria Nazidir de Carvalho Pontes, nasceu no dia 7 de julho de 1984, na cidade de São Luís, capital do Estado do Maranhão.

Em março de 2002, ingressou no curso de Agronomia da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), onde obteve o grau de Engenheiro Agrônomo em agosto de 2006.

Iniciou o curso de mestrado em Fitopatologia na Universidade Federal de Viçosa em março de 2007, o qual foi concluído no dia 13 de fevereiro de 2009. Iniciou o doutorado em Fitopatologia na mesma instituição, em março de 2009, submetendo-se a defesa da dissertação no dia 28 de agosto de 2012.

## ÍNDICE

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS.....	4
CAPÍTULO 1.....	6
RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
INTRODUÇÃO.....	9
MATERIAL E MÉTODOS.....	10
Preparo das mudas e instalação do experimento.....	10
Preparo do inóculo.....	11
Métodos de inoculação.....	11
Métodos de quantificação da severidade da mancha bacteriana.....	12
Delineamento experimental e análises estatísticas.....	12
Confiabilidade das estimativas de severidade obtidas com o auxílio da escala descrita no método C.....	13
RESULTADOS.....	14
Avaliação da severidade da mancha bacteriana durante os primeiros 30 dias de cultivo.....	14
Avaliação da severidade da mancha bacteriana entre os 30 e 60 dias de cultivo.....	15
Avaliação da severidade da mancha bacteriana a partir dos 60 dias de cultivo....	15
Confiabilidade das estimativas de severidade entre os avaliadores utilizando a escala descrita no método C.....	16
DISCUSSÃO.....	17
REFERÊNCIAS.....	24
Tabelas e Figuras.....	27
CAPÍTULO 2.....	32
RESUMO.....	33
ABSTRACT.....	34
INTRODUÇÃO.....	35
MATERIAL E MÉTODOS.....	37

DISCUSSÃO.....	42
REFERÊNCIAS.....	46
Tabelas e Figuras.....	50
CAPÍTULO 3.....	56
RESUMO.....	57
ASBTRACT.....	58
INTRODUÇÃO.....	59
MATERIAL E MÉTODOS.....	61
Experimentos de campo.....	61
Persistência da ação do acibenzolar-S-metil no controle da mancha bacteriana.....	64
Validação do melhor tratamento em área comercial de produção.....	65
Análises estatísticas.....	66
RESULTADOS.....	66
Experimentos de campo.....	66
Persistência da ação do acibenzolar-S-metil no controle da mancha bacteriana..	68
Validação do melhor tratamento em área comercial de produção.....	68
DISCUSSÃO.....	69
REFERÊNCIAS.....	72
Tabelas e Figuras.....	76
CONCLUSÕES GERAIS.....	86

## RESUMO

PONTES, Nadson de Carvalho, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2012. **Mancha bacteriana em tomate industrial: métodos de inoculação, quantificação da doença e otimização do controle com acibenzolar-S-metil.** Orientador: José Rogério de Oliveira. Coorientadores: Luís Antonio Maffia e Alice Maria Quezado-Duval.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar fatores que possam influenciar na eficiência do acibenzolar-S-metil (ASM) no controle da mancha bacteriana em tomate para processamento industrial, bem como avaliar a influência da aplicação deste produto na produtividade e a viabilidade econômica de seu uso. Inicialmente, foram avaliadas metodologias de inoculação (plantio de mudas doentes e pulverização de suspensão bacteriana), bem como de avaliação da severidade da mancha bacteriana em tomate para processamento. Foi observado que a inoculação pela pulverização de suspensão bacteriana diretamente nas plantas proporciona maior uniformidade na distribuição da doença em campo, sem se mostrar tão drástica em relação à inoculação pelo plantio de plantas doentes nas parcelas. Quanto à avaliação da severidade da doença, para cada estágio do desenvolvimento da cultura, foi proposta uma metodologia de avaliação que se mostrou mais adequada: avaliação planta-a-planta nos primeiros 30 dias de cultivo, amostragem de folíolos por parcela entre 30 e 60 dias e atribuição de notas de severidade para parcela inteira a partir dos 60 dias. Em um segundo momento, foi avaliada a influência do volume de aplicação do ASM e do hidróxido de cobre (HC) no controle da mancha bacteriana em tomate. Foram avaliados os volumes de aplicação de 250 e 500 l ha<sup>-1</sup>. A redução do volume de aplicação acarretou em uma menor eficiência do HC no controle da mancha bacteriana, o que não foi verificado para o ASM. Foi observado efeito negativo do ASM sobre a produtividade com alto número de aplicações (13 aplicações). No último experimento, foi avaliado o efeito do número e do intervalo entre aplicações do ASM sobre a eficiência no controle da mancha bacteriana, na produtividade, além do estudo da viabilidade econômica dos tratamentos. Foi observado que, quanto maior o número de aplicações, maior a redução da severidade da mancha bacteriana. Entretanto, a partir de oito aplicações, houve redução da produtividade. Com base na análise de regressão, estimou-se um número ideal de sete aplicações, de modo que se

controle a doença sem comprometer a produtividade. Quanto ao intervalo entre aplicações, períodos superiores à 10 dias tiveram baixa eficiência no controle da doença. Ensaio em casa de vegetação demonstraram ausência de efeito do ASM sobre a mancha bacteriana do tomateiro após nove dias da aplicação, demonstrando a necessidade de reaplicação em intervalo próximo de oito dias. Com base nestes resultados, foi proposto o tratamento com sete aplicações semanais de ASM para validação em área comercial de produção. Este tratamento resultou em menor severidade da doença, quando comparado ao tratamento com HC (padrão do produtor).

## ABSTRACT

PONTES, Nadson de Carvalho, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2012. **Bacterial spot in processing tomato: inoculation methods, disease quantification and control with acibenzolar-S-methyl.** Adviser: José Rogério de Oliveira. Co-advisers: Luís Antonio Maffia and Alice Maria Quezado-Duval.

The goal of this present study was to evaluate factors that can influence the acibenzolar-S-methyl (ASM) efficiency to control the bacterial spot in tomato to industrial processing, and, also, to evaluate the influence of this product application in the tomato yield and in the economic viability. First, it was evaluated different inoculation methodologies (diseased seedling plantation and bacterial suspension inoculation) and the how to evaluate the bacterial spot severity in tomato to industrial processing. It was observed that when it was used the inoculation by bacterial suspension in the plants, this method led to the best disease distribution in the field and it was not too drastic related to the diseased seedling plantation. To the disease severity evaluation, it was proposed an evaluation methodology for each plant growth stage: i) evaluation of plant-to-plant in the first 30 days of growing; ii) to evaluate the severity of the leaflet samples between 30 and 60 days; and iii) after 60 days, to use severity scores to each whole field evaluated. Second, it was evaluated the influence of the ASM and copper hydroxide (HC) application quantity to control the bacterial spot. It was evaluated two volumes to both, ASM and HC, 250 and 500 l ha<sup>-1</sup>. It was observed lesser efficiency to control the disease when it was used lesser HC volume, and this effect it was not observed to ASM. However, it occurred negative effect to the tomato yield when it was made high ASM application numbers (13 applications). Finally, it was evaluated the effect of the ASM number application and interval between application to control the bacterial spot, in the tomato yield, and the economic viability for each treatment. As higher the number of ASM application, lesser it was the disease severity, but after 8 ASM applications there was tomato yield reduction. Using regression analyze, it estimated that seven ASM applications is better to control the bacterial spot disease without the tomato yield reduction. To the interval between applications, there was low efficiency to control the disease when it was used 10 days between applications. In greenhouse, there was not ASM effect to control the disease 9 days after the application, so it is necessary to reapply the ASM in interval between applications near to 8 days. Based in these results, it

was proposed to use seven weekly ASM applications in commercial production fields, and it was observed that the severity disease reduced with this treatment related to the HC treatment (standard producer).

## INTRODUÇÃO GERAL

A mancha bacteriana do tomateiro é uma das doenças mais destrutivas da cultura, provocando perdas consideráveis, tanto no segmento de tomate para consumo *in natura* como no de tomate para processamento industrial (Lopes & Quezado-Soares, 1997). Isto se deve ao fato de a doença atacar todos os órgãos da parte aérea da planta. O primeiro relato da doença no Brasil data da década de 1950, no Estado de São Paulo. Hoje ela já se encontra disseminada em todas as regiões produtoras do país (Quezado-Duval & Lopes, 2010).

Nas folhas, os primeiros sintomas são observados quando da formação de pequenos pontos encharcados, devido ao congestionamento de água nos tecidos. Estes sintomas evoluem para manchas de cor marrom, que podem ter tons mais claros ou mais escuros (Lopes & Quezado-Soares, 1997). Neste ponto, os sintomas são facilmente confundidos com os causados por outras doenças, como a pinta preta (*Alternaria* spp.), a septoriose (*Septoria lyvopersici*) e mancha de estenfílio (*Stemphyllium* sp.).

As manchas também podem aparecer no pecíolo, no caule e nas partes florais, provocando queda de flores e frutos em formação. Nos frutos, as lesões se iniciam como pequenos pontos esbranquiçados, que se confundem com os do cancro bacteriano (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*), evoluindo para lesões de cor marrom, deprimidas e de textura áspera (Quezado-Duval & Lopes, 2010). A doença acarreta grandes perdas à cultura do tomate em razão da diminuição da superfície foliar fotossintetizante, que leva à redução de frutos, escaldadura pela exposição destes ao sol, depreciação da qualidade de frutos com manchas, além dos gastos com agrotóxicos e outras medidas para o controle da doença.

Anteriormente, acreditava-se que a mancha bacteriana do tomateiro era causada por apenas uma espécie bacteriana, denominada *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Entretanto, estudos moleculares demonstraram que a mancha bacteriana do tomateiro pode ser causada por quatro diferentes espécies do patógeno: *X. euvesicatoria* Jones et al., *X. gardneri* (ex Sutic' 1957) Jones et al., *X. perforans* Jones et al., e *X. vesicatoria* (ex Doidge 1920) Vauterin et al. (Jones

et al., 2004), cada uma com diferentes especificidades, tanto no que diz respeito ao ambiente, como em relação à gama de hospedeiros (Quezado-Duval & Lopes, 2010; Araújo et al., 2011).

Atualmente, não se dispõe de variedades comerciais com bons níveis de resistência à doença (Stall et al., 2009). Desta forma, o manejo da doença tem sido baseado na pulverização de defensivos de forma preventiva, principalmente com a utilização de fungicidas cúpricos e antibióticos agrícolas. Estes produtos apresentam diversas desvantagens, tais como baixa eficiência em virtude do surgimento de populações do patógeno resistentes, ação apenas de contato, fitotoxidez, impactos ao meio ambiente, além de problemas em relação à saúde humana (Adaskaveg & Hine, 1985; Roberts et al., 2008; Komárek et al., 2010). Isto tem levado ao estudo de novas moléculas que possam elevar a eficiência do controle químico da mancha bacteriana.

Desde o início do século XIX, sabe-se que plantas podem responder ao ataque de patógenos por meio da ativação de mecanismos de defesa. Estes mecanismos são ativados a partir de sinais percebidos no sítio de infecção e transmitidos de forma sistêmica para outras partes da planta. Este fenômeno é denominado resistência sistêmica adquirida (SAR) (Durrant & Dong, 2004).

Após a descoberta de SAR, estudos sobre as respostas de defesa das plantas têm ganhado cada vez mais atenção, tendo em vista o potencial prático de aplicação destes conhecimentos no controle de doenças nas culturas. Tais estudos levaram à descoberta de que determinados produtos químicos também podem induzir respostas de defesa nas plantas (Durrant & Dong, 2004).

Plantas expostas a estas substâncias podem ser elevadas a um estado denominado estado de indução, em que seus tecidos reagem mais rapidamente e com maior eficiência às tentativas de infecção do patógeno (Obradovic et al., 2004). Além da sistemicidade, este tipo de resistência tem como vantagens o fato de ser duradoura e de amplo espectro (Conrath et al., 2002).

A partir da década de 1980, tiveram início programas de triagem de moléculas com o objetivo de encontrar substâncias capazes de ativar SAR em culturas de importância econômica (Kessmann et al., 1994). Uma das alternativas seria a utilização do ácido salicílico, um composto produzido pelas plantas,

envolvido na sinalização de SAR. Entretanto, quando aplicado externamente, o ácido salicílico demonstrou ser extremamente fitotóxico. No início da década seguinte foi descoberto o acibenzolar-S-metil (ASM), um análogo do ácido salicílico, com potencial de induzir SAR em plantas sem, no entanto, acarretar em fitotoxidez (Görlach et al., 1996). Os primeiros trabalhos foram realizados com trigo, sendo posteriormente avaliado o seu uso em outras culturas contra os mais variados agentes patogênicos.

Em 2001, Louws e colaboradores realizaram o primeiro trabalho visando avaliar o efeito do ASM no controle da mancha bacteriana em lavouras de tomate no nordeste dos Estados Unidos (Louws et al., 2001). Foi observada redução da severidade da doença com a aplicação do ASM tanto em relação à testemunha não tratada, como aos tratamentos convencionais utilizados pelos produtores. A partir daí, diversos trabalhos foram realizados utilizando o ASM para o controle da mancha bacteriana do tomateiro (Abbasi et al., 2002; Obradovic et al., 2004; Huang et al., 2012).

Com a ampla possibilidade de utilização, começaram a aparecer os produtos comerciais à base de ASM como Actigard™, Bion® e Boost®. No Brasil, o Bion® possui registro do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e já é utilizado em escala comercial na cultura do tomate. Entretanto, não são raros os relatos em que a aplicação deste indutor não se traduz em um controle efetivo da mancha bacteriana, tanto em trabalhos de pesquisa, como em cultivos comerciais (Abbasi et al., 2002; Quezado-Duval et al., 2005; Huang et al., 2012).

Fatores como intervalo entre aplicações, número de aplicações e volume de calda aplicado são alguns dos que podem influenciar a eficiência de defensivos agrícolas. Assim, o presente conjunto de trabalhos teve como objetivo estudar possíveis fatores que possam interferir na eficiência do acibenzolar-S-metil no controle da mancha bacteriana em cultivo de tomate destinado ao processamento industrial, de forma a se obter um incremento de produtividade com viabilidade econômica.

## REFERÊNCIAS

- Abbasi, P.A., Soltani, N., Cuppels, D.A., Lazarovits, G., 2002. Reduction of bacterial spot disease severity on tomato and pepper plants with foliar applications of ammonium lignosulfonate and potassium phosphate. *Plant Dis.* 86, 1232-1236.
- Adaskaveg, J.E., Hine, R.B., 1985. Copper tolerance and zinc sensitivity of mexican strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causal agent of bacterial spot of pepper. *Plant Dis.* 69, 993-996.
- Araújo, E.R., Pereira, R.C., Ferreira, M.A.S.V., Café-Filho, A.C., Moita, A.W., Quezado-Duval, A.M., 2011. Effect of temperature on pathogenicity components of tomato bacterial spot and competition between *Xanthomonas perforans* and *X. gardneri*. *Acta Horticulturae* 914, 39-42.
- Conrath, U., Pieterse, C.M.J., Mauch-Mani, B., 2002. Priming in plant pathogen interactions. *Trends in plant science* 7, 210-216.
- Durrant, W.E., Dong, X., 2004. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42, 185-209.
- Görlach, J., Volrath, S., Knauf-Beiter, G., Hengy, G., Beckhove, U., Kogel, K.H., Oostendorp, M., Staub, T., Ward, E., Kessmann, H., Ryals, J., 1996. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *The Plant Cell Online* 8, 629-643.
- Huang, C.-H., Vallad, G.E., Zhang, S., Wen, A., Balogh, B., Figueiredo, J.F.L., Behlau, F., Jones, J.B., Momol, M.T., Olson, S.M., 2012. Effect of application frequency and reduced rates of acibenzolar-s-methyl on the field efficacy of induced resistance against bacterial spot on tomato. *Plant Dis.* 96, 221-227.
- Jones, J.B., Lacy, G.H., Bouzar, H., Stall, R.E., Schaad, N.W., 2004. Reclassification of the xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Systematic and Applied Microbiology* 27, 755-762.
- Kessmann, H., Staub, T., Hofmann, C., Maetzke, T., Herzog, J., Ward, E., Uknes, S., Ryals, J., 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Ann. Rev. Phytopathol.* 32, 439-459.
- Komárek, M., Čadková, E., Chrástný, V., Bordas, F., Bollinger, J.-C., 2010. Contamination of vineyard soils with fungicides: a review of environmental and toxicological aspects. *Environment International* 36, 138-151.
- Lopes, C.A., Quezado-Soares, A.M., 1997. Doenças bacterianas em hortaliças. EMBRAPA, Brasília.
- Louws, F.J., Wilson, M., Campbell, H.L., Cuppels, D.A., Jones, J.B., Shoemaker, P.B., Sahin, F., Miller, S.A., 2001. Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator. *Plant Dis.* 85, 481-488.
- Obradovic, A., Jones, J.B., Momol, M.T., Balogh, B., Olson, S.M., 2004. Management of tomato bacterial spot in the field by foliar applications of bacteriophages and SAR inducers. *Plant Dis.* 88, 736-740.

Quezado-Duval, A.M., Lopes, C.A., 2010. Mancha bacteriana: uma atualização para o sistema de produção integrada de tomate indústria. Embrapa Hortaliças (Circular Técnica 84), Brasília.

Quezado-Duval, A.M., Lopes, C.A., Junqueira, N.T.V., 2005. Avaliação de produtos alternativos para o controle da mancha-bacteriana em tomateiro para processamento industrial. Embrapa Hortaliças (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 14), Brasília.

Roberts, P.D., Momol, M.T., Ritchie, L., Olson, S.M., Jones, J.B., Balogh, B., 2008. Evaluation of spray programs containing famoxadone plus cymoxanil, acibenzolar-S-methyl, and *Bacillus subtilis* compared to copper sprays for management of bacterial spot on tomato. *Crop Protection* 27, 1519-1526.

Stall, R.E., Jones, J.B., Minsavage, G.V., 2009. Durability of resistance in tomato and pepper to Xanthomonads causing bacterial spot. *Annu. Rev. Phytopathol.* 47, 265-284.

## CAPÍTULO 1

### MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Xanthomonas perforans* E DE QUANTIFICAÇÃO DA MANCHA BACTERIANA EM TOMATE PARA PROCESSAMENTO INDUSTRIAL

Pontes, N. C.<sup>1</sup>, Nascimento, A. R.<sup>2</sup>, Maffia, L. A.<sup>1</sup>, Oliveira, J. R.<sup>1</sup>, Quezad-Duval, A. M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitopatologia, 36.570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, 74.690-900, Goiânia, Goiás, Brasil.

<sup>3</sup>Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças (Embrapa Hortaliças), Laboratório de Fitopatologia, 70.359-970, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

## RESUMO

Para estudos epidemiológicos ou de manejo de doenças de plantas, na maioria das vezes se torna necessária a adoção de técnicas de inoculação e de quantificação da severidade da doença. No presente estudo, avaliou-se a inoculação direta (pulverização de inóculo) e indireta (plantio de mudas doentes) de *Xanthomonas perforans* em tomate rasteiro, bem como formas de avaliação da severidade da mancha bacteriana em diferentes momentos do ciclo de cultivo. Foram utilizadas as variedades Ohio 8245, Heinz 9553 e Yuba, de crescimento determinado e com diferentes níveis de resistência à doença. Parcelas de cada uma das respectivas variedades foram inoculadas sete dias após o transplante e avaliadas, quanto à severidade da mancha bacteriana, por cerca de 70 dias. Ambos os métodos de inoculação proporcionaram a ocorrência da doença. Entretanto, pelo método de inoculação indireta, a ocorrência da doença se deu de maneira desuniforme. Até os 30 dias do transplante, a doença foi avaliada pela estimativa da área foliar lesionada na terceira e quarta folhas mais velhas. Após esse período, a avaliação consistiu na retirada de amostra de 24 folíolos ao longo da parcela, até os 60 dias após o transplante. Por fim, atribuíram-se notas de severidade às parcelas com base em uma escala visual. Ambos os métodos de quantificação da doença possibilitaram distinguir os níveis de resistência das variedades avaliadas. No que diz respeito às notas utilizando a escala proposta, foi possível observar níveis satisfatórios de confiabilidade entre as notas atribuídas por diferentes avaliadores.

**Palavras-chave:** tomate industrial; *Solanum lycopersicum* L., *Xanthomonas perforans*, patometria.

## **Inoculation methods of *Xanthomonas perforans* and evaluation of the bacterial spot in tomato to industrial processing**

### **ABSTRACT**

In epidemiological or disease management studies, mostly it is necessary to use techniques to the pathogen inoculation and to the disease severity evaluation. In this present study, it was evaluated the direct (inoculum spray) and indirect inoculation (diseased seedling plantation) of *Xanthomonas perforans* in tomato to industrial processing, as well as how to evaluate the bacterial spot severity at different stage of the plant stage. The tomato varieties used were Ohio 8245, Heinz 9553, and Yuba that present determinate growth and show different levels of disease resistance. Plots with each variety were inoculated seven days after transplantation and it was evaluated the bacterial spot severity, approximately 70 days. Using both inoculation methods, direct and indirect, there were disease occurrence, but when it was used the indirect method the disease occurred not uniform in the plot. Until 30 days after transplantation, the disease was evaluated by estimating the leaf area with lesions in the third and fourth oldest leaves. After that period, the evaluation was made removing 24 leaflet samples in the plot, until 60 days after transplantation. Finally, 60 days after transplantation it was attributed severity scores to the plots based on a visual scale. The evaluation methods were efficient to distinguish the disease resistance levels for each tomato variety tested. To the scale proposed to evaluate the disease, there was a satisfactory reliability between the scores given for different evaluators.

**Palavras-chave:** Processing tomato; *Solanum lycopersicum* L., *Xanthomonas perforans*, phytopathometry.

## INTRODUÇÃO

O cultivo intensivo do tomate para processamento industrial torna esta cultura extremamente vulnerável ao ataque de patógenos, que reduzem sua produtividade e/ou a qualidade da matéria prima (Marouelli et al., 2000). A mancha bacteriana é considerada um dos principais problemas fitossanitários da cultura no Centro-Oeste brasileiro, principal região produtora (Vilas-Bôas et al., 2007). Essa doença está associada a quatro espécies do gênero *Xanthomonas*: *X. euvesicatoria* Jones et al., *X. gardneri* (ex Sutic' 1957) Jones et al., *X. perforans* Jones et al., e *X. vesicatoria* (ex Doidge 1920) Vauterin et al. (Jones et al., 2004), todas já de ocorrência relatada em lavouras de tomate para processamento no Brasil (Quezado-Duval et al., 2004).

Sementes, restos culturais, plantas voluntárias e plantas daninhas atuam como fontes de inóculo, o que torna difícil impedir a disseminação da doença (Jones et al., 1984). Sendo assim, os trabalhos voltados ao manejo da mancha bacteriana em tomate vêm sendo baseados no desenvolvimento de variedades resistentes e na avaliação da eficiência de defensivos. Para a realização destes trabalhos em campo, dois aspectos são fundamentais: um método de inoculação, para dar início à epidemia, e um método de avaliação, para quantificar a severidade da doença.

O método de inoculação deve simular o que acontece em condições naturais, de forma a gerar uma pressão uniforme do inóculo (Gitaitis et al., 1986). Entretanto, não deve ser demasiadamente drástico, de modo que possa dificultar a separação entre tratamentos (Cirulli et al., 2008; Francis et al., 2011). Os procedimentos adotados para a quantificação da doença devem ser práticos e propiciar resultados acurados e reproduzíveis (Madden et al., 2007).

As variedades de tomate para processamento possuem hábito de crescimento determinado, sendo apropriadas para o cultivo rasteiro e, durante boa parte do ciclo, a planta assume a forma de uma moita (Filgueira, 2005). A heterogeneidade da arquitetura da planta ao longo do ciclo em cultivares de tomate para processamento, aliada ao abundante crescimento vegetativo (Hanson

& May, 2006), são fatores que dificultam a quantificação da severidade de doenças foliares, como a mancha bacteriana.

