



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO
TOCANTINS
CAMPUS PALMAS
CURSO DE BACHARELADO EM ENGENHARIA AGRONÔMICA**

SAMARA LAÍS SOUSA PINHO

IDENTIFICAÇÃO DE BIOVARES DE *Rasltonia solanacearum*

**PALMAS – TO
2025**

SAMARA LAÍS SOUSA PINHO

IDENTIFICAÇÃO DE BIOVARES DE *Rasltonia solanacearum*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Bacharelado em
Engenharia Agrônômica da Unidade Palmas, do
Instituto Federal do Tocantins, como exigência à
obtenção do título de bacharela em Engenharia
Agrônômica.

Orientador: Dr. Artur Ferreira Lima Neto

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Bibliotecas do Instituto Federal do Tocantins

P654i Pinho, Samara Laís Sousa
 Identificação de Biovares de *Ralstonia Solanacearum* / Samara Laís
Sousa Pinho. – Palmas, TO, 2025.
 30 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) –
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins, Campus
Palmas, Palmas, TO, 2025.

Orientador: Artur Ferreira Lima Neto

1. Murcha bacteriana. 2. Diagnóstico molecular. 3. Solanáceas. I. Neto,
Artur Ferreira Lima. II. Título.

CDD 630

A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio, deste documento é autorizada para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica do IFTO com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO TOCANTINS
CAMPUS PALMAS - TO
COORDENAÇÃO DO CURSO SUPERIOR BACHARELADO EM ENGENHARIA AGRÔNOMICA

SAMARA LAÍS SOUSA PINHO

IDENTIFICAÇÃO DE BIOVARES DE RALSTONIA SOLANACEARUM

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso Superior Bacharelado em Engenharia Agrônômica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins - *Campus* Palmas - TO, como exigência à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Agrônômica.

Aprovado em: 07 de agosto de 2025

BANCA AVALIADORA

Prof. Dr. Artur Ferreira Lima Neto
IFTO - Campus Palmas - TO.

Profa. Dra. Cheila Cristina Naves Barbiero
IFTO - Campus Palmas - TO.

Profa. Dra. Vanessa David Domingos Valença
IFTO - Campus Palmas - TO.

Palmas - TO, 07 de agosto de 2025.



Documento assinado eletronicamente por **Vanessa David Domingos Valença, Servidor**, em 07/08/2025, às 18:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cheila Cristina Naves Barbiero, Coordenador**, em 08/08/2025, às 13:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Artur Ferreira Lima Neto, Servidor**, em 13/08/2025, às 16:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.iftto.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2857477** e o código CRC **625F87DA**.



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO TOCANTINS

Campus Palmas 310 Sul, Av. LO 5, s/n, esquina com a Avenida NS 10 - Plano Diretor Sul — CEP 77021-090 Palmas/TO - portal.iftto.edu.br — reitoria@iftto.edu.br

Referência: Processo nº 23236.015933/2025-08

SEI nº 2857477

À minha família: meu esposo Lucas Oliveira Martins, aos meus pais Lidimar e Lucicleide e ao meu filho Leonardo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar meus passos todos os dias, me concedendo força, sabedoria e perseverança para que eu pudesse chegar até aqui.

Aos meu pais, Lidimar e Lucicleide, que sempre me apoiaram com seu amor incondicional, pelos ensinamentos e por nunca mediram esforços para estarem ao meu lado em todos os momentos, tanto na vida quanto na minha trajetória acadêmica.

Ao meu esposo, Lucas Oliveira Martins, que sempre se fez presente em cada passo desta jornada, me dando força, amor e sendo meu porto seguro.

Ao meu filho, Leonardo, que com sua chegada me fez ser mais forte do que eu jamais poderia imaginar.

Aos meus irmãos, Emilio e Vinicius, às minhas cunhadas, Cheila e Camila, e ao meu sobrinho Vicente, que com seu amor e incentivo foram essenciais para tornarem meus dias mais leves.

Aos meus amigos Ester Polli, Jhomas Henrique, Jucelia Denise, Vitor Mendes, Karolynne Bevane, Ana Clara Dionísio, Claison Nobrega e Valdecir Guedes, pelo companheirismo, pelas trocas de experiências e por tornarem essa caminhada mais significativa.

Ao meu orientador, Professor Dr. Artur Ferreira Lima Neto, pelos valiosos ensinamentos transmitidos ao longo da elaboração deste trabalho.

Aos demais professores do Instituto Federal do Tocantins, Campus Palmas, pelo conhecimento compartilhado e pelo suporte ao longo da minha formação.

“É justo que muito custe o que muito vale”.

Santa Teresa D’Ávila

RESUMO

A murcha bacteriana, causada pela bactéria *Ralstonia solanacearum*, é uma doença de grande relevância agrícola que afeta diversas solanáceas, como o tomateiro, principalmente em regiões de clima tropical e subtropical. Devido à sua alta capacidade de sobrevivência no solo, ampla gama de hospedeiros e dificuldade de controle, essa bactéria tem provocado expressivos prejuízos econômicos no Brasil. O presente trabalho teve como objetivo identificar os biovars de *Ralstonia solanacearum* coletadas no município de Palmas - TO, além de amostras provenientes do Distrito Federal e do estado de Pernambuco. Para isso, foram realizados testes bioquímicos com diferentes álcoois e dissacarídeos, conforme metodologia descrita por Hayward (1994). Foi possível identificar cinco isolados pertencentes ao biovar III, considerado o mais agressivo e prevalente nas regiões Norte e Nordeste do país. Os resultados reforçam a necessidade de monitoramento fitossanitário e de estratégias integradas de manejo para a redução dos impactos causados pela doença. Este estudo contribui para o entendimento da diversidade local da bactéria e oferece suporte para futuras ações de controle.

Palavras-chave: Biovars; Fitopatologia; Murcha bacteriana; Solanáceas; *Ralstonia solanacearum*.

ABSTRACT

Bacterial wilt, caused by the bacterium *Ralstonia solanacearum*, is a highly significant agricultural disease that affects various solanaceous crops, such as tomatoes, mainly in tropical and subtropical regions. Due to its high survival capacity in soil, broad host range, and control challenges, this bacterium has caused substantial economic losses in Brazil. This study aimed to identify the biovars of *Ralstonia solanacearum* present in isolates collected in Palmas - TO, as well as in samples from the Federal District and the state of Pernambuco. Biochemical tests with different alcohols and disaccharides were performed, following the methodology described by Hayward. Despite the loss of some samples during the experimental process, it was possible to identify four isolates belonging to biovar III, which is considered the most aggressive and prevalent in the Northern and Northeastern regions of the country. The results emphasize the need for phytosanitary monitoring and integrated management strategies to reduce the impacts caused by the disease. This study contributes to the understanding of the local diversity of the bacterium and provides support for future control actions.

