



UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS PATO BRANCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA



JOSÉ GILBERTO SOUSA MEDEIROS

**REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE PESSEGUEIRO A BACTERIOSE
CAUSADA POR *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni***

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO
2009

JOSÉ GILBERTO SOUSA MEDEIROS

**REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE PESSEGUEIRO A BACTERIOSE
CAUSADA POR *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni***

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Agronomia, do Programa de Pós Graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Área de concentração: Sistemas de Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Idemir Citadin

Co-orientadores: Prof. Dr. Idalmir dos Santos
Prof. Dr. Sérgio Miguel Mazaro.

PATO BRANCO
2009

M488r	<p>Medeiros, José Gilberto Sousa Reação de Genótipos de Pessegueiro a Bacteriose Causada por <i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>pruni</i>. / José Gilberto Sousa Medeiros. Pato Branco. UTFPR, 2009. 79 f. il; 30 cm Orientador: Prof. Dr. Idemir Citadin Co-orientadores: Prof. Dr. Idalmir dos Santos e Sérgio Miguel Mazaró</p> <p>Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, 2009.</p> <p>1. <i>Prunus persica</i>. 2. Bacteriose. 3. Incidência. 4. Severidade. I. Citadin, Idemir, orient. II. Santos, Idalmir dos; Mazaró, Sérgio Miguel, co-orient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.</p> <p>CDD: 22ª 630 CDD: 22ª 634.25</p>
-------	---



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Pato Branco
Gerência de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação nº 010

Reação de genótipos de pessegueiro a bacteriose causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *Pruni*

por

José Gilberto Sousa Medeiros

Dissertação apresentada às oito horas do dia vinte e sete de fevereiro de dois mil e nove, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Sistemas de Produção Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Pato Branco. O candidato foi argüido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho... **APROVADO**.....

Banca examinadora:

Dra. Maria do Carmo Bassols Raseira
EMBRAPA

Dr. Idalmir dos Santos
UTFPR

Dr. Sérgio Miguel Mazaro
UTFPR

Dr. Idemir Citadin
UTFPR
Orientador

Visto da Coordenação:

Prof. Dr. Idemir Citadin
Coordenador do PPGA

Dedico este trabalho:

“Aos meus pais João e Dora, que não pouparam esforços para a minha formação, especialmente por todo amor, carinho, dedicação e incentivo constante, pelo exemplo de vida e apoio incondicional”.

“A Neila, esposa querida, amor da minha vida, pelo carinho, amor, compreensão, incentivo e paciência”.

“Aos meus filhos Rogério e Renan, razão de viver, luzes que iluminam minha vida”.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida. E a “Nossa Senhora de Nazaré”, padroeira dos paraenses. “Virgem Mãe amorosa, fonte de amor e de fé...”

Ao Prof. Dr. Idemir Citadin, pela sua paciência e dedicação ao processo de orientação e particularmente por ter acreditado em mim ao longo desta etapa de minha vida, contribuindo para me tornar um profissional cada vez melhor.

Aos professores Idalmir dos Santos e Sérgio Miguel Mazaro, pela co-orientação, compreensão e ensinamentos.

A UTFPR, pela oportunidade de realização deste curso.

A EAFC-PA, pela liberação para realização do mestrado.

A CAPES pela concessão de bolsa.

Aos meus amigos de Castanhal-Pará pelo incentivo, apesar da distância, tudo teria sido muito mais difícil.

Aos amigos de Pato Branco, que acolheram a mim e a minha família, estarão eternamente no meu coração, em especial a Eliane Domingues e Joelma Bussato da UTFPR e os vizinhos Quéia, Ivone, Vanuza, Mano, Vera, Valquiria e Beto Geron.

Aos colegas Ana Cláudia, Carlos Mezzomo, Cláudia Manteli, Edison Pin, Emanuelle, Frank, Gederson, Greice, Henrique, Joice, Lúcia, Marcel, Maríndia, Moeses, Nelson, Peterson, Roque, Rúbia, Salete, Simone, Sônia e Valtencir, pela feliz convivência.

