



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS E FLORESTAIS
CURSO DE AGRONOMIA

RAÍ DE FREITAS AIRES

**Efeito de Produtos Alternativos Sobre o Crescimento *in vitro* de *Ralstonia* sp. Isolada do
Tomateiro**

MOSSORÓ

2025

RAÍ DE FREITAS AIRES

**Efeito de Produtos Alternativos Sobre o Crescimento *in vitro* de *Ralstonia* sp. Isolada do
Tomateiro**

Monografia apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio,

MOSSORÓ

2025

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

A298e AIRES, Raí .
Efeito de produtos alternativos sobre o
crescimento in vitro de *Ralstonia* sp. isolada do
tomateiro / Raí AIRES. - 2025.
31 f. : il.

Orientador: Márcia Michelle Ambrósio.
Monografia (graduação) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Curso de Agronomia, 2025.

1. *Solanum lycopersicum*. 2. murcha bacteriana.
3. controle alternativo. I. Ambrósio, Márcia
Michelle , orient. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

RAÍ DE FREITAS AIRES

**Efeito de Produtos Alternativos Sobre o Crescimento *in vitro* de *Ralstonia* sp. Isolada do
Tomateiro**

Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semi-Árido como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Defendida em: 28 /03/ 2025.

BANCA EXAMINADORA

Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio, Profa. Dra. (UFERSA)
Presidente

Jarlan Lucas dos Santos Silva, Me. (UFERSA)
Membro Examinador

Vitória Maria Gomes Souza. Be. em Biotecnologia (UFERSA)
Membro Examinador

A Deus, “consagre ao senhor tudo o que você faz e seus planos serão bem-sucedidos.”

Provérbios 16:3.

Também a minha avó, mãe e tia, dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter sido sempre presente em minha vida, mesmo nos momentos que nem eu sabia ser capaz de suportar, ele, todo poderoso, me manteve forte para buscar e alcançar meus sonhos.

Agradeço a minha família, por toda a rede de apoio, por acreditarem que mesmo com as limitações, eu poderia ter uma jornada de sucesso. Muito obrigado pelo amor, ensinamentos e as palavras de afeto nos dias mais difíceis. Minha avó Fatima foi uma das peças chaves nessa jornada, por ter me concedido a benção de me criar como um filho, por ter me ensinado, do jeito dela, como a vida funciona. A minha mãe Luciana, minha tia Lidiana, que tanto amo, meus primos, Tamires e Paulo Henrik, minha irmã, Rebeca e todos os familiares de real importância em minha vida.

Agradeço aos meus amigos, que tive a sorte de conhecer durante a graduação e muitas vezes dividimos os mesmos fardos, para que as coisas pudessem fluir de forma mais leve e ninguém ficasse para trás, que são: Luiz Henrique, Assis abelhinha, Pedão e Italo.

Agradeço, em especial, minha orientadora Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio, uma pessoa incrível com quem pude aprender não só ensinamentos acadêmicos, mas também que o trabalho em grupo potencializa qualquer resultado, pela oportunidade que me deu em me orientar e por fazer parte de seu grupo de pesquisa.

Agradeço ao grupo de pesquisa LAMIFI, onde iniciei na área de atuação que sempre quis, obtive muitos conhecimentos e conheci pessoas as quais me ajudaram muito com ensinamentos e durante o meu experimento, como: Louise, Jarlan, Tatiane, Ana Paula, Breno, Luiz Fernando, Jemerson, Atarissis, Elisandra, Diogo, Maycon, Vanuza, Pedro, Matilde e, em especial, gostaria de deixar aqui minha extrema gratidão aos amigos: Juliano, que me repassou muitos conhecimentos, Vitória Maria, que me deu um grande suporte e também Rebeca.

Agradeço a banca examinadora Márcia Michelle, Vitória Maria e Jarlan Lucas, pela disponibilidade e as contribuições para o aperfeiçoamento do trabalho realizado.

RESUMO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) se destaca como uma das hortaliças mais relevantes no Brasil, com uma produção de 4.166.017 t em 2023. Entretanto, essa cultura é suscetível a diversos problemas fitossanitários. Entre as principais doenças está a murcha bacteriana, provocada pela bactéria *Ralstonia solanacearum*. Esse microrganismo é altamente virulento e resistente às estratégias convencionais de controle, o que torna o combate à doença um desafio significativo para os agricultores. Uma alternativa para o manejo desse patógeno é o uso de microrganismos benéficos e seus metabólitos. Com isso, o presente trabalho objetivou avaliar a eficácia de produtos alternativos na inibição do crescimento *in vitro* de *Ralstonia* sp., isolada do tomateiro. O ensaio foi conduzido no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, e o delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 4 tratamentos, (T1) controle, (T2) *Trichoderma asperellum* (isolado URM 5911), (T3) extrato de leveduras, sulfato de cobre e sulfato de zinco, (T4) enzimas e metabólitos secundários, com 5 repetições por tratamento. Os produtos comerciais foram introduzidos e homogeneizados em meio de cultura Ágar Nutriente Dextrose Levedura (NYDA), com aproximadamente, 42 ± 2 °C, e vertidos em placas de Petri. Para a condução do ensaio, utilizou-se 10 mL de inóculo. Posteriormente foram realizadas diluições seriadas até a concentração 10^{-5} . Cada diluição foi plaqueada em placas de Petri contendo meio NYDA, e seus respectivos tratamentos. Todas as placas foram mantidas em B.O.D. a 28 ± 2 °C, e após 48 horas as Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) foram quantificadas. Os dados de UFC foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal Wallis ($p \leq 0,05$). Os tratamentos T3 e T4 inibiram 100% do crescimento *in vitro* de *Ralstonia* sp., enquanto o T2 não inibiu a bactéria. Os resultados demonstraram que os produtos comerciais à base de extrato de leveduras, sulfato de cobre, sulfato de zinco, e também de enzimas e metabólitos secundários foram totalmente eficazes na inibição de *Ralstonia* sp., em condição *in vitro*, enquanto o produto à base de *T. asperellum*, não apresentou efeito inibitório.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum*; murcha bacteriana; controle alternativo.

ABSTRACT

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) stands out as one of the most important vegetables in Brazil, with a production of 4,166,017 t in 2023. However, this crop is susceptible to several phytosanitary problems. Among the main diseases is bacterial wilt, caused by the bacterium *Ralstonia solanacearum*. This microorganism is highly virulent and resistant to conventional control strategies, which makes combating the disease a significant challenge for farmers. An alternative for managing this pathogen is the use of beneficial microorganisms and their metabolites. Therefore, the present study aimed to evaluate the efficacy of alternative products in inhibiting the *in vitro* growth of *Ralstonia* sp., isolated from tomato plants. The experiment was conducted at the Microbiology and Phytopathology Laboratory of the Federal Rural University of Semi-Arid Region, and the experimental design was completely randomized, with 4 treatments, (T1) control, (T2) *Trichoderma asperellum* (isolate URM 5911), (T3) yeast extract, copper sulfate and zinc sulfate, (T4) enzymes and secondary metabolites, with 5 replicates per treatment. The commercial products were introduced and homogenized in Yeast Dextrose Agar (NYDA) culture medium, at approximately 42 ± 2 °C, and poured into Petri dishes. To conduct the experiment, 10 mL of inoculum was used. Subsequently, serial dilutions were performed up to a concentration of 10^{-5} . Each dilution was plated on Petri dishes containing NYDA medium and their respective treatments. All plates were kept in B.O.D. at 28 ± 2 °C, and after 48 hours the Colony Forming Units (CFUs) were quantified. CFU data were submitted to the nonparametric Kruskal Wallis test ($p \leq 0.05$). Treatments T3 and T4 inhibited 100% of the *in vitro* growth of *Ralstonia* sp., while T2 did not inhibit the bacteria. The results demonstrated that commercial products based on yeast extract, copper sulfate, zinc sulfate, and also enzymes and secondary metabolites were fully effective in inhibiting *Ralstonia* sp., under *in vitro* conditions, while the product based on *T. asperellum* did not show any inhibitory effect.