Tendo em vista a importância de experimentos em campo para a validação de técnicas de manejo da doença ou para a determinação do nível de resistência de diferentes variedades, o presente trabalho teve como objetivo avaliar dois métodos de inoculação do patógeno no campo, bem como estabelecer métodos de avaliação da severidade da doença ao longo do ciclo da cultura.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Preparo das mudas e instalação do experimento**

Os trabalhos foram conduzidos no Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Hortaliças) entre os anos de 2010 e 2011. Foram utilizadas as variedades de tomate para processamento Ohio 8245, Heinz 9553 e Yuba, todas de crescimento determinado, com níveis alto, intermediário e baixo de resistência à mancha bacteriana, respectivamente (Pontes et al., 2012). As variedades foram semeadas em bandejas de poliestireno de 450 células contendo substrato comercial (Amafibra<sup>®</sup>). As bandejas foram mantidas em casa de vegetação por 28 dias. Decorrido esse período, quando as plântulas se encontravam com 2-3 folhas verdadeiras, procedeu-se o plantio no campo, seguindo um espaçamento de 0,25 m entre plantas e 1,10 m entre linhas. Cada parcela foi constituída de uma linha contendo 20 plantas. Nas bordas da parcela, foram plantadas mudas do acesso CNPH 1255, imune à raça T3 de *X. perforans*, para evitar a disseminação da doença entre as plantas de cada parcelas. As plantas foram irrigadas via aspersão, com lâmina de 25 mm por semana. Variáveis climáticas, como temperatura, umidade e precipitação pluviométrica, foram registradas ao longo da condução dos experimentos (Figura 3).

## **Preparo do inóculo**

Utilizou-se um isolado de *X. perforans*, raça T3, proveniente de lavouras de tomate para processamento. Depois de confirmada a patogenicidade, o isolado foi preservado em tampão fosfato. Para o preparo do inóculo, o isolado foi repicado do tampão de preservação para placas de Petri contendo meio Nutriente Agar (NA), as quais foram mantidas a 28°C por três dias. Em seguida, colônias isoladas típicas da bactéria foram repicadas para placas contendo NA e mantidas a 28°C por dois dias. As placas foram lavadas com solução salina (10 mM MgSO<sub>4</sub>) para coleta das células bacterianas. A suspensão obtida foi calibrada em espectrofotômetro para O.D.<sub>600</sub> = 0,3, o que corresponde a aproximadamente 5 x 10<sup>8</sup> unidades formadoras de colônia (ufc) ml<sup>-1</sup>. A suspensão foi então diluída no momento da inoculação para 1 x 10<sup>7</sup> ufc/ml.

## **Métodos de inoculação**

Uma semana após o transplante das mudas, procedeu-se a inoculação de forma direta e indireta. A inoculação direta consistiu da pulverização das plantas com suspensão bacteriana na concentração de 5 x 10<sup>7</sup> ufc ml<sup>-1</sup>, com um pulverizador manual, de forma a cobrir toda a superfície foliar com o inóculo. No método de inoculação indireta, seis mudas de tomate da variedade Yuba, previamente inoculadas (cinco dias antes do plantio no campo) por imersão da parte aérea em suspensão bacteriana (5 x 10<sup>7</sup> ufc ml<sup>-1</sup>) e apresentando os primeiros sintomas da doença, foram transplantadas a 0,2 m da linha principal, sendo três de cada lado, distribuídas de forma equidistante ao longo do comprimento da linha. O objetivo do método indireto foi o de simular o que acontece no campo, onde plantas voluntárias, hospedeiras alternativas e/ou plantas provenientes de sementes infectadas são fontes de inóculo do patógeno.

## **Métodos de quantificação da severidade da mancha bacteriana**

Levando-se em consideração as mudanças na arquitetura da planta ao longo do ciclo de cultivo, foram propostos três métodos de avaliação da severidade da mancha. O primeiro método (método A) consistiu da avaliação da severidade na terceira e quarta folhas compostas de 12 plantas em cada parcela, por meio da estimativa da área foliar lesionada. Este método foi utilizado até aproximadamente três semanas após o plantio, quando as plantas encontravam-se individualizadas e as folhas eram facilmente localizadas. Após 30 dias do plantio, a parte aérea das plantas estava misturada, as plantas já haviam tombado e a localização da terceira e quarta folha era difícil. Desta forma, optou-se por um segundo método de avaliação da severidade (método B), o qual consistiu da coleta de 20 folíolos de diferentes folhas ao longo da parcela. Após a coleta, foi estimado o percentual de área foliar lesionada de cada folíolo. A partir dos 60 dias após o plantio, o abundante crescimento rasteiro (horizontal) fez com que os ramos da linha principal se entrelaçassem com os da bordadura. Desta forma, o manuseio para a retirada dos folíolos poderia danificar as plantas e prejudicar futuras avaliações de produtividade. Assim, optou-se por outro método de avaliação da severidade da doença (método C), em que notas de 1-10 foram atribuídas para às parcelas, conforme o nível de severidade da doença. Para tanto, utilizou-se a escala proposta por Quezado-Duval et al. (2011).

## **Delineamento experimental e análises estatísticas**

Os ensaios foram realizados seguindo o delineamento em blocos ao acaso, em esquema fatorial, sendo avaliado o efeito dos fatores “variedades” e “métodos de inoculação”. Cada tratamento teve três repetições e os ensaios conduzidos no período de fevereiro a maio de 2010 e de 2011. Para a avaliação dos resultados obtidos pelos métodos A e B, procedeu-se a análise de variância, seguida pela comparação das médias pelo teste de Fisher (LSD,  $P \leq 0,05$ ). Para a avaliação dos dados obtidos pelo método C, realizou-se uma análise não-paramétrica, conforme descrito por Akritas et al. (1997). Neste caso, depois de observado efeito

significativo dos fatores avaliados, os dados foram transformados para seus valores em postos (Ranks) e as médias comparadas pelo teste de Fisher ( $P \leq 0,05$ ). As análises estatísticas foram realizadas utilizando os procedimentos GLM, MIXED e RANK do programa estatístico SAS 9.1 (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., Cary, NC).

### **Confiabilidade das estimativas de severidade obtidas com o auxílio da escala descrita no método C**

Avaliadores (técnicos da cadeia produtiva do tomate para processamento, pesquisadores e estudantes de Agronomia) atribuíram notas, de maneira independente, a 61 parcelas experimentais, que apresentavam níveis variados de severidade da mancha bacteriana, utilizando a escala descrita no método C. As avaliações foram realizadas aos 67, 71, 83 e 92 dias após o transplante, em que foram convidados 8, 5, 11 e 4 avaliadores, respectivamente. Com base nestas avaliações, foi determinado o nível de concordância entre as notas dos avaliadores nos diferentes momentos, a fim de se estimar a confiabilidade da escala. O nível de concordância entre os avaliadores foi estimado com base em cinco diferentes coeficientes de confiabilidade: (1) média dos coeficientes de correlação de Spearman observados entre as notas para cada par de avaliadores ( $r$ ); (2) coeficiente alfa ( $\alpha$ ) de Cronbach (1951); (3) coeficiente de correlação intra-classe ( $\rho$ ) (Donner, 1986; Madden et al., 2007); (4) coeficiente de confiabilidade inter-avaliadores ( $r'$ ) (MacLennan, 1993); (5) coeficiente de concordância de Kendall ( $W$ ) (Legendre, 2005). No caso do coeficiente  $W$ , os dados foram transformados para seus valores em postos (Ranks) e submetidos ao teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) de Friedman e, quando da significância do teste ( $P \leq 0,05$ ), o valor de  $\chi^2$  foi submetido à equação descrita por Legendre (2005) para obtenção de  $W$ . Todas as análises descritas acima para o cálculo dos coeficientes de confiabilidade foram conduzidas no programa SAS (Bruin, 2006; SAS Institute Inc., 2010), utilizando os procedimentos CORR, SORT, RANK, FREQ e MIXED.

## RESULTADOS

### **Avaliação da severidade da mancha bacteriana durante os primeiros 30 dias de cultivo.**

Após a inoculação das plantas no ensaio I, foi possível observar sintomas da doença aos quatro dias após a inoculação (DAI), em algumas plantas de ‘Yuba’ inoculadas de forma direta, mas não foi suficiente para se observar diferenças (F,  $P = 0,07$ ) entre os tratamentos (Figura 1).

Com 7 DAI, em todas as parcelas cujas plantas foram inoculadas de forma direta já era possível observar sintomas da doença. Os valores de severidade observadas nas variedades Ohio 8245 e Heinz 9553 (0,24 e 0,49%, respectivamente) não diferiram entre si, mas estas duas foram diferentes da variedade Yuba (0,86%) (LSD,  $P \leq 0,05$ ). Em contrapartida, nenhum sintoma foi observado nas plantas inoculadas pelo método indireto.

Aos 10 DAI, já era possível encontrar plantas da variedade Yuba com sintomas em parcelas onde as plantas foram inoculadas de forma indireta, mesmo que em intensidade inferior ao obtido pela inoculação direta (F,  $P \leq 0,05$ ). Mesmo assim, ainda não era possível observar diferenças entre as variedades por este método de inoculação (F,  $P = 0,99$ ). O contrário foi observado em relação ao método direto, onde as variedades Ohio 8245 e Heinz 9553 não diferiram entre si quanto a severidade da doença, mas ambas foram diferentes da variedade Yuba (LSD,  $P \leq 0,05$ ).

Aos 18 dias, todas as plantas já apresentavam sintomas da doença. Entretanto, apenas nos tratamentos onde as plantas foram inoculadas de forma direta era possível detectar os diferentes níveis de resistência entre as variedades (F,  $P \leq 0,001$ ). Os resultados foram semelhantes aos das avaliações anteriores, em que ‘Ohio 8245’ e ‘Heinz 9553’ não diferiram entre si, mas diferiram de ‘Yuba’ (LSD,  $P \leq 0,05$ ) quando da inoculação pelo método direto. Pelo método indireto, não houve diferenças entre as variedades.

No ensaio de 2011, em avaliação realizada aos 21 DAI, observou-se interação entre os fatores variedades e métodos de inoculação (F,  $P = 0,05$ ),

similar aos resultados observados no ensaio do ano anterior. Pelo método direto, foi possível observar diferenças entre o nível de resistência das três variedades (Figura 2). No método indireto, essa diferença não ocorreu, tendo em vista que a variedade Heinz 9553 não diferiu da variedade Yuba (LSD,  $P \leq 0,05$ ). Além disso, houve diferença entre os métodos de inoculação para ‘Yuba’ (LSD,  $P = 0,04$ ), ocorrendo menor severidade da doença quando adotado o método indireto.

#### **Avaliação da severidade da mancha bacteriana entre os 30 e 60 dias de cultivo.**

No ensaio de 2010, não se observou interação entre os fatores variedades e métodos de inoculação (F,  $P=0,50$ ) na avaliação realizada aos 32 DAI utilizando-se o método B. Nessa avaliação, houve diferenças entre os métodos de inoculação (F,  $P=0,04$ ) e entre as variedades (F,  $P \leq 0,01$ ), sendo que, as parcelas com plantas inoculadas pelo método direto apresentaram os maiores valores de severidade (Tabela 1). Nas parcelas com plantas inoculadas pelo método direto, foi possível observar diferenças entre os níveis de resistência das variedades avaliadas, em relação às parcelas com plantas inoculadas pelo método indireto.

Já no ensaio realizado em 2011, não se observou diferenças entre os métodos de inoculação (F,  $P=0,93$ ), bem como interação entre este fator e o fator ‘variedades’ (F,  $P=0,26$ ), em avaliação realizada aos 35 DAI (Tabela 1). Por meio do método B, foi possível verificar diferenças entre os níveis de severidade para as variedades avaliadas (F,  $P \leq 0,01$ ) no ensaio realizado em 2011.

#### **Avaliação da severidade da mancha bacteriana a partir dos 60 dias de cultivo.**

No ensaio de 2010, após a análise dos dados gerados pela avaliação da severidade da doença aos 65 DAI utilizando o método C, foi observada interação entre os fatores ‘variedades’ e ‘métodos de inoculação’ (qui-quadrado,  $P \leq 0,01$ ). Quando as plantas foram inoculadas pelo método direto, não se observou diferenças entre os níveis de resistência das variedades Ohio 8245 e Heinz 9553

(LSD,  $P \leq 0,05$ ), sendo ambas diferentes de 'Yuba' (Tabela 3). Quando da inoculação das plantas pelo método indireto, 'Heinz 9553' foi mais suscetível à doença em relação às variedades Ohio 8245 e Yuba, porém, não diferindo desta última (LSD,  $P \leq 0,05$ ).

Também houve interação entre os fatores 'variedades' e 'métodos de inoculação' no ensaio de 2011 (qui-quadrado,  $P \leq 0,01$ ), após a análise dos dados gerados pela avaliação da severidade da doença aos 68 DAI (Tabela 3). Nas parcelas com plantas inoculadas pelo método direto, foram observadas diferenças entre os níveis de severidade entre cada uma das variedades avaliadas (LSD,  $P \leq 0,05$ ). O mesmo não aconteceu nos tratamentos com inoculação das plantas de forma indireta, onde não houve diferenças entre 'Ohio 8245' e 'Heinz 9553' (LSD,  $P \leq 0,05$ ). Houve diferença entre os métodos de inoculação nas parcelas com 'Heinz 9553' e 'Yuba'.

#### **Confiabilidade das estimativas de severidade entre os avaliadores utilizando a escala descrita no método C.**

Em todas as comparações avaliadas, em cada um dos tempos de avaliação, os coeficientes de correlação de Spearman foram significativos, com alto nível de significância ( $P \leq 0,002$ ). As médias destes coeficientes observados nas comparações entre as notas dos avaliadores atribuídas aos 67, 71, 83 e 92 dias de cultivo foram 0,65, 0,66, 0,72 e 0,71, respectivamente (Tabela 3). Ao se avaliar o resultado da análise para o coeficiente alfa, foram observados valores sempre superiores a 0,90, sendo os maiores entre os coeficientes de confiabilidade avaliados.

O contrário foi observado para os coeficientes de correlação intra classe, os quais apresentaram os menores valores entre os coeficientes de confiabilidade, variando entre 0,50 e 0,58. Tais valores, quando aplicados na equação de correção de Spearman-Brown (MacLennan, 1993), resultaram na obtenção de coeficientes de confiabilidade inter-avaliadores ( $r'$ ) de 0,89, 0,83, 0,93 e 0,84, para cada um dos tempos de avaliação, respectivamente.

Nos testes de qui-quadrado de Friedman realizados utilizando os dados (transformados para seus valores em postos – ranks) em cada um dos tempos de avaliação, o valor de  $\chi^2$  foi sempre significativo ( $P \leq 0,001$ ), rejeitando-se a hipótese da nulidade (falta de ajuste entre os avaliadores quanto à estimativa da severidade da doença). Observada a significância, os valores de  $\chi^2$  para cada um dos conjuntos de dados resultaram em coeficientes de concordância de Kendall com valores de 0,68, 0,73, 0,72 e 0,76 entre as notas dos avaliadores atribuídas aos 67, 71, 83 e 92 dias, respectivamente.

De maneira geral, seguindo a interpretação sugerida por Landis & Koch (1977), entre os valores obtidos para os coeficientes de confiabilidade utilizados, observou-se que em 20% dos casos o nível de ajuste foi considerado moderado (entre 0,40 e 0,59) em 40% dos casos foi considerado adequado (entre 0,6 e 0,79) e nos demais 40%, o ajuste pode ser considerado como excelente (acima de 0,80).

## **DISCUSSÃO**

A mancha bacteriana é uma doença bastante destrutiva e que pode se disseminar rapidamente quando em condições favoráveis (Marcuzzo et al., 2009). A rápida dispersão da bactéria observada neste trabalho, mesmo com poucas plantas doentes (parcelas inoculadas de forma indireta), evidencia a importância que determinados tipos de fontes de inóculo, como plantas voluntárias, mudas doentes ou até hospedeiras alternativas, têm para o início da epidemia.

Aerossóis formados pela ocorrência concomitante de ventos e água, seja oriunda das chuvas ou de irrigação, correspondem à principal forma pela qual a bactéria pode ser dispersa de tecidos doentes para novos sítios de infecção (McInnes et al., 1988). Nos ensaios realizados, os primeiros dias após a inoculação foram caracterizados por intensa ocorrência de precipitação pluviométrica (Figura 3). Com o decorrer do período de cultivo, a frequência das chuvas diminuiu. Entretanto, o desenvolvimento da cultura, caracterizado pela formação de intensa massa verde, garante uma condição propícia à doença pela formação de microclima favorável no interior do dossel (Marouelli & Silva, 2007).

Em Goiás, atualmente o maior estado produtor do país, o plantio das primeiras áreas de cultivo do tomate para processamento tem início entre os meses de fevereiro e março (Agrodefesa, 2011), época do ano semelhante à época escolhida para o desenvolvimento dos ensaios. Assim, as primeiras lavouras são submetidas a condições muito favoráveis para a ocorrência da mancha bacteriana e, por menor que seja o inóculo inicial, podem ocorrer epidemias bastante severas.

Sob condições propícias, os dois métodos de inoculação adotados foram eficientes para a ocorrência da doença. Entretanto, nas parcelas com plantas inoculadas de forma direta, pela pulverização de suspensão de inóculo, a doença se manifestou de forma mais rápida e de maneira mais uniforme do que nas parcelas onde se empregou o método indireto de inoculação, pelo plantio de mudas infectadas.

O método de inoculação indireta é aquele que mais se assemelha ao que acontece em condições naturais. Entretanto, a sua adoção em condições experimentais pode aumentar o erro experimental, normalmente mais elevado em experimentos em campo. A dependência de fatores como ocorrência de respingos e vento, para a formação do aerossol (Romeiro, 2005), pode fazer com que a distribuição do inóculo não se dê de maneira uniforme (Gitaitis et al., 1986). Corroborando com essa hipótese o fato de que, aos 65 DAI no ensaio de 2010, observou-se maior severidade da doença na variedade moderadamente resistente Heinz 9553 em relação à variedade Yuba, indicando que nas parcelas com 'Yuba', não houve uma distribuição uniforme do patógeno.

Em outros trabalhos, trabalhando com mancha bacteriana em tomate tutorado, também se optou pela inoculação por meio do plantio de plantas infectadas. Louws et al. (2001), ao avaliarem a eficiência de um indutor de resistência no controle da mancha bacteriana em campo, utilizaram em seus ensaios tanto a inoculação direta como a indireta, com resultados satisfatórios. Entretanto, a inoculação direta foi considerada mais adequada, pois permitiu aos autores ter noção do exato momento em que o inóculo foi depositado sobre as plantas, tendo em vista que a dispersão da bactéria das plantas doentes para as sadias (inoculação indireta) não se dá de maneira imediata.

Buonaurio et al. (2002) utilizaram o método de inoculação indireta para aumentar a pressão de inóculo em campo com ocorrência natural de mancha bacteriana em pimenta. Estes autores adotaram ainda a irrigação por aspersão para facilitar a dispersão do patógeno. Em trabalhos com tomate para processamento em condições a campo, o fato de se trabalhar com irrigação por aspersão aumentaria a eficiência da inoculação indireta, além de ser o sistema que predomina nas condições comerciais, onde a irrigação é feita via pivô central (Marouelli & Silva, 2007). Entretanto, mesmo com irrigação por aspersão, em trabalhos desenvolvidos em épocas desfavoráveis a doença (baixas pluviosidade e umidade relativa), este tipo de inoculação pode não proporcionar os resultados desejados (disseminação uniforme da doença). Este fato foi observado no presente estudo, onde, mesmo com as condições ambientais favoráveis à ocorrência da mancha bacteriana, o estabelecimento da doença pelo método indireto não permitiu que as variedades fossem diferenciadas quanto ao nível de resistência.

De maneira geral, o uso de plantas ou órgãos infectados como forma de gerar uma epidemia tem sido bastante utilizado quando o objetivo do estudo é verificar o gradiente de dispersão de determinado patógeno (Gregory, 1968; Madden et al., 2007). A distribuição de doenças bacterianas no campo, geralmente segue um padrão espacial agregado, muito em função da redistribuição se dar por respingos, não atingindo grandes distâncias (Madden et al., 2007). Assim, a inoculação pelo método indireto pode gerar um gradiente de doença heterogêneo entre as parcelas, podendo a sua distribuição ser influenciada por outros fatores, como a própria direção do vento ou posicionamento de aspersores.

A busca por uma distribuição uniforme do inóculo tem feito com que a pulverização de suspensão de inóculo seja a opção de diversos pesquisadores em trabalhos com a mancha bacteriana do tomateiro em condições de campo (Louws et al., 2001; Al-Dahmani et al., 2003), sendo feita até mesmo no momento do transplante (Obradovic et al., 2004; Marcuzzo et al., 2009). A inoculação direta pode garantir que uma mesma quantidade de inóculo seja depositada sobre todas as plantas em um mesmo momento (Gitaitis et al., 1986). A grande crítica que existe em relação à pulverização das plantas com suspensão de inóculo diz respeito ao fato de ser uma forma muito artificial de simular a ocorrência da

doença, além de ser um método possivelmente mais drástico. Entretanto, em mais de 50% das avaliações, não houve diferenças em relação à severidade da doença entre as parcelas com plantas inoculadas de forma direta ou indireta.

Durante a execução dos ensaios, evidenciou-se a dificuldade de avaliação da mancha bacteriana na cultura do tomate para processamento, o que tornou necessária a adoção de diferentes métodos de avaliação da severidade da doença. A avaliação planta-a-planta realizada nos primeiros dias após a inoculação foi fundamental para verificar o período de incubação da doença, bem como o acompanhamento de sua incidência.

Segundo Lobo et al. (2005), o período de incubação corresponde ao principal componente de resistência à mancha bacteriana do tomateiro. Esta afirmativa foi baseada na facilidade de obtenção deste dado e a correspondência desta variável entre trabalhos em casa de vegetação e em campo. Entretanto, é conveniente em experimentos de campo avaliar o desenvolvimento da doença ao longo do ciclo da cultura, não apenas no que diz respeito à incidência da doença, como também a sua intensidade. Muitas vezes, o efeito de um tratamento não está em retardar o início da epidemia, mas sim em fazer com que esta tenha o seu progresso desacelerado, de modo a garantir maior produtividade.

A estimativa da área foliar lesionada na terceira, quarta e quinta folhas possibilitou o acompanhamento da doença durante as primeiras semanas após a inoculação, mostrando diferenças de resistência entre os diferentes materiais. Ji et al. (2006), em uma série de estudos visando ao controle biológico da mancha bacteriana do tomateiro, utilizaram metodologia semelhante, em que notas de severidade foram atribuídas às folhas localizadas entre o segundo e o quarto internódio das plantas de cada parcela durante três semanas após a inoculação.

No caso da cultura do tomate para processamento, o acompanhamento do progresso da doença pela avaliação de cada planta é um procedimento difícil e trabalhoso em estádios mais avançados do desenvolvimento da cultura, tendo em vista o crescimento rasteiro e a mistura entre os ramos das plantas, dificultando uma avaliação individualizada da severidade nas folhas de cada uma das plantas que compõem a parcela.

A coleta de folíolos ao longo da parcela e a avaliação das parcelas por meio da média dos valores estimados de área foliar lesionadas destes folíolos é uma alternativa viável para a avaliação da mancha bacteriana em tomate para processamento em estádios em que os procedimentos de avaliação planta à planta tornam-se trabalhosos. Por meio deste procedimento, também foi possível detectar de forma ainda mais evidente as diferenças entre as variedades quanto ao nível de resistência à doença. Este método de avaliação da severidade da mancha bacteriana do tomateiro tem sido utilizado em diversos trabalhos, inclusive em ensaios com cultivares de tomate para processamento (Louws et al., 2001; Byrne et al., 2005; Ji et al., 2006). Nestes trabalhos, foram utilizadas amostras com tamanhos variando entre 20 e 50 folíolos por parcela, compatível com o tamanho da amostra utilizada no presente trabalho (24 folíolos).

Dentre os métodos de avaliação da severidade da doença utilizados no presente estudo, apesar de cada um ter sido utilizado em momentos diferentes, o método de amostragem de folíolos foi o único que diferenciou as variedades Ohio 8245, Heinz 9553 e Yuba quanto ao nível de resistência à mancha bacteriana em ambos os ensaios realizados. Além disso, a coleta dos folíolos possibilita um diagnóstico mais preciso quanto ao agente etiológico da mancha foliar, incluindo a possibilidade de execução de testes para certificação da etiologia bacteriana do sintoma avaliado por meio de teste de exsudação em gota. Esse tipo de confirmação se torna importante, pois o sintoma da mancha bacteriana pode ser facilmente confundido com o de outras doenças que incidem no tomateiro (Al-Dahmani et al., 2003).