Aos professores do PPGA José Abramo Marchese, Luís César Cassol, Thomas N. Martin e Thelma Belmonte do CALEM, pelo aprendizado.

Ao Willian Secco e a Sabrina Santos Guimarães do laboratório de Fitopatologia e Bioquímica do *Campus* Dois Vizinhos, pela colaboração nas análises laboratoriais.

Ao colega Moeses Andriago Danner pela contribuição nas análises estatísticas.

Aos estagiários de Fruticultura, em especial ao André Assmann, Mauro Locatelli, Silvia Scariot, Gustavo Mallagi, Rodrigo Ambrósio e Marcos Sachet, a juventude de vocês me fortaleceu nesta caminhada, obrigado pela contribuição nas atividades de campo e laboratoriais, e pelos momentos divertidos que compartilhamos.

Ao “seu Otávio” e Sérgio pela contribuição nas atividades de campo.

A Polyane Mayer, secretária do PPGA, pela forma atenciosa em sempre nos atender bem.

A todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho e que não estão aqui citados.

Quando alguém encontra seu caminho
precisa ter coragem suficiente para dar passos errados.
As decepções, as derrotas, o desânimo são ferramentas que
Deus utiliza para mostrar a estrada.
(Paulo Coelho)

BIOGRAFIA DO AUTOR

JOSÉ GILBERTO SOUSA MEDEIROS, filho de João Alves da Silva Medeiros e Doralice Sousa Medeiros, nasceu em Castanhal-Pará em 07 de novembro de 1961. É casado com Neila Ruth Corrêa Medeiros e pai de dois filhos, Rogério Corrêa Medeiros e Renan Antonio Corrêa Medeiros.

Cursou o ensino fundamental no Colégio São José e o Ensino Médio na Escola Agrotécnica Federal de Castanhal-Pará. Formado em Agronomia pela Faculdade de Ciências Agrárias do Pará - FCAP, hoje Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, em 1985.

Cursou Pós-Graduação em nível de especialização em Heveicultura pela SUDHEVEA/FCAP. Fez Licenciatura Plena pelo CEFET-PR, atual UTFPR.

Iniciou sua vida profissional como Agrônomo da Secretaria de Estado de Agricultura do Pará, sendo posteriormente cedido para a Superintendência do Sistema Penal para trabalhar na implantação da Colônia Agrícola Penal do Estado, onde ocupou o cargo de vice-diretor. Trabalhou como Coordenador de Abastecimento, Secretário de Suprimentos e Licitações e Secretário Municipal de Obras e Urbanismo na Prefeitura Municipal de Castanhal-Pará. E, a partir de 1998 como professor de agricultura do quadro permanente da Escola Agrotécnica Federal de Castanhal-Pará, tendo exercido também as funções de Coordenador de Cursos Técnicos, Assessor da Direção Geral e Diretor do Departamento de Ensino.

Em março de 2007 ingressou no Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – PPGA, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Campus* Pato Branco, área de concentração Produção Vegetal linha de pesquisa Sistemas de Produção Vegetal.

RESUMO

MEDEIROS, José Gilberto Sousa. **Reação de Genótipos de Pessegueiro a Bacteriose Causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni***. 2009. 79f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2009.