Keywords: Biovars; Phytopathology; Bacterial wilt; Solanaceae; *Ralstonia solanacearum*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Tabela 1 — Utilização de açúcares e álcoois na diferenciação de biovares de <i>Ralstonia solanacearum</i>	17
Tabela 2 — Hospedeiras, biovares e locais de ocorrência de <i>Ralstonia solanacearum</i> de acordo com as raças	18
Quadro 1 — Informações sobre isolados enviados de Pernambuco – PE	20
Quadro 2 — Informações sobre isolados enviado de Brasília -DF	21
Quadro 3 — Meio de cultura CPG (ou meio Kelman sem tetrazólio)	21

LISTA FIGURAS

Figura 1 — Distribuição do complexo de espécies de <i>Ralstonia solanacearum</i> em todo o mundo.....	15
Figura 2 — Teste do copo, evidenciando a exsudação de pus bacteriano no caule de tomateiro infectado pela murcha bacteriana.....	16
Figura 3 — Realização de repicagem de bactérias em placas Petri	22
Figura 4 — Preparação do meio básico para serem separados em tubos. A: separação e pesagem de álcoois e açúcares; B: meio básico separado de acordo com açúcares e álcoois para serem depositados em tubos	22
Figura 5 — Isolamentos de bactérias em tubos. A: bactéria adicionada em tubo após pipetagem; B: tubos com bactérias distintas para serem observadas por meio de mudança de coloração	23
Figura 6 — Testes com resultados inconclusivos. A: meios em tubos apresentam colorações distintas aos resultados esperados em tabela de determinação de biovars; B: tubos com resultados indeterminados.....	24
Figura 7 — Tubos com Resultados de biovars de <i>Ralstonia solanacearum</i> . A: isolado CCRMRs 59 com reação positiva para biovar III; B: isolado R3 com reação positiva para biovar III; C: isolado CCRMRs 206 com resultado compatível com biovar III; D: isolado CCRMRs 70 também identificado como biovar III; E: isolado B5-17 constou reação positiva para biovar III	25

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
1.1	Objetivos.....	13
1.1.1	Objetivo geral	13
1.1.2	Objetivos específicos	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	Murcha bacteriana.....	14
2.2	<i>Ralstonia Solanacearum</i>.....	16
2.3	Controle	18
3	METODOLOGIA.....	20
3.1	Local da experimentação.....	20
3.2	Isolados e suas origens.....	20
3.3	Determinação de Biovares.....	22
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	27
	REFERÊNCIAS.....	28

1 INTRODUÇÃO

Ralstonia solanacearum é uma bactéria causadora da murcha-bacteriana em centenas de espécies hospedeiras (HAYWARD, 1991). Sendo uma das principais doenças de plantas solanáceas de climas tropicais e subtropicais. Devido a sua letalidade devastadora, atualmente a *Ralstonia solanacearum* é uma das bactérias fitopatogênicas mais estudadas, visando promover métodos eficazes para seu controle.

A penetração da *Ralstonia solanacearum* acontece através de ferimentos nas raízes das plantas hospedeiras. As bactérias começaram a utilizar os vasos condutores do xilema como forma de alojamento, o acúmulo das células causa a interrupção parcial ou total do fluxo de água. Os primeiros sintomas são as folhas mais novas enfraqueçam, principalmente em horários de temperaturas mais elevadas. Com a multiplicação, toda a planta murcha de forma irreversível (LOPES, 2009).

É estimado que a murcha bacteriana afete 1,5 milhões de hectares em aproximadamente 80 países, causando grande perdas (APHIS-PPQ, 2006). As espécies de importância econômica mais afetadas são, principalmente, batata, tomate, pimentão, berinjela e o fumo e, de outras famílias botânicas tais como a bananeira, o amendoim e o gengibre (TAKATSU; LOPES, 1997).

O tomate (*Solanum lycopersicum*) se destaca como a cultura que mais apresenta perdas decorrentes da doença, podendo causar entre 10 e 90% de perdas em plantações infectadas. O controle da murcha bacteriana é extremamente difícil, principalmente quando se apresenta condições favoráveis para a proliferação dessa doença, como as elevadas temperaturas do solo, de 28-31°C, solos úmidos e encharcados, e que tenham pH abaixo de 7,0. Além do favorecimento ambiental, a bactéria conta com sua ampla gama de hospedeiros. A sobrevivência saprofítica e a disseminação eficiente por meio da irrigação, equipamentos e maquinaria agrícola tornam o controle desse patógeno extremamente difícil. Assim, o patógeno tem despertado notável interesse social, econômico e de pesquisa (PAUDEL *et al.*, 2020).

As possibilidades de sucesso no controle desta bacteriose dependem de vários fatores, tais como: variante do patógeno no local, modos de transmissão e de sobrevivência, tratamentos culturais, condição ambiental e grau de resistência da cultivar (HAYWARD, 1991). Lopes e Ávila (2005) relatam que até o momento o controle químico não se apresenta eficaz e nem economicamente viável para o controle de murcha bacteriana no tomateiro.

A separação dos strains da bactéria causadora da doença é feita basicamente em raças

e biovares, quando se enfatiza a afinidade para com o hospedeiro ou quando se utilizam as propriedades bioquímicas, respectivamente. Assim, raças e biovares são grupos informais ao nível subespecífico que não constam do Código de Nomenclatura da Bactéria. No Brasil, as raças 1 e 2 encontram-se amplamente distribuídas, enquanto a raça 3 está restrita a algumas regiões (REIS *et al.*, 2005).

A determinação do biovar predominante e/ou existente em uma determinada localidade é fator primordial para o sucesso de qualquer programa de melhoramento, uma vez que a resistência à murcha bacteriana em tomateiro pode estar ligada diretamente às propriedades bioquímicas do patógeno local.

Diante da relevância agrônômica da murcha bacteriana e das dificuldades em seu controle, torna-se fundamental o estudo e a identificação precisa das linhagens. Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo realizar testes bioquímicos com diferentes dissacarídeos e álcoois para identificar os biovares de *Ralstonia solanacearum* presentes em amostras coletadas na região e isolados enviados de outros estados. O estudo foi conduzido no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins (IFTO), contribuindo para o entendimento local da diversidade do patógeno e para subsidiar estratégias futuras de manejo e controle da doença.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Determinar os biovares de *Ralstonia solanacearum* presentes nos campos de produção de solanáceas, com ênfase na cultura do tomateiro cultivado em Pamas-TO.