Keywords: *Solanum lycopersicum*; bacterial wilt; alternative control.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	–	Teste de Gram do isolado de <i>Ralstonia</i> sp. antes (A), e após o teste de patogenicidade (B).....	24
Figura 2	–	Teste do hidróxido de potássio (KOH). (A) <i>Ralstonia</i> sp. isolada (B) <i>Ralstonia</i> sp. re-isolada	25
Figura 3	–	Teste do sal de tetrazólio em placas de Petri. (A) <i>Ralstonia</i> sp. isolada (B) <i>Ralstonia</i> sp. reisolada. Ambas as bactérias tiveram teste positivo para o sal de tetrazólio, expressando a coloração avermelhada.	25
Figura 4	–	Teste catalase em placas de Petri. (A) <i>Ralstonia</i> sp. isolada (B) <i>Ralstonia</i> sp. re-isolada	26
Figura 5	–	Fermentação da lactose em placas de Petri. (A) <i>Ralstonia</i> sp. isolada (B) <i>Ralstonia</i> sp. reisolada	27
Figura 6	–	(A) Teste de patogenicidade em casa de vegetação. (B) Testemunha. (C) Planta inoculada.....	28
Figura 7	--	Figura 7. Visão placa de Petri dos tratamentos: (A) T1-Controle; (B) T2- <i>Trichoderma asperellum</i> (isolado URM 5911); (C) T3-Extrato de leveduras, sulfato de cobre, sulfato de zinco e água; (D) T4- Enzimas e metabólitos secundários.....	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	–	Tratamentos e suas respectivas dosagens aplicadas.....	23
Tabela 2	–	Tratamentos sobre o crescimento de <i>Ralstonia</i> sp. <i>in vitro</i>	29

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
2.1	Cultura do tomateiro.....	18
2.2	Murcha bacteriana do tomateiro.....	18
2.3	Principais características do gênero <i>Ralstonia</i>	19
2.4	Desafios no manejo e controle da doença.....	20
2.5	Manejo alternativo da murcha bacteriana	20
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1	Coleta de plantas e isolamento de <i>Ralstonia</i> sp.....	22
3.2	Teste de patogenicidade do isolado.....	22
3.3	Caracterização bioquímica.....	23
3.4	Ensaio <i>in vitro</i>	23
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1	Caracterização bioquímica do isolado	24
4.1.1	Teste de Gram e KOH	24
4.1.2	Teste do sal de tetrazólio	25
4.1.3	Teste de catalase	26
4.1.4	Fermentação de açúcares (lactose)	26
4.2	Teste de patogenicidade	27
4.3	Avaliação <i>in vitro</i> dos produtos comerciais	28
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
6	REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

A cultura do tomate (*Solanum lycopersicum* L.) se destaca como uma das principais hortaliças produzidas no mundo. No contexto global, o Brasil encontra-se como um dos principais produtores, totalizando uma produção de 4.166.017 t no ano de 2023 (IBGE, 2025). Essa alta demanda se dá principalmente pela versatilidade do tomate, que vai além do seu consumo *in natura*, possuindo uma ampla variedade de produtos atomatados no mercado (Petrucelli *et al.*, 2022). Apesar da sua alta produtividade, o tomateiro é uma cultura altamente suscetível ao ataque de fitopatógenos, que podem comprometer tanto a produção, quanto a qualidade da hortaliça. Entre as principais doenças que são relatadas, está a murcha bacteriana causada pela bactéria *Ralstonia solanacearum* (Smith, 1896), uma das bactérias fitopatogênicas mais estudadas, devido a sua ampla gama de hospedeiros e o impacto que gera nessa cultura de grande valor econômico (Filgueira, 2008).

No cenário da produção agrícola, no mundo, existem inúmeros fitopatógenos de importância econômica, e, *R. solanacearum* que causa a murcha bacteriana, se destaca entre eles possuindo alta agressividade nos seus hospedeiros (Genin, 2010). Seus primeiros relatos abordados na produção agrícola foram transcritos por Erwin F. Smith, nos Estados Unidos da América, em 1896, onde as solanáceas já vinham sendo o alvo dessa bactéria. Desde então, a distribuição desse patógeno expandiu-se globalmente, e se tornou um desafio fitossanitário (Hayward, 1994). As bactérias do gênero *Ralstonia* são caracterizadas como Gram-negativa, e não formadoras de endósporos, apresentam temperatura ideal para o desenvolvimento entre 25 e 35 °C, conseguindo se multiplicar em ambientes alcalinos e salinos, tornando-se um microrganismo tolerante a diferentes ambientes. Além disso, existe uma correlação entre a mobilidade dessas bactérias e a patogenicidade dos isolados, onde os patogênicos são imóveis (Eppo, 2004; Kelman, 1953; Mehan *et al.*, 1994).

O manejo da murcha bacteriana enfrenta diversas dificuldades devido à persistência da bactéria no solo, e sua adaptabilidade a diferentes ambientes. As abordagens convencionais de controle da doença têm mostrado resultados pouco satisfatórios (Peixoto, 1997). Entretanto, diversos produtos alternativos, entre eles, produtos à base de microrganismos, e ou de seus metabólitos, e extratos vegetais, têm sido estudados como métodos alternativos promissores para o manejo de *Ralstonia* sp. em tomateiro (Oboo *et al.*, 2013; Álvarez *et al.*, 2022). Outra alternativa que vem sendo utilizada devido à sua ação protetora são os produtos à base de cobre, os quais são direcionados para o controle de várias doenças, incluindo a murça bacteriana (Antuniassi, 2011).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia de produtos alternativos na inibição do crescimento *in vitro*, de *Ralstonia* sp.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Cultura do Tomateiro

O tomateiro é uma solanaceae originária da costa oeste da América do Sul, onde o seu desenvolvimento e a produção de frutos de qualidade estão diretamente relacionados ao local de cultivo. Devido a sua origem, as regiões de clima tropical, ou subtropical, seco e com boa luminosidade são as mais indicadas para a tomaticultura. No entanto, essa planta possui uma ampla adaptabilidade climática, permitindo seu cultivo em diferentes regiões do mundo (Filgueira, 2003; EMBRAPA, 2021). Conforme os dados mais recentes da FAO, a produção mundial de tomate tem apresentado um crescimento constante nos últimos anos, produzindo cerca de 186 milhões de toneladas de frutos no ano de 2022 (FAOSTAT, 2023). No Brasil, a produção de tomate reflete diretamente na economia, contribuindo significativamente com o PIB nacional. No ano de 2023 foi produzido mais de 4 milhões de toneladas. Para isso, foram necessários 59.010 hectares de cultivo, resultando em uma média de 70.598 kg por hectare (IBGE, 2025). A alta produção do tomate no Brasil e no mundo se dá principalmente pelas variedades de produtos que são produzidos a partir do tomate, além do seu consumo *in natura*. No entanto, é uma cultura muito susceptível a vários fitopatógenos, entre eles, a bactéria *R. solanacearum* que causa a murcha bacteriana do tomateiro (Filgueira, 2003).

2.2. Murcha bacteriana no tomateiro

A murcha bacteriana é uma doença causada por bactérias da espécie *R. solanacearum*, sendo ela uma das principais que afetam o cultivo do tomate em diferentes regiões do mundo, especialmente em locais de clima quente e úmido. Os produtores enfrentam dificuldades no manejo da doença, pois se trata de um microrganismo quarentenário, potencialmente destrutivo (Mansfield *et al.*, 2012; Huet, 2014; Lopes, 2009). *R. solanacearum* pertence a um complexo de espécies, que possui uma grande diversidade genética entre suas cepas. Esse complexo, conhecido como Complexo de Espécies de *Ralstonia solanacearum* (RSSC), é formado por linhagens que evoluíram ao longo do tempo de maneira independente, que se adaptam às diferentes regiões no mundo, e a diferentes hospedeiros (Fegan; Prior, 2005; Pinheiro *et al.*, 2011).