A bacteriose do pessegueiro causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* é uma das principais doenças da cultura no Brasil e na maioria das regiões produtoras do mundo. A utilização de cultivares resistentes é um instrumento para reduzir o progresso da doença. Este trabalho teve como objetivo avaliar e classificar genótipos de pessegueiro quanto à sensibilidade a *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. Assim, foram realizados três experimentos visando avaliar a reação de genótipos de pessegueiro em diferentes situações. No experimento em condições naturais se avaliou a incidência, a severidade e a desfolha ocasionada pela doença. Os genótipos avaliados apresentaram níveis diferentes de sensibilidade, sendo que os genótipos Conserva 985, Conserva 1129, Conserva 871 e 'Tropic Snow' apresentaram-se como os mais resistentes, enquanto que 'Bonão', Conserva 1125, 'Atenas' e Conserva 1153 os mais suscetíveis. Em laboratório se avaliou a severidade da bacteriose em folhas destacadas e inoculadas com *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* em oito genótipos de pessegueiro, selecionados no experimento em condições naturais. Mensurou-se, também, a atividade de alguns compostos bioquímicos relacionados à patogênese em dois genótipos mais resistentes e dois mais suscetíveis. Com base nos resultados obtidos conclui-se que a técnica de inoculação por infiltração em folhas destacadas é viável para identificar genótipos resistentes à bacteriose; os genótipos Conserva 985 e Conserva 1129 apresentaram-se como os mais resistentes, enquanto que Conserva 1125, 'Atenas' e Conserva 1153 os mais suscetíveis; não foi possível relacionar a resistência à bacteriose com os compostos bioquímicos estudados. Em ambiente controlado (estufa) se avaliou a progressão da doença em plantas juvenis, através dos níveis de severidade nas folhas, utilizando os mesmos genótipos do experimento em laboratório. Os resultados obtidos foram similares aos experimentos anteriores e ratificaram a resistência dos genótipos Conserva 985 e Conserva 1129 e de suscetibilidade dos genótipos Conserva 1153, 'Bonão' e 'Atenas' a bacteriose causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*.

Palavras-chave: *Prunus persica*. Bacteriose. Incidência. Severidade.

ABSTRACT

MEDEIROS, José Gilberto Sousa. **Reaction of peach trees genotypes to bacterial spot caused by *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni***. 2009. 79f. Dissertation (Master) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2009.

The bacterioses of peach caused by *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* is an of the majors diseases of the peach orchard in Brazil and in the most of producing regions of the world. The use of resistant cultivars is a tool to reduce disease progresses in commercial orchards. This work aimed to evaluate and classify peaches genotypes which the sensitivity to *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. Thus, three experiments were performed to evaluate the reaction of genotypes of peach in different situations. In the experiment under natural conditions, it was evaluated the incidence, severity and defoliation caused by bacterial spot. The genotypes showed different levels of sensitivity, and the genotypes Conserva 985, Conserva 1129, Conserva 871 and 'Tropic Snow' were the most resistant, while 'Bonão', Conserva 1125, 'Atenas' and Conserva 1153 was the most susceptible ones. In laboratory, it was evaluated the severity of bacterial spot in detached peach leaf, inoculated with *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* in eight genotypes of peach, selected in the experiment under natural conditions. It was measured the activated of some biochemical compounds related to the pathogenesis in two resistant genotypes and two susceptible ones. Based on the results, it was concluded that the detached-leaf bioassay, inoculated by infiltration, is possible to use for identify resistant bacterial spot genotypes. The genotypes that showed the lowest rates of disease were Conserva 985 and Conserva 1129, while Conserva 1153, Atenas and Conserva 1125 showed the highest rates; it was not possible to identify a biochemical compound related to bacterial spot resistance. In a controlled environment (greenhouse), it was evaluated the progression of the disease in young plants through the levels of bacterial spot severity on the leaves, using the same genotypes of the experiment in the laboratory. The results were similar with the previous results confirming the resistance of Conserva 985 and Conserva 1129, and the susceptibility of Conserva 1153 and 'Atenas' to bacterial spot caused by *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*.