1.1.2 Objetivos específicos

- Realizar coleta de amostras de diferentes isolados de *Ralstonia solanacearum* na cultura do tomateiro;
- Identificar biovares de murcha bacteriana de amostras coletadas na região de Palmas - TO e de isolados enviados dos locais Distrito Federal estados de Brasília e Pernambuco (Recife).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Murcha bacteriana

A murcha bacteriana foi inicialmente registrada nos Estados Unidos da América em 1896 por Erwin F. Smith, afetando culturas como batata, tomate e berinjela (HAYWARD, 1994). No Brasil, o primeiro relato da doença ocorreu em 1922, quando Von Parseval identificou sua ocorrência em plantações de fumo (*Nicotiana tabacum* L.). Considerada a principal doença vascular de plantas cultivadas globalmente, a murcha bacteriana destaca-se pela capacidade do patógeno de se adaptar a diferentes condições climáticas, incluindo regiões temperadas, tropicais e subtropicais. Além disso, a bactéria demonstra grande versatilidade ao colonizar diversos nichos ecológicos, como solo, água, rizosfera de plantas não hospedeiras e xilema de hospedeiros (LEBEAU *et al.*, 2011).

Logo, é uma doença que afeta culturas de solanáceas em todas as regiões do Brasil, com maior incidência em áreas de clima quente e úmido (LOPES, 2009; SANTIAGO *et al.*, 2016). Em Pernambuco, há relatos da presença da doença desde 1987, em cultivos de pimentão na mesorregião da Mata (MARIANO; CABRAL; SILVA, 1988; MARIANO *et al.*, 1989), embora evidências indiquem que sua ocorrência seja anterior a essa data (MARIANO *et al.*, 1989). Atualmente, a murcha bacteriana tem causado expressivos prejuízos econômicos nos principais polos produtores das mesorregiões do Agreste, Mata (GARCIA *et al.*, 2013; SILVA, 2014), Sertão e Submédio do Vale do São Francisco (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015).

Figura 1 — Distribuição do complexo de espécies de *Ralstonia solanacearum* em todo o mundo



Fonte: CABI (2020).

Os impactos econômicos provocados pela murcha bacteriana são expressivos e variam em função da espécie hospedeira, das condições edafoclimáticas e da diversidade dos isolados de *Ralstonia solanacearum*. Em nível mundial, perdas de produtividade podem atingir de 33% a 90% na cultura da batata (*Solanum tuberosum*), 10% a 30% no tabaco (*Nicotiana tabacum*), 80% a 100% em bananeiras (*Musa spp.*), até 20% no amendoim (*Arachis hypogaea*) e até 91% em tomateiros (*Solanum lycopersicum*) (ELPHINSTONE, 2005; GENIN; DENNY, 2012; PRIOR *et al.*, 2005).

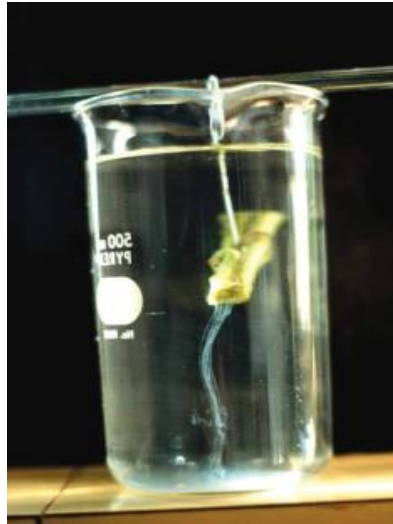
Para identificar a murcha bacteriana é necessário observar alguns sintomas. Os primeiros sintomas iniciam nas folhas mais novas e consequentemente evoluem por toda planta, porém, inicialmente somente uma haste apresenta os sintomas, no entanto, pode ocorrer de todas as folhas murcharem completamente de acordo com a evolução da doença. (KELMAN, 1986).

De acordo com Hayward (1991), essa doença é caracterizada pela perda de turgescência dos tecidos foliares em ramos mais suculentos, resultante da obstrução dos vasos que limitam o transporte de água dentro da planta. Além disso, a ocorrência da infecção é favorecida por altas temperaturas e elevada umidade, podendo até mesmo impedir o cultivo de várias espécies em regiões de clima temperado quente, tropical ou subtropical.

Segundo Filgueira (2007), a confirmação de uma doença bacteriana pode ser feita por meio de um teste que envolve o corte de um pedaço de aproximadamente 3 cm da base do caule, seguido de sua lavagem em água corrente. Posteriormente, a amostra é imersa em água limpa dentro de um copo, ficando suspensa por um suporte. A positividade do teste é indicada

pela observação, após alguns minutos, de um fluxo de pus bacteriano exsudando da extremidade cortada do caule em direção ao fundo do recipiente.

Figura 2 — Teste do copo, evidenciando a exsudação de pus bacteriano no caule de tomateiro infectado pela murcha bacteriana



Fonte: LOPES, 2013.

2.2 *Ralstonia Solanacearum*

Ralstonia solanacearum pertence à classe das β -proteobactérias, são Gram negativas, aeróbias e em forma de bastonetes (OEPP/EPPO, 2004). A bactéria *R. solanacearum* é a causadora da doença murcha bacteriana, uma das principais doenças das solanáceas. Na região Norte do Brasil, essa doença se destaca como fator limitante nos cultivos do tomateiro (LOPES, 2009). Segundo Elphinstone (2005), *Ralstonia solanacearum* possui distribuição mundial e infecta mais de 250 espécies vegetais pertencentes a mais de 50 famílias botânicas, abrangendo tanto monocotiledôneas quanto dicotiledôneas. Por conter essa gama incomum de hospedeiros, o mesmo oferece oportunidades para análise de fatores de virulência, diversidade genética e bioquímica (SALANOUBAT *et al.*, 2002).

A bactéria se aloja dentro do hospedeiro através de aberturas ou ferimentos no sistema radicular. Após a penetração, a bactéria inicia seu processo de multiplicação, onde colonizará todo espaço intercelular e conseqüentemente o tecido vascular (SHINOHARA *et al.*, 2005), resultando na restrição da passagem de nutriente e água, elementos essenciais para o desenvolvimento da planta (LOPES; QUEZADO-SOARES, 1997). Após dois a três dias a bactéria coloniza inteiramente o córtex, juntamente com o parênquima vascular e os vasos do xilema (SAILLE *et al.*, 1997).

Lopes e Quezado-Duval (2007) relatam através de seus estudos que após a introdução da bactéria na área de plantio, sua disseminação ocorre de diversas formas. O micro-organismo se espalha facilmente por meio da água proveniente das chuvas ou da irrigação, pelo solo aderido a máquinas e implementos agrícolas, além de ser transportado nos calçados de trabalhadores rurais e outras pessoas que circulam pela área de cultivo.