A severidade da doença se agrava em solos encharcados, e sob altas temperaturas, pela condição do agente causal se adaptar a uma considerável faixa de temperatura. Os seus sintomas têm início na floração, ocorrendo a murcha progressiva das folhas, de cima para baixo, no entanto permanecem verdes. Além disso, pode ocorrer o escurecimento da parte inferior do caule, indicando a presença da bactéria (EMBRAPA, 2021). Atualmente, essas bactérias que causam a murcha bacteriana são intensamente estudadas, devido à sua natureza letal em importantes culturas, como o tomateiro (Ahmed *et al.*, 2022; Phiri *et al.*, 2024).

A redução da produtividade das culturas de solanáceas devido a murcha bacteriana varia entre 15 a 55% no mundo (Ahmed, W. *et al.*, 2022). Embora exista o desenvolvimento de cultivares resistentes, a estratégia isolada não é suficiente para o manejo adequado da doença, conseguindo ainda impactar na quantidade, e na qualidade dos frutos produzidos, dificultando a estabilidade da produção, e a rentabilidade dos agricultores (Silva *et al.* 2011; Kim *et al.*, 2016).’

2.3. Principais características do gênero *Ralstonia*

R. solanacearum é um fitopatógeno habitante do solo, polífago, e amplamente distribuído no mundo. É uma bactéria Gram-negativa, aeróbica, de formato bastonete, reto ou levemente curvo, de aproximadamente 0,5 x 1,5 µm, não forma endósporos, e apresenta alta variabilidade genética. Este patógeno é amplamente difundido no Brasil, apontando o país como seu possível centro de origem (Hayward; Hartman, 1994; Mehan *et al.*, 1994; Santiago *et al.*, 2016).

A rota de infecção da *Ralstonia* spp. tem início com a sua fixação nas raízes, principalmente em locais de emergência, ou de alongamento da raiz lateral. Essas regiões apresentam células menos lignificadas, podendo haver microlesões que facilitam a entrada do patógeno (Caldwell, Kim e Iyer-Pascuzzi, 2017). As bactérias desse gênero para localizar e infectar plantas hospedeiras, utilizam a quimiotaxia, sendo guiadas principalmente pela detecção de aminoácidos e malato que fazem parte dos exsudatos das raízes e, sem a capacidade de reconhecê-los, a infecção é drasticamente reduzida (Hida *et al.*, 2015). Os meios de transmissão de *Ralstonia* se dá principalmente pelo solo, água, equipamentos, e material vegetal contaminado. Ao entrar em contato com o sistema radicular da planta, a bactéria coloniza o

xilema, secretando exopolissacarídeos que impossibilita o transporte de água, como consequência, começa o processo de murcha, ocorrendo também, a formação de um biofilme, que protege a bactéria dos mecanismos de defesa da planta, e da aplicação de produtos exógenos para controle do microrganismo, necessitando de metodologias de manejo que hajam de forma sistêmica (Mina *et al.*, 2019).

2.4. Desafios no manejo e controle da doença

O manejo da murcha bacteriana causada por *R. solanacearum* é desafiador devido à complexidade de sua interação com o ambiente, e a sua capacidade de sobrevivência no solo por longos períodos, mesmo sem a presença de um hospedeiro, através de restos culturais. Essa característica dificulta o controle da doença, contribuindo para disseminação em áreas agrícolas. Além disso, a ampla variabilidade genética da bactéria atrelada a capacidade de infectar diversas culturas dificulta a aplicação de estratégias convencionais de manejo (Paudel *et al.*, 2020).

Outro fator que favorece a bactéria, é a sua estabilidade genética, mantendo ativos os genes referentes à patogenicidade em plantas. Além disso, é encontrada em plantas daninhas, como hospedeiros alternativos, que funcionam como reservatórios naturais e favorecendo a sua disseminação. A resistência ambiental da *Ralstonia* se torna uma barreira para o manejo, tornando essencial a busca por estratégias mais eficazes e sustentáveis para minimizar seus impactos na agricultura (Álvarez; López; Biosca, 2008; Salas; Töfoli, 2017).

2.5. Manejo alternativo da murcha bacteriana

Como a bactéria possui uma ampla gama de hospedeiros, o seu controle é difícil, e os produtos químicos disponíveis costumam ser ineficazes devido a sua resistência, principalmente a produtos que não interagem de forma sistêmica. Atualmente a melhor estratégia é o manejo integrado da doença, incluindo diferentes técnicas de manejo, como o uso de sementes certificadas, a escolha de solos e fontes de água livres do patógeno, evitar plantios no verão e optar por cultivares resistentes, além do uso de produtos biológicos, possuindo microrganismos antagonistas e seus metabólitos (Lopes, 2009; Salas; Töfoli, 2017).

O uso de microrganismos antagonistas como *Trichoderma* spp. e *Bacillus* spp. tem demonstrado potencial no controle biológico da murcha bacteriana, apresentando uma ação antagonista significativa contra *R. solanacearum* em *Nicotiana tabacum*. Esses microrganismos interagem diretamente com o patógeno, e através de mecanismos de competição por nutrientes e espaço, além da produção de metabólitos secundários, conseguem inibir o crescimento da bactéria. Dessa forma, o uso desses agentes biológicos pode reduzir a incidência da doença de maneira eficaz (Da Paz, 2023).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta de plantas e isolamento de *Ralstonia* sp.

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Campus Mossoró. Para a obtenção do isolado bacteriano, foram coletadas plantas com sintomas de murcha bacteriana, provenientes da região do Baixo Acaraú-CE, Serra da Ibiapaba (Latitude 3° 52' 47" Sul; Longitude 40° 57' 50" Oeste). Para o isolamento da bactéria, foram retirados fragmentos dos tecidos sintomáticos, na área limítrofe. Posteriormente, estes fragmentos foram desinfestados (álcool 70% por 10 s, hipoclorito de sódio 2,5%, por 1 min, e água destilada e esterilizada). Os fragmentos foram macerados em tubos com água destilada e esterilizada, e plaqueados em placas de Petri contendo meio Nutriente Ágar (NA). As placas foram mantidas por 24 horas, em estufa incubadora do tipo Demanda Bioquímica de Oxigênio (B.O.D), a 28 ± 2 °C. Após o isolamento, as bactérias foram purificadas e multiplicadas em um Erlenmeyer contendo 250 mL de meio líquido, semi-seletivo NYDA: (4 g/L dextrose, 3 g/L de extrato de carne, 5 g/L de extrato de levedura, 3 g/L de peptona), sendo mantidas novamente por 24 horas, em B.O.D, a 28 ± 2 °C (Schaad; Jones; Chun, 2001).

3.2 Teste de patogenicidade do isolado

O experimento foi realizado em casa de vegetação da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (Latitude 5°12'48''Sul / Longitude 37°18'44''Oeste). O experimento foi inteiramente casualizado, com 2 tratamentos, e 10 repetições cada.

Para o teste de patogenicidade, palitos de dente previamente autoclavados (30 min a 120° C), foram infestados com o isolado de *Ralstonia* sp. preservado em meio de cultura NYDA, os palitos foram introduzidos em mudas de tomate da cultivar cv. *ipa* 6, com 20 dias de germinação, modificada de Hernández-Romano, Ramírez-Rojas e Ydrac-Morales (2012).