Key words: *Prunus persica*. Bacterioses. Incidence. Severity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Escala diagramática para avaliação da severidade de bacteriose em pessegueiro causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, proposta por Citadin et al. (2008).....32
- Figura 2 – Folhas destacadas de pessegueiro e inoculadas com *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.....34
- Figura 3 – Embalagem plástica N 10 com folhas destacadas de pessegueiro e inoculadas com *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. UTFPR - Campus Pato Branco, 2009.....35
- Figura 4 – Folhas destacadas de pessegueiro e inoculadas com *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, na câmara de crescimento. UTFPR - Campus Pato Branco, 2009.....35
- Figura 5 – Disposição dos genótipos de pessegueiro na casa de vegetação do Cenbapar para avaliação de severidade ocasionada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.41
- Figura 6 – Nebulização das plantas juvenis de pessegueiro na casa de vegetação do Cenbapar. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.....41
- Figura 7 – Curvas de incidência, severidade e desfolha ocasionada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, média de todos os genótipos de pessegueiro avaliados no ciclo 2006/2007. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.....44
- Figura 8 – Evolução da severidade da doença causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* em 8 genótipos de pessegueiro avaliados no ciclo 2006/2007. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.45
- Figura 9 – Temperaturas Máximas, Médias e Mínimas da região de Pato Branco no período de novembro de 2006 a fevereiro de 2007. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.46
- Figura 10 – Precipitação e Umidade Relativa do Ar da região de Pato Branco no período de novembro de 2006 a fevereiro de 2007. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.....46
- Figura 11 – Temperaturas Máximas, Médias e Mínimas da região de Pato Branco no período de novembro de 2007 a fevereiro de 2008. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.51
- Figura 12 – Precipitação e Umidade Relativa do Ar da região de Pato Branco no período de novembro de 2007 a fevereiro de 2008. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.....51

- Figura 13 - Severidade da doença baseada na escala de notas proposta por Civerolo e Keil (1976), em folhas destacadas de genótipos de pessegueiro. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). UTFPR - *Campus* Pato Branco, 2009. C.V (%) = 9,28.....53
- Figura 14 – Evolução dos teores de açúcares redutores em folhas de genótipos de pessegueiro, com inoculação (CI) e sem inoculação (SI) de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, em diferentes períodos de incubação. As barras indicam o desvio padrão. UTFPR - *Campus* Pato Branco, 2009.....55
- Figura 15 – Evolução dos teores de açúcares totais em folhas de genótipos de pessegueiro, com inoculação (CI) e sem inoculação (SI) de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, em diferentes períodos de incubação. As barras indicam o desvio padrão. UTFPR - *Campus* Pato Branco, 2009.....56
- Figura 16 – Evolução dos teores de proteínas totais em folhas de genótipos de pessegueiro, inoculadas com *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, em diferentes períodos de incubação. UTFPR - *Campus* Pato Branco, 2009.57
- Figura 17 – Evolução dos teores de fenóis determinados em folhas de genótipos de pessegueiro, com inoculação (CI) e sem inoculação (SI) de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, em diferentes períodos de incubação. As barras indicam o desvio padrão. UTFPR - *Campus* Pato Branco, 2009.....58
- Figura 18 – Evolução dos teores de peroxidases em folhas de genótipos de pessegueiro, com inoculação (CI) e sem inoculação (SI) de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, em diferentes períodos de incubação. As barras indicam o desvio padrão. UTFPR - *Campus* Pato Branco, 2009.....60
- Figura 19 – Atividade da fenilalanina amonialiase (FAL) em folhas de genótipos de pessegueiro, com inoculação (CI) e sem inoculação (SI) de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, em diferentes períodos de incubação. As barras indicam o desvio padrão. UTFPR - *Campus* Pato Branco, 2009.....62
- Figura 20 – Severidade da bacteriose ocasionada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* em folhas de genótipos de pessegueiro mantidos em ambiente controlado. UTFPR - *Campus* Pato Branco, 2009.....63
- Figura 21 – Médias horárias de temperaturas no período de 28/08 a 30/10/2008, ocorridas na casa de vegetação. As barras indicam o desvio padrão. UTFPR - *Campus* Pato Branco, 2009.64

- Figura 22 – Reação de genótipos de pessegueiro a bacteriose ocasionada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* em ambiente controlado. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.66
- Figura 23 – Folha da cultivar ‘Bonão’ com alta severidade, ocasionada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* em ambiente controlado. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.66