Com o fechamento do dossel, o que geralmente ocorre entre 50 a 60 dias, torna-se difícil a circulação de avaliadores entre as plantas, sob pena de causar injúrias a elas, o que comprometeria posteriores avaliações de produtividade, além do risco de disseminação de inóculo entre parcelas. Esse fato inviabiliza a coleta de folíolos em estágios mais avançados da cultura e, conseqüentemente, a adoção deste método para avaliação da mancha bacteriana. Desta forma, é necessária a utilização de metodologias de avaliação que permitam estimar a severidade da doença nas parcelas como um todo, sem a necessidade de manuseio das plantas. Esse tipo de metodologia, além de evitar o trânsito de avaliadores entre as plantas,

torna o processo mais rápido e prático, características desejáveis para trabalhos no campo, que geralmente envolvem um grande número de plantas. No entanto, é necessário que a metodologia a ser adotada possibilite distinguir os níveis de severidade da doença entre as parcelas avaliadas, bem como permita a reprodutibilidade dos resultados das avaliações e a confiabilidade das estimativas atribuídas.

Neste estudo, a atribuição de notas em função do nível de severidade da mancha bacteriana na parcela inteira, assim como os demais métodos em estágios anteriores, conseguiu delimitar as diferentes variedades quanto ao nível de resistência nos ensaios realizados. A estratégia já foi utilizada em outros estudos com o mesmo patossistema (McInnes et al., 1988; Al-Dahmani et al., 2003; Obradovic et al., 2004). Entretanto, nesses trabalhos, optou-se pela utilização de escalas descritivas, ao contrário do realizado neste estudo, em que as notas de severidade na parcela foram atribuídas em função da escala de notas baseadas em fotos de parcelas de plantas com severidade crescente desenvolvida por Quezado-Duval et al. (2011). Talvez, a principal vantagem de utilização da escala de notas ilustrada, ao invés de escalas descritivas, seja a de possibilitar aos avaliadores uma referência visual do nível de severidade referente a cada uma das notas. Uma adequada avaliação de escalas deveria levar em consideração parâmetros como acurácia, precisão e confiabilidade dos valores estimados (Campbell & Madden, 1990).

Para os coeficientes de confiabilidade utilizados neste estudo, os valores obtidos, em função das notas de severidade das parcelas estimadas por diferentes avaliadores com o auxílio da escala de Quezado-Duval et al. (2011), indicam níveis de ajuste variando entre moderado, adequado e excelente. Entretanto, percebe-se uma considerável diferença entre os resultados obtidos para alguns dos coeficientes, por exemplo, entre os valores de  $\alpha$  e  $\rho$ . O primeiro é obtido em função da correlação entre as notas, enquanto o segundo em função do ajuste ou similaridade entre elas. Desta forma, é compreensivo que  $\rho$  seja sempre menor que  $\alpha$ , pois diferentes avaliadores podem concordar em ordem, obtendo elevados coeficientes de correlação, mas não em magnitude (Madden et al., 2007). Além disso, determinados coeficientes podem acabar por subestimar ou superestimar o

valor real da confiabilidade entre as notas (Fan & Chen, 2000). Por este motivo, é recomendada sempre a utilização de dois ou mais tipos de coeficientes de confiabilidade (Gallagher et al., 1982).

Em muitos casos, principalmente em trabalhos de controle (químico, genético, cultural, etc.), o principal objetivo de se estimar a severidade de doenças é identificar potenciais diferenças entre os tratamentos avaliados. Assim, metodologias que permitam o correto posicionamento dos diferentes tratamentos podem satisfazer as necessidades de pesquisadores em situações onde a tomada de dados de severidade da doença sejam complexas. Ao se avaliar o coeficiente *W* (baseado nos valores em postos, Ranks), percebe-se que a utilização da escala atende esse preceito, tendo em vista que os valores obtidos para este coeficiente por meio do “ranqueamento” das parcelas em função das notas de cada um dos avaliadores foram sempre superiores a 0,70. Assim, ficou claro que a escala, além de permitir a separação das variedades com diferentes níveis de resistência, proporcionou um consenso na classificação das parcelas avaliadas pelos diferentes avaliadores.

A adoção de mais de um método de avaliação é uma opção para o acompanhamento da mancha bacteriana do tomateiro (Gitaitis et al., 1986), e já tem sido uma estratégia para o acompanhamento da doença em trabalhos com cultivo tutorado (Flaherty et al., 2000). As três técnicas de quantificação da doença utilizadas no presente estudo permitiram o acompanhamento do progresso da doença ao longo do tempo, nas diferentes fases da cultura. Desse modo, em trabalhos de avaliação de tratamentos de manejo, será também possível, por exemplo, determinar o momento em que eles deixam de ser distintos em função da natureza explosiva da doença frente à ocorrência de condições climáticas mais favoráveis. Assim, o emprego de um conjunto temporal de dados terá mais chance de sucesso para a seleção do tratamento que ao final resulta em maior produção.

De acordo com os resultados obtidos, foi possível observar que o método direto de inoculação de plantas não foi mais drástico que o método indireto, além de proporcionar maior uniformidade na distribuição da doença. As metodologias de quantificação da doença foram eficientes em proporcionar o acompanhamento

da doença durante todo o ciclo da cultura, podendo ser utilizada em trabalhos com cultivo rasteiro de tomate.

## REFERÊNCIAS

Agrodefesa, 2011. Instrução normativa N° 06/2011. Agência Goiana de Defesa Agropecuária, Goiânia.

Akritis, M.G., Arnold, S.F., Brunner, E., 1997. Nonparametric hypothesis and rank statistics for unbalanced factorial designs. *Journal of the American Statistical Association* 92, 258-265.

Al-Dahmani, J.H., Abbasi, P.A., Miller, S.A., Hoitink, H.A.J., 2003. Suppression of bacterial spot of tomato with foliar sprays of compost extracts under greenhouse and field conditions. *Plant Disease* 87, 913-919.

Bruin, J., 2006. Newtest: command to compute new test. UCLA: Academic Technology Services, Statistical Consulting Group, p. <http://www.ats.ucla.edu/stat/stata/ado/analysis/>.

Buonaurio, R., Scarponi, L., Ferrara, M., Sidoti, P., Bertona, A., 2002. Induction of systemic acquired resistance in pepper plants by acibenzolar-s-methyl against bacterial spot disease. *European Journal of Plant Pathology* 108, 41-49.

Byrne, J.M., Dianese, A.C., Ji, P., Campbell, H.L., Cuppels, D.A., Louws, F.J., Miller, S.A., Jones, J.B., Wilson, M., 2005. Biological control of bacterial spot of tomato under field conditions at several locations in North America. *Biological Control* 32, 408-418.

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

Cirulli, M., Colella, C., D'Arnico, M., Amenduni, M., Bubici, G., 2008. Comparison of screening methods for the evaluation of olive resistance to *Verticillium dahliae* kleb. *J. Plant Pathol.* 90, 7-14.

Cronbach, L.J., 1951. Coefficient alpha and the internal consistency of test. *Psychometrika* 16, 297-334.

Donner, A., 1986. A review of inference procedures for the intraclass correlation coefficient in the one-way random effects model. *International Statistical Review* 54, 67-82.

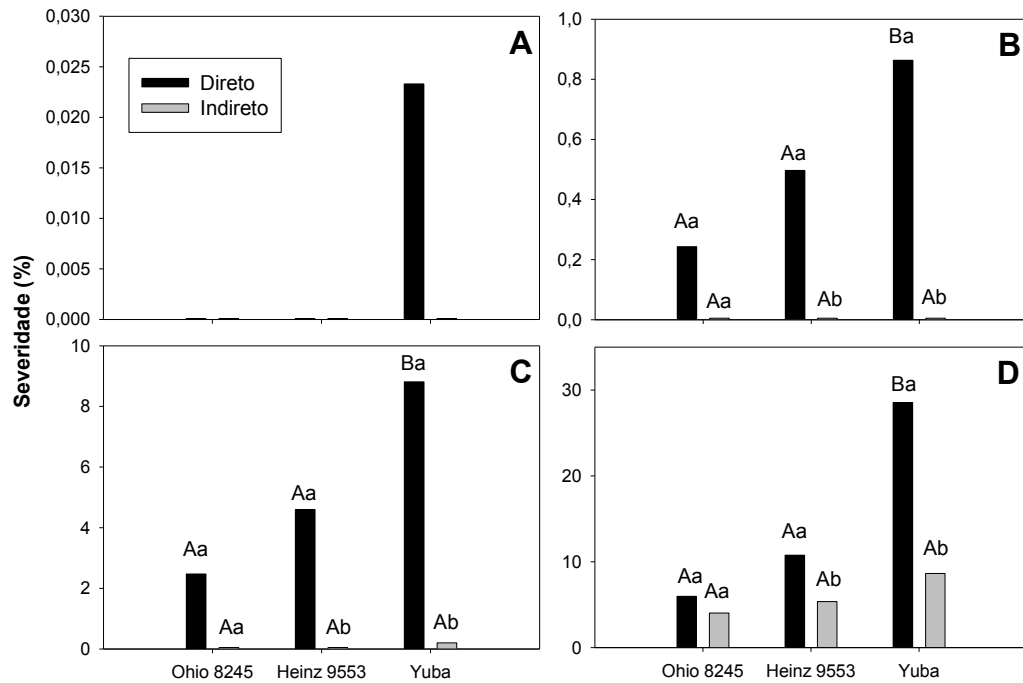
Fan, X., Chen, M., 2000. Published studies of interrater reliability often overestimate reliability: computing the correct coefficient. *Educational and Psychological Measurement* 60, 532-542.

Filgueira, F.A.R., 2005. *Novo Manual de Olericultura*. UFV, Viçosa.

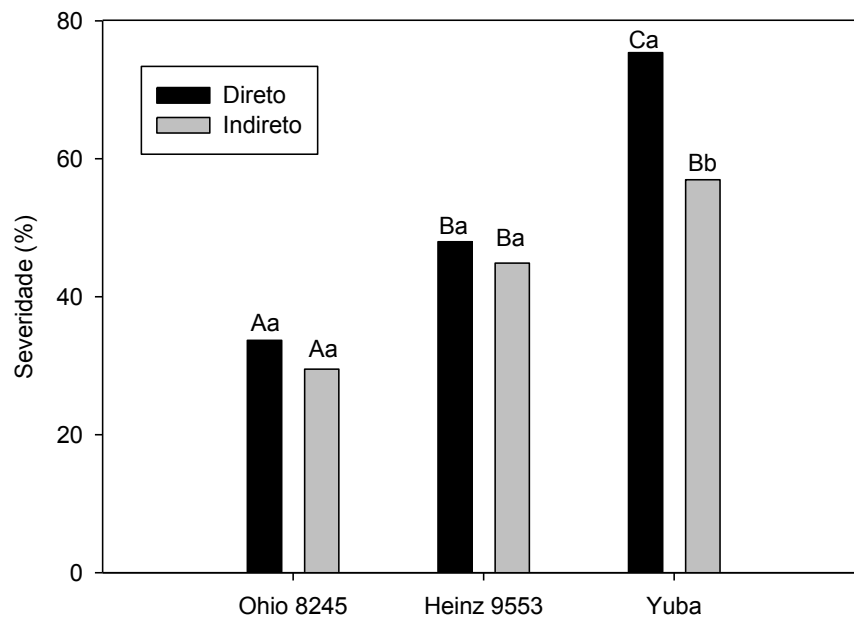
Flaherty, J.E., Jones, J.B., Harbaugh, B.K., Somodil, G.C., Jackson, L.E., 2000. Control of bacterial spot on tomato in the greenhouse and field with h-mutant bacteriophages. *HortScience* 35, 882-884.

- Francis, M.I.F.M.I., Kostenyuk, I., Orbovic, V., Loskutov, A., Zolotukhin, M., Graham, J.H., 2011. Automated needle-free injection method for delivery of bacterial suspensions into citrus leaf tissues. *J. Phytopathol.* 159, 347-351.
- Gallagher, D., Nies, G., Thompson, L.W., 1982. Reliability of the beck depression inventory with older adults. *Journal of Consulting and Clinical Psychology* 50, 152-153.
- Gitaitis, R.D., Jones, J.B., McCarter, S.M., 1986. Evaluation of chemical control of bacterial diseases of tomato. In: Hickey, K.D. (Ed.), *Methods for evaluating pesticides for control of plant pathogens*. APS Press, St. Paul, pp. 205-209.
- Gregory, P.H., 1968. Interpreting Plant Disease Dispersal Gradients. *Annu. Rev. Phytopathol.* 6, 189-&.
- Hanson, B.R., May, D.M., 2006. New crop coefficients developed for high-yield processing tomatoes. *California Agriculture* 60, 95-99.
- Ji, P., Campbell, H.L., Kloepper, J.W., Jones, J.B., Suslow, T.V., Wilson, M., 2006. Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under field conditions using foliar biological control agents and plant growth-promoting rhizobacteria. *Biological Control* 36, 358-367.
- Jones, J.B., Lacy, G.H., Bouzar, H., Stall, R.E., Schaad, N.W., 2004. Reclassification of the Xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Systematic and Applied Microbiology* 27, 755-762.
- Jones, J.B., Stall, R.E., Jones, J.P., Phoronezny, K.L., 1984. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in Florida. *Phytopathology* 74, 858-858.
- Landis, J.R., Koch, G.G., 1977. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 33, 159-174.
- Legendre, P., 2005. Species Associations: The Kendall coefficient of concordance revised. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics* 10, 226-245.
- Lobo, V.L.S., Lopes, C.A., Giordano, L.B., 2005. Componentes da resistência à mancha-bacteriana e crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, raça T2, em genótipos de tomateiro. *Fitopatologia Brasileira* 30, 17-20.
- Louws, F.J., Wilson, M., Campbell, H.L., Cuppels, D.A., Jones, J.B., Shoemaker, P.B., Sahin, F., Miller, S.A., 2001. Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator. *Plant Dis.* 85, 481-488.
- MacLennan, R.N., 1993. Interrater reliability with SPSS for windows 5.0. *The American Statistician* 47, 292-296.
- Madden, L.V., Hughes, G., van den Bosch, F., 2007. *The study of plant diseases epidemics*. APS Press, Minnesota.
- Marcuzzo, L.L., Becker, W.F., Fernandes, J.M.C., 2009. Alguns aspectos epidemiológicos da mancha bacteriana (*Xanthomonas* spp.) do tomateiro na região de Caçador/SC. *Summa Phytopathologica* 35, 132-135.
- Marouelli, W.A., Silva, W.L.C., 2007. Water tension thresholds for processing tomatoes under drip irrigation in Central Brazil. *Irrig. Sci.* 25, 411-418.

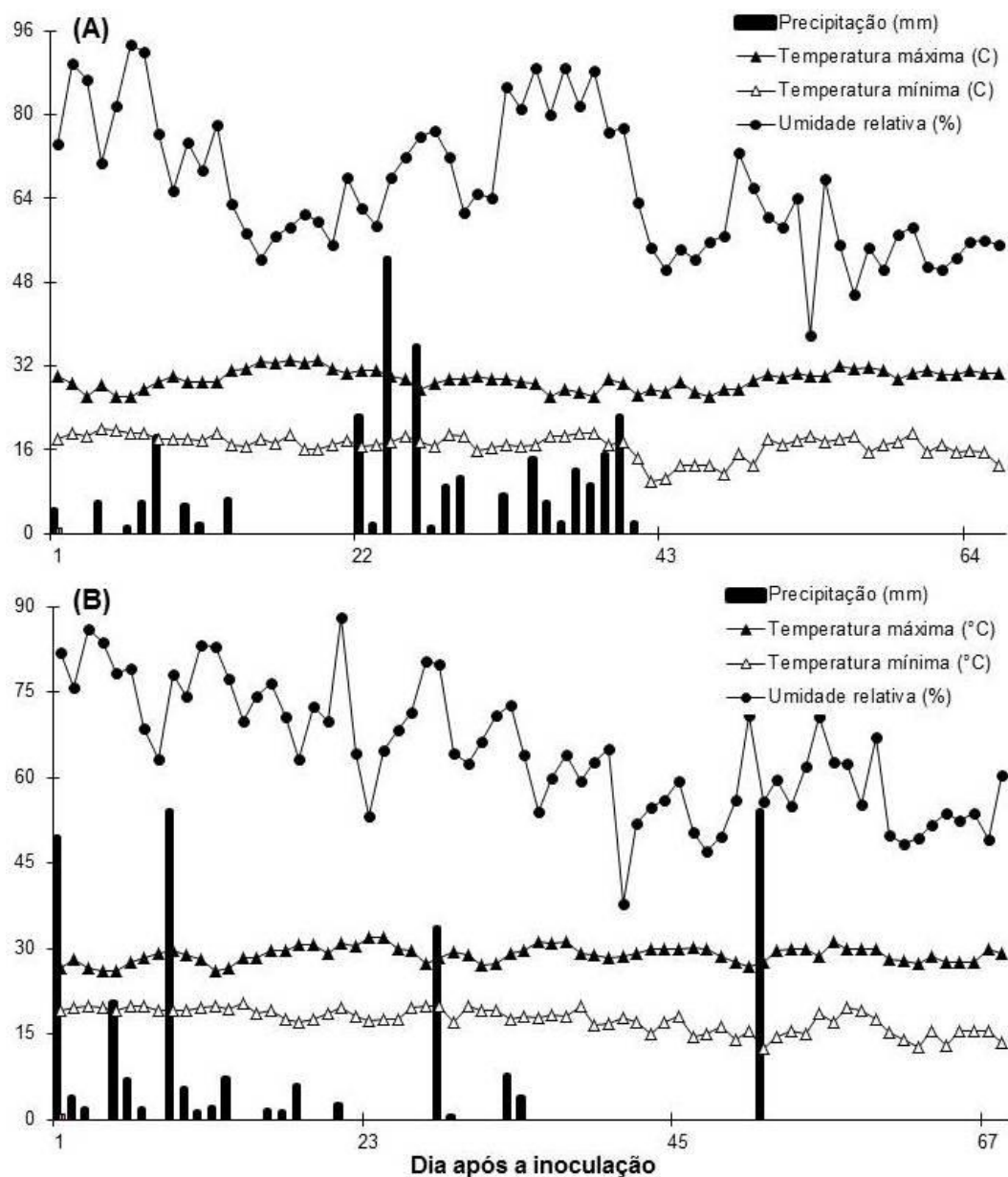
- Marouelli, W.A., Silva, W.L.C., Silva, H.R., Vilela, N.J., 2000. Eficiência econômica do manejo racional da irrigação em tomateiro para processamento industrial. *Horticultura Brasileira* 18, 238-243.
- McInnes, T.B., Gitaitis, R.D., McCarter, S.M., Jaworski, C.A., Phatak, s.C., 1988. Airborne dispersal of bacteria in tomato and pepper transplant fields. *Plant Dis.* 72, 575-579.
- Obradovic, A., Jones, J.B., Momol, M.T., Balogh, B., Olson, S.M., 2004. Management of tomato bacterial spot in the field by foliar applications of bacteriophages and SAR inducers. *Plant Dis.* 88, 736-740.
- Pontes, N.C., Moita, A.W., Quezado-Duval, A.M., 2012. Resistance stability of 'Ohio 8245' and 'Heinz 9553' to tomato bacterial spot. *Horticultura Brasileira* 30, 99-105.
- Quezado-Duval, A.M., Leite, R.P., Truffi, D., Camargo, L.E.A., 2004. Outbreaks of bacterial spot caused by *Xanthomonas gardneri* on processing tomato in Central-West Brazil. *Plant Dis.* 88, 157-161.
- Quezado-Duval, A.M., Pontes, N.C., Nascimento, A.R., Moita, A.W., 2011. Metodologia de avaliação da severidade da mancha bacteriana em tomateiro para processamento industrial. Embrapa Hortaliças (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 73), Brasília.
- Romeiro, R.S., 2005. Bactérias Fitopatogênicas. UFV, Viçosa.
- SAS Institute Inc., 2010. Base SAS® 9.2 Procedures Guide: Statistical Procedures. SAS Institute Inc., Care, NC.
- Vilas-Bôas, G.L., Melo, P.E., Castelo-Branco, M., Giordano, L.B., Melo, F.F., 2007. Desenvolvimento de um modelo de produção integrada de tomate indústria - PITI. In: Zambolim, L., Lopes, C.A., Picanço, M.C., Costa, H. (Eds.), Manejo integrado de doenças e pragas - Hortaliças. UFV/CNPH, Viçosa, pp. 349-362.



**Figura 1.** Severidade da mancha bacteriana observadas no ensaio conduzido em 2010, aos 4 (A), 7 (B), 10 (C) e 28 (D) dias após a inoculação pelos métodos direto e indireto, obtida pela estimativa do percentual de área foliar lesionada na terceira e quarta folhas de 12 plantas em cada parcela (método A). Médias seguidas da mesma letra maiúscula (colunas de mesma cor) e minúsculas (colunas de cor diferentes) não diferem entre si pelo teste de Fisher (LSD,  $P \leq 0,05$ ).



**Figura 2.** Severidade da mancha bacteriana avaliada no ensaio conduzido em 2011, aos 21 dias após a inoculação pelos métodos direto e indireto, obtida pela estimativa do percentual de área foliar lesionada na terceira e quarta folhas de 12 plantas em cada parcela (método A). Médias seguidas da mesma letra maiúscula (colunas de mesma cor) e minúsculas (colunas de cor diferentes) não diferem entre si Fisher (LSD,  $P \leq 0,05$ ).



**Figura 3.** Variáveis climáticas observadas ao longo do período de avaliação da severidade da mancha bacteriana do tomateiro, referentes a dois ensaios realizados nos anos de 2010 (A) e de 2011 (B).

**Tabela 1.** Severidade (%) da mancha bacteriana observadas aos 32 e 25 dias após a inoculação (DAI) nos ensaios conduzidos em 2010 e 2011, respectivamente. Os valores foram obtidos pela estimativa da área foliar lesionada (%) em amostras de 24 folíolos coletados ao acaso (método B) nas parcelas com plantas inoculadas pelo método direto e indireto.

Variedades	2010 (32 DAI)			2011 (35 DAI)		
	Direto	Indireto	Média	Direto	Indireto	Média
Ohio 8245	28,5	16,4	22,45 A <sup>1</sup>	19,56	16,29	17,92 A
Heinz 9553	39,85	37,4	38,62 B	37,82	32,04	34,93 B
Yuba	55,73	43,4	49,56 C	46,13	56,14	51,13 C
Média	41,36 A	32,4 B		34,51 A	34,82 A	

<sup>1</sup>Médias de tratamentos seguidas pela mesma letra não diferem entre si (LSD,  $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 2.** Severidade (notas de 1 a 10) da mancha bacteriana observadas aos 65 e 68 dias após a inoculação (DAI) nos ensaios conduzidos em 2010 e 2011, respectivamente. Os valores foram obtidos com base na escala desenvolvida por Quezado-Duval et al. (2011) (método C).

Variedades	2010 (65 DAI)		2011 (68 DAI)	
	Direta	Indireta	Direta	Indireta
Ohio 8245	2,50 <sup>1</sup> Aa <sup>2</sup>	2,95 Aa	4,66 Aa	4,5 Aa
Heinz 9553	3,41 Aa	6,01 Bb	5,50 Ba	4,66 Ab
Yuba	5,38 Ba	5,49 Ba	7,33 Ca	6,00 Bb

<sup>1</sup>Para o teste de médias, os dados foram transformados para seus valores em postos (Ranks). <sup>2</sup>Médias de tratamentos seguidas pela mesma letra maiúscula (coluna) e minúscula (linha) não diferem entre si (LSD,  $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 3.** Coeficientes de confiabilidade estimados para a escala proposta por Quezado-Duval et al. (2011), com base no nível de concordância entre as notas atribuídas por diferentes avaliadores aos diferentes níveis de severidade da mancha bacteriana.

Coeficientes de confiabilidade	Idade da cultura			
	67dias (8) <sup>1</sup>	71dias (5)	83dias (11)	92 dias (4)
Média dos coeficientes de correlação de Spearman ( $r$ )	0,65	0,66	0,72	0,71
Coeficiente alfa de Cronbach ( $\alpha$ )	0,93	0,91	0,96	0,91
Coeficiente de correlação intra-classe ( $\rho$ )	0,56	0,50	0,58	0,57
Coeficiente de correlação inter-avaliadores ( $r'$ )	0,89	0,83	0,93	0,84
Coeficiente de concordância de Kendall ( $W$ )	0,70	0,73	0,72	0,76

<sup>1</sup>Número de avaliadores.