. No tratamento controle, foi introduzido o palito esterilizado, e sem inóculo. As mudas foram mantidas durante 30 dias em casa de vegetação, e ao final do experimento foram coletadas para análise em laboratório para confirmar a patogenicidade do isolado, sendo feito o reisolamento dos fragmentos sintomático em meio NA, como descrito por Freitas *et al.*, (2018).

3.3 Caracterização bioquímica

Para a determinação do gênero da bactéria isolada das plantas, e re-isoladas do teste de patogenicidade, foram realizados diferentes testes bioquímicos, entre eles: Teste de Gram, teste de KOH, teste do sal de tetrazólio, teste de catalase e fermentação de açúcares (lactose). Os testes foram realizados de acordo com as metodologias já descritas na literatura por: (Brucker, (1986), Suslow, (1982), Kelman (1954), Okura e Rende, (2008), e MacConkey, (1905), respectivamente.

3.4 Ensaio *in vitro*

O experimento foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, sendo três deles produtos comerciais à base de microrganismos, e um tratamento controle, e 5 repetições cada (Tabela 1). O ensaio foi repetido para confirmação dos resultados.

Tabela 1. Tratamentos e suas respectivas dosagens aplicadas.

Tratamento	Composição	Dosagem
T1	-	-
T2	<i>Trichoderma asperellum</i> (isolado URM 5911)	2 g/1L
T3	Extrato de leveduras, sulfato de cobre, sulfato de zinco e água	2,5 mL/1L
T4	Enzimas e metabólitos secundários	2,5 mL/1L

Após a multiplicação da bactéria em meio líquido NYDA, foi realizada a quantificação em placa contendo o mesmo meio, com adição de ágar (15 g/L), onde a concentração utilizada foi de $4,37 \times 10^8$. Os produtos comerciais foram introduzidos e homogeneizados em meio de cultura NYDA, com aproximadamente, 42 ± 2 °C, e vertidos em placas de Petri (Alves, 2012). Para a condução do ensaio, utilizou-se 10 mL do multiplicado, considerando-o como o concentrado. Posteriormente foram realizadas diluições seriadas, até a concentração 10^{-5} . Cada diluição foi plaqueada em placas de Petri contendo o referido meio, e seus respectivos tratamentos (Tabela 1). Em cada placa foram depositados 100 µL da diluição, sendo espalhadas

com auxílio da alça de Drigalski. Todas as placas foram mantidas em B.O.D., a 28 ± 2 °C, por 48 h (Tortora; Funke; Case, 2006).

Após o crescimento das unidades formadora de colônia (UFC), foram escolhidas em cada tratamento as placas referentes a diluição que continha entre 25 a 250 UFC, para que seja feita a qu antifecação. Os dados obtidos através das contagens de UFC em placas, foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($p \leq 0,05$) e as médias foram comparadas utilizando-se o teste não paramétrico de Kruskall Wallis ($p \leq 0,05$) no software R studio v.4.4.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização bioquímica do isolado

4.1.1 Teste de Gram e KOH

O isolado de *Ralstonia* sp. foi caracterizado bioquimicamente antes da inoculação das plantas, e ao final do experimento, após o reisolamento das plantas sintomáticas. Em ambos os momentos o isolado foi caracterizado, quanto a morfologia das células como Gram negativa, formato bastonete, dispostas em células isoladas (Figura 1). Foi realizado o teste de KOH, no qual houve a formação de um fio viscoso, em ambas as amostras do isolado, atestando como positivo, e confirmando a classificação como bactéria Gram negativa (Figura 2) (Brucker, 1986).

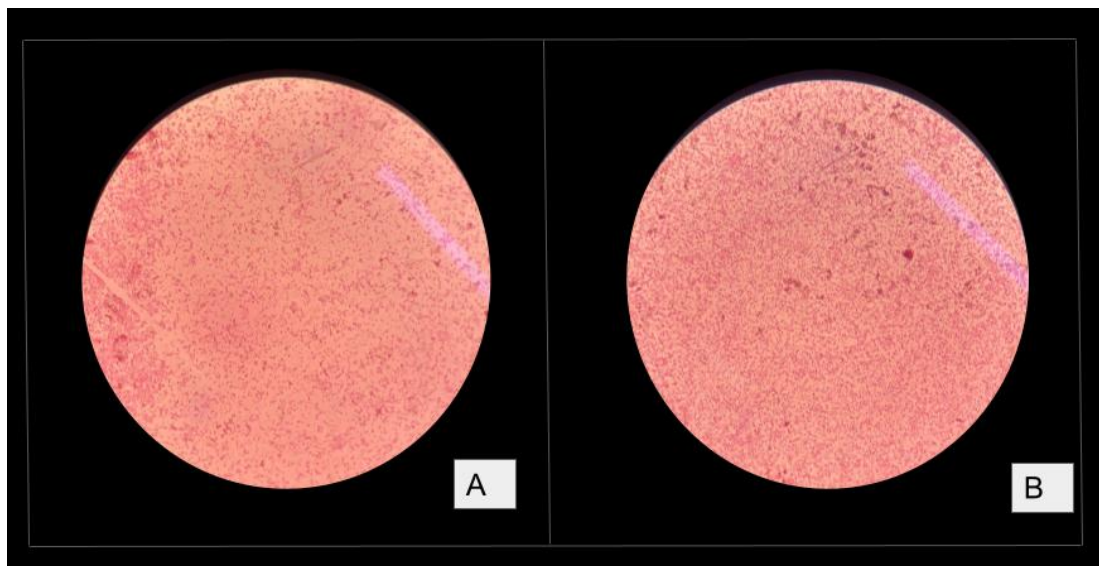


Figura 1. Teste de Gram do isolado de *Ralstonia* sp. antes (A), e após o teste de patogenicidade (B). No qual, ambas as bactérias apresentaram formato bastonete e coloração rosa, sendo atestada como negativas

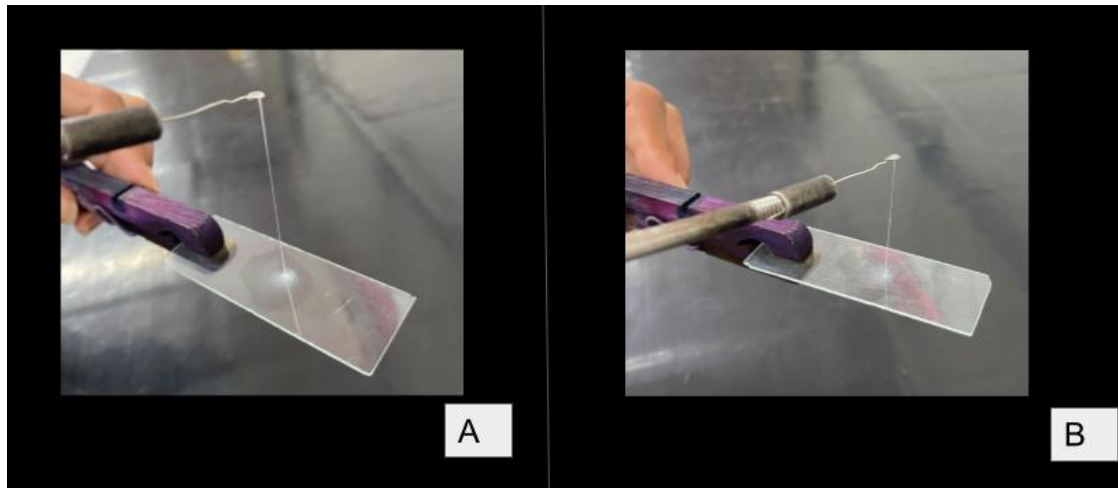


Figura 2. Teste do hidróxido de potássio (KOH). (A) *Ralstonia* sp. isolada (B) *Ralstonia* sp. re-isolada. Apresentaram a formação de um fio viscoso e classificadas como positiva, confirmando o teste de Gram.