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Genealogia dos genótipos de pessegueiro utilizados nos experimentos. UTFPR – *Campus* Pato Branco, 2009.....30
- Tabela 2 – Escala de notas para avaliação da reação de folhas destacadas de pessegueiro inoculadas com *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, pelo método de infiltração com seringa plástica sem agulha. UTFPR – *Campus* Pato Branco, 2009.36
- Tabela 3 – Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para incidência, severidade e percentual de desfolha ocasionada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, em genótipos de pessegueiro, em condições naturais no ciclo 2006/2007. UTFPR - *Campus* Pato Branco, 2009.....43
- Tabela 4 – Número de dias decorridos da plena brotação dos genótipos de pessegueiro até cada avaliação, no ciclo 2006/2007. UTFPR – *Campus* Pato Branco, 2009.47
- Tabela 5 – Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para incidência, severidade e percentual de desfolha ocasionados por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, em genótipos de pessegueiro, em condições naturais no ciclo 2007/2008, UTFPR - *Campus* Pato Branco, 2009.....49
- Tabela 6 – Número de dias decorridos da plena brotação dos genótipos de pessegueiro até cada avaliação, no ciclo 2007/2008. UTFPR – *Campus* Pato Branco, 2009.52
- Tabela 7 – Caracterização dos sintomas de bacteriose ocasionada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* em folhas de genótipos de pessegueiro avaliados em ambiente controlado. UTFPR - *Campus* Pato Branco, 2009.....65

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 A CULTURA DO PESSEGUEIRO.....	18
2.2 A BACTERIOSE	20
2.3 CONTROLE DA BACTERIOSE E MECANISMOS DE RESISTÊNCIA.....	24
2.4 TÉCNICAS DE AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À BATERIOSE	25
2.5 DEFESAS BIOQUÍMICAS.....	26
3 MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA EXPERIMENTAL.....	29
3.2 GENEALOGIA DO GERMOPLASMA.....	29
3.3 AVALIAÇÃO DA INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DE BACTERIOSE OCACIONADA POR <i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>pruni</i> EM FOLHAS DE PESSEGUEIRO, EM CONDIÇÕES NATURAIS.	31
3.4 AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DE BACTERIOSE EM FOLHAS DESTACADAS DE PESSEGUEIRO INOCULADAS POR INFILTRAÇÃO COM <i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>pruni</i>	32
3.4.1 Obtenção do Inóculo	33
3.4.2 Material Vegetal	33
3.4.3 Inoculação	33
3.4.4 Incubação.....	35
3.4.5 Análises Bioquímicas	36
3.5 AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DE BACTERIOSE OCACIONADA POR <i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>pruni</i> EM FOLHAS DE PESSEGUEIROS CULTIVADOS EM AMBIENTE CONTROLADO.	39
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1 AVALIAÇÃO DA INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DE BACTERIOSE OCACIONADA POR <i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>pruni</i> EM FOLHAS DE PESSEGUEIRO, EM CONDIÇÕES NATURAIS.	42
4.1.1 Avaliações no ciclo 2006/2007	42
4.1.2 Avaliações no ciclo 2007/2008.....	47
4.2 AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DE BACTERIOSE EM FOLHAS DESTACADAS DE PESSEGUEIRO INOCULADAS POR INFILTRAÇÃO COM <i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>pruni</i>	52
4.2.1 Análises Bioquímicas	54
4.3 AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DE BACTERIOSE OCACIONADA POR <i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>pruni</i> EM FOLHAS DE PESSEGUEIROS CULTIVADOS EM AMBIENTE CONTROLADO.	62
5 CONCLUSÕES	67
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	68
REFERÊNCIAS	69
APÊNDICES	76

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a cultura do pessegueiro vem se expandindo em área e produção, devido ao crescimento da demanda interna. Contudo, esse crescimento ainda é insuficiente para atender o mercado nacional, sendo que no ano de 2007 foram importadas aproximadamente 10.700 toneladas da fruta fresca e cerca de 7.000 toneladas da fruta processada. A exportação da fruta *in natura* é praticamente nula, já em compotas são exportadas cerca de 720 toneladas (IBRAF, 2008).