## CAPÍTULO 2

### VOLUME DE APLICAÇÃO E EFICIÊNCIA DO ACIBENZOLAR-S-METIL NO CONTROLE DA MANCHA BACTERIANA EM TOMATE INDUSTRIAL

Pontes, N. C.<sup>1</sup>, Nascimento, A. R.<sup>2</sup>, Golynski, A.<sup>3</sup>, Maffia, L. A.<sup>1</sup>, Oliveira, J. R.<sup>1</sup>, Quezado-Duval, A. M.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitopatologia, 36.570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, 74.690-900, Goiânia, Goiás, Brasil.

<sup>3</sup>Instituto Federal Goiano *Campus* Morrinhos, Curso de Agronomia, 75.650-000, Morrinhos, Goiás, Brasil.

<sup>4</sup>Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças (Embrapa Hortaliças), Laboratório de Fitopatologia, 70.359-970, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

## RESUMO

O presente estudo teve por objetivo a avaliação do efeito do volume de aplicação do hidróxido de cobre (HC) e do acibenzolar-S-metil (ASM) no controle da mancha bacteriana em cultivo rasteiro de tomate para processamento. Foi avaliada a aplicação dos produtos em volumes de 250 e 500 l ha<sup>-1</sup>. Para tanto, foram realizados três ensaios, sendo um em Brasília-DF e dois em Morrinhos-GO, todos no ano de 2010. As aplicações foram realizadas semanalmente, por meio de pulverizador pressurizado à CO<sup>2</sup>. As plantas foram inoculadas artificialmente após as primeiras aplicações dos produtos com isolados de *Xanthomonas perforans* (ensaios I e II) e *X. gardneri* (ensaio III). Avaliou-se a severidade da doença, a produtividade obtida e a relação benefício/custo para cada um dos tratamentos, tendo por base o incremento de produção em relação à testemunha não tratada. No ensaio I, observou-se efeito do volume de aplicação na eficiência dos produtos, com maior redução da doença com aplicação de um maior volume de calda. Esta tendência foi observada no ensaio II, em que a aplicação de 500 l ha<sup>-1</sup> de solução de HC proporcionou maior produtividade. Entretanto, neste ensaio, excessivas aplicações de ASM ocasionaram redução da produtividade. No ensaio III, a tendência de maior controle da doença com o aumento do volume aplicado foi mantida. Porém, ASM demonstrou eficiência, mesmo quando aplicado com volume de 250 l ha<sup>-1</sup>. Este tratamento proporcionou a maior relação benefício/custo, seguido pelo tratamento com HC a 500 l ha<sup>-1</sup>.

**PALAVRAS-CHAVE:** hidróxido de cobre, acibenzolar-S-metil, *Solanum lycopersicum* L., *Xanthomonas gardneri*, *Xanthomonas perforans*.

## **Spray volume and efficiency of acibenzolar-S-methyl to the control of bacterial spot in processing tomato**

### **ABSTRACT**

This study aimed to evaluate the effect of the volume of copper hydroxide (HC) and acibenzolar-S-methyl (ASM) to control the bacterial spot in tomato to industrial processing. It was evaluated the application of the products using volumes of 250 and 500 l ha<sup>-1</sup>. Three essays were made in 2010, one in Brasília-DF and two in Morrinhos-GO. The applications were made weekly using the CO<sup>2</sup> pressurized sprayer, and the tomato plants were artificially inoculated with isolates of *Xanthomonas perforans* (essays I and II) and *X. gardneri* (essay III) after the first product applications. It were evaluated the disease severity, the tomato yield, and benefit/cost ratio for each treatment, based on the production increase related to the untreated control. At the essay I, there was disease reduction when it was applied 500 l ha<sup>-1</sup> of both products, ASM and HC. The same trend was observed to HC in the second essay when the volume of 500 l ha<sup>-1</sup> increased the tomato yield, but too many applications for both ASM volumes, 250 and 500 l ha<sup>-1</sup>, caused tomato yield reduction. At the essay III, the trend when it was used HC was the same, reduction of the disease using higher volume, but it was observed efficiency to reduce the disease using both ASM volumes, 250 and 500 l ha<sup>-1</sup>. However, there was higher benefit/cost ratio using ASM at 250 l ha<sup>-1</sup> followed by HC treatment at 500 l ha<sup>-1</sup>.

**PALAVRAS-CHAVE:** copper hydroxide, acibenzolar-S-methyl, *Solanum lycopersicum* L., *Xanthomonas gardneri*, *Xanthomonas perforans*.

## INTRODUÇÃO

No Brasil, a cultura do tomate para processamento industrial vem crescendo em importância econômica, resultado do aumento da demanda dos derivados de tomate e da expansão das áreas de cultivo no mundo (Melo & Fonte, 2011). Aproximadamente 80% da produção brasileira neste segmento está concentrada no Estado de Goiás, onde as condições de clima, solo e topografia favorecem o seu cultivo (Marouelli & Silva, 2007; Melo & Fonte, 2011). Nessa região, a irrigação dos cultivos de tomate para processamento tem sido realizada por aspersão via pivô central, o que favorece a ocorrência de doenças que comprometem a produtividade e a qualidade dos frutos, com destaque para a mancha bacteriana (Marouelli et al., 2000; Quezado-Duval et al., 2004).

Esta doença está associada a quatro espécies do gênero *Xanthomonas*: *X. euvesicatoria* Jones et al., *X. gardneri* (ex Sutic' 1957) Jones et al., *X. perforans* Jones et al., e *X. vesicatoria* (ex Doidge 1920) Vauterin et al. (Jones et al., 2004). No Brasil, os primeiros estudos de epidemias de mancha bacteriana em tomate para processamento indicavam a prevalência da espécie *X. gardneri* nas principais regiões produtoras (Quezado-Duval et al., 2004; Quezado-Duval et al., 2005b). Entretanto, levantamentos mais recentes apontam para a prevalência de *X. perforans* nos campos de tomate para processamento na região central do país (Araújo et al., 2011). Essas bactérias são capazes de sobreviver em restos culturais, sementes, plantas daninhas e plantas voluntárias (Jones et al., 1986; Quezado-Duval & Lopes, 2010), o que dificulta a eliminação das fontes de inóculo. Até o momento, não há disponibilidade de variedades comerciais com níveis efetivos de resistência (Stall et al., 2009). Assim, a ferramenta mais utilizada pelos produtores para o manejo da mancha bacteriana tem sido o controle químico.

De maneira geral, o controle químico da doença tem se baseado na aplicação de fungicidas cúpricos. Porém, o uso intensivo destes produtos pode levar ao surgimento de populações do patógeno com resistência ao cobre (Adaskaveg & Hine, 1985; Mirik et al., 2007). Estudos realizados no Brasil indicam que isolados do patógeno com insensibilidade ao cobre ainda não são

comumente detectados nas lavouras comerciais tanto destinadas ao consumo “in natura”, como ao processamento industrial (Araujo et al., 2012; Costa et al., 2012; Quezado-Duval et al., 2003). Entretanto, não são raros os relatos de produtores e técnicos da cadeia do tomate para processamento, em que a aplicação de fungicidas cúpricos não proporciona um controle eficiente da doença. Assim, outros fatores, que não a capacidade intrínseca dos patógenos de insensibilidade a esse princípio ativo, podem estar influenciando na eficiência dos fungicidas cúpricos.

Por ter uma ação protetora e de contato, a aplicação de produtos à base de cobre deve proporcionar uma boa cobertura do dossel das plantas. Um dos fatores que influenciam na cobertura do dossel é o volume de calda aplicado. Produtos de contato demandam a aplicação de volume de calda maior e de menor tamanho de gota, a fim de promover uma maior cobertura do alvo e penetração no dossel da lavoura (Antuniassi, 2011).

Nas últimas décadas tem havido uma tendência na redução do volume de calda utilizado na aplicação de defensivos, como forma de reduzir os custos de produção e o uso de água, além de otimizar a utilização do maquinário destinado para este fim (Cullen et al., 2001; Fulton, 1965; Roman et al., 2004; Wise et al., 2010). Nas principais regiões brasileiras de cultivo de tomate para processamento, os volumes de calda empregados têm sido continuamente reduzidos, chegando a valores de 140 l ha<sup>-1</sup> (Quezado-Duval & Lopes, 2010). Esta redução no volume de calda aplicado pode reduzir a cobertura foliar e, conseqüentemente, a eficiência de produtos com ação de contato, como os fungicidas cúpricos.

O uso de indutores de resistência tem sido uma alternativa bastante estudada para o manejo da mancha bacteriana do tomateiro (Abbasi et al., 2002; Cavalcanti et al., 2006; Coqueiro et al., 2011; Louws et al., 2001; Obradovic et al., 2004). O Acibenzolar-S-Metil (=benzotriazolone, ASM) é um análogo do ácido salicílico capaz de induzir resistência sistêmica adquirida (SAR) em plantas (Durrant & Dong, 2004). O ASM tem demonstrado eficiência no controle da mancha bacteriana em tomate no campo (Louws et al., 2001) e, por ser um produto sistêmico (Scarponi et al., 2001), talvez possa ser uma melhor opção quando da utilização de volumes de calda reduzidos. No presente estudo, foi

avaliado o efeito da aplicação do fungicida cúprico hidróxido de cobre (HC) e do ASM, utilizando dois valores de volume de aplicação (250 e 500 l ha<sup>-1</sup>), sobre o controle da mancha bacteriana em tomate para processamento, avaliando-se também o efeito na produtividade e a viabilidade econômica.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram realizados três ensaios, sendo o primeiro (ensaio I) instalado na área experimental do Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças, em Brasília-DF (15°56'00"S, 48°08'00"W e 997 m de altitude), no período de março a julho de 2010. Os outros dois ensaios foram conduzidos na área experimental do Instituto Federal Goiano, *Campus* Morrinhos, Morrinhos-GO (17°49'28,85"S, 49°12'6,48"W e 892 m de altitude), nos períodos de março a julho (ensaio II), e junho a outubro (ensaio III) de 2010. Em todos os ensaios, realizou-se a análise do solo e, com base nos resultados obtidos, foi efetuada a correção e adubação visando uma produtividade de 100 t ha<sup>-1</sup>. Foram utilizadas mudas de tomateiro, cv. Acangatã (= Heinz9992, Eagle Comércio de Sementes Ltda.), fornecidas por um viveiro comercial com aproximadamente 25 dias de idade. Para o plantio das mudas no campo, estas foram dispostas em fileiras duplas, com espaçamento de 1,10 m entre duplas, 0,7 m dentro das duplas e 0,37 m entre plantas. A irrigação foi realizada por aspersão via pivô central. O regime empregado foi semelhante ao utilizado em cultivos comerciais, aplicando-se lâminas de 20 mm no primeiro mês de cultivo, e 30 mm até aproximadamente 14 semanas de cultivo, quando a irrigação foi cortada para concentrar a maturação dos frutos. A parcela experimental consistiu de uma fileira dupla com 28 plantas. Parcelas de tratamentos distintos foram separadas por uma fileira dupla de plantas cv. Acangatã, a fim de evitar contaminação pela deriva dos produtos aplicados ou por fonte de inóculo da parcela adjacente. As parcelas foram dispostas seguindo o delineamento experimental em blocos ao acaso, com quatro repetições para cada tratamento.

Os tratamentos consistiram da aplicação de ASM (Bion<sup>®</sup>, Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.) e HC (Kocide WDG<sup>®</sup>, Du Pont do Brasil S.A.), nas

concentrações de 0,025 e 1,614 g i.a. l<sup>-1</sup>, respectivamente (recomendação informada na bula), com volumes de aplicação de 250 e 500 l ha<sup>-1</sup>, além da testemunha, que não recebeu aplicação de nenhum produto para o controle da mancha bacteriana. As aplicações dos produtos foram iniciadas sete dias após o transplante, sendo realizadas em intervalos de sete dias. Para aplicação, utilizou-se pulverizador manual pressurizado com CO<sub>2</sub>, com pressão constante de 2,0 bar. Foi utilizado bico do tipo leque duplo (TeeJet<sup>®</sup> 120/03) com vazão de 16,66 ml s<sup>-1</sup>. O espaçamento entre bicos e a altura do solo foram de 0,5 m. Para que fossem aplicados 250 l ha<sup>-1</sup> de calda sobre as parcelas, o aplicador percorreu toda a extensão da parcela com velocidade de 0,36 m s<sup>-1</sup> no momento da aplicação dos produtos. No caso da aplicação de 500 l ha<sup>-1</sup>, esta velocidade foi reduzida para a metade. Nos primeiros ensaios foram realizadas aplicações semanais, totalizando 13 aplicações de cada produto. No ensaio III, optou-se pela redução do número de aplicações de ASM para oito em função dos resultados obtidos nos primeiros. Neste caso, a última aplicação de ASM foi realizada aos 63 dias de cultivo e, para que as plantas não ficassem por um longo período sem nenhuma proteção, foram realizadas aplicações semanais de HC até os 105 dias de cultivo, totalizando seis aplicações deste produto.

Após 14 dias do transplante, foi efetuada a inoculação das plantas por meio da pulverização de suspensão bacteriana. Foram utilizados isolados das espécies *X. perforans* (ensaios I e II) e *X. gardneri* (ensaio III), provenientes da coleção de trabalho de bactérias fitopatogênicas da Embrapa Hortaliças. Para inoculação, culturas bacterianas com 48 horas de incubação em meio nutriente ágar a 28°C, foram suspensas em solução salina (10 mM MgSO<sub>4</sub>) e a concentração da suspensão foi ajustada para O.D.<sub>600</sub> = 0,3 (≈ 5 x 10<sup>8</sup> ufc ml<sup>-1</sup>). A suspensão foi então diluída na razão de 1:10 e aplicada sobre as plantas ao final do dia. Para a avaliação da severidade da doença, optou-se pela metodologia descrita no Capítulo 1, com amostragem de folíolos doentes para estimativa da área foliar lesionada até aproximadamente 60 dias após o transplante e, a partir deste momento, atribuição de notas de intensidade da doença a parcela, com base na escala desenvolvida por Quezado-Duval et al. (2011). Foi determinado o percentual de controle de cada tratamento em relação à testemunha. Com base nos

valores obtidos, foram avaliados os efeitos do produto aplicado, do volume de calda e da interação entre o produto aplicado e o volume de aplicação, na redução da severidade da doença.

Decorridos 120 dias do plantio, foi efetuada a colheita dos frutos. Para estimar a produtividade ( $t\ ha^{-1}$ ), o peso total dos frutos colhidos por parcela foi dividido pelo número de plantas que compunham a parcela e o valor obtido multiplicado pela densidade de 30.030 plantas, calculada em função do espaçamento utilizado. Foi avaliada a viabilidade econômica dos tratamentos por meio do cálculo da relação benefício/custo. Para tal, a estimativa de ganho econômico com o incremento de produtividade em relação à testemunha não tratada foi dividida pela estimativa de custos com a aquisição dos produtos e com a aplicação no campo. Sobre o valor dos custos foi acrescido de uma taxa de juros de 0,65% ao mês (média da taxa de juros real da caderneta de poupança praticada nos últimos oito anos), considerando um período de quatro meses (~120 dias de ciclo da cultura). Assim a relação benefício/custo foi determinada pela fórmula:

$$B/C = \sum_{t=0}^n \frac{B}{C(1+r)^t}$$

em que B são as receitas; C, custos variáveis (aquisição dos produtos e serviço de aplicação); t, período de tempo; n, tempo-limite (quatro meses); e r, a taxa de juros adotada. Quando  $B/C > 1$ , o tratamento será economicamente viável. Assim como para a taxa de juros, foi levada em consideração a média dos preços da tonelada de tomate, dos defensivos (ASM e HC), e serviços (custo da aplicação) praticados nos últimos oito anos (Tabela 2).

Com base nos resultados obtidos, realizou-se a análise de variância (ANOVA), assim que confirmados os pressupostos de normalidade do resíduo (Kolmogorov-Smirnov) e homogeneidade de variâncias (Levene). Quando observado efeito significativo dos tratamentos ( $F, P \leq 0,05$ ), as médias foram comparadas pelo teste Fisher (LSD,  $P \leq 0,05$ ). Nos casos em que se avaliou a severidade da doença por meio de notas (dados categóricos) ou quando os dados, mesmo após transformação, não atendiam os pressupostos da ANOVA, optou-se pelo teste não-paramétrico de análise de variância de Friedman. Nesse caso, para comparação de médias, estas foram transformadas para seus valores em postos

(Ranks) e só então comparadas pelo teste de Bonferroni-Dunn t ( $P \leq 0,05$ ). Todas as análises foram realizadas no programa SAS 9.1 (SAS Institute, Cary, N.C., USA), utilizando-se os procedimentos UNIVARIATE, GLM, RANK e FREQ.

## RESULTADOS

No ensaio I, observou-se diferenças entre os tratamentos quanto a severidade da mancha bacteriana, em avaliação realizada aos 56 dias de cultivo (F,  $P = 0,001$ ). Houve um decréscimo no percentual de área foliar lesionada nas plantas tratadas tanto com ASM, quanto com cobre (Figura 1). Entretanto, não houve diferença significativa (LSD,  $P \leq 0,05$ ) entre a testemunha e a aplicação de HC quando empregados  $250 \text{ l ha}^{-1}$ . Neste ensaio, não foi possível realizar avaliações posteriores de severidade, bem como a colheita das parcelas, em função da ocorrência de chuvas de granizo, ocasionando injúrias nas plantas e frutos, com comprometimento da produção.

No ensaio II, conduzido em Morrinhos, a avaliação da severidade da doença aos 72 dias de cultivo permitiu observar redução da severidade pelos tratamentos com HC e ASM em relação à testemunha (Figura 2A), semelhante ao observado no ensaio realizado em Brasília. Entretanto, esta redução só foi possível quando os produtos foram aplicados em volumes de  $500 \text{ l ha}^{-1}$ , mesmo para o ASM. As médias das notas de severidade da mancha bacteriana obtidas na avaliação realizada aos 91 dias também mantiveram o mesmo padrão dos resultados obtidos com a avaliação aos 72 dias (Figura 2B), em que apenas os tratamentos com a aplicação de volume de calda de  $500 \text{ l ha}^{-1}$  diferiram da testemunha não tratada (Bonferroni-Dunn t,  $P \leq 0,05$ ).

Apesar das aplicações de ASM e HC, com volume  $500 \text{ l ha}^{-1}$ , terem reduzido a severidade da doença, apenas as parcelas com plantas tratadas com o cúprico apresentaram média de produtividade superior à testemunha não tratada (Figura 3A). Além disso, no tratamento em que as plantas receberam 13 aplicações de ASM com volume de calda de  $250 \text{ l ha}^{-1}$ , observou-se uma média de produtividade inferior à testemunha (LSD,  $P \leq 0,05$ ).

No ensaio III, a severidade da mancha bacteriana foi avaliada quando as plantas apresentavam 60 e 96 dias de cultivo. Na primeira avaliação, com exceção do tratamento onde as parcelas receberam 250 l ha<sup>-1</sup> de solução de HC, todos os demais tratamentos apresentaram redução nos valores de percentual de área foliar lesionada nas amostras de folíolos, em relação à testemunha não tratada (Figura 4). Entretanto, na avaliação seguinte, não foi possível observar diferenças entre os tratamentos quanto às notas de severidade da doença (Friedman,  $P = 0,42$ ), em função do aumento da severidade da doença em todas as parcelas. Esta maior severidade da mancha bacteriana culminou também em uma redução na produtividade, que não ultrapassou 60 t ha<sup>-1</sup> (Figura 3B). Ao contrário do ensaio anterior, os tratamentos onde as plantas receberam oito aplicações de ASM, houve incremento na produtividade, assim como o tratamento onde houve aplicação de HC nas plantas com volume de calda de 500 l ha<sup>-1</sup>.

Ao se avaliar o efeito dos fatores ('produto' e 'volume de aplicação'), bem como da interação entre eles, foi possível observar efeito significativo dos fatores apenas nas avaliações realizadas aos 56 dias (ensaio I) e aos 60 dias (ensaio III) (Tabela 1). Na análise do ensaio I, houve efeito do 'volume de aplicação' sobre o percentual de controle da doença (F,  $P = 0,04$ ). Na análise realizada no ensaio II, foi possível observar interação entre os fatores 'produto' e 'volume de aplicação' (F,  $P = 0,03$ ). No desdobramento desta interação, foi possível observar diferenças entre os níveis de 'volume de aplicação' para os tratamentos com aplicação de HC (F,  $P = 0,002$ ), mas não nos tratamentos com aplicação de ASM (F,  $P = 0,47$ ). Houve diferenças entre os produtos na aplicação utilizando o volume de calda de 250 l ha<sup>-1</sup> (F,  $P = 0,002$ ), com o ASM promovendo maior percentual de controle da doença. Entretanto, não houveram diferenças (F,  $P = 0,50$ ) entre estes na redução da severidade ao se aplicar um volume de calda de 500 l ha<sup>-1</sup>.

Dentre os tratamentos avaliados, apenas a aplicação de HC, com um volume de aplicação de 250 l ha<sup>-1</sup> não resultou em um incremento de produção que recompensasse os custos de aplicação (Tabela 2). Os maiores valores foram observados para os tratamentos com ASM (250 l ha<sup>-1</sup>) e hidróxido de cobre (500 l ha<sup>-1</sup>), que proporcionaram uma relação benefício/custo de 1,79 e 1,28, respectivamente.

## DISCUSSÃO

O acibenzolar-S-metil proporcionou um controle eficiente da mancha bacteriana em campo, corroborando os resultados de inúmeros trabalhos em que este produto se mostra uma ferramenta eficiente para o manejo da doença na cultura do tomateiro (Abbasi et al., 2002; Huang et al., 2012; Louws et al., 2001; Obradovic et al., 2004). Entretanto, também semelhante a alguns destes trabalhos, o ASM demonstrou em alguns casos efeito negativo sobre a produtividade. Este efeito foi observado quando efetuadas 13 aplicações de ASM, principalmente no volume de aplicação de 250 l ha<sup>-1</sup>.

É de conhecimento geral que, associado à indução de resistência existe um custo energético pela realocação de metabólitos e energia de outros processos, como crescimento e reprodução, para a defesa (Durrant & Dong, 2004; Walters & Fountaine, 2009). Além do gasto energético, problemas de fitotoxidez causada por ASM também são relatados (Abbasi et al., 2002), bem como de redução da produtividade quando o produto é aplicado em concentrações elevadas (Huang et al., 2012).

No presente estudo, é possível inferir que o número de aplicações seja a principal causa da diminuição da produtividade, de forma que a redução desse número de 13 para oito aplicações permitiu que a efetiva redução da severidade da doença resultasse em incremento na produtividade. Em diversos trabalhos, mesmo com a redução significativa da doença, números de aplicações maiores que 10 resultaram em produtividade igual ou menor que a testemunha (Abbasi et al., 2002; Quezado-Duval et al., 2005a). Roberts et al. (2008) observaram que a redução do número de aplicações, de 11 para seis, não reduziu a eficiência do ASM no controle da mancha bacteriana do tomateiro. Huang et al. (2012) obtiveram aproximadamente 80% de controle da doença com apenas cinco aplicações semanais do produto, havendo incremento da produção em valores próximos de 12%. Assim, a redução do número de aplicações, concentrando-as nas primeiras semanas, resultaria em proteção às plantas em uma fase crítica do desenvolvimento e evitaria o estresse na parte final do ciclo, quando as plantas estão em plena fase de desenvolvimento dos frutos (Roberts et al., 2008).

A aplicação de ASM com 500 l ha<sup>-1</sup> propiciou resultados melhores que os obtidos quando este volume foi reduzido à metade. Como a concentração do produto foi constante (0,025 g i.a. l<sup>-1</sup>), independente do volume utilizado, a quantidade de ASM distribuída por área foi de 12,5 e 6,25 g i.a. ha<sup>-1</sup> para os volumes de 500 e 250 l ha<sup>-1</sup>, respectivamente. No trabalho desenvolvido por Huang et al. (2012), é possível estimar uma concentração ideal de ASM de 0,3 g i.a. l<sup>-1</sup> para a melhor eficiência no controle da mancha bacteriana. Como nesse trabalho o volume de aplicação variou entre 559 e 1.121 l ha<sup>-1</sup>, a quantidade de ASM aplicada por área, considerando a concentração ideal (0,03 g i.a. l<sup>-1</sup>), estaria entre 16,77 e 33,63 g ha<sup>-1</sup>. Assim, o tratamento com a aplicação de 500 l ha<sup>-1</sup>, foi o que chegou mais perto destas quantidades, o que garantiria maior eficiência. Vale lembrar que os valores de volume de aplicação utilizados por Huang et al. (2012) corresponderam a aplicações em tomate tutorado, que demandam volumes de aplicação maiores que os aplicados em tomate para processamento. Além disso, existem relatos de fitotoxidez em tomate provocada por ASM quando aplicado em quantidades próximas de 35 g i.a. ha<sup>-1</sup> (Abbasi et al., 2002).