4.1.2 Teste do sal de tetrazólio

O sal de tetrazólio em contato com os metabólitos bacterianos, é reduzido a vermelho de formazan, sendo o indicativo da atividade bacteriana. Quanto mais intensa a coloração avermelhada, maior a virulência do isolado (Ledethergl, 1948; Kelman, 1954).

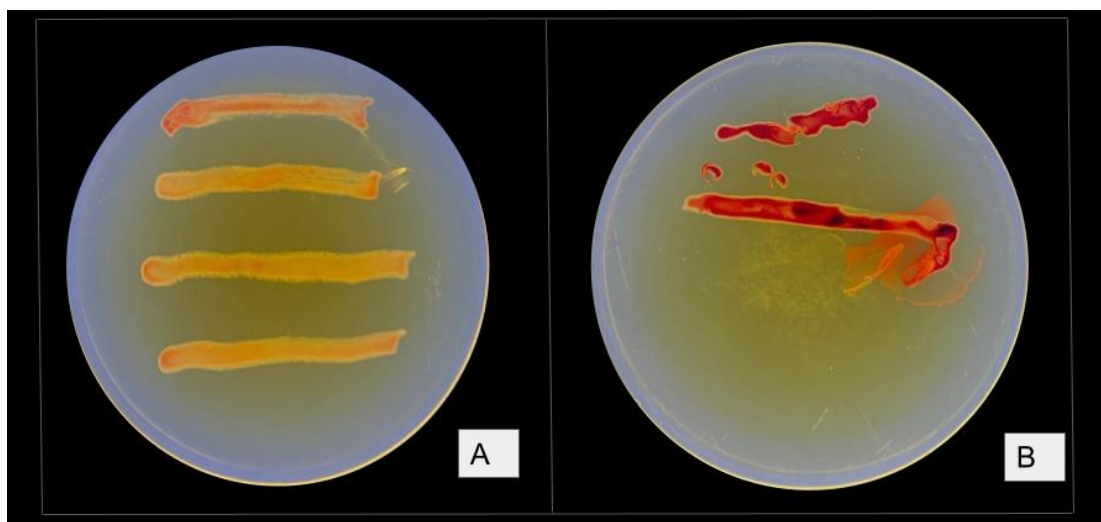


Figura 3. Teste do sal de tetrazólio em placas de Petri. (A) *Ralstonia* sp. isolada (B) *Ralstonia* sp. reisolada. Ambas as bactérias tiveram teste positivo para o sal de tetrazólio, expressando a coloração avermelhada.

4.1.3 Teste de catalase

A bactéria ao sintetizar essa enzima, foi capaz de reduzir o peróxido de hidrogênio em água e gás oxigênio. Quando ocorre essa reação, é observada a formação de bolhas nas unidades formadoras de colônia, sendo classificado como positivo e, na sua ausência, negativo. O isolado, e o reisolado apresentaram resultados positivos para catalase (Figura 4) (Okura; Rende, 2008).

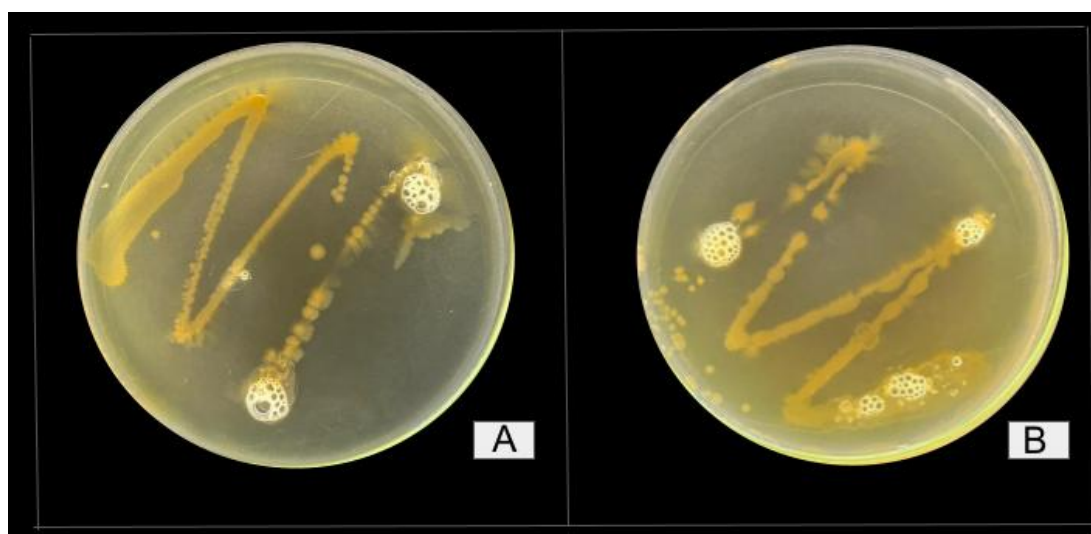


Figura 4. Teste catalase em placas de Petri. (A) *Ralstonia* sp. isolada (B) *Ralstonia* sp. re-isolada. |Em ambos testes foi observado a liberação de água e gás oxigênio, confirmando-o como positivo.

4.1.4 Fermentação de açúcares (lactose)

O resultado foi obtido após 24 horas de incubação em BOD, a $30 \pm 2^\circ\text{C}$. Considerando a fermentação positiva, quando as bactérias apresentam colônias de cor rosa em MacConkey. Em ambas as amostras, o isolado de *Ralstonia* sp. apresentou fermentação negativa da lactose (Figura 5) (MacConkey, 1905).

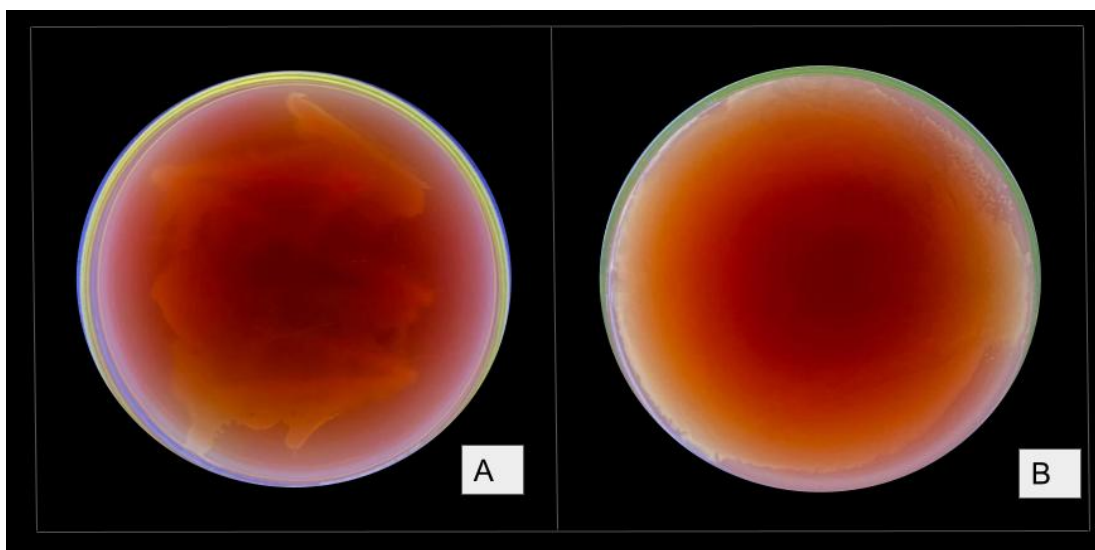


Figura 5. Fermentação da lactose em placas de Petri. (A) *Ralstonia* sp. isolada (B) *Ralstonia* sp. reisolada. Apresentaram colônias sem coloração, sendo classificadas como negativas.