Ralstonia spp. apresenta elevada diversidade fenotípica e genotípica, sendo capaz de se adaptar a uma ampla variedade de hospedeiros e condições climáticas. Durante muitos anos, essa bactéria foi classificada, em nível infraespecífico, em cinco raças e seis biovars. As raças são distinguidas com base na gama de hospedeiros (KELMAN; SEQUEIRAE, 1983), enquanto os biovars são definidos pela capacidade de utilizar diferentes açúcares (como maltose, lactose, celobiose e trealose) e álcoois (manitol, sorbitol, dulcitol e inositol) como fontes de carbono, bem como pela formação de ácidos (HAYWARD, 1991), em solanáceas, destacam-se principalmente as biovars 1, 2 e 3.

Tabela 1 — Utilização de açúcares e álcoois na diferenciação de biovars de *Ralstonia solanacearum*

	Biovar				
	1	2	3	4	5
Utilização dos Dissacarídeos					
Celobiose	-	+	+	-	+
Lactose	-	+	+	-	+
Maltose	-	+	+	-	+
Oxidação dos Álcoois					
Dulcitol	-	-	+	+	+
Manitol	-	-	+	+	-
Sorbitol	-	-	+	+	-

Fonte: HAYWARD, 1991.

A raça 1 sobrepõe-se à divisão tradicional em biovars (GILLINGS; FAHY, 1993) e não constitui um agrupamento natural, englobando diversos fenótipos, genótipos e linhagens

filogenéticas distintas (HAYWARD, 1994). As estirpes dessa raça destacam-se pela ampla gama de hospedeiros que acometem, com ênfase em espécies pertencentes à família Solanaceae, como tomateiros (*Solanum lycopersicum*) e pimenteiras (*Capsicum spp.*) (ELPHINSTONE, 2005). A raça 2, por sua vez, apresenta patogenicidade em musáceas, incluindo bananeiras triplóides (*Musa spp.*) e espécies do gênero *Heliconia*. Já a raça 3 abrange estirpes que infectam majoritariamente a cultura da batata (*Solanum tuberosum*), constituindo um importante patossistema agrícola. Considerando critérios similares, outros autores propuseram a inclusão de duas novas raças ao sistema de classificação. A raça 4 corresponde a estirpes que afetam o gengibre (*Zingiber officinale*), enquanto a raça 5, descrita na China, demonstra patogenicidade em plantas de amora (*Morus spp.*) (HE *et al.*, 1983).

Tradicionalmente, a espécie tem sido agrupada em cinco raças e cinco biovars (Tabela 2), com base na gama de hospedeiras e nas propriedades bioquímicas, respectivamente (FEGAN; PRIOR, 2005).

Tabela 2 — Hospedeiras, biovars e locais de ocorrência de *Ralstonia solanacearum* de acordo com as raças

Raça	Hospedeira	Biovar	Ocorrência
1	Muitas espécies, mais de 50 famílias	1,3 e 4	Ásia, Austrália, Américas
2	Banana e outras espécies de musa e helicônias	1,3 e 4	Brasil, Caribe, Filipinas
3	Batata e gerânio	2	Geral, exceto Canadá e EUA
4	Gengibre	3 e 4	Ásia
5	Amora	5	China

Fonte: LOPES, 2005.

2.3 Controle

O controle da murcha bacteriana apresenta consideráveis desafios em virtude da notável capacidade de *Ralstonia solanacearum* de sobreviver saprofiticamente por longos períodos em distintos tipos de solo (DENNY, 2005). Essa elevada aptidão de sobrevivência

resulta tanto da habilidade do patógeno em utilizar uma ampla variedade de compostos orgânicos como fontes de energia quanto de sua capacidade de entrar em estado dormente (GREY; STECK, 2001).

O patógeno é capaz de metabolizar açúcares, ácidos graxos e até mesmo compostos aromáticos oriundos da degradação da lignina, demonstrando assim uma notável versatilidade metabólica. Essa característica confere ao solo um papel de reservatório favorável para a manutenção do patógeno, mesmo na ausência do hospedeiro (GENIN; BOUCHER, 2002). Em decorrência desses fatores, a aplicação de testes preditivos para detecção da contaminação do solo é significativamente dificultada, uma vez que as células permanecem viáveis e aptas a causar doenças, embora frequentemente não sejam detectáveis.

O controle da doença apresenta grande dificuldade, principalmente devido à ampla diversidade de hospedeiras, à elevada variabilidade genética do patógeno e à sua capacidade de sobrevivência prolongada no solo (TAKATSU *et al.*, 1984; REIFSCHNEIDER; TAKATSU, 1985). As principais estratégias recomendadas para o manejo da murcha bacteriana envolvem medidas preventivas e práticas culturais destinadas a evitar ou retardar o surgimento da doença na lavoura, incluindo a rotação de culturas, o controle da irrigação e a eliminação de restos culturais ou de plantas que apresentem sintomas da murcha (SILVEIRA *et al.*, 1996).

Quando uma área já apresenta histórico da doença, a abordagem mais eficaz é a combinação de diversas estratégias, ou seja, a adoção do controle integrado. Isso envolve práticas complementares, como: o plantio em áreas sem histórico da doença; a escolha de locais que não tenham recebido cultivo prévio de solanáceas; a preferência por solos bem drenados; o uso de sementes ou mudas saudáveis; a realização de adubação e calagem equilibradas, conforme as análises do solo; o manejo adequado da irrigação, evitando o escoamento entre plantas ou entre lavouras; a redução do trânsito de pessoas e máquinas entre áreas contaminadas; e a implementação de rotação de culturas, preferencialmente com gramíneas (GOTO, 1992; HAYWARD, 1994; LIMA NETO, 2005; LOPES; QUEZADO DUVAL, 2007; LOPES, 2009).

3 METODOLOGIA

3.1 Local da experimentação

O experimento foi conduzido no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins (IFTO), localizado no município de Palmas – TO. O local do experimento está situado nas coordenadas geográficas 10°11'52.35" S de latitude e 48°18'43.51" O de longitude, com altitude aproximada de 620 metros.

3.2 Isolados e suas origens

Foram coletadas plantas de tomateiro com sintomas de murcha bacteriana no campo de produção do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins (IFTO). Três amostras (R1, R2 e R3) foram levadas ao Laboratório de Fitopatologia do campus Palmas, onde foram submetidas ao teste do copo antes do isolamento do patógeno. Além das amostras coletadas em campo, foram acrescentados 10 isolados enviados pela Embrapa Hortaliças de Brasília e 10 isolados da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Quadro 1 — Informações sobre isolados enviados de Pernambuco – PE

CÓDIGO	IDENTIDADE	HOSPEDEIRO	HABITAT
CCRMRs 206	<i>R. solanacearum</i>	Tomateiro	Feixe vascular
CCRMRs 209	<i>R. solanacearum</i>	Tomateiro	Feixe vascular
CCRMRs 70	<i>R. pseudosolanacearum</i>	Tomateiro	Feixe vascular
CCRMRs 59	<i>R. pseudosolanacearum</i>	Tomateiro	Feixe vascular
CCRMRs 41	<i>R. pseudosolanacearum</i>	Tomateiro	Feixe vascular
CCRMRs 43	<i>R. pseudosolanacearum</i>	Pimentão	Feixe vascular
CCRMRs 40	<i>R. pseudosolanacearum</i>	Pimentão	Feixe vascular
B2-6	<i>R. pseudosolanacearum</i>	Pimentão	Feixe vascular
B5-17	<i>R. pseudosolanacearum</i>	Pimentão	Feixe vascular
CCRMRs 32	<i>R. pseudosolanacearum</i>	Pimentão	Feixe vascular

Fonte: AUTORA, 2025.