Além da quantidade de produto aplicado, deve-se considerar ainda o desenvolvimento da planta. Nos estádios iniciais, onde a área foliar ainda é pequena, a diferença no controle da doença entre os diferentes volumes de calda é pequena (Figura 2). À medida que as plantas crescem, existe a necessidade de um aumento no volume de aplicação para que se mantenha o nível de controle da doença. Isso mostra que, mesmo para um produto de efeito sistêmico, como o ASM, a aplicação de um volume de calda adequado é importante, pois auxilia na distribuição uniforme.

A maior diferença observada pela redução do volume de aplicação, seja em relação ao controle da mancha bacteriana ou na produtividade, foi observada nos tratamentos com hidróxido de cobre. Diferentemente do tratamento com a aplicação de ASM com 250 l ha<sup>-1</sup>, em nenhum momento, mesmo quando as avaliações eram realizadas na primeira metade do ciclo de cultivo (Figura 1 e 4A), a aplicação do fungicida cúprico com este volume de calda propiciou resultados melhores que o da testemunha. Tal fato demonstra que fungicidas cúpricos, por

serem produtos de contato, demandam maiores valores de volume de aplicação de modo a promover uma ampla cobertura da área foliar.

Wise et al. (2010) observaram que a redução do volume de pulverização resulta em um comprometimento maior da eficiência de fungicidas protetores que de fungicidas sistêmicos no controle de doenças fúngicas em videira, corroborando os resultados desse estudo. Em culturas com a formação de grande massa foliar, como é o caso do tomate para processamento, a obtenção de boa cobertura foliar pela aplicação de defensivos torna-se ainda mais problemática. Cullen et al. (2001) obtiveram valores de cobertura foliar inferiores a 2% no interior do dossel de parcelas de tomate para processamento pulverizados com volume de aplicação de 283 e 568 l ha<sup>-1</sup>.

A baixa deposição de produtos protetores no interior do dossel torna-se mais problemática, em função de ser justamente essa a região com microclima mais favorável ao desenvolvimento de fitopatógenos. O aumento do volume de aplicação pode aumentar a deposição dos produtos pulverizados no interior do dossel. Em feijoeiro, cultura que também apresenta grande massa foliar, Limberger (2006) obteve um aumento na deposição de fungicidas nos extratos médios e inferiores do dossel com o aumento do volume de calda aplicado. De acordo com Derksen & Sanderson (1996), a melhor cobertura e distribuição de produtos aplicados com altos volumes de calda é resultado da redistribuição do produto da parte superior para as regiões internas do dossel.

O perigo referente ao aumento do volume de calda pulverizado está no fato de que estas aplicações aumentam os riscos de contaminação do solo, em função do escoamento do produto que não fica retido nas folhas (Limberger, 2006). No caso de fungicidas cúpricos, este perigo é maior em função dos problemas que o acúmulo de cobre no solo pode causar ao meio ambiente (Bernard et al., 2009; Komárek et al., 2010; Loland & Singh, 2004). Assim, outras medidas devem ser adotadas para aumentar a eficiência de fungicidas cúpricos na cobertura foliar, sem que seja necessário um aumento na quantidade de cobre aplicada.

No trabalho de Cullen et al. (2001), a utilização de bicos de pulverização com jato cônico possibilitou uma maior penetração no dossel pela calda pulverizada em relação à bicos de jato plano. Entretanto, bicos de jato plano ou de

jato plano duplo (semelhante ao utilizado no presente estudo) têm sido recomendados para pulverizadores de barras, como os utilizados nas pulverizações mecanizadas (Cunha et al., 2003; Limberger, 2006). Estes bicos, apesar de gerarem gotas de tamanho maior que dificultam a penetração no interior do dossel, diminuem as perdas por deriva. Uma forma de aumentar a deposição de produtos pulverizados no interior do dossel é a adoção de novas técnicas de aplicação, como a aplicação assistida por ar, que tem sido eficiente em aumentar a penetração no dossel de outras culturas igualmente adensadas, como a soja (Derksen et al., 2008).

De maneira geral, observou-se que a utilização de fungicidas cúpricos requer volumes de aplicação maiores, para adequada cobertura foliar e proteção contra a mancha bacteriana. Já o ASM é eficiente no manejo da doença, mesmo quando aplicado em menores volumes de calda, mas não deve ser aplicado ao longo de todo o ciclo, pois compromete a produtividade.

Como comentado anteriormente, o ASM poderia ser utilizado nas primeiras semanas de cultivo, quando são empregados volumes de calda menores. Partindo do princípio de que o volume de aplicação deve ser adequado ao estágio de crescimento da planta, de modo que ele seja crescente ao longo do desenvolvimento da cultura, os produtos protetores, como os fungicidas cúpricos, poderiam ser empregados a partir do ponto em que o volume de aplicação fosse adequado para a sua eficiência. O fato dos maiores índices de relação benefício/custo terem sido obtidos com a aplicação de ASM a  $250 \text{ l ha}^{-1}$  e HC a  $500 \text{ l ha}^{-1}$  mostram que estes produtos podem ser aplicados nesta ordem e com estes volumes de aplicação. Medidas como esta aumentariam a eficiência do cobre, diminuiria a quantidade de produto demandada e a consequente contaminação, bem como evitaria uma pressão de seleção para o surgimento de isolados do patógeno com resistência a este elemento químico.

Com base nos resultados observados, foi possível observar que produtos de contato, como o HC, têm maior dependência em relação ao volume de aplicação quando comparados à produtos de ação sistêmica, como é o caso do ASM. Mais estudos podem ser realizados de modo a potencializar os efeitos da indução de resistência com baixos volumes de aplicação. Um aspecto a se estudar

seria a interação entre o volume aplicado e a concentração de ASM. Além disso, estudos de tecnologia de aplicação que possibilitem uma maior penetração dos produtos aplicados no interior do dossel em cultivos de tomate rasteiro para processamento são necessários, a fim de aumentar a eficiência dos produtos utilizados no controle da mancha bacteriana.

## REFERÊNCIAS

Abbasi P.A., Soltani N., Cuppels D.A., Lazarovits G. (2002) Reduction of bacterial spot disease severity on tomato and pepper plants with foliar applications of ammonium lignosulfonate and potassium phosphate. *Plant Dis.* 86:1232-1236.

Adaskaveg J.E., Hine R.B. (1985) Copper tolerance and zinc sensitivity of mexican strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causal agent of bacterial spot of pepper. *Plant Disease* 69:993-996.

Antuniassi U.R. (2011) Tecnologia de aplicação de fungicidas para culturas anuais. *Tropical Plant Pathology* 36 (Supplement):1329-1332.

Araujo E.R., Pereira R.C., Ferreira M.A.S.V., Quezado-Duval A.M., Cafe-Filho A.C. (2012) Sensitivity of *Xanthomonads* causing tomato bacterial spot to copper and streptomycin and *in vivo* infra-specific competitive ability in *Xanthomonas perforans* resistant and sensitive to copper. *Journal of Plant Pathology* 94:79-87.

Araújo E.R., Costa J.R., Pontes N.C., Mazutti J., Ferreira M.A.S.V., Quezado-Duval A.M. (2011) Prevalence of *Xanthomonas perforans* associated with bacterial spot in processing tomato crops in Brazil. *Tropical Plant Pathology* 36 (supplement):1012-1012.

Bernard L., Maron P.A., Mougél C., Nowak V., Lévêque J., Marol C., Balesdent J., Gibiat F., Ranjard L. (2009) Contamination of soil by copper affects the dynamics, diversity, and activity of soil bacterial communities involved in wheat decomposition and carbon storage. *Applied and Environmental Microbiology* 75:7565-7569.

Cavalcanti F.R., Resende M.L.V., Zacaroni A.B., Ribeiro Júnior P.M., Costa J.d.C.B., Souza R.M.d. (2006) Acibenzolar-S-Metil e Ecolife® na indução de respostas de defesa do tomateiro contra a mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*). *Fitopatologia Brasileira* 31:372-380.

Coqueiro D.S.O., Maraschin M., Di Piero R.M. (2011) Chitosan reduces bacterial spot severity and acts in phenylpropanoid metabolism in tomato plants. *J. Phytopathol.* 159:488-494.

Costa J.R., Araujo E.R., Becker W.F., Ferreira M.A.S.V., Quezado-Duval A.M. (2012) Occurrence and characterization of the species complex causing tomato bacterial spot in "Alto Vale do Rio do Peixe", SC, Brazil. *Tropical Plant Pathology* 37:149-154.

- Cullen E., Zalom F., Steinke W., Hummel N. (2001) High-volume applications to improve canopy penetration and efficacy of reduced risk insecticides in processing tomatoes. *Acta Horticulture* 542:31-37.
- Cunha J.P.A.R., Teixeira M.M., Coury J.R., Ferreira L.R. (2003) Avaliação de estratégias para redução da deriva de agrotóxicos em pulverizações hidráulicas. *Planta Daninha* 21:325-332.
- Derksen R.C., Sanderson J.P. (1996) Volume, speed, and distribution technique effects on poinsettia foliar deposits. *Transactions of the Asae* 39:5-9.
- Derksen R.C., Zhu H., Ozkan H.E., Hammond R.B., Dorrance A.E., Spongberg A.L. (2008) Determining the influence of spray quality, nozzle type, spray volume, and air-assisted application strategies on deposition of pesticides in soybean canopy. *Transactions of the ASABE* 51:1529-1537.
- Durrant W.E., Dong X. (2004) Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology* 42:185-209.
- Fulton R.H. (1965) Low-volume spraying. *Ann. Rev. Phytopathol.* 3:175-196.
- Huang C.-H., Vallad G.E., Zhang S., Wen A., Balogh B., Figueiredo J.F.L., Behlau F., Jones J.B., Momol M.T., Olson S.M. (2012) Effect of application frequency and reduced rates of acibenzolar-s-methyl on the field efficacy of induced resistance against bacterial spot on tomato. *Plant Dis.* 96:221-227.
- Jones J.B., Pohronezny R.E., Stall R.E., Jones J.P. (1986) Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in Florida on tomato crop residue, weeds, seeds, and volunteer tomato plants. *Phytopathology* 76:430-434.
- Jones J.B., Lacy G.H., Bouzar H., Stall R.E., Schaad N.W. (2004) Reclassification of the Xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Systematic and Applied Microbiology* 27:755-762.
- Komárek M., Čadková E., Chrástný V., Bordas F., Bollinger J.-C. (2010) Contamination of vineyard soils with fungicides: a review of environmental and toxicological aspects. *Environment International* 36:138-151.
- Limberger A.R. (2006) Avaliação da deposição da calda de pulverização em função do tipo de ponta e do volume aplicado, na cultura do feijão, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon. pp. 51.
- Loland J.Ø., Singh B.R. (2004) Copper contamination of soil and vegetation in coffee orchards after long-term use of Cu fungicides. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 69:203-211.
- Louws F.J., Wilson M., Campbell H.L., Cuppels D.A., Jones J.B., Shoemaker P.B., Sahin F., Miller S.A. (2001) Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator. *Plant Dis.* 85:481-488.
- Marouelli W., Silva W. (2007) Water tension thresholds for processing tomatoes under drip irrigation in Central Brazil. *Irrigation Science* 25:411-418.

- Marouelli W.A., Silva W.L.C., Silva H.R., Vilela N.J. (2000) Eficiência econômica do manejo racional da irrigação em tomateiro para processamento industrial. *Horticultura Brasileira* 18:238-243.
- Melo P.C.T., Fonte L.C. (2011) Brazil processing tomato season 2010: results and future perspectives. *Tomato News* 3:15-19.
- Mirik M., Aysan Y., Cinar O. (2007) Copper-resistance strains of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye in the eastern Mediterranean region of Turkey. *Journal of Plant Pathology* 89:153-154.
- Obradovic A., Jones J.B., Momol M.T., Balogh B., Olson S.M. (2004) Management of tomato bacterial spot in the field by foliar applications of bacteriophages and SAR inducers. *Plant Disease* 88:736-740.
- Quezado-Duval A.M., Lopes C.A. (2010) Mancha bacteriana: uma atualização para o sistema de produção integrada de tomate indústria Embrapa Hortaliças (Circular Técnica 84), Brasília.
- Quezado-Duval A.M., Lopes C.A., Junqueira N.T.V. (2005a) Avaliação de produtos alternativos para o controle da mancha-bacteriana em tomateiro para processamento industrial Embrapa Hortaliças (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 14), Brasília.
- Quezado-Duval A.M., Gazzoto Filho A., Leite Junior R.P., Camargo L.E.A. (2003) Sensibilidade a cobre, estreptomicina e oxitetraciclina em *Xanthomonas* spp. associadas à mancha-bacteriana do tomate para processamento industrial. *Horticultura Brasileira* 21:670-675.
- Quezado-Duval A.M., Leite R.P., Truffi D., Camargo L.E.A. (2004) Outbreaks of Bacterial Spot Caused by *Xanthomonas gardneri* on Processing Tomato in Central-West Brazil. *Plant Disease* 88:157-161.
- Quezado-Duval A.M., Leite Jr R.P., Lima M.F., Camargo L.E.A. (2005b) Diversity of *Xanthomonas* spp. associated with bacterial spot of processing tomatoes in Brazil. *Acta Horticulturae* 695:101-108.
- Quezado-Duval A.M., Pontes N.C., Nascimento A.R., Moita A.W. (2011) Metodologia de avaliação da severidade da mancha bacteriana em tomateiro para processamento industrial Embrapa Hortaliças (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 73), Brasília.
- Roberts P.D., Momol M.T., Ritchie L., Olson S.M., Jones J.B., Balogh B. (2008) Evaluation of spray programs containing famoxadone plus cymoxanil, acibenzolar-S-methyl, and *Bacillus subtilis* compared to copper sprays for management of bacterial spot on tomato. *Crop Protection* 27:1519-1526.
- Roman E.S., Vargas L., Ribeiro M.C.F., Luiz A.R.M. (2004) Influência do orvalho e volume de calda de aplicação na eficácia do glyphosate na dessecação de *Brachiaria plantaginea*. *Planta Daninha* 22:479-482.
- Scarponi L., Buonaurio R., Martinetti L. (2001) Persistence and translocation of a benzothiadiazole derivative in tomato plants in relation to systemic acquired resistance against *Pseudomonas syringae* pv *tomato*. *Pest Management Science* 57:262-268.

Stall R.E., Jones J.B., Minsavage G.V. (2009) Durability of resistance in tomato and pepper to Xanthomonads causing bacterial spot. *Annual Review of Phytopathology* 47:265-284.

Walters D.R., Fountaine J.M. (2009) Practical application of induced resistance to plant diseases: an appraisal of effectiveness under field conditions. *Journal of Agricultural Science* 147:523–535.

Wise J.C., Jenkins P.E., Schilder A.M.C., Vandervoort C., Isaacs R. (2010) Sprayer type and water volume influence pesticide deposition and control of insect pests and diseases in juice grapes. *Crop Protection* 29:378-385.

Tabela 1. Análise dos efeitos dos fatores avaliados (produto e volume de aplicação) no percentual de controle da mancha bacteriana pelo teste F de análise de variância.

Fontes de variação	56 dias <sup>I</sup>		72 dias <sup>II</sup>		91 dias <sup>II</sup>		60 dias <sup>III</sup>		96 dias <sup>III</sup>	
	GL	<i>P &gt; F</i>	<i>P &gt; F</i>	<i>P &gt; F</i>	<i>P &gt; F</i>	<i>P &gt; F</i>	<i>P &gt; F</i>	<i>P &gt; F</i>	<i>P &gt; F</i>	<i>P &gt; F</i>
Produto	1	0,21	0,43	0,54	≤0,01	0,77				
Volume de aplicação	1	0,04	0,07	0,06	≤0,01	0,12				
Produto x Volume de aplicação	1	0,87	0,74	0,67	0,03	0,55				
Bloco	3	0,89	0,09	0,77	0,87	0,96				
CV (%) <sup>4</sup>		22,99	20,30	20,08	19,09	46,87				

<sup>I</sup>Ensaio 1 (Brasília-DF, Março 2010), <sup>II</sup>Ensaio 2 (Morrinhos-GO, Março 2010),

<sup>III</sup>Ensaio 3 (Morrinhos-GO, Junho 2010). <sup>4</sup>Coefficiente de variação.

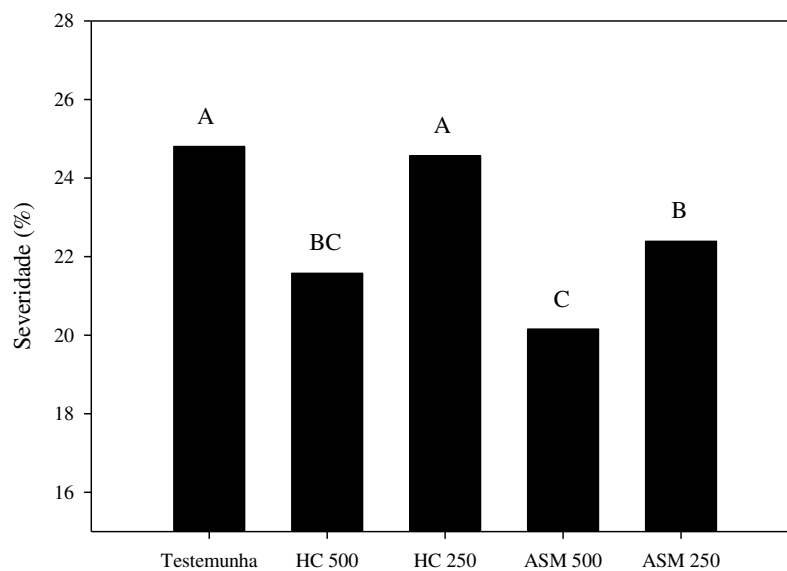


Figura 1. Severidade da mancha bacteriana observada nas plantas que receberam aplicação de 250 e 500 l ha<sup>-1</sup> de solução de acibenzolar-S-metil (ASM, 0,05 g l<sup>-1</sup>) e hidróxido de cobre (HC, 3 g l<sup>-1</sup>), avaliados aos 56 dias de cultivo no ensaio realizado em Brasília-DF entre março e julho de 2010. Médias de tratamentos seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Fisher (LSD,  $P \leq 0,05$ ).

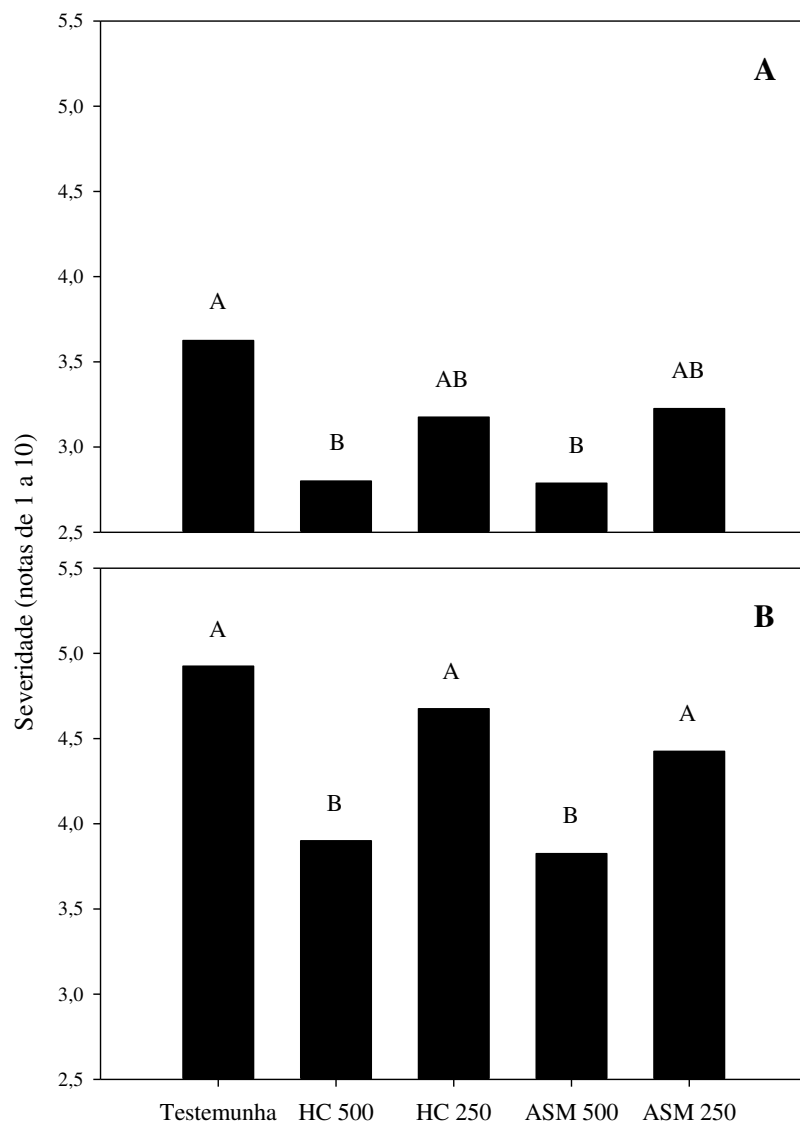


Figura 2. Severidade da mancha bacteriana observada nas plantas que receberam aplicação de 250 e 500 l ha<sup>-1</sup> de solução de acibenzolar-S-metil (ASM, 0,05g l<sup>-1</sup>) e hidróxido de cobre (Cobre, 3g l<sup>-1</sup>), avaliados aos 72 (A) e 91 (B) dias de cultivo no ensaio realizado em Morrinhos-GO entre março e julho de 2010. Os dados foram analisados após transformação para valores em postos (Ranks). Médias de tratamentos seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Bonferroni-Dunn t ( $P \leq 0,05$ ).

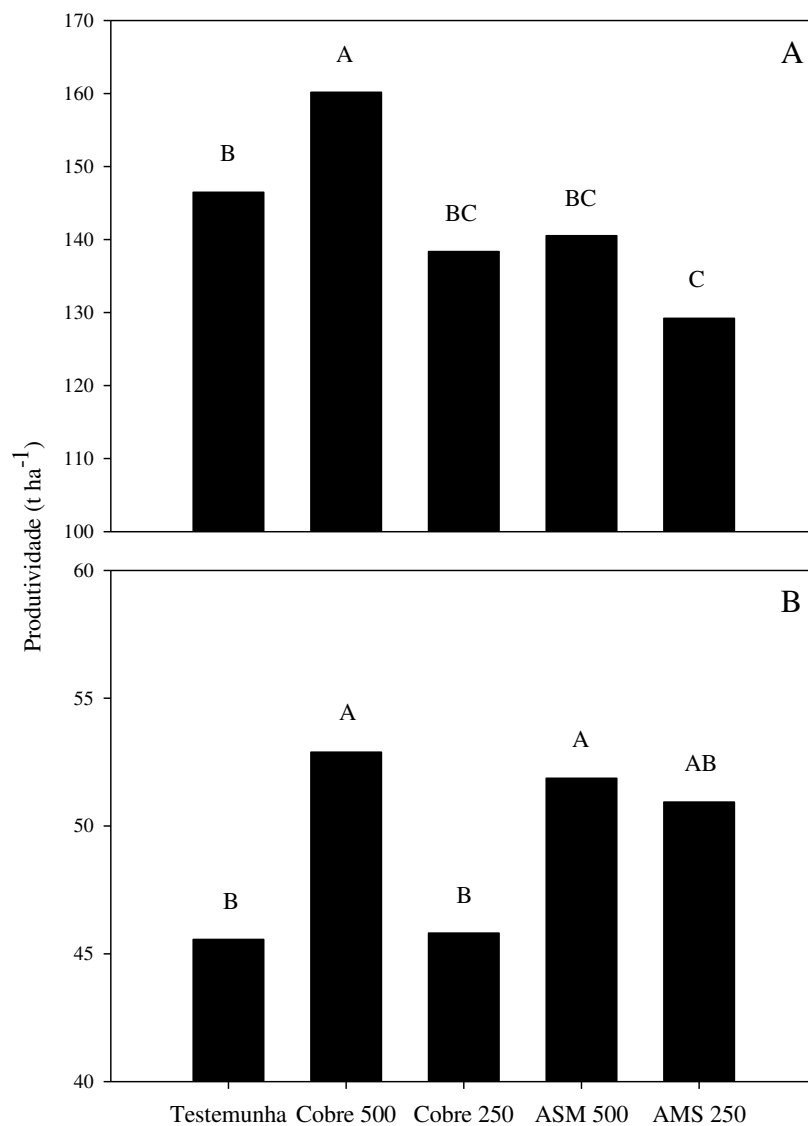


Figura 3. Produtividade obtida após aplicação de 250 e 500 l ha<sup>-1</sup> de solução de acibenzolar-S-metil (ASM, 0,05 g l<sup>-1</sup>) e hidróxido de cobre (Cobre, 3 g l<sup>-1</sup>), nos ensaios realizados em Morrinhos nos períodos de março a julho (A), e de junho a outubro (B) de 2010. Médias de tratamentos seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Fisher (LSD,  $P \leq 0,05$ ). Em A, foram realizadas 13 aplicações de acibenzolar-S-metil, enquanto que em B, o número de aplicações deste produto reduziu para oito e, nas seis semanas seguintes, aplicou-se hidróxido de cobre.