A partir dos testes bioquímicos realizados foi possível classificar o isolado bacteriano como Gram negativo (confirmado pelos testes de Gram e do KOH), catalase positiva, e não fermentadora de açúcares (lactose). Além disso, o teste de tetrazólio confirmou a virulência do isolado. O reisolado da bactéria apresentou coloração mais intensa, que evidencia maior patogenicidade no reisolamento dos fragmentos sintomáticos. Com base nos resultados obtidos, caracterizou-se bioquimicamente e morfologicamente a bactéria como *Ralstonia* sp. (Rudrappa *et al*, 2016; Rachidatou Sikirou *et al.*, 2017).

4.2. Teste de patogenicidade

Após 30 dias da montagem do teste de patogenicidade, as plantas foram avaliadas. As testemunhas não apresentaram sintomas no sistema radicular, e na parte aérea, enquanto as mudas inoculadas com isolado de *Ralstonia* sp., apresentaram sintomas de podridão no colo, e redução do volume radicular, confirmando a patogenicidade do isolado (Figura 6).



Figura 6. (A) Teste de patogenicidade em casa de vegetação. (B) Testemunha. (C) Planta inoculada.

4.3. Avaliação *in vitro* dos produtos comerciais

Em ambos os experimentos no grupo controle, observou-se crescimento significativo da bactéria, com médias de $9,35 \times 10^7$ UFC/mL, e $1,03 \times 10^8$ UFC/mL nos experimentos 1 e 2, respectivamente. O tratamento T4 não apresentou diferença estatística em relação ao controle, com médias de $9,12 \times 10^7$ UFC/mL, e $7,76 \times 10^7$ UFC/mL respectivamente para os experimentos 1 e 2, demonstrando que não houve ação inibitória desse produto sobre *Ralstonia* sp., na dosagem testada.

Por outro lado, os tratamentos T2 e T3 inibiram completamente o crescimento bacteriano, em ambos os experimentos (10^1 UFC/mL), com rankings de eficácia

significativamente menores (5,5), em comparação ao controle, e ao produto à base de *T. asperellum*, que diferiram significativamente dos demais (Tabela 2).

Tabela 2. Médias das Unidades formadoras de colônias (UFCs) de *Ralstonia* sp. *in vitro*, nos diferentes tratamentos.

Tratamentos	UFC. mL ⁻¹ de <i>Ralstonia</i> sp.			
	Experimento 1	Rank	Experimento 2	Rank
(T1) Controle	9,35 x 10 ⁷ a *	15,4	1,03 x 10 ⁸ a	16,2
(T2) <i>Trichoderma asperellum</i> (isolado URM 5911)	9,12 x 10 ⁷ a*	15,6	7,76 x 10 ⁷ a	14,8
(T3) Extrato de leveduras, sulfato de cobre, sulfato de zinco e água.	10 ¹ b	5,5	0 x 10 ¹ b	5,5
(T4) Enzimas e metabólitos secundários	10 ¹ b	5,5	0 x 10 ¹ b	5,5

* Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal Wallis ($p \leq 0,05$). O ranking de eficácia reflete a posição relativa dos tratamentos em termos de inibição do crescimento bacteriano, sendo que valores menores indicam maior eficácia no controle de *Ralstonia* sp.

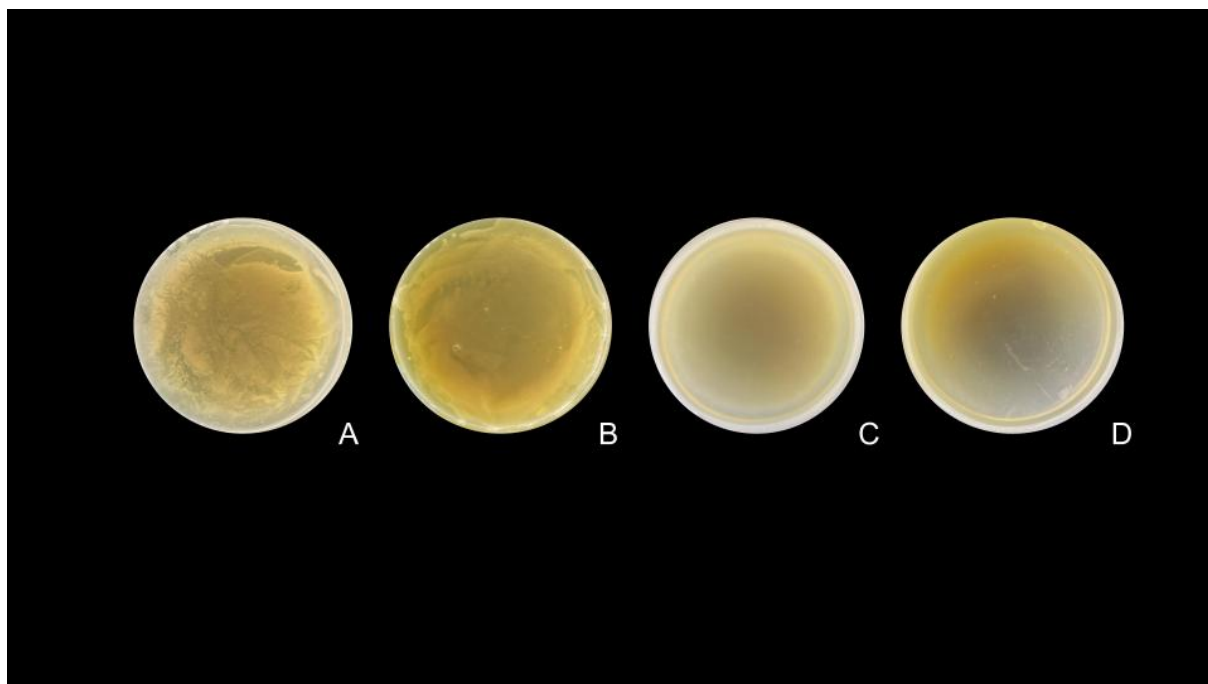


Figura 7. Visão placa de Petri dos tratamentos: (A) T1-Controle; (B) T2-*Trichoderma asperellum* (isolado URM 5911); (C) T3-Extrato de leveduras, sulfato de cobre, sulfato de zinco e água; (D) T4- Enzimas e metabólitos secundários.

O produto à base de enzimas e metabólitos secundários (T4) inibiu 100% o crescimento *in vitro* de *Ralstonia*, sua eficácia ocorre principalmente pela ação dos metabólitos, os quais já são amplamente utilizados na indústria agrícola. Estudos mostram que metabólitos como pirazina, e 2-etil-3-metil, são eficientes no controle *in vitro* de *Ralstonia*, e suas ações ocorrem, principalmente, devido à interferências na integridade da membrana celular, resultando em uma ação antibacteriana (Munjál *et al.*, 2016). Em outras pesquisas, metabólitos como os compostos orgânicos voláteis foram capazes de reduzir a população de *R. solanacearum* no solo em até 41%, suprimindo a população do patógeno, e auxiliando no manejo de doenças ocasionadas pela bactéria (Raza *et al.* 2016).

Assim como o tratamento 4, o produto à base de extrato de leveduras, sulfato de cobre e sulfato de zinco, também inibiu completamente o crescimento de *Ralstonia*, o qual é constituído principalmente de sulfato de cobre. As nanopartículas à base de cobre causam danos a diversos microrganismos. O cobre consegue interagir com peptídeos dentro da célula bacteriana, formando assim um complexo cobre(I)-peptídeo. Esse complexo quando formado pode inativar enzimas essenciais, interferindo no metabolismo, e podendo levar à morte celular. O cobre também está relacionado à inibição de fitopatógenos de importância, como *Fusarium oxysporum*, *Curvularia lunata* e *Alternaria alternata*, onde partículas menores de cobre

possuem maior relação superfície/volume, resultando em uma ação antimicrobiana eficiente (Chen *et al.*, 2019; Kanhed *et al.*, 2014).