Quadro 2 — Informações sobre isolados enviado de Brasília -DF

ISOLADOS	HOSPEDEIRA	DATA DA COLETA
RS 597	tomate	24/03/2015
RS 607	tomate	07/05/2015
RS 626	tomate	01/04/2016
RS 640	tomate	22/09/2016
RS 683	tomate	28/05/2018
RS 689	batata	27/07/2018
RS 706	tomate	23/11/2018
RS 714	berinjela	13/03/2019
RS 737	tomate	02/05/2022
RS 739	batata	03/05/2022

Fonte: AUTORA, 2025.

Confirmando-se a presença da bactéria, foi realizado o isolamento, cortando-se as hastes das plantas em pequenas seções. Estas seções foram desinfestadas superficialmente em álcool etílico (70%) por trinta segundos e, em seguida, em hipoclorito de sódio a 2%, durante 1 minuto. A seguir, as seções foram lavadas em água destilada e esterilizada (para retirada do excesso de hipoclorito) e colocadas perpendicularmente em placas de Petri, com a extremidade imersa em água estéril para que ocorresse a exsudação. Após 10 minutos, foi realizada a repicagem pelo método de estrias paralelas, utilizando uma alça de platina flambada, para placas de Petri contendo meio de cultura Kelman.

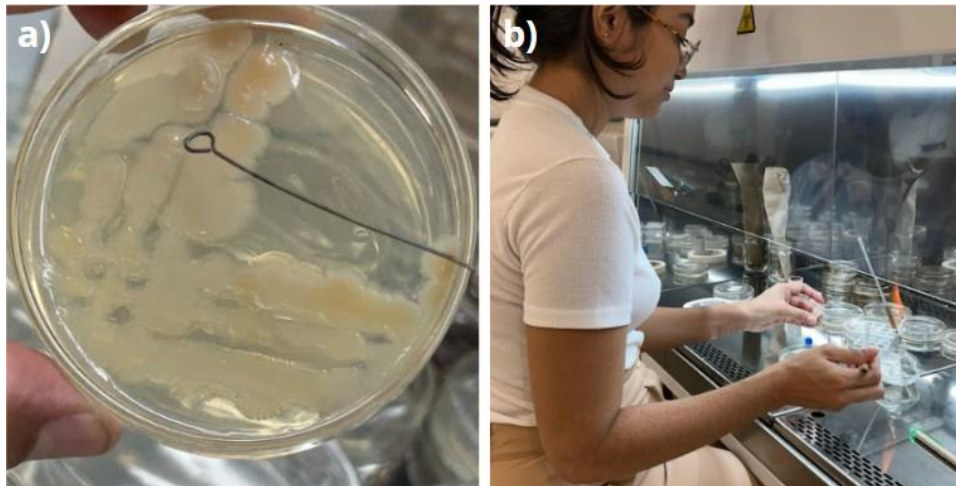
Quadro 3 — Meio de cultura CPG (ou meio Kelman sem tetrazólio)

Para 1 litro de meio de cultura (suficiente para verter 50 - 60 placas de Petri)	
Caseína hidrolisada	1g
Peptona	10g
Glicose	5g
Agar	18g

Fonte: AUTORA, 2025.

As placas foram incubadas por 48-72 horas em BOD a 28 °C. Após o período de incubação, foram selecionadas colônias puras de coloração branca, crescimento irregular e fluidas, características da espécie.

Figura 3 — Realização de repicagem de bactérias em placas Petri

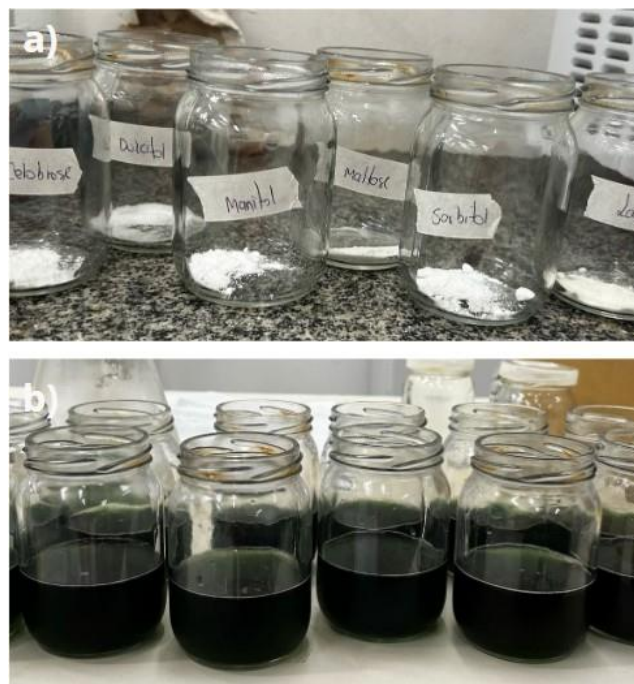


Fonte: AUTORA, 2025.

3.3 Determinação de Biovars

Para a determinação dos biovars, foi empregada a metodologia descrita por Hayward (1964), a qual se baseia na habilidade do isolado em oxidar seis hexoses, sendo 3 dissacarídeos (maltose, lactose, celobiose) e 3 álcoois (manitol, sorbitol e dulcitol). Para isso, soluções de estoque a 10% dos diferentes açúcares foram preparadas e esterilizadas por filtração.