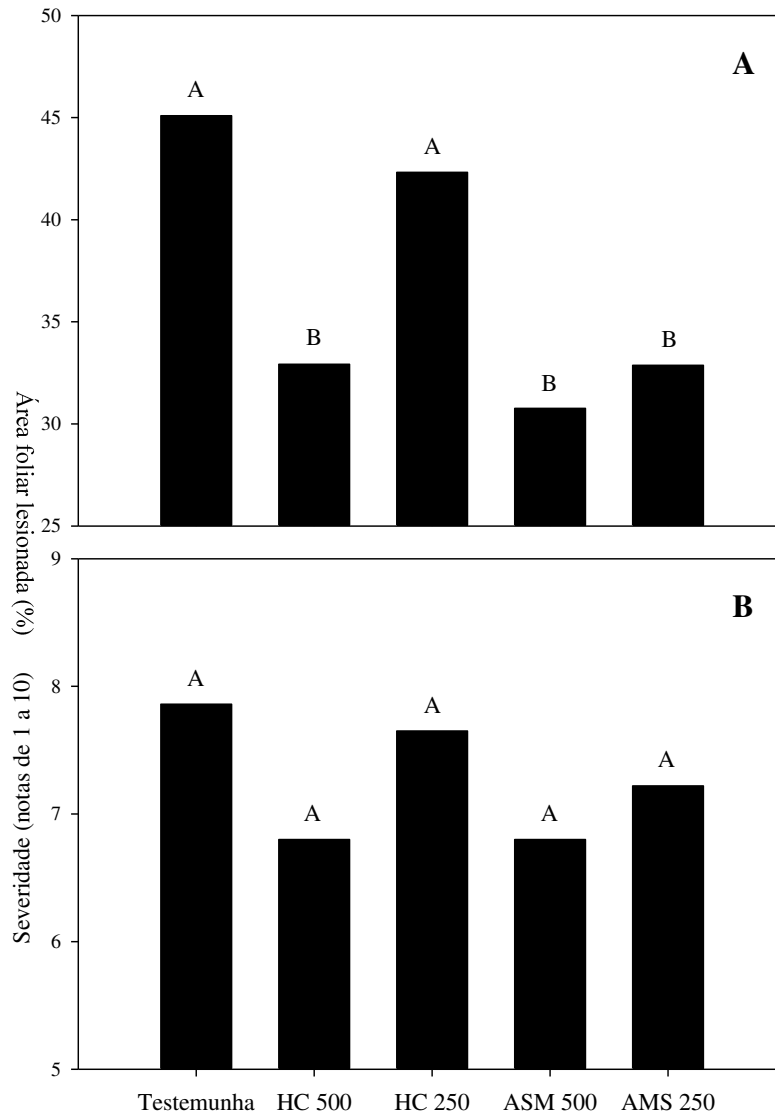


Figura 4. Severidade da mancha bacteriana observada nas plantas que receberam aplicação de 250 e 500 l ha<sup>-1</sup> de solução de acibenzolar-S-metil (ASM, 0,05 g l<sup>-1</sup>) e hidróxido de cobre (Cobre, 3 g l<sup>-1</sup>), avaliados aos 60 (A) e 96 (B) dias de cultivo no ensaio realizado em Morrinhos-GO entre junho e outubro de 2010. Médias de tratamentos seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Fisher (A). Em B, Os dados foram analisados após transformação para valores em postos (Ranks), e médias de tratamentos seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Bonferroni-Dunn t ( $P \leq 0,05$ ).

Tabela 2. Relação benefício/custo (B/C) em função do incremento de produtividade obtido pelos diferentes tratamentos com hidróxido de cobre (HC) e acibenzolar-S-metil (ASM) em relação à testemunha não tratada, e do custo de cada tratamento com diferentes volumes de aplicação.

Produto	Volumes	Produtividade	Incremento	Benefício <sup>1</sup>	Custo <sup>2</sup>	B/C
HC	250 l ha <sup>-1</sup>	45,81 t ha <sup>-1</sup>	0,24 t ha <sup>-1</sup>	R\$ 36,45	R\$ 417,72	0,09
HC	500 l ha <sup>-1</sup>	52,89 t ha <sup>-1</sup>	7,33 t ha <sup>-1</sup>	R\$ 1.071,72	R\$ 834,95	1,32
ASM	250 l ha <sup>-1</sup>	50,93 t ha <sup>-1</sup>	5,37 t ha <sup>-1</sup>	R\$ 785,56	R\$ 436,59	1,87
ASM	500 l ha <sup>-1</sup>	51,86 t ha <sup>-1</sup>	6,30 t ha <sup>-1</sup>	R\$ 921,59	R\$ 873,16	1,06
Testemunha		45.56 t ha <sup>-1</sup>				

Preços médios aplicados nos últimos oito anos: tomate (R\$ 146,20 t<sup>-1</sup>), hidróxido de cobre (R\$ 0,016 g<sup>-1</sup>), acibenzolar-S-metil (R\$ 1,18 g<sup>-1</sup>), custo de aplicação (R\$ 0,07 l<sup>-1</sup>). R\$ 1,00 (real) = US\$ 0,5-0,6.

### CAPÍTULO 3

#### INTERVALO E NÚMERO DE APLICAÇÕES DE ACIBENZOLAR-S-METIL NO CONTROLE DA MANCHA BACTERIANA E NA PRODUTIVIDADE DE TOMATE PARA PROCESSAMENTO INDUSTRIAL

Pontes, N. C.<sup>1</sup>, Nascimento, A. R.<sup>2</sup>, Golynski, A.<sup>3</sup>, Rafael de Rezende Sant'Ana<sup>4</sup>, Maffia, L. A.<sup>1</sup>, Oliveira, J. R.<sup>1</sup>, Quezado-Duval, A. M.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitopatologia, 36.570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, 74.690-900, Goiânia, Goiás, Brasil.

<sup>3</sup> Instituto Federal Goiano *Campus Morrinhos*, Curso de Agronomia, 75.650-000, Morrinhos, Goiás, Brasil.

<sup>4</sup>Cargill Foods Brazil, Coordenação de Pesquisa Agrícola, 74.665-320, Goiânia, Goiás, Brasil.

<sup>5</sup>Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças (Embrapa Hortaliças), Laboratório de Fitopatologia, 70.359-970, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

## RESUMO

Foi avaliado o efeito do intervalo entre aplicações (4, 7, 10 e 14 dias) e do número de aplicações (4, 6, 8 e 10 aplicações) do acibenzolar-S-metil (ASM) na eficiência de controle da mancha bacteriana em tomate para processamento industrial em nível de campo, além de avaliar o efeito na produtividade final e a relação benefício/custo dos tratamentos. Compararam-se combinações dos níveis destes fatores à aplicação semanal de hidróxido de cobre e à não aplicação de agrotóxicos específicos para a doença. O delineamento foi em blocos ao acaso com três repetições, e cada unidade experimental continha 28 plantas (cv. Acangatã). Iniciaram-se os tratamentos aos sete dias após o transplante e, a partir de então, as plantas foram desafiadas pela exposição ao patógeno. Foram realizados cinco ensaios entre os anos de 2010 e 2011, em Brasília-DF e Morrinhos-GO. Nos ensaios realizados houve diferenças entre os tratamentos quanto à severidade da doença e à produtividade final em três e dois destes, respectivamente. Observou-se que, quanto maior o número de aplicações, maior o nível de controle da doença, com o intervalo ideal entre aplicações estimado em aproximadamente oito dias. Entretanto, quando o número de aplicações foi superior a oito, houve redução da produtividade, o que pode ser resultado do custo energético da indução de resistência. De forma a melhor entender os resultados obtidos, avaliou-se o efeito temporal de aplicações de ASM sobre a severidade da mancha bacteriana, onde foi observado efeito do produto apenas até o sexto dia após a aplicação. O tratamento que apresentou o melhor desempenho (técnico e econômico) nos ensaios (sete aplicações semanais de ASM) foi comparado com a aplicação de hidróxido de cobre em condições comerciais de produção, onde foi possível observar redução da severidade da mancha bacteriana pela aplicação de ASM. No entanto, não se observou aumento na produtividade.

**Palavras-chave:** *Solanum lycopersicum* L., *Xanthomonas perforans*, *Xanthomonas gardneri*, Resistência Sistêmica Adquirida.

## **Adjustment of interval and number of acibenzolar-S-methyl applications to the management of the bacterial spot in processing tomato**

### **ABSTRACT**

In this present study, it was evaluated the effect of the interval between applications (4, 7, 10 and 14 days) and the application numbers (4, 6, 8 and 10 applications) of acibenzolar-S-methyl (ASM) to control the bacterial spot disease in tomato to industrial processing in the field, and also, it was evaluated the final tomato yield and cost/benefit ratio of the treatments. As controls, it was or not applied weekly copper hydroxide (HC), as it is recommended by producers. The experiment design was in randomized block using three replicates, and each replicate had 28 plants (cv. Acangatã). The first applications were made seven days after transplantation and, after that, the plants inoculated with the pathogen. It were made five experiments from 2010 to 2011, in Brasília-DF and Morrinhos-GO. There were treatment differences for disease severity in three experiments and for tomato yield in two experiments. It was observed that the disease control was better when it was used higher application numbers, and it was estimated 8 days being the ideal interval between applications. However, when the application numbers were more than eight, there was tomato yield reduction possibly because of the energetic cost to induce resistance. To better understand the data obtained, it was evaluated the temporal effect of ASM applications in the bacterial spot severity, and it was observed effect only until the sixth day after the application. The better treatment (technical and economic), seven weekly applications of ASM, was compared to the HC application on commercial tomato production, where it was observed the bacterial spot severity reduction using ASM , but it was not observed increase in tomato yield.

**Palavras-chave:** *Solanum lycopersicum* L., *Xanthomonas perforans*, *Xanthomonas gardneri*, Systemic Acquired Resistance.

## INTRODUÇÃO

A produção de tomate para processamento industrial no Brasil apresentou um acentuado crescimento na primeira década deste século, com incremento de produção na ordem de 58% (Melo et al., 2011). O Estado de Goiás teve papel fundamental neste aumento da produção, sendo responsável por aproximadamente 80% da produção nacional, o que o torna a principal região produtora do país e, também, da América do Sul (Melo & Fonte, 2011). Entretanto, durante este período, houve anos com queda de produção em razão de problemas fitossanitários, comprometendo a disponibilidade de matéria-prima para as indústrias (Melo et al., 2011).

A mancha bacteriana é um dos principais problemas fitossanitários da cultura do tomate rasteiro, destinado ao processamento industrial (Vilas-Bôas et al., 2007; Quezado-Duval & Lopes, 2010). Esta doença ocasiona lesões foliares que culminam em intensa desfolha, ocasionando queda na produção, além da exposição dos frutos ao sol, resultando em escaldadura, o que diminui a qualidade destes para a indústria.

A ocorrência da doença em tomate tem sido associada a quatro espécies do gênero *Xanthomonas*: *X. euvesicatoria* Jones et al., *X. gardneri* (ex Sutic' 1957) Jones et al., *X. perforans* Jones et al., e *X. vesicatoria* (ex Doidge 1920) Vauterinet et al. (Jones et al., 2004). Todas estas espécies já foram constatadas no Brasil (Quezado-Duval et al., 2005). Nos primeiros trabalhos de levantamento em campos de tomate destinado ao processamento, epidemias de mancha bacteriana observadas na região central do Brasil, representada pelos Estados de Goiás e Minas Gerais, foram associadas à *X. gardneri* (Quezado-Duval et al., 2004). Atualmente, têm-se observado a prevalência de *X. perforans* raça T3 nas lavouras do Centro-Oeste brasileiro (Araújo et al., 2011a). Restos culturais, mudas provenientes de sementes contaminadas, plantas voluntárias e plantas daninhas podem servir como fontes de inóculo da doença e são de difícil eliminação (Jones et al., 1986; Quezado-Duval & Lopes, 2010).

Existem genes em tomateiro que conferem resistência vertical às raças T1 (*X. euvesicatoria*), T3 e T4 (*X. perforans*) (Scott & Jones, 1989; Scott et al., 1995;

Astua-Monge et al., 2000). Entretanto, estes genes ainda não foram introduzidos em variedades comerciais, devido à existência de isolados que suplantam esta resistência (Stall et al., 2009). Desta forma, o controle da doença é realizado, principalmente, com a aplicação de fungicidas cúpricos, cujo uso intensivo pode resultar no surgimento de populações do patógeno com resistência à estes produtos (Adaskaveg & Hine, 1985; Mirik et al., 2007).

Como alternativa para o manejo da mancha bacteriana do tomateiro, tem sido estudada a utilização de substâncias com propriedade de induzir resistência nas plantas (Obradovic et al., 2004; Cavalcanti et al., 2006b; Coqueiro et al., 2011; Fontenelle et al., 2011; Lucas et al., 2012). No Brasil, possui registro para utilização no controle da mancha bacteriana em tomate o princípio ativo acibenzolar-S-metil (= benzotiadiazole, ASM), um análogo do ácido salicílico e que atua como ativador da resistência sistêmica adquirida (SAR) (Louws et al., 2001; Quezado-Duval & Lopes, 2010). A aplicação deste princípio ativo tem proporcionado uma efetiva redução na severidade da mancha bacteriana em tomateiro (Louws et al., 2001; Abbasi et al., 2002a; Abbasi et al., 2002b; Obradovic et al., 2004). Entretanto, em vários casos, a redução da severidade da doença não vem acompanhada de um incremento na produtividade, ou ainda, a aplicação do produto ocasiona uma redução no desenvolvimento das plantas (Louws et al., 2001; Abbasi et al., 2002b; Gilardi et al., 2010; Capítulo 2).

Associado à indução de resistência, existe um custo energético pela realocação de metabólitos e energia de outros processos, como crescimento e reprodução, para a defesa (Walters & Fountaine, 2009). Assim, um número excessivo de aplicações de indutores, como o ASM, pode levar a planta a gastos energéticos elevados com a indução de resistência, comprometendo sua capacidade produtiva (Capítulo 2).

Uma alternativa para diminuir o gasto energético seria a redução do número de aplicações do indutor. Alguns trabalhos tem demonstrado que a redução no número de aplicações do ASM pode ser efetuada sem comprometer a eficiência no controle da mancha bacteriana em tomate (Roberts et al., 2008; Huang et al., 2012). Uma maneira de reduzir o número de aplicações sem deixar a planta desprotegida seria ampliar o intervalo entre aplicações. Entretanto, o efeito

do ASM na indução de resistência ocorre durante pequenos períodos de tempo, necessitando de reaplicações (Louws et al., 2001; Herman et al., 2007). No estudo conduzido por Huang et al. (2012) com tomate para mesa, foi observado ineficiência do produto quando o intervalo entre aplicações foi de 14 dias, sendo o controle da doença efetivo com aplicações semanais. Matheron & Porchas (2002) também fazem referência à influência do intervalo entre aplicações no nível de indução de resistência. Deste modo, existe a possibilidade de que alterações no intervalo de aplicação possam comprometer a eficiência do controle da mancha bacteriana em tomate.

Assim, deve-se determinar um número de aplicações que não comprometa a produtividade da cultura, mas que seja eficiente no controle da doença. Da mesma forma, se faz necessária a utilização de um intervalo de aplicação adequado, que mantenha a planta protegida contra o patógeno o maior período possível, dentro de um número adequado de aplicações. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar diferentes intervalos e números de aplicações de ASM, e a combinação deles para determinar o regime de aplicação mais eficiente no manejo da mancha bacteriana na cultura do tomateiro para processamento industrial.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Experimentos de campo**

Foram realizados cinco experimentos entre os anos de 2010 e 2011 (Tabela 1), no Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças (Embrapa Hortaliças), em Brasília-DF (15°56'00"S, 48°08'00"W e 997 m de altitude) e na área experimental do Instituto Federal Goiano, *Campus* Morrinhos, Morrinhos - GO (17°49'28,85"S, 49°12'6,48"W e 892 m de altitude). Realizaram-se a correção da acidez e a adubação em conformidade com a análise do solo, com base em uma produtividade esperada de 100 t ha<sup>-1</sup>. Para todos os experimentos, foram utilizadas mudas do híbrido comercial cv. Acangatã (= Heinz 9992, Eagle Comércio de Sementes Ltda.), com aproximadamente 25 dias, produzidas em viveiro

comercial. As mudas foram plantadas em linhas duplas, com espaçamento interno de 0,70 m e 1,10 m entre duplas. O espaçamento entre plantas foi de 0,37 m, resultando em uma densidade de 30.030 plantas por hectare. A irrigação foi feita por aspersão via pivô central. O regime empregado foi semelhante ao utilizado em cultivos comerciais, sendo aplicadas lâminas de 20 mm no primeiro mês de cultivo, e 30 mm até, aproximadamente, 14 semanas de cultivo, quando a irrigação foi cortada para concentrar a maturação dos frutos. Aplicações de defensivos para o controle de pragas, doenças e plantas daninhas foram realizadas de maneira preventiva e de acordo com as exigências de cada área, iniciadas após a primeira semana de cultivo.

Além do ASM, foi avaliada a aplicação de hidróxido de cobre (HC). Foram utilizados os produtos comerciais Bion<sup>®</sup> (Syngenta Proteção de Cultivos Ltda., 50% de ASM) e Kocide WDG<sup>®</sup> (DuPont do Brasil S.A., 53,8% de HC). Foram utilizadas as concentrações determinadas na bula de cada produto, resultando em 2,5 e 174,9 g i.a. 100 l<sup>-1</sup> de ASM e HCC, respectivamente. Após sete dias do plantio das mudas, deu-se início aos tratamentos. Para aplicação, utilizou-se pulverizador manual pressurizado com CO<sub>2</sub>, com pressão constante (30,0 psi). Foi utilizado bico do tipo leque duplo (TeeJet<sup>®</sup> 120/03), com espaçamento entre bicos e altura do solo de 0,5 m, sendo aplicado um volume de 500 l ha<sup>-1</sup>, suficiente para uma boa cobertura das folhas durante todo o ciclo de cultivo. Para aplicação de ASM, foram avaliados os intervalos de aplicação de 4, 7, 10 e 14 dias entre aplicações, com 4, 6, 8 e 10 aplicações para cada intervalo. Os tratamentos foram comparados com a aplicação semanal de HC e com testemunha, que não recebeu aplicação de nenhum produto. As aplicações foram suspensas após aproximadamente 90 dias de cultivo. Para os tratamentos cuja aplicação de ASM fosse interrompida antes deste limite, foram realizadas aplicações semanais de HC até os 90 dias de cultivo, de modo que as plantas não ficassem sem nenhum tipo de proteção contra a doença. Nos tratamentos com intervalos entre aplicações de ASM de 10 e 14 dias, foram realizadas um máximo de nove e sete aplicações, respectivamente, de modo que não fossem efetuadas aplicações após os 90 dias de cultivo. Nestes dois tratamentos, não houve necessidade de aplicações de HC.

Procedeu-se a inoculação das plantas logo após a realização das primeiras aplicações. Foram adotados dois métodos de inoculação: plantio de mudas doentes e pulverização de suspensão bacteriana, sendo os procedimentos realizados de acordo com o descrito no capítulo 1. Foram utilizados isolados de *X. perforans* raça T3 (EH2008-13 e EH2009-112) e *X. gardneri* raça T2 (EH2006-52), provenientes da coleção de trabalho de bactérias fitopatogênicas da Embrapa Hortaliças. Quando as condições ambientais foram desfavoráveis ao estabelecimento da doença (baixa umidade), o procedimento de inoculação foi repetido. Para a avaliação da mancha bacteriana, foi estimada a severidade por meio da avaliação de amostras de folíolos (24 folíolos) retiradas das plantas de cada parcela ou, no caso de avaliações realizadas em estágios mais avançados do ciclo de cultivo, foram atribuídas notas de severidade para cada parcela com base na escala desenvolvida por Quezado-Duval et al. (2011). Com base nos valores de severidade da doença obtidos nas diferentes avaliações ao longo do ciclo de cultivo, foi determinada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para cada parcela.

A colheita foi efetuada após 120 dias de cultivo, sendo determinada a produtividade ( $t\ ha^{-1}$ ), o percentual de maturação e o teor de sólidos solúveis nos frutos maduros. Para esta avaliação, foi determinado o valor de °Brix do suco de uma amostra de cinco frutos por parcela, sendo a leitura realizada em refratômetro (modelo PAL-1 pocket refractometer, Atago®).

Nos ensaios em que foram observadas diferenças entre os tratamentos quanto à produtividade, foi determinada a relação benefício/custo, que corresponde à razão entre receitas e despesas, o que permite estimar o retorno do investimento por unidade monetária investida, descontado o valor do dinheiro no tempo, a uma taxa de desconto predeterminada (Prest & Turvey 1965). A taxa de desconto ou de juros, utilizada nas análises como representação do valor do dinheiro ao longo do tempo, foi de 0,65% ao mês, referente à média da taxa de juros real da caderneta de poupança praticada nos últimos oito anos. A receita foi calculada com base na estimativa de ganho, tendo-se como referência o incremento de produtividade dos tratamentos em relação à testemunha. Para a análise, levou-se em consideração a média dos preços da tonelada de tomate, dos

defensivos (ASM e HC), e dos serviços praticados nos últimos oito anos, sendo o valor da relação benefício/custo calculado com base na equação:

$$B/C = \sum_{t=0}^n \frac{B}{C(1+r)^t}$$

em que B são as receitas; C, custos variáveis (aquisição dos produtos e serviço de aplicação); t, período de tempo; n, tempo-limite (120 dias); e r, a taxa de desconto adotada. Quando  $B/C > 1$ , o tratamento será economicamente viável.

### **Persistência da ação do acibenzolar-S-metil no controle da mancha bacteriana**

Com o objetivo de avaliar a duração do efeito de aplicações do ASM para o controle da mancha bacteriana e melhor entender os resultados dos experimentos de campo, foram realizados ensaios cujos tratamentos consistiram de diferentes intervalos entre a aplicação de ASM e a inoculação do patógeno, além da avaliação do efeito de aplicações isoladas e da reaplicação. Foram avaliados os intervalos de 9, 6, 3, 1 e 0 dias entre a última aplicação do ASM e a inoculação. Para cada um dos intervalos, foram realizadas uma ou duas aplicações de ASM para o controle da mancha bacteriana. Nos casos em que foram realizadas duas aplicações, o intervalo entre elas foi de sete dias. Foram realizados dois ensaios em casa de vegetação utilizando a mesma cultivar dos experimentos de campo (cv. Acangatã). Foi efetuada a semeadura em bandejas de poliestireno expandido de 128 células contendo substrato comercial a base de fibra de coco (Amafibra<sup>®</sup>). Após 15 dias do semeio, as plantas, apresentando duas folhas verdadeiras, foram transplantadas para vasos de 1 litro contendo solo autoclavado. A partir deste momento, deu-se início às pulverizações de ASM. A inoculação foi realizada por meio de aspersão da superfície das folhas com suspensão bacteriana (*X. perforans* T3 2008-13) utilizando um pulverizador manual portátil, com concentrações diferenciadas de  $5 \times 10^7$  e  $5 \times 10^8$  ufc ml<sup>-1</sup>, no primeiro e segundo ensaio, respectivamente. Este procedimento foi realizado 31 dias após o semeio, sendo as plantas mantidas em condição de câmara úmida, com nebulização por cinco minutos em intervalos de duas horas. Decorridos nove dias após a

inoculação, foi determinada a severidade da mancha bacteriana na terceira folha de baixo para cima, por meio da digitalização dos folíolos e análise das imagens utilizando o programa Asses 2.0 (Image Analysis Software for Disease Quantification, APS<sup>®</sup> 2008). A parcela experimental consistiu de três folhas compostas oriundas de três plantas diferentes. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com três repetições para cada tratamento. Os 12 tratamentos com aplicação de ASM foram comparados com a testemunha, que não recebeu aplicações do produto.