O produto à base do fungo *Trichoderma asperellum*, não inibiu o crescimento de *Ralstonia* sp. *in vitro* (Tabela 2). Isso pode ter ocorrido devido ao fato da bactéria ter inibido o fungo, e o mesmo não conseguiu realizar o controle, conforme a mostra a Figura 7. A taxa multiplicação bacteriana é mais rápida, influenciado na supressão sobre o fungo. Embora não tenha sido analisado o crescimento do *T. asperellum*, foi percebido que o fungo não desenvolveu nas placas. Este resultado pode ser dado como reflexo da ação de compostos orgânicos voláteis (COVs), que são substâncias produzidas por algumas bactérias, como por exemplo, as do gênero *Bacillus*. Há relatos de COVs bacterianos na inibição de fungos habitantes do solo, entre eles o *Trichoderma* (Yuan *et al.* 2017; Li; Islam; Kang, 2019). Além disso, outros estudos apontam que a *Ralstonia* sp. tem a capacidade de produzir substâncias como a estafioferrina B, que é um tipo de sideróforo, composto orgânico que capta e solubiliza ferro. Pesquisas mostram que esses sideróforos podem inibir o crescimento de fungos, já que eles competem pelo ferro disponível no ambiente, dificultando a absorção desse nutriente por outros microrganismos e, assim, limitando o crescimento de várias espécies de fungos e bactérias (Bhatt; Denny, 2004; Santoyo *et al.*, 2023).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os testes bioquímicos confirmaram a bactéria isolada de tomateiro com sintomas de podridão no sistema vascular, e murcha, como *Ralstonia* sp., e a sua patogenicidade foi confirmada através dos postulados de Koch.

Os tratamentos T3 e T4 foram totalmente eficientes na inibição de *Ralstonia* sp. *in vitro*, enquanto, o T2 não apresentou ação inibitória sobre o isolado.

É necessário aprofundar os estudos para uma maior precisão na avaliação da eficácia dos produtos testados, realizando ensaios *in vivo* para verificar o controle de *Ralstonia* sp. no tomateiro.

REFERÊNCIAS

- AHMED, W. et al. *Ralstonia solanacearum*, a deadly pathogen: revisiting the bacterial wilt biocontrol practices in tobacco and other solanaceae. **Rhizosphere**, [S.L.], v. 21, p. 100479, mar. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100479>.
- ANTUNIASSI U.R. (2011) Tecnologia de aplicação de fungicidas para culturas anuais. **Tropical Plant Pathology** 36 (Supplement):1329-1332.
- ÁLVAREZ, B. et al. Survival strategies and pathogenicity of *Ralstonia solanacearum* phylotype II subjected to prolonged starvation in environmental water microcosms. **Microbiology**, [S.L.], v. 154, n. 11, p. 3590-3598, 1 nov. 2008. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/mic.0.2008/019448-0>.
- ÁLVAREZ, B. et al. *Ralstonia solanacearum* Facing Spread-Determining Climatic Temperatures, Sustained Starvation, and Naturally Induced Resuscitation of Viable but Non-Culturable Cells in Environmental Water. **Microorganisms**, [S.L.], v. 10, n. 12, p. 2503, 16 dez. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms10122503>.
- ARAÚJO, J. C. et al. Parâmetros físico-químicos e sensoriais de cultivares de tomateiro cultivadas em sistemas orgânicos. **Horticultura Brasileira**, v.32, n.2, p.205-209, 2014. doi: [10.1590/S0102-05362014000200015](https://doi.org/10.1590/S0102-05362014000200015)
- BRUCKER, M. Gram staining A Useful Laboratory Technique. **Journal Of Nurse-Midwifery**, [S.L.], v. 31, n. 3, p. 156-158, maio 1986. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0091-2182\(86\)90154-0](http://dx.doi.org/10.1016/0091-2182(86)90154-0).
- BHATT, G.; DENNY, T. P. *Ralstonia solanacearum* Iron Scavenging by the Siderophore Staphyloferrin B Is Controlled by PhcA, the Global Virulence Regulator. **Journal of Bacteriology**, v. 186, n. 23, p. 7896–7904, dez. 2004.
- CALDWELL, D. et al. *Ralstonia solanacearum* differentially colonizes roots of resistant and susceptible tomato plants. **Phytopathology**, v. 107, n. 5, p. 528-536, 2017.
- CHEN, J. et al. Various antibacterial mechanisms of biosynthesized copper oxide nanoparticles against soilborne *Ralstonia solanacearum*. **RSC Advances**, v. 9, n. 7, p. 3788–3799, 2019.
- Cox FR, Cox ME, Martin JR Teste rápido de urease para micobactérias: observações preliminares. **J. Clin. Microbiol.** 1977;5(6):656–657. doi: 10.1128/jcm.5.6.656- 657.1977.
- DA PAZ, Manoela Guimarães Ferreira. **Controle biológico de *Ralstonia solanacearum* na cultura do tabaco no Recôncavo Baiano**. 2023. Dissertação (Mestrado em Defesa Agropecuária) — Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2023.
- Doença da murcha bacteriana: mecanismos de resistência do hospedeiro e virulência do patógeno EMBRAPA. (2021) Doenças bacterianas. In: Sistema de Produção – **Tomate Industrial**. Embrapa, 2ª edição.

EPPO. EPPO Standards PM 7/21. Diagnostic protocols for regulated pests: *Ralstonia solanacearum*. EPPO Bull, **Oxford**, v. 34, p. 173-178, 2004.

Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAOSTAT. 2023. **Agricultural production statistics** 2000-2022. Available in: <https://openknowledge.fao.org/items/43fde039-dc0f-484a-97ef-e2e335c0bf1a> Acesso em: 18 de fevereiro de 2025.

FEGAN, M.; PRIOR, P. How complex is the *Ralstonia solanacearum* species complex? Em: ALLEN, C. P. P. H. A. C. (Ed.). Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. APS Press ed. Sr Paul: **Phytopathological Society**, 2005. p. 449–461.

, F. A. R. **Novo manual de Olericultura**: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 1.ed. Viçosa: UFV, 2008.

FREITAS, M. A. et al. **Patogenicidade de isolados de Fusarium spp.** EM SOJA/Pathogenicity of *Fusarium* spp. isolates at soybean. 2018.

FILGUEIRA, F. A. R. Solanáceas II – **Tomate: A hortaliça cosmopolita**. In: FILGUEIRA, F. A. R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2.ed. rev. e ampl. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 412p.

GENIN, S. Molecular traits controlling host range and adaptation to plants in *Ralstonia solanacearum*. **New Phytologist**, [S.L.], v. 187, n. 4, p. 920-928, 28 jul. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03397.x>.

HAYWARD, A. C; HARTMAN, G. L. (Eds.) **Bacterial wilt** - The disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. Wallingford: CAB International, 1994, p. 9-24.

HIDA, A. et al. Identification of the *mcpA* and *mcpM* genes, encoding methyl-accepting proteins involved in amino acid and l-malate chemotaxis, and involvement of *McpM*-mediated chemotaxis in plant infection by *Ralstonia pseudosolanacearum* (formerly *Ralstonia solanacearum* phylotypes I and III). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 21, p. 7420-7430, 2015.

HERNÁNDEZ-ROMANO, J.; RAMÍREZ-ROJAS, S.; YDRAC-MORALES, C.J.. First report of *Ralstonia solanacearum* causing tomato bacterial wilt in Mexico. **New Disease Reports**, [S.L.], v. 26, n. 1, p. 22-22, jul. 2012. Wiley. <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2012.026.022>.

HUET G. (2014). Breeding for resistances to *Ralstonia solanacearum*. *Frontiers in Plant Science*, 5: 1-5.

IBGE. **Produção de tomate** 2023. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/tomate/br>>. Acesso em: 18 de fevereiro de 2025.