Figura 4 — Preparação do meio básico para serem separados em tubos. A: separação e pesagem de álcoois e açúcares; B: meio básico separado de acordo com açúcares e álcoois para serem depositados em tubos

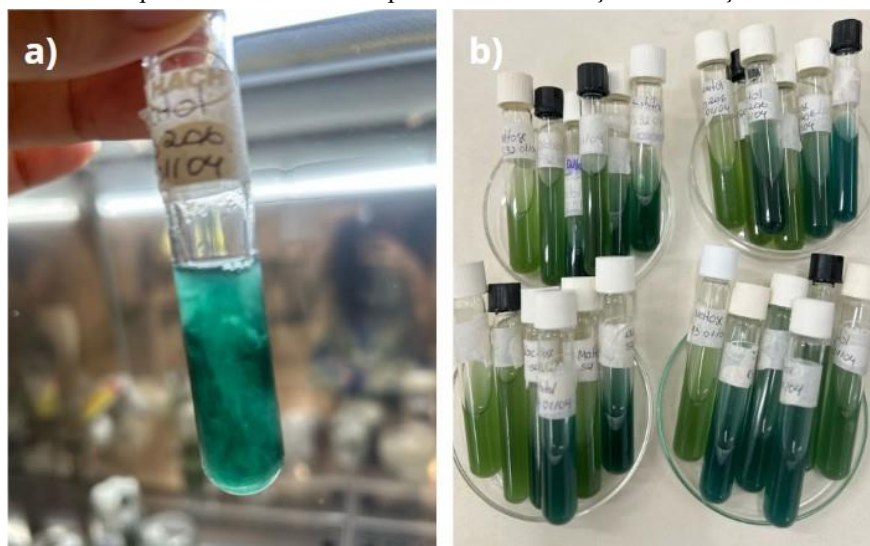


Fonte: AUTORA, 2025.

Após a esterilização, alíquotas de 0,5 ml de cada solução foram acrescentadas a tubos de ensaio contendo 5 ml do meio básico autoclavado e resfriado com a seguinte composição: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (1,0 g), KCL (0,2 g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,2 g), Peptona (1,0 g), azul de bromotimol (80,0 mg) para um litro de água destilada e esterilizada.

Após o preparo dos meios, foram adicionados 5 ml de água destilada autoclavada em placas de Petri contendo colônias previamente riscadas dos isolados no meio de Kelman. Em seguida, utilizando uma alça de Drigalski, foi possível homogeneizar cada isolado, obtendo assim uma suspensão turva. Foi pipetado 1 ml de cada suspensão de isolado, sendo transferidos para tubos que correspondem aos carboidratos distintos. Posteriormente, os tubos de ensaio em que continha inoculados os diferentes isolados foram mantidos em câmara de crescimento por um período de 10-16 dias, sob temperatura controlada de 28 °C.

Figura 5 — Isolamentos de bactérias em tubos. A: bactéria adicionada em tubo após pipetagem; B: tubos com bactérias distintas para serem observadas por meio de mudança de coloração



Fonte: AUTORA, 2025.

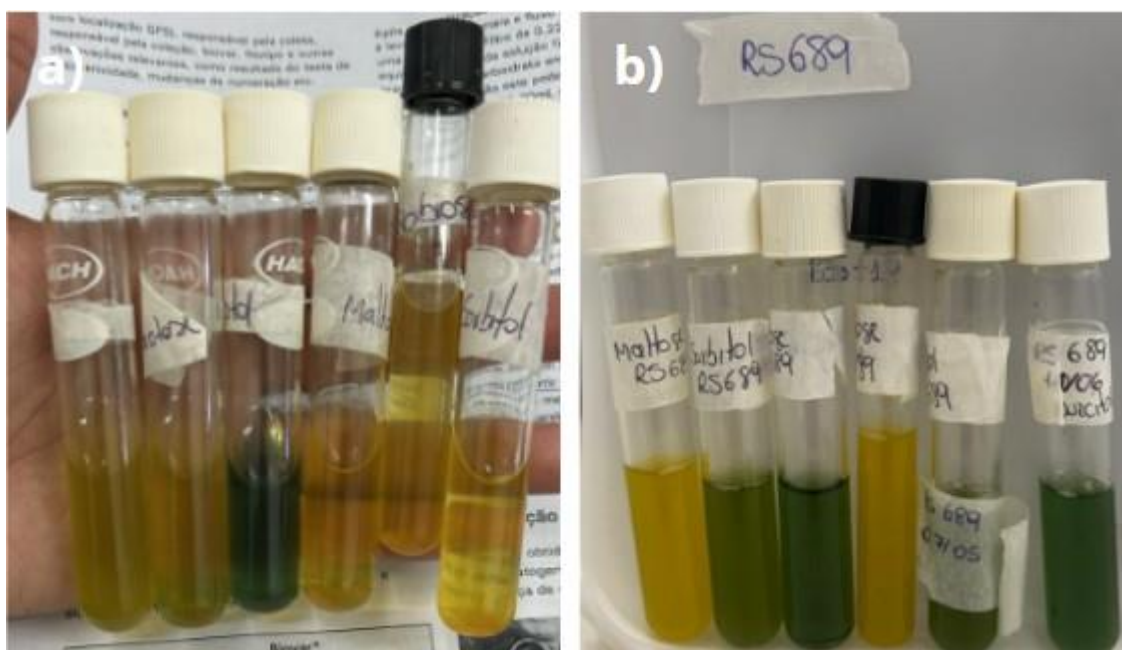
Foi observado a mudança da coloração do meio de cultura a cada dois dias, para a identificação de alguma possível contaminação, no entanto a leitura final deverá ser realizada a partir de 10 dias. Os tubos amarelos são considerados positivos e os tubos que se mantiverem na coloração verde significará que não ocorreu nenhuma reação.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes para identificação de biovars foram iniciados em 11 de fevereiro de 2025, com um total inicial de 23 isolados. Desses, 10 eram provenientes do estado de Pernambuco, 10 do Distrito Federal (Brasília) e 3 foram coletados no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins (IFTO). No entanto, ao longo da realização dos testes, observou-se uma perda de isolados, ocasionada principalmente por contaminações microbiológicas e pela desidratação dos meios de cultura utilizados para conservação das amostras.

Além das perdas de isolados decorrentes de contaminação e desidratação dos meios de cultura, foi observado que, em alguns testes realizados em tubos, determinados álcoois e açúcares não apresentaram alteração de coloração, o que diverge dos resultados esperados conforme a tabela de determinação de biovars descrita por Hayward (1991). Tais divergências podem ter sido ocasionadas por contaminação, falhas no processo ou até mesmo pela possível presença de uma nova variante da bactéria. Para a obtenção de resultados conclusivos quanto a essas alterações, é fundamental a realização de novos testes mais aprofundados, incluindo análises moleculares.