### **Validação do melhor tratamento em área comercial de produção**

Para confirmar a eficiência do melhor tratamento observado nos experimentos de campo, foi proposta a sua validação em um cultivo comercial de tomate rasteiro destinado ao processamento industrial. O estudo foi conduzido em um pivô de 62 ha localizado no município de Itaberaí-GO (W 049° 43' 571" e S 16 03' 97,1", altitude 749 m), entre os meses de março e julho de 2010. Neste pivô, em duas faixas de aproximadamente 600 m de comprimento, envolvendo nove linhas duplas ( $\approx$  16m de largura) da cultivar H9553 (= Heinz 9553, Eagle Comércio de Sementes Ltda.), foram efetuadas pulverizações do ASM, enquanto que no restante da área, foi adotado o procedimento padrão do produtor, com pulverização de HC. As aplicações tiveram início na segunda semana após o plantio. A concentração utilizada para ambos os produtos foi semelhante à descrita nos ensaios de campo. Entretanto, o volume de calda variou, sendo utilizados 200 l ha<sup>-1</sup> nas duas primeiras semanas, 300 l ha<sup>-1</sup> na semana seguinte e 500 l ha<sup>-1</sup> até o final das aplicações. Foram determinados 10 pontos para avaliação ao longo de cada uma das faixas com aplicação do ASM e 10 pontos nas faixas adjacentes a estas, onde foi empregado o tratamento padrão do produtor, totalizando 20 pontos de amostragem para cada um dos tratamentos, com distância mínima de 20 m entre pontos. Foi observada a ocorrência natural da doença na área e, por volta dos 50 dias do ciclo de cultivo, foram retiradas amostras de folíolos (30 folíolos) em cada um dos pontos determinados, para a avaliação da severidade da mancha bacteriana. Os folíolos coletados foram

digitalizados e as imagens analisadas no programa Asses 2.0 para determinação do percentual de área foliar lesionada. Com 120 dias de cultivo, procedeu-se a colheita e a avaliação da produtividade e de outras variáveis importantes para a indústria, como maturação, teor de sólidos solúveis, frutos desintegrados, etc.

### **Análises estatísticas**

Em todos os ensaios, depois de confirmadas a normalidade do erro e homogeneidade de variâncias, foi realizada análise de variância para avaliar o nível de significância do efeito dos tratamentos. Para comparação dos tratamentos com a testemunha não tratada, foram realizados contrastes utilizando-se o teste de Dunnett. Para a avaliação dos fatores com níveis quantitativos, realizou-se análise de regressão, considerando-se apenas os parâmetros das equações que foram significativos ( $F$ ,  $P \leq 0,05$ ). Todas as análises foram efetuadas utilizando o programa SAS 9.2 (SAS Institute, Cary, N.C., USA), por meio dos procedimentos UNIVARIATE e GLM.

## **RESULTADOS**

### **Experimentos de campo**

Dos cinco experimentos realizados, em três foi possível observar diferenças ( $F$ ,  $P \leq 0,01$ ) entre os tratamentos quanto à severidade e/ou produtividade. No experimento 1, em todos os intervalos avaliados de aplicação do ASM, foi observada redução significativa da severidade em relação à testemunha a partir de seis aplicações (Tabela 2). Resultados semelhantes foram obtidos nos experimentos 4 e 5. Apenas nos experimentos 1 e 4 foi diferenças dos tratamentos em relação à testemunha ( $F$ ,  $P \leq 0,01$ ). No experimento 5, há de se considerar a ocorrência de infecções por begomovírus, o afetou o desenvolvimento das plantas e, conseqüentemente, a produtividade.

Por meio da análise de variância, foi possível observar efeito ( $F$ ,  $P \leq 0,05$ ) dos fatores “intervalo entre aplicações” e “número de aplicações” sobre a

AACPD, nos experimentos 1, 4 e 5, e sobre a produtividade nos experimentos 1 e 4 (Tabela 3). Por meio de análise de regressão, foi possível observar nos três ensaios que, quanto maior o número de aplicações, maior a redução dos valores de AACPD (Figura 1). Os valores estimados de intervalo entre aplicações que resultariam no menor valor de AACPD para os experimentos 1, 4 e 5 seriam de 8,71, 9,51 e 8, respectivamente.

Quanto a produtividade, no experimento 1 houve efeito da interação entre os fatores avaliados ( $F, P=0,0019$ ). Quando avaliado o efeito do intervalo entre aplicações para cada um dos níveis do fator “número de aplicações”, houve efeito apenas quando realizadas 6 e 8 aplicações ( $F, P \leq 0,001$ ). Nestes casos, o valor estimado de intervalo entre aplicações para a obtenção da máxima produtividade foi de 7,83 e 8,51 dias, respectivamente (Figura 2). Quanto à análise do efeito do número de aplicações dentre os diferentes níveis do fator “intervalo entre aplicações”, o efeito foi observado apenas para o intervalo de 7 dias entre aplicações ( $F, P \leq 0,0001$ ), sendo estimado para o ponto de máxima produtividade de 6,96 aplicações (Figura 3).

A análise de regressão dos dados de produtividade observados no experimento 4 permitiu estimar uma combinação ideal, em que a realização de 7,1 aplicações em intervalos de 8,64 dias proporcionaria o máximo em produtividade (Figura 4), aproximando-se dos resultados observados no experimento 1. Não houveram diferenças ( $F, P \leq 0,05$ ) entre os tratamentos no que diz respeito à maturação e teor de sólidos solúveis em nenhum dos cinco experimentos realizados.

Pela análise da relação benefício/custo, tendo por base os resultados de produtividade do experimento 1, apenas para os tratamentos com seis e oito aplicações semanais de ASM, foi possível obter um incremento de produtividade em relação à testemunha, que fosse suficiente para cobrir os custos de aplicação (Tabela 4). Já no experimento 4, todos os tratamentos proporcionaram valores satisfatórios de relação benefício/custo, com destaque para os tratamentos citados anteriormente e para os tratamentos com oito e nove aplicações de ASM com intervalo de 10 dias entre elas.

## **Persistência da ação do acibenzolar-S-metil no controle da mancha bacteriana**

Foi observada diferença nos níveis de severidade da mancha bacteriana entre os dois ensaios realizados (Tabela 5), resultado da diferença na concentração do inóculo utilizada em ambos. Entretanto, observou-se semelhança entre eles quanto ao desempenho dos tratamentos avaliados. Com apenas uma aplicação de ASM, só foi possível observar redução significativa ( $F, P \leq 0,05$ ) da severidade em relação à testemunha quando a aplicação ocorreu com antecedência de dois dias em relação à inoculação. Com duas aplicações, observou-se menor severidade em relação à testemunha nos tratamentos com intervalos entre a aplicação e a inoculação variando de zero a seis dias. Em nenhum caso, a aplicação de ASM com nove dias de antecedência em relação à inoculação resultou em severidade diferente da testemunha. Além de prolongar o efeito do ASM por mais dias, a reaplicação do produto possibilitou a observação de percentuais de controle maiores do que quando se utilizou apenas uma aplicação, sendo este fato observado nos dois ensaios realizados.

## **Validação do melhor tratamento em área comercial de produção**

A aplicação de ASM por sete semanas proporcionou uma redução da severidade da mancha bacteriana em cultivo comercial de tomate rasteiro, quando comparado ao tratamento padrão utilizado pelo produtor, com a aplicação de HC (Tabela 6). Entretanto, esta redução na severidade da doença não foi acompanhada por um incremento em produtividade quando comparada ao tratamento padrão do produtor. Foram observadas discretas diferenças entre os tratamentos para outras variáveis, como o teor de sólidos solúveis ( $F, P = 0,07$ ) e o percentual de frutos desintegrados ( $F, P = 0,09$ ), onde o tratamento com ASM resultou em um aumento no valor de °Brix e em menor percentual de frutos desintegrados.

## DISCUSSÃO

Assim como observado em diferentes trabalhos descritos na literatura (Louws et al., 2001; Obradovic et al., 2004; Obradovic et al., 2005), a utilização de ASM proporcionou a redução da severidade da mancha bacteriana do tomateiro no campo. Entretanto, os diferentes regimes de aplicação influenciaram na eficiência deste produto no controle da doença. Foi possível observar que aplicações mais espaçadas, com intervalos entre aplicações superiores a 10 dias, tiveram sua eficiência reduzida em relação ao controle da doença. Este fato também foi recentemente observado por Huang et al. (2012) para tomate de mesa, quando utilizado um intervalo de 14 dias entre aplicações.

Com base nos ensaios em casa de vegetação, foi possível observar que os efeitos da aplicação de ASM na redução dos sintomas da mancha bacteriana não são percebidos a partir do nono dia após aplicação, independente do número de aplicações. Em trabalho realizado por Scarponi et al. (2001), observou-se que, apesar da molécula de ASM ser capaz de translocar rapidamente pelos tecidos de plantas de tomate, sua concentração decaiu para níveis negligíveis em 72 horas. De forma semelhante, Herman et al. (2007) observaram redução drástica da expressão do gene que codifica a proteína PR-1 ácida (um gene marcador para a ocorrência de SAR) após o terceiro dia da aplicação de ASM. Ainda assim, a proteção contra fitopatógenos pode perdurar por mais algum tempo em função da ativação de mecanismos de defesa da planta. Benhamou & Bélanger (1998), por meio de estudo histológicos, observaram a formação mais rápida de barreiras à infecção por *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* em plantas de tomate, mesmo com intervalo de quatro dias entre a aplicação de ASM e a inoculação. No trabalho desenvolvido por Thaler et al. (1999), foi possível observar o efeito da aplicação de ASM sobre genes relacionados à SAR até o quinto dia após a aplicação em tomate, mesmo que em níveis pouco superiores ao observado no tratamento controle. Mesmo assim, com base no presente estudo e em outros trabalhos (Cavalcanti et al., 2006a; Cavalcanti et al., 2006b; Huang et al., 2012), entende-se que o efeito do ASM em manter a indução de SAR não se estende por

mais de nove dias, havendo a necessidade de reaplicação, de forma a restabelecer o efeito indutor.

Além de manter o nível de indução de resistência, foi observado maior controle da mancha bacteriana quando da realização de duas aplicações de ASM. Estes resultados corroboram com os obtidos por Herman et al. (2007), em que foi observada maior expressão do gene *PR-1* quando da segunda aplicação de ASM, demonstrando haver um efeito cumulativo à medida que são realizadas as aplicações. Assim, o controle da doença será maior quanto maior for o número de aplicações. Entretanto, números elevados de aplicações podem levar a um gasto energético que pode comprometer a produtividade. Kuhn & Pascholati (2010) observaram relação entre o número de aplicações de ASM e a redução no desenvolvimento vegetativo de plantas de feijoeiro. O comprometimento da produtividade de diferentes culturas pela aplicação de ASM vem sendo atribuído por diversos autores ao custo energético decorrente da indução de resistência (Romero et al., 2001; Gent & Schwartz, 2005; Walters & Fountaine, 2009; Kuhn & Pascholati, 2010; Huang et al., 2012). Desta forma, deve existir um limite para que a aplicação de ASM não venha a comprometer o desenvolvimento e a produtividade das culturas. Com base nos resultados observados no presente estudo, pode-se determinar que o número de aplicações de ASM não seja superior a sete, o que é inferior ao limite de dez aplicações que é recomendado na bula do produto comercial.

O intervalo entre aplicações de ASM não deve ser muito longo, sendo que, nas condições em que os experimentos foram conduzidos, estima-se um valor ideal de aproximadamente oito dias entre aplicações. Adotado este intervalo, e sabendo que o número de aplicações não deve ser superior a sete, sob pena de comprometer a produtividade, entende-se que a utilização apenas de ASM não garantiria proteção durante todo o ciclo de cultivo de tomate rasteiro, que corresponde a aproximadamente 120 dias. Assim, existe a necessidade do manejo integrado, em que, associado a outras práticas de manejo da mancha bacteriana, seria adotada a aplicação de ASM em conjunto com outros produtos, como fungicidas cúpricos e novas moléculas com potencial para o controle da doença, como o cimoxamil e famoxadona (Roberts et al., 2008; Fayette et al., 2012). Desta

forma, semelhante ao observado neste ensaio, o nível de controle da doença conferido pela aplicação de ASM no início do ciclo seria mantido até o fim pela aplicação destes produtos.

De maneira geral, a simples utilização do ASM no programa de manejo da mancha bacteriana permitiria uma diminuição na aplicação de cúpricos, que é hoje a medida mais empregada no controle da doença em tomate para processamento. A diminuição de aplicações de produtos à base de cobre evitaria uma pressão de seleção que favoreça o surgimento de populações do patógeno com resistência a estes, bem como diminuiria os problemas que o acúmulo de cobre no solo pode causar ao meio ambiente (Loland & Singh, 2004; Bernard et al., 2009; Komárek et al., 2010).

Conforme resultados obtidos no presente trabalho e nos apresentados no capítulo 2, aplicações de ASM poderiam ser efetuadas no início do ciclo, quando geralmente se utilizam menores volumes de aplicação. Quando atingido o limite de aplicações deste produto, sua aplicação poderia ser substituída por aplicações de outros produtos, como os fungicidas cúpricos, acompanhado pelo aumento do volume de aplicação. Isto se justifica pelo fato de que o ASM possui eficiência superior ao cobre, quando utilizado menores volumes de aplicação (capítulo 2).

Dentro da proposta de aplicações semanais de ASM, com até oito aplicações, seguida por aplicações de HC, o tratamento se mostrou economicamente viável, sempre com valores de relação benefício/custo superior à 1, mesmo adotando-se um volume de aplicação consideravelmente alto para o cultivo de tomate para processamento ( $500 \text{ l ha}^{-1}$ ). Além da viabilidade econômica, sete aplicações semanais de ASM foram suficientes para reduzir a severidade da mancha bacteriana em condições comerciais de cultivo, o que demonstra a eficiência do tratamento nas condições do produtor. Em função da baixa severidade da doença, não foi possível observar um incremento de produtividade em relação ao tratamento padrão com aplicações de HC. Porém, não se observou efeito negativo do ASM no desenvolvimento das plantas com base na altura. Houve efeito no aumento do teor de sólidos solúveis ( $F, P \leq 0,07$ ), o que contribui para o rendimento industrial, e diminuição do percentual de frutos

desintegrados ( $F, P \leq 0,09$ ), aumentando, assim, a qualidade da matéria prima no caso de produtos mais refinados como tomate em cubos e tomates inteiros.

Os tratamentos com ASM foram eficientes tanto para *X. gardneri*, quanto para *X. perforans*, demonstrando a eficiência de amplo espectro que é esperada na indução de resistência (Louws et al., 2001; Huang et al., 2012). Sabendo que a predominância de uma espécie ou raça da bactéria associada com os sintomas da mancha bacteriana em tomate pode variar, em função do ambiente ou do hospedeiro (Stall et al., 2009; Araújo et al., 2011b), este tipo de característica é de grande importância no manejo da doença. Assim, aplicações semanais do ASM podem ser utilizado no manejo da mancha bacteriana em lavouras de tomate rasteiro destinado ao processamento industrial, proporcionando redução da severidade da doença e incremento de produção, com viabilidade econômica, desde que não se ultrapasse o limite de sete aplicações.

## REFERÊNCIAS

- Abbasi, P.A., Al-Dahmani, J., Sahin, F., Hoitink, H.A.J., Miller, S.A., 2002a. Effect of compost amendments on disease severity and yield of tomatoes in conventional and organic production systems. *Plant Dis.* 86, 156-161.
- Abbasi, P.A., Soltani, N., Cuppels, D.A., Lazarovits, G., 2002b. Reduction of bacterial spot disease severity on tomato and pepper plants with foliar applications of ammonium lignosulfonate and potassium phosphate. *Plant Dis.* 86, 1232-1236.
- Adaskaveg, J.E., Hine, R.B., 1985. Copper tolerance and zinc sensitivity of mexican strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causal agent of bacterial spot of pepper. *Plant Dis.* 69, 993-996.
- Araújo, E.R., Costa, J.R., Pontes, N.C., Mazutti, J., Ferreira, M.A.S.V., Quezado-Duval, A.M., 2011a. Prevalence of *Xanthomonas perforans* associated with bacterial spot in processing tomato crops in Brazil. *Tropical Plant Pathology* 36 (supplement), 1012-1012.
- Araújo, E.R., Pereira, R.C., Ferreira, M.A.S.V., Café-Filho, A.C., Moita, A.W., Quezado-Duval, A.M., 2011b. Effect of temperature on pathogenicity components of tomato bacterial spot and competition between *Xanthomonas perforans* and *X. gardneri*. *Acta Horticulturae* 914, 39-42.
- Astua-Monge, G., Minsavage, G.V., Stall, R.E., Vallejos, C.E., Davis, M.J., Jones, J.B., 2000. Xv4-vrxv4: A new gene-for-gene interaction identified between *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* race T3 and the wild tomato relative *Lycopersicon pennellii*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 13, 1346-1355.

- Benhamou, N., Belanger, R.R., 1998. Benzothiadiazole-mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato. *Plant Physiology* 118, 1203-1212.
- Bernard, L., Maron, P.A., Mougel, C., Nowak, V., Lévêque, J., Marol, C., Balesdent, J., Gibiat, F., Ranjard, L., 2009. Contamination of soil by copper affects the dynamics, diversity, and activity of soil bacterial communities involved in wheat decomposition and carbon storage. *Applied and Environmental Microbiology* 75, 7565-7569.
- Cavalcanti, F.R., Resende, M.L.V., Lima, J.P.M.S., Silveira, J.A.G., Oliveira, J.T.A., 2006a. Activities of antioxidant enzymes and photosynthetic responses in tomato pre-treated by plant activators and inoculated by *Xanthomonas vesicatoria*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 68, 198-208.
- Cavalcanti, F.R., Resende, M.L.V., Zacaroni, A.B., Ribeiro Júnior, P.M., Costa, J.d.C.B., Souza, R.M.d., 2006b. Acibenzolar-S-Metil e Ecolife® na indução de respostas de defesa do tomateiro contra a mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*). *Fitopatologia Brasileira* 31, 372-380.
- Coqueiro, D.S.O., Maraschin, M., Di Piero, R.M., 2011. Chitosan reduces bacterial spot severity and acts in phenylpropanoid metabolism in tomato plants. *J. Phytopathol.* 159, 488-494.
- Fayette, J., Roberts, P.D., Pernezny, K.L., Jones, J.B., 2012. The role of cymoxanil and famoxadone in the management of bacterial spot on tomato and pepper and bacterial leaf spot on lettuce. *Crop Protection* 31, 107-112.
- Fontenelle, A.D.B., Guzzo, S.D., Lucon, C.M.M., Harakava, R., 2011. Growth promotion and induction of resistance in tomato plant against *Xanthomonas euvesicatoria* and *Alternaria solani* by *Trichoderma* spp. *Crop Protection* 30, 1492-1500.
- Gent, D.H., Schwartz, H.F., 2005. Management of *Xanthomonas* leaf blight of onion with a plant activator, biological control agents, and copper bactericides. *Plant Dis.* 89, 631-639.
- Gilardi, G., Gullino, M.L., Garibaldi, A., 2010. Evaluation of spray programmes for the management of leaf spot incited by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* on tomato cv. Cuore di bue. *Crop Protection* 29, 330-335.
- Herman, M.A.B., Restrepo, S., Smart, C.D., 2007. Defense gene expression patterns of three SAR-induced tomato cultivars in the field. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 71, 192-200.
- Huang, C.-H., Vallad, G.E., Zhang, S., Wen, A., Balogh, B., Figueiredo, J.F.L., Behlau, F., Jones, J.B., Momol, M.T., Olson, S.M., 2012. Effect of application frequency and reduced rates of Acibenzolar-S-Methyl on the field efficacy of induced resistance against bacterial spot on tomato. *Plant Dis.* 96, 221-227.
- Jones, J.B., Lacy, G.H., Bouzar, H., Stall, R.E., Schaad, N.W., 2004. Reclassification of the *Xanthomonads* associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Systematic and Applied Microbiology* 27, 755-762.

- Jones, J.B., Pohronezny, R.E., Stall, R.E., Jones, J.P., 1986. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in Florida on tomato crop residue, weeds, seeds, and volunteer tomato plants. *Phytopathology* 76, 430-434.
- Komárek, M., Čadková, E., Chrástný, V., Bordas, F., Bollinger, J.-C., 2010. Contamination of vineyard soils with fungicides: a review of environmental and toxicological aspects. *Environment International* 36, 138-151.
- Kuhn, O.J., Pascholati, S.F., 2010. Custo adaptativo da indução de resistência em feijoeiro mediada pela rizobactéria *Bacillus cereus* ou acibenzolar-S-metil: atividade de enzimas, síntese de fenóis e lignina e biomassa. *Summa Phytopathologica* 36, 107-114.
- Loland, J.Ø., Singh, B.R., 2004. Copper contamination of soil and vegetation in coffee orchards after long-term use of Cu fungicides. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 69, 203-211.
- Louws, F.J., Wilson, M., Campbell, H.L., Cuppels, D.A., Jones, J.B., Shoemaker, P.B., Sahin, F., Miller, S.A., 2001. Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator. *Plant Dis.* 85, 481-488.
- Lucas, G.C., Alves, E., Pereira, R.B., Zacaroni, A.B., Perina, F.J., de Souza, R.M., 2012. Indian clove essential oil in the control of tomato bacterial spot. *J. Plant Pathol.* 94, 45-51.
- Matheron, M.E., Porchas, M., 2002. Suppression of *Phytophthora* root and crown rot on pepper plants treated with Acibenzolar-S-Methyl. *Plant Disease* 86, 292-297.
- Melo, P.C.T., Fonte, L.C., 2011. Brazil processing tomato season 2010: results and future perspectives. *Tomato News* 3, 15-19.
- Melo, P.C.T., Vilela, N.J., Fonte, L.C., 2011. Agroprocessamento de tomate no Brasil: realidade atual e perspectivas. *Horticultura Brasileira* 29 (supplement), S5992-S6006.
- Mirik, M., Aysan, Y., Cinar, O., 2007. Copper-resistance strains of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye in the eastern Mediterranean region of Turkey. *J. Plant Pathol.* 89, 153-154.
- Obradovic, A., Jones, J.B., Momol, M.T., Balogh, B., Olson, S.M., 2004. Management of tomato bacterial spot in the field by foliar applications of bacteriophages and SAR inducers. *Plant Dis.* 88, 736-740.
- Obradovic, A., Jones, J.B., Momol, M.T., Olson, S.M., Jackson, L.E., Balogh, B., Guven, K., Iriarte, F.B., 2005. Integration of biological control agents and systemic acquired resistance inducers against bacterial spot on tomato. *Plant Dis.* 89, 712-716.
- Prest, A.R., Turvey, R., 1965. Cost-Benefit Analysis: a survey. *The Economic Journal* 75, 683-735.
- Quezado-Duval, A.M., Leite Jr, R.P., Lima, M.F., Camargo, L.E.A., 2005. Diversity of *Xanthomonas* spp. associated with bacterial spot of processing tomatoes in Brazil. *Acta Horticulturae* 695, 101-108.