KANHED, P. et al. In vitro antifungal efficacy of copper nanoparticles against selected crop pathogenic fungi. **Materials Letters**, v. 115, p. 13–17, jan. 2014.

Kelman, A. (1954). Relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. **Phytopathology**, 44, 693-695.

KIM, B.-S. et al. Bacterial wilt disease: Host resistance and pathogen virulence mechanisms. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 95, p. 37–43, jul. 2016. Doi: [10.1016/j.pmpp.2016.02.007](https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2016.02.007)

LEDERBERG, J. Detection of Fermentative Variants with Tetrazolium. **Journal Of Bacteriology**, [S.L.], v. 56, n. 5, p. 695-695, nov. 1948. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jb.56.5.695-695.1948>.

LI, N.; ISLAM, M. T.; KANG, S. Secreted metabolite-mediated interactions between rhizosphere bacteria and *Trichoderma* biocontrol agents. **Plos One**, v. 14, n. 12, p. e0227228–e0227228, 30 dez. 2019.

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

MANSFIELD, J. et al. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v.13, n. 6, p. 614-629, jun. 2012.

MACCONKEY, A. **Lactose-fermenting bacteria in faeces**. **Epidemiology & Infection**, v. 5, p. 333-379, 1905.

MEHAN, V. K; LIAO, B. S. (1994). Murcha bacteriana do amendoim: passado, presente e futuro. In: MEHAN VK; McDonald, D. (Org.) **Groundnut Bacterial Wilt in Asia**, anais da Terceira Reunião do Grupo de Trabalho, OCRI, Wuhan, China, p. 67 –88.

MINA, I. R. et al. The critical role of biofilms in bacterial vascular plant pathogenesis. **Plant Pathology**, v. 68, n. 8, p. 1439–1447, jul. 2019.

MUNJAL, V. et al. Genotyping and identification of broad spectrum antimicrobial volatiles in black pepper root endophytic biocontrol agent, *Bacillus megaterium* BP17. **Biological Control**, v. 92, p. 66–76, jan. 2016.

OBOO, H. et al. Effect of selected essential oil plants on bacterial wilt disease development in potatoes. **Journal Of Applied Biosciences**, [S.L.], v. 78, n. 1, p. 6666-6674, 29 jul. 2014. Elewa Biosciences, F.a.C.T Ltd (K). <http://dx.doi.org/10.4314/jab.v78i1.2>.

OKURA, M. H.; RENDE, J. C. **Microbiologia**: roteiros de aulas práticas. 1. ed. Tecmedd, 2008.

PAUDEL, S.; DOBHAR, S.; ALVAREZ, AM; ARIF, M. (2020). Taxonomia e Pesquisa Filogenética no Complexo de Espécies *Ralstonia solanacearum*: Um Patógeno Complexo com Consequências Econômicas Extraordinárias. **Patógenos**, 9, 886.

PEIXOTO, Ana Rosa. Controle biológico da murcha bacteriana do tomateiro, por *Pseudomonas* spp. fluorescentes. **Ciência Rural**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 153-160, mar. 1997. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-84781997000100027>. PETRUCELLI, A. Estudo de viabilidade de uma agroindústria de tomates e polpas na cidade de taquaritinga-sp. **Revista**

Interface Tecnológica, [S.L.], v. 19, n. 2, p. 797-809, 20 dez. 2022. Interface Tecnológica. <http://dx.doi.org/10.31510/inf.v19i2.1541>.

PHIRI, T. M. et al. An Evaluation of Bacterial Wilt (*Ralstonia solanacearum*) Resistance in a Set of Tomato Germplasm from the United States Department of Agriculture. **Agronomy**, v. 14, n. 2, p. 350, 1 fev. 2024.

PINHEIRO, C. R. et al. Diversidade genética de isolados de *Ralstonia solanacearum* e caracterização molecular quanto a filotipos e sequevares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 6, p. 593–602, 2011.

PINHO, G. P. et al. Influence of tomato components in the quantification of four pesticides by gas chromatography. **Journal of the Brazilian Chemical Society (Impresso)**, v. 23, p. 294-300, 2012. doi: 10.1590/S0103-50532012000200015

PRIOR, P. et al. Genomic and proteomic evidence supporting the division of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum* into three species. **BMC Genomics**, v. 17, n. 1, p. 1–11, 2016.

RACHIDATOU S. et al. Distribution, pathological and biochemical characterization of *Ralstonia solanacearum* in Benin. **Annals of Agricultural Sciences**. v. 62, n. 1, p. 83–88, 1 jun. 2017.

RAZA, W. et al. Effects of volatile organic compounds produced by *Bacillus amyloliquefaciens* on the growth and virulence traits of tomato bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 100, n. 17, p. 7639-7650, 17 maio 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-016-7584-7>.

RUDRAPPA, K. B. et al. Cultural and Biochemical Characterization of *Ralstonia solanacearum* Causing Bacterial Wilt in Tomato. **Journal Of Pure And Applied Microbiology**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 3111-3115, 31 dez. 2016. Journal of Pure and Applied Microbiology. <http://dx.doi.org/10.22207/jpam.10.4.86>.

SALAMZADEH, J. et al. Occurrence of multiclass pesticide residues in tomato samples collected from different markets of Iran. **Journal Of Environmental Health Science And Engineering**, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 55-63, 7 maio 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s40201-018-0296-4>.ali

SALAS, F. J. S.; TÖFOLI, J. G. **Cultura da Batata: Pragas e Doenças**. 1. ed. São Paulo: Instituto Biológico, 2017.

SANTIAGO, T. R. et al. Phylotype and sequevar variability of *Ralstonia solanacearum* in Brazil, an ancient centre of diversity of the pathogen. **Plant Pathology**, [S.L.], v. 66, n. 3, p. 383-392, 14 ago. 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ppa.12586>.

SANTOYO, G. et al. Papel de los sideróforos en la actividad antagónica de *Pseudomonas fluorescens* ZUM80 hacia hongos fitopatógenos. **Terra Latinoamericana**, v. 28, n. 1, p. 53–60, 2023.

SCHAAD, N. W. et al. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, Third Edition. N. W. Schaad, J. B. Jones and W. Chun (eds). 22 × 28 cm, 373 pp. St Paul, USA: american phytopathological society press [http. **Plant Pathology**, [S.L.], v. 50, n. 6, p. 812-814, dez. 2001. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-3059.2001.00635.x>.

SILVA, M. do S. M. da; et al. Potencial produtivo de dois cultivares de tomate, plantados em sucessão ao milho, visando diminuir a incidência de Murcha Bacteriana. In: **Congresso Brasileiro De Olericultura**, 51., 2011, Viçosa. Anais. Viçosa: ABH, 2011. p. 2601-2608.

SMITH, E. "Uma doença bacteriana do tomate, berinjela e batata irlandesa. "US Dept. Agric. Div. Veg. Física Caminho. Touro, 1-26. 1896.

SUSLOW, T. V. Application of a Rapid Method for Gram Differentiation of Plant Pathogenic and Saprophytic Bacteria Without Staining. **Phytopathology**, [S.L.], v. 72, n. 7, p. 917, 1982. Scientific Societies. <http://dx.doi.org/10.1094/phyto-72-917>.

TORTORA, G. J. et al. **Microbiologia**. 8.ed. Porto Alegre: Artmed, 894 p, 2006.

TSUZUKI, M. et al. Infection route in tomato roots and quorum sensing of *Ralstonia pseudosolanacearum* strain OE1-1. **Physiological And Molecular Plant Pathology**, [S.L.], v. 125, p. 101995, maio 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.101995>.

Yuan J. et al. Compostos voláteis microbianos alteram a comunidade microbiana do solo. *Environ Sci Pollut Res*. 2017;24: 22485–22493.