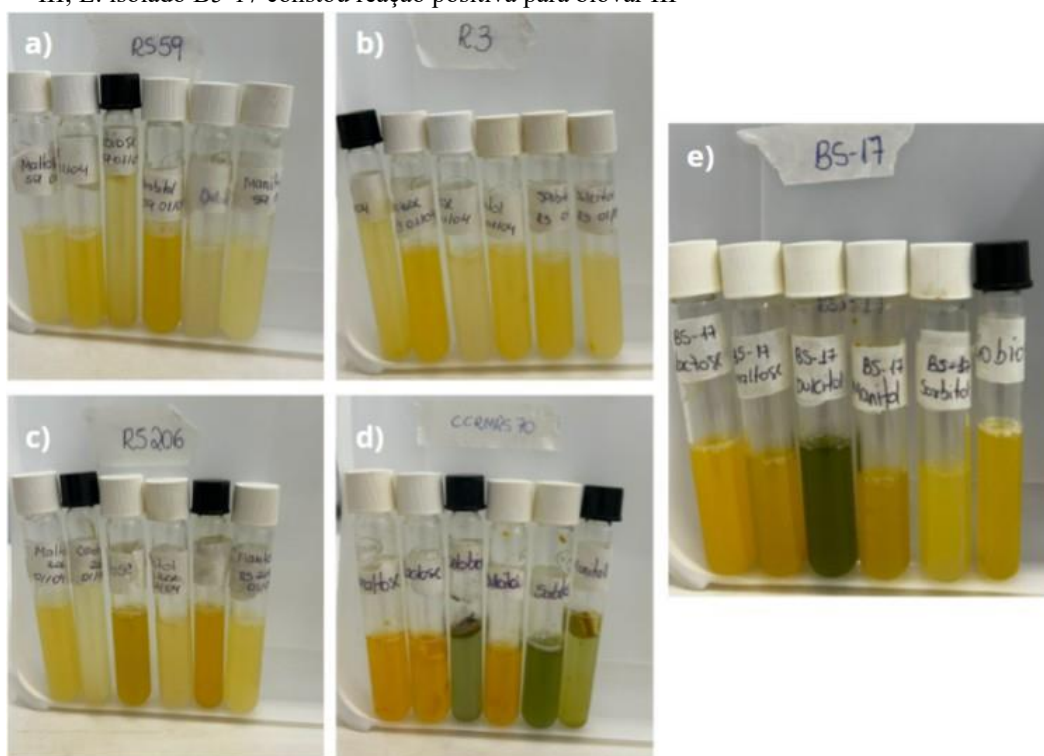
Figura 6 — Testes com resultados inconclusivos. A: meios em tubos apresentam colorações distintas aos resultados esperados em tabela de determinação de biovars; B: tubos com resultados indeterminados



Fonte: AUTORA, 2025.

Apesar das perdas significativas ocorridas durante os testes, foi possível identificar com êxito cinco isolados: CCRMRs 59, CCRMRs 206, CCRMRs 70, B5-17 e R3. Dentre os isolados que apresentaram resultados conclusivos, observou-se uma predominância daqueles provenientes do estado de Pernambuco, localizado na região Nordeste do Brasil. Todos os isolados analisados demonstraram características compatíveis com o biovar III, apresentando reações positivas aos álcoois e açúcares utilizados nos testes bioquímicos. Esses resultados confirmam a uniformidade fenotípica entre as amostras remanescentes, reforçando sua classificação dentro do referido biovar.

Figura 7 — Tubos com Resultados de biovars de *Ralstonia solanacearum*. A: isolado CCRMRs 59 com reação positiva para biovar III; B: isolado R3 com reação positiva para biovar III; C: isolado CCRMRs 206 com resultado compatível com biovar III; D: isolado CCRMRs 70 também identificado como biovar III; E: isolado B5-17 constou reação positiva para biovar III



Fonte: AUTORA, 2025.

Os resultados obtidos no presente estudo estão em conformidade com a literatura, uma vez que todos os isolados identificados pertencem ao biovar III e foram coletados predominantemente na região Nordeste (Reifschneider e Takatsu, 1985). Isso reforça a importância do monitoramento fitossanitário na região, considerando o potencial de contaminação desse biovar para culturas economicamente relevantes como o tomateiro.

Entretanto, os dados apresentados divergem dos resultados encontrados por Costa, Noda e Boher (1999), que, ao avaliarem o genótipo do tomateiro “Yoshimatsu” em diferentes

sistemas de plantio (terra firme e solos de várzea) na região amazônica, observaram a presença dos biovars I e III, com predominância do biovar I no sistema de plantio em terra firme. De forma semelhante, Coelho Neto *et al.* (2000), ao estudarem *Moringa oleifera* cultivada na mesma região, também identificaram apenas o biovar I.

Reifschneider e Takatsu (1985) relatam que o biovar I apresenta ampla distribuição geográfica em todo o território brasileiro. O biovar II, por sua vez, é mais frequentemente encontrado nas regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste, tendo como principal hospedeiro a cultura da batata. Já o biovar III é mais prevalente nas regiões Norte e Nordeste do país, sendo reconhecido como o tipo bioquímico mais agressivo e de maior impacto nessas áreas, especialmente na cultura do tomate. Resultados semelhantes ao presente estudo foram obtidos por Lima Neto (2001), que relatou a predominância de isoladores pertencentes a biovar III infectando plantas de tomateiro no município de Palmas – TO.

Apesar de não detectar outras biovars nos testes realizados, não se pode descartar a possível existência destes biótipos nas determinadas regiões estudadas. Estas variações regionais podem estar relacionadas a fatores como condições climáticas, manejo agrícola, adaptação do patógeno e seleção de cultivares hospedeiras, o que evidencia a necessidade de estudos contínuos para compreender a dinâmica populacional de *Ralstonia solanacearum* no Brasil.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo possibilitou a identificação de cinco isolados de *Ralstonia solanacearum* pertencentes ao biovar III, o qual demonstrou ser predominante na região Nordeste do Brasil. Os testes realizados indicaram que esse biovar apresentou a maior frequência de identificação entre os isolados analisados.