- Quezado-Duval, A.M., Leite, R.P., Truffi, D., Camargo, L.E.A., 2004. Outbreaks of bacterial spot caused by *Xanthomonas gardneri* on processing tomato in Central-West Brazil. *Plant Disease* 88, 157-161.
- Quezado-Duval, A.M., Lopes, C.A., 2010. Mancha bacteriana: uma atualização para o sistema de produção integrada de tomate indústria. Embrapa Hortaliças (Circular Técnica 84), Brasília.
- Quezado-Duval, A.M., Pontes, N.C., Nascimento, A.R., Moita, A.W., 2011. Metodologia de avaliação da severidade da mancha bacteriana em tomateiro para processamento industrial. Embrapa Hortaliças (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 73), Brasília.
- Roberts, P.D., Momol, M.T., Ritchie, L., Olson, S.M., Jones, J.B., Balogh, B., 2008. Evaluation of spray programs containing famoxadone plus cymoxanil, acibenzolar-S-methyl, and *Bacillus subtilis* compared to copper sprays for management of bacterial spot on tomato. *Crop Protection* 27, 1519-1526.
- Romero, A.M., Kousik, C.S., Ritchie, D.F., 2001. Resistance to bacterial spot in bell pepper induced by Acibenzolar-S-Methyl. *Plant Disease* 85, 189-194.
- Scarponi, L., Buonauro, R., Martinetti, L., 2001. Persistence and translocation of a benzothiadiazole derivative in tomato plants in relation to systemic acquired resistance against *Pseudomonas syringae* pv *tomato*. *Pest Management Science* 57, 262-268.
- Scott, J.W., Jones, J.B., 1989. Inheritance of resistance to foliar bacterial spot of tomato incited by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 114, 111-114.
- Scott, J.W., Jones, J.B., Somodi, G.C., Stall, R.E., 1995. Screening Tomato Accessions for Resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, Race T3. *HortScience* 30, 579-581.
- Stall, R.E., Jones, J.B., Minsavage, G.V., 2009. Durability of Resistance in Tomato and Pepper to Xanthomonads Causing Bacterial Spot. *Annu. Rev. Phytopathol.* 47, 265-284.
- Thaler, J.S., Fidantsef, A.L., Duffey, S.S., Bostock, R.M., 1999. Trade-Offs in Plant Defense Against Pathogens and Herbivores: A field demonstration of chemical elicitors of induced resistance. *Journal of Chemical Ecology* 25, 1597-1609.
- Vilas-Bôas, G.L., Melo, P.E., Castelo-Branco, M., Giordano, L.B., Melo, F.F., 2007. Desenvolvimento de um modelo de produção integrada de tomate indústria - PITI. In: Zambolim, L., Lopes, C.A., Picanço, M.C., Costa, H. (Eds.), Manejo integrado de doenças e pragas - Hortaliças. UFV/CNPH, Viçosa, pp. 349-362.
- Walters, D.R., Fountaine, J.M., 2009. Practical application of induced resistance to plant diseases: an appraisal of effectiveness under field conditions. *Journal of Agricultural Science* 147, 523-535.

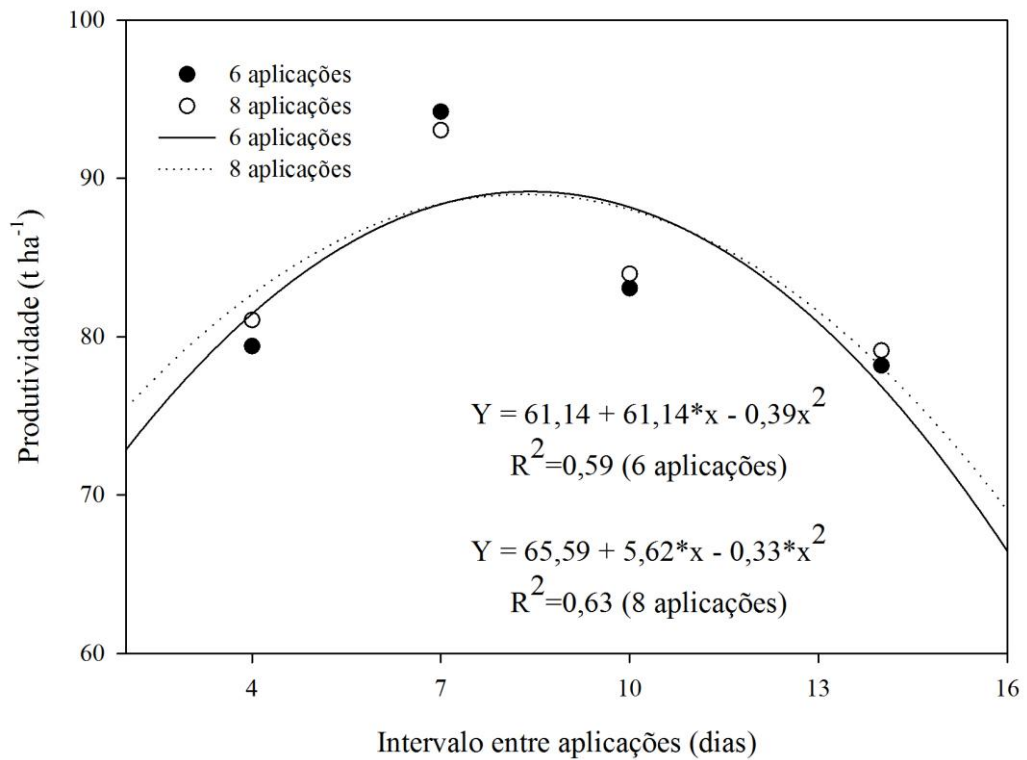


Figura 1. Relação entre a produtividade e o intervalo entre aplicações, nos tratamentos com seis e oito aplicações de acibenzolar-S-metil, observada no experimento 1 (Brasília, Março 2010). \*Todos os parâmetros das equações foram significativos (F,  $P \leq 0,05$ ).

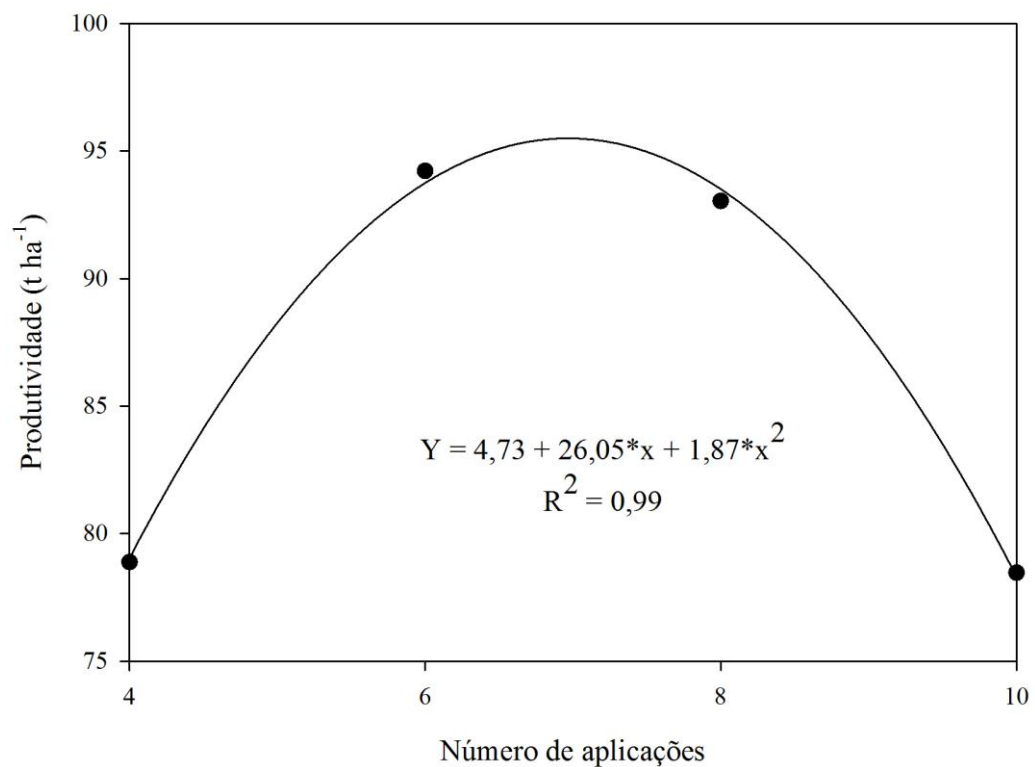


Figura 2. Relação entre a produtividade e número de aplicações, nos tratamentos com aplicações semanais de acibenzolar-S-metil, observada no experimento 1 (Brasília, Março 2010). \*Todos os parâmetros das equações foram significativos (F,  $P \leq 0,05$ ).

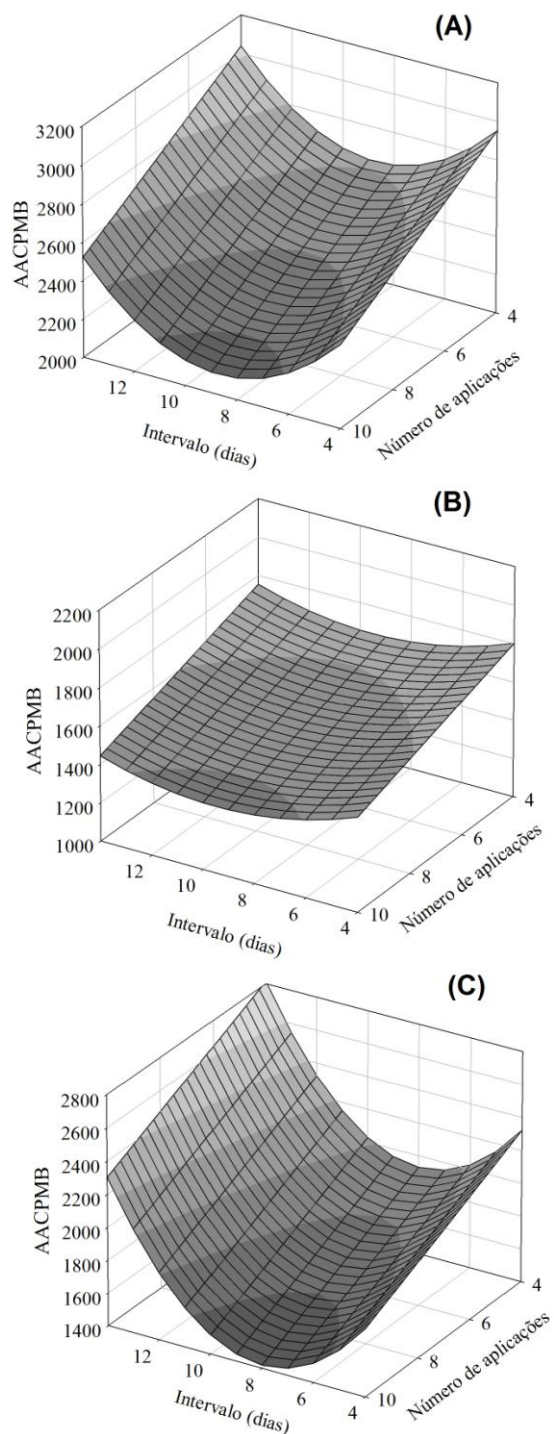


Figura 3. Área abaixo da curva de progresso da mancha bacteriana (AACPMB) observada nos experimentos 1 (A), 4 (B) e 5 (C) em função da aplicação de acibenzolar-S-metil (ASM) em diferentes números (N) e intervalos (I) de aplicações. Equações:  $Y = 4095,24 - 259,04*I - 86,15*N + 14,87*I^2$  ( $r^2=0,80$ ; Experimento 1);  $Y = 2301,37 - 92,45*I - 51,61*N + 4,865625*I^2$  ( $r^2=0,59$ ; Experimento 4);  $Y = 3845,74 - 393,80*I - 85,18*N + 24,60*I^2$  ( $r^2=0,86$ ; Experimento 5). \*Todos os parâmetros das equações foram significativos (F,  $P \leq 0,05$ ).

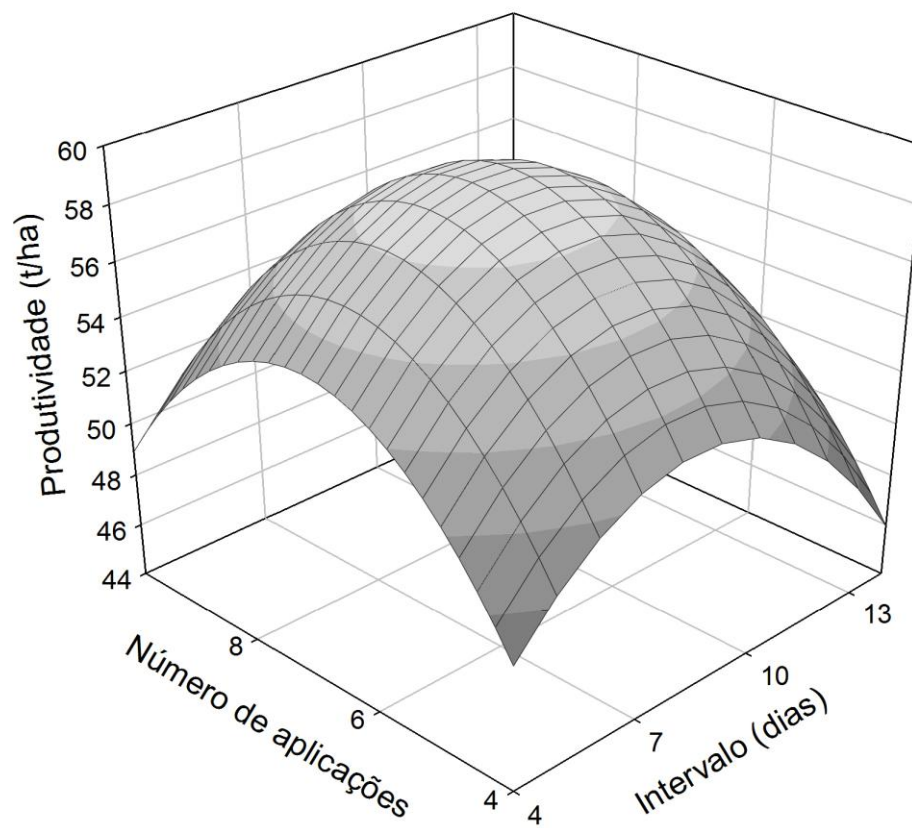


Figura 4. Produtividade de tomate em função da aplicação do acibenzolar-S-metil em diferentes números (N) e intervalos (I) de aplicações observada no experimento 4 (Brasília, Fevereiro 2011). Equação:  $Y = 9,12 + 3,63 \cdot I - 0,21 \cdot I^2 + 9,95 \cdot N - 0,70 \cdot N^2$  ( $r^2=0,81$ ). \*Todos os parâmetros da equação foram significativos (F,  $P \leq 0,05$ ).

Tabela 1. Resumo dos procedimentos executados nos experimentos realizados entre os anos de 2010 e 2011, em Brasília-DF e Morrinhos-GO.

Experimentos	Local	Plantio	Primeira Inoculação	Segunda Inoculação	Isolado	Colheita
1- Verão/ Outono 2010	Brasília-DF	15 Mar	1Abr - mudas infectadas	14 abr - Pulverização $10^7$ ufc ml <sup>-1</sup>	<i>X. perforans</i> T3 2009-112	12 Jul
2- Verão/ Outono 2010	Morrinhos-GO	18 Mar	31 Mar - mudas infectadas	23 abr - Pulverização $10^7$ ufc ml <sup>-1</sup>	<i>X. perforans</i> T3 2009-112	16 Jul
3- Inverno/ Primavera 2010	Morrinhos-GO	11 Jun	17 Jun - mudas infectadas	28 jul - Pulverização $10^7$ ufc ml <sup>-1</sup>	<i>X. gardneri</i> T2 2006-52	5 Out
4- Verão/ Outono 2011	Brasília-DF	3 Mar	17 Mar - mudas infectadas	-	<i>X. perforans</i> T3 2008-13	4Jul
5- Inverno/ Primavera 2011	Brasília-DF	17 Jun	15 Jul - Pulverização $10^7$ ufc ml <sup>-1</sup>	-	<i>X. gardneri</i> T2 2006-52	30 Set

Tabela 2. Efeito das combinações de intervalo (Inter) e número (Num) de aplicações do acibenzolar-S-metil sobre a área abaixo da curva do progresso da mancha bacteriana (AAPMB) e produtividade (PROD, t ha<sup>-1</sup>) de tomate.

Tratamentos		Experimento 1		Experimento 2		Experimento 3		Experimento 4		Experimento 5	
Inter	Num	AACPMB	PROD	AACPMB	PROD	AACPMB	PROD	AACPMB	PROD	AACPMB	PROD
4	4	2887,21*	82,46	1765,67	101,66	3060,49	66,11	2071,11	48,14	2113,33*	35,62
4	6	2804,36*	79,40	1404,17	96,94	2623,82	56,74	1709,75*	52,68	2113,33*	27,36
4	8	2614,40*	81,05	1655,00	91,38	2765,61	50,00	1457,27*	54,21*	2076,67*	30,32
4	10	2460,30*	77,11	1650,25	81,71	2553,30	58,80	1528,19*	50,53	2021,67*	39,36
7	4	3029,30	78,88	1745,00	111,62	2791,53	57,54	1501,25*	51,16	2058,33*	32,42
7	6	2342,30**	94,22**	1465,50	87,75	2475,68	55,99	1489,31*	62,32*	1848,33*	25,48
7	8	2152,00**	93,04**	1547,00	88,20	2725,80	57,82	1347,08**	60,02*	1575,00*	36,96
7	10	2133,51**	78,46	1753,00	117,23	2720,43	47,84	1290,56**	50,65	1160,00**	35,44
10	4	2473,33*	77,46	1632,50	105,26	2776,32	49,81	1663,47*	51,63	1940,00*	37,82
10	6	2463,67*	78,06	1904,08	110,17	2870,67	59,33	1698,61*	56,35*	2213,33	34,41
10	8	2358,22**	78,96	1695,50	102,77	2880,28	55,01	1558,33*	58,28*	1490,83**	36,97
10	9	2322,59**	79,05	1745,50	104,08	2566,72	55,29	1574,44*	55,71*	1661,67*	35,51
14	4	3045,14	84,88	2019,83	98,77	2793,07	60,10	1668,06*	48,82	2783,33	33,95
14	6	2745,70*	78,18	1879,50	90,05	2724,64	61,72	1613,19*	49,67	2694,17	33,96
14	7	2900,60*	79,13	2341,58	102,26	2536,54	54,50	1611,53*	52,22	2505,00	32,70
Hidróxido cobre		3045,98	79,38	1813,83	86,08	2682,38	49,70	2042,22*	2042,22	2145,00	33,48
Testemunha		3486,64	80,34	1697,50	90,13	2724,42	58,53	2654,58	2654,58	2743,33	35,37
Pr> F		<0,01	<0,01	0,14	0,88	0,26	0,30	<0,01	0,01	<0,01	0,63
Coef. Var. (%)		8,69	5,16	17,29	19,0	8,12	13,38	14,54	10,98	12,12	19,94

\*Diferem da testemunha pelo teste de Dunnett ( $P \leq 0,05$ ). \*\*Diferem da testemunha e do tratamento com hidróxido de cobre pelo teste de Dunnett ( $P \leq 0,05$ ).

Tabela 3. Análise de variância para a avaliação da significância do efeito dos fatores “intervalo de aplicação (Inter)” e “número de aplicações (Num)” sobre as variáveis: área abaixo da curva de progresso da mancha bacteriana (AAPMB) e produtividade (PROD, t ha<sup>-1</sup>) de tomate.

Fonte de Variação	GL <sup>1</sup>	Experimento 1		Experimento 4		Experimento 5
		AACPMB	PROD	AACPMB	PROD	AACPMB
Inter	3	<0,01	<0,01	0,01	0,02	<0,01
Num	3	<0,01	0,05	0,05	0,01	<0,01
Inter*Num	8	0,07	<0,01	0,45	0,68	0,09
Bloco	2	<0,01	0,30	0,10	<0,01	0,08
CV (%) <sup>2</sup>		7,94	5,33	13,51	9,82	12,16

<sup>1</sup>Número de graus de liberdade. <sup>2</sup>Coeficiente de variação.

Tabela 4. Análise da relação benefício/custo (B/C) observada para os tratamentos com diferentes números (Num) e intervalos (Inter) entre aplicações de acibenzolar-S-metil (ASM), e do tratamento com aplicação de hidróxido de cobre, tendo por base as produtividades obtidas nos experimentos 1 e 4.

Aplicações de ASM		Experimento 1		Experimento 4	
Inter	Num	Incremento (t/ha) <sup>2</sup>	Relação B/C	Incremento (t/ha)	Relação B/C
4	4 (10) <sup>1</sup>	2,12	0,36	8,34	1,43
4	6 (9)	-0,94	-0,15	12,88	2,04
4	8 (8)	0,71	0,10	14,41	2,12
4	10 (7)	-3,23	-0,44	10,73	1,48
7	4 (9)	-1,46	-0,27	11,36	2,09
7	6 (7)	13,88	2,52	22,52	4,09
7	8 (5)	12,7	2,28	20,22	3,63
7	10 (3)	-1,88	-0,33	10,85	1,93
10	4 (8)	-2,88	-0,57	11,83	2,35
10	6 (5)	-2,28	-0,49	16,55	3,53
10	8 (2)	-1,38	-0,32	18,48	4,26
10	9 (0)	-1,29	-0,33	15,91	4,01
14	4 (6)	4,54	1,08	9,02	2,14
14	6 (2)	-2,16	-0,62	9,87	2,85
14	7 (0)	-1,21	-0,39	12,42	4,03
Hidróxido de cobre (13)		-0,94	-0,18	9,76	1,84

<sup>1</sup>Valores entre parênteses correspondem ao número de aplicações de hidróxido de cobre. <sup>2</sup>Incremento de produtividade em relação à testemunha não tratada. Os preços de ASM (R\$ 1,17 g<sup>-1</sup>), HDC (R\$ 0,016 g<sup>-1</sup>), tomate (R\$ 146,20 t<sup>-1</sup>) e serviço de aplicação (R\$ 33,33 ha<sup>-1</sup>) foram determinados com base na média dos preços praticados nos últimos oito anos.

Tabela 5. Efeito temporal do acibenzolar-S-metil com uma e duas aplicações na severidade (%) da mancha bacteriana do tomateiro.

Intervalo	Experimento 1		Experimento 2	
	1 aplicação	2 aplicações	1 aplicação	2 aplicações
0 dia	8,87	3,45*	47,93	12,44**
1 dia	4,00	3,38*	36,00	10,03**
2 dias	3,33*	3,31*	28,73*	8,76**
3 dias	5,86	2,10**	45,56	6,90**
6 dias	5,93	3,07**	45,53	12,88**
9 dias	6,78	4,36	44,08	40,12
Testemunha	6,63		44,94	
CV (%) <sup>1</sup>	8,25		9,48	

Dados analisados com base nos valores transformados para  $\sqrt{\frac{x}{2} + 1}$ . Médias seguidas por \* e \*\* diferem da testemunha pelo teste de Dunnett aos níveis de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente. <sup>1</sup>Coefficiente de variação.

Tabela 6. Comparação entre a aplicação do acibenzolar-S-metil (ASM) em relação ao tratamento padrão realizado em cultivo comercial de tomate para processamento para a severidade da mancha bacteriana e alguns componentes de produção.

Tratamentos	Severidade (%)	Produtividade (t ha <sup>-1</sup> )	°Brix	Tonelada de polpa/ha <sup>4</sup>	Altura (cm)	Frutos desintegrados (%)	Maturação (%)
ASM <sup>1</sup>	19,71	95,54	4,16	12,56	1,44	0,36	88,42
Padrão <sup>2</sup>	24,23	96,37	3,92	11,76	1,44	1,12	86,68
Pr > F	0,04	0,83	0,07	0,68	0,63	0,09	0,51
CV <sup>3</sup> (%)	25,05	12,91	7,37	12,23	9,05	17,54	37,98

<sup>1</sup>Foram realizadas sete aplicações semanais, seguida por aplicações semanais de hidróxido de cobre. <sup>2</sup>Aplicações semanais de hidróxido de cobre. <sup>3</sup>Coeficiente de variação. <sup>4</sup>Rendimento industrial determinado pela fórmula:  $REND = \text{Produtividade} \times \text{°Brix} \times \text{Maturação} / 28$  (°Brix da polpa processada).

## CONCLUSÕES GERAIS

Trabalhos de campo onde se deseje estudar a mancha bacteriana em cultivo de tomate para processamento industrial podem utilizar o plantio de mudas infectadas entre as parcelas ou a pulverização direta de suspensão bacteriana como métodos de inoculação. Entretanto, o método de pulverização de suspensão de inóculo proporcionou uma distribuição mais uniforme da doença.

Para a avaliação da severidade da mancha bacteriana ao longo do ciclo de cultivo, é recomendada a utilização de diferentes metodologias, sendo cada uma delas empregada em sincronia com o estágio de desenvolvimento da cultura, a qual apresenta arquitetura de plantas heterogênea durante o ciclo. No presente estudo, a adoção de diferentes metodologias de avaliação permitiu o acompanhamento da doença ao longo de todo o ciclo da cultura, mesmo com as plantas apresentando modificações em sua arquitetura e no volume de área foliar.

O acibenzolar-S-metil proporcionou um controle adequado da mancha bacteriana em cultivo rasteiro de tomate. Por ser um produto com ação sistêmica, é eficiente mesmo em uma cultura com densa massa foliar, que dificulta a penetração de produtos com ação de contato. Inclusive, foi observado sua eficiência, mesmo quando aplicado com baixo volume de calda.

Outros fatores como intervalo e número de aplicações tem influência na eficiência do produto. De acordo com os resultados obtidos, o intervalo entre aplicações não deve ultrapassar a casa dos oito dias. O número de aplicações também não deve ser exagerado, não devendo exceder sete aplicações, sob o risco de comprometimento da produtividade.