Apesar das perdas de algumas amostras ao longo dos ensaios, foi possível obter dados relevantes que ressaltam a importância da vigilância contínua para a prevenção e o controle da doença. Os resultados obtidos contribuem para a compreensão da distribuição da bactéria e fornecem subsídios para o desenvolvimento de estratégias futuras de manejo fitossanitário.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, G. M. R.; SILVA, A. M. F.; SILVA, J. R.; MARIANO, R. L. R.; FERRAZ, E.; SILVA, M. C. L.; SOUZA, E. B. Jornada de Ensino Pesquisa e Extensão, 15., 2015, Recife. **Anais...** Recife: EDUFRPE, p. 762, 2015.
- APHIS-PPQ USDA. **Recordy plan fot *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2.** 2006.
- COELHO NETTO, R. A.; MARENCO, K.R; PEREIRA, B. G.; NODA, H.; BOHER, Ocorrência de murcha bacteriana em Moringa (*Moringa oleífera* Koenigii) causada por *Ralstonia solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, p. 321, 2000.
- COSTA, S. B.; FERREIRA, M. A. S. V.; LOPES, C. A. Diversidade patogênica e molecular de *Ralstonia solanacearum* da Região Amazônica brasileira. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, p. 285-294, 2007.
- COSTA, S.B.; NODA, H.; BOHER, B. Resistência do tomateiro à murcha bacteriana ocorrência dos biovars I e III de *Ralstonia solanacearum* nos ecossistemas de terra firme e de várzea no município de Manaus (Estado do Amazonas). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 4., p. 253, 1999.
- DENNY, T. P. **Plant pathogenic *Raltonia* species.** Netherlands: Springer Publishisg, 2006.
- ELPHINSTONE, J. G.; ALLEN, C.; PRIOR, P.; HAYWARD, A. C. **The current bacterial wilt situation:** a global overview. Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex. 1. ed. Saint Paul: APS Press, 2005. v. 1, p. 9-28.
- ELPHINSTONE, J. G.; ELPHINSTONE, J. G.; ALLEN, C.; PRIOR, P.; HAYWARD, A. C. **The current bacterial wilt situation:** a global overview. Bacterial wilt: the disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. Saint Paul: American Phytopathological Society Press, 2005. p. 9-27.
- FILGUEIRA, F. A. R.. **Novo manual de olericultura:** agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2007. p. 418.
- GARCIA, A. L.; LIMA, W. G.; SOUZA, E. B.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R. Characterization of *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt bell pepper in the state of Pernambuco, Brazil. **Journal of Plant Pathology**, Bari, v. 95, n. 2, p. 237- 245, 2013.
- GOTO, M. **Fundamentals of bacterial plant pathology.** San Diego: Academic Press, 1992.
- HAYWARD, A. C. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. **Annual Review Phytopatology**, Palo Alto, v. 29, p. 65-87, 1991.
- HAYWARD, A. C. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 29, p. 65-87, 1991.
- HAYWARD, A. C. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. **Annual Rewiew of Phytopathology**, v. 29, p. 65-87, 1991.

HAYWARD, A. C. Characteristic of *Pseudomonas solanacearum*. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 27, p. 265-277, 1964.

HAYWARD, A. C. **Systematics and phylogeny of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria**. Bacterial wilt: The disease and its causative agente *Pseudomonas solanacearum*. Wallingford: CAB, 1994. p. 95-112.

HAYWARD, A. C. **The hosts of *Pseudomonas solanacearum***. Bacterial wilt: the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. CAB International, Wallingford, 1994. p. 9-24.

HAYWARD, A. C. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 29, p. 65-87, 1991.

HE, L. Y.; KELMAN, A.; SEQUEIRAE, L. Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 67, n. 12, p. 1357-1361, 1983.

KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of Agrobacterium, Corynebacterium, Erwinia, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology*, St. Paul, v. 67, n. 12, p. 1357-1361, 1983.

KELMAN, A.; HOOKER, W.J. **Compendium of potato diseases**. St Paul: APS, 1986. p. 29-30.

LEBEAU, A *et al.* Bacterial wilt resistance in tomato, pepper, and eggplant: Genetic resources respond to diverse strains in the *Ralstonia solanacearum* species complex. **Phytopathology**, v. 101, p. 154-165, 2011.

LIMA NETO, A. F.. **Avaliação da resistência de clones e cultivares de batata à murcha bacteriana (*Ralstonia solanacearum*)**. 2005. 86f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2005.

LIMA NETO, A. F.. **Herança e Resistência de Genótipos de Tomateiros a *Ralstonia solanacearum*, Agente da Murcha Bacteriana**. Lavras: UFLA, 2001.

LIMA NETO, A. F. *et al.* Levantamento das principais doenças do tomateiro em Guarai, Estado do Tocantins. **Fitopatologia Brasileira**. v. 31. s346 (suplemento), 2006.

LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C. **Doenças do tomateiro**. 2 ed., Brasília: Embrapa Hortaliças, 2005.

LOPES, C. A.; QUEZADO-SOARES, A. M. **Doenças bacterianas das hortaliças**. Brasília: Embrapa Serviço de Produção de Informação, 1997. 70 p.

LOPES, C. A.. **Murcha Bacteriana ou Murchadeira - Uma Inimiga do Tomateiro em Climas Quentes**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009.

LOPES, C. A.. **Murcha bacteriana ou murchadeira – Uma inimiga do tomateiro em climas quentes**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009.

LOPES, C. A. **Murcha Bacteriana ou Murchadeira - Uma Inimiga do Tomateiro em**

Climas Quentes. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2009.

MARIANO, R. L. R.; MELO, R. A. G.; HOLANDA, V. T.; CABRAL, G. B.; SILVA, M. S. S. G. Levantamento das fitobacterioses do estado de Pernambuco no biênio 1987- 1988.

Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 14, n. 2, p. 158, 1989.

OEPP/EPPO. **Diagnostic protocols for regulated pests *Ralstonia Solanacearum*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin.** Paris, 2004. p. 173-178.

REIFSCHNEIDER, F. J. B.; TAKATSU, A. *Pseudomonas solanacearum* no Brasil: Aspectos macroepidemiológicos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 10, n. 2, p. 213, 1985.

REIS, A.; COSTA, H.; BOITERUX, L. S.; LOPES, C. A. First Report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Race 3 on Tomato in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, p. 3, mai./2005.

SAILLE, E. MCGARVEY, J.; SCHELL, M.; DENNY, T. Role of extracellular polysaccharide and endoglucanase in root invasion and colonization of tomato plants by *Ralstonia solanacearum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 87, n. 12, 1264-71, 1997.

SALABOUT, M. *et al.* Genome sequence of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*. **Nature**, London, v. 415, p. 497-502, 2002.

SANTIAGO, T. R.; LOPES, C. A.; CAETANO-ANOLLES, G.; MIZUBUTI, E. S. G. **Phylotype and sequevar variability of *Ralstonia solanacearum* in Brazil, an ancient centre of diversity of the pathogen.** Plant Pathology, 2016.

SHINOHARA, R.; KANDA, A.; OHNISHI, K; KIBA, A., HIKICHI, Y. Contribution of folate biosynthesis to *Ralstonia solanacearum* proliferation in intercellular spaces. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.71, n.1, p.417-422,2005.

SILVA, J. R. **Diversidade de isolados de *Ralstonia solanacearum* das regiões Norte e Nordeste do Brasil.** 2014, 48 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2014.

SILVEIRA, N. S. S.; MARIANO, R. L. R.; MICHEREFF, S. J. *Pseudomonas solanacearum* no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 22, n. 2, p. 97-111, 1996.

TAKATSU, A.; LOPES, C. A. Murcha bacteriana em hortaliças: avanços científicos e perspectivas de controle. **Horticultura Brasileira**, v. 15, p. 170-177, 1997.

TAKATSU, A.; SILVA, C. B.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. Variabilidade e distribuição de *Pseudomonas solanacearum* de solanáceas nas diferentes regiões do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 9, n. 2, p. 387, 1984.