Apesar de ser considerada uma cultura típica de clima temperado, o pessegueiro é atualmente cultivado nas mais variadas condições de clima e solo. Isso se deve ao intenso trabalho de melhoramento, que criou cultivares melhores adaptadas às diversas condições. Encontram-se plantios distribuídos entre regiões de alto acúmulo de frio (600 a 1.200 horas de frio abaixo de 7,2°C), até em regiões praticamente desprovidas de frio hibernal (menos de 100 horas abaixo de 7,2°C) (BARBOSA et al., 1990).

A produção de frutos precoces (setembro a novembro), possibilitada pela inserção da cultura em regiões de clima subtropical, é economicamente importante, pois possibilita abastecer o mercado nacional em período de baixa oferta e alta demanda.

A expansão da cultura para regiões de clima subtropical úmido proporcionada pela seleção e lançamento de cultivares de baixa necessidade de frio hibernal, revela a importância de algumas doenças que ocorrem na cultura. Dentre essas se destaca a doença causada pela bactéria *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, para o qual o controle químico é pouco eficiente (WERNER et al., 1986). No Brasil ainda não foram desenvolvidas cultivares que apresentem boa tolerância a esta doença, genótipos de outros países, que são considerados resistentes à bacteriose não apresentaram a mesma resistência no Brasil, seja pelas condições climáticas propícias ao desenvolvimento da doença e/ou pela agressividade das estirpes brasileiras da bactéria, fato que agrava ainda mais o problema. Doenças causadas por bactérias fitopatogênicas são de difícil controle, e a maioria das medidas disponíveis para esse fim é de caráter preventivo (ROMEIRO, 2000).

Atualmente este controle está limitado ao uso de antibióticos, o que é bastante caro, ou a aplicação constante de produtos cúpricos no pomar, restrita ao período de dormência da planta, e mais recentemente a utilização de indutores de resistência (MAY DE MIO; GARRIDO; UENO, 2004; BOUDON; MANCEAU; NOTTÉGHM, 2005). Assim a utilização de fontes de resistência varietal torna-se um instrumento para auxiliar no controle da doença (CITADIN et al., 2005).

A detecção segura de germoplasma de pessegueiro resistentes ou tolerantes a bacteriose, com potencial de utilização em regiões de clima subtropical, assume papel estratégico. Essa estratégia permite reduzir custos de produção, viabilizando a cultura nessas áreas, e também fomentar programas de melhoramento genético da espécie, com possibilidade de incorporar às novas seleções a característica de resistência à *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*.

A resistência a patógenos pode ser determinada por caracteres qualitativos ou quantitativos. Quando a resistência é controlada por um ou poucos genes, resulta em classes distintas de plantas resistentes e/ou suscetíveis, é considerada qualitativa. Entretanto, a resistência que apresenta variação contínua entre os genótipos é considerada quantitativa. A resistência qualitativamente herdada é comumente relacionada à resistência vertical ou específica. A resistência vertical envolve mecanismo de defesa do hospedeiro cuja herança genética é governada por gens isolados ou específicos, de fácil manuseio nos programas de melhoramento visando obtenção de cultivares resistentes a enfermidades. Já, a resistência quantitativa, denominada de horizontal, é de caráter poligênico e duradouro (FEHR, 1987).

O tempo necessário para obtenção de uma cultivar de pessegueiro pode variar de dez a quinze anos. Assim, é preferível a obtenção de cultivares com resistência quantitativa ou parcial, que apresenta maior durabilidade em relação ao modo de resistência vertical, devido a sua habilidade em controlar um maior espectro de raças em uma população patogênica (FEHR, 1987). Por outro lado, o longo tempo necessário para criação de uma cultivar, aliada a estreita base genética para resistência à doenças, têm dificultado avanços na obtenção de cultivares de pessegueiro com altos níveis de resistência a doenças (SCORZA; OKIE, 1991).

A severidade de algumas doenças varia de uma região para outra, e de ano para ano, dependendo das condições climáticas e do hospedeiro (WERNER et al, 1986; ADASKAVEG et al, 2004). Dentro de uma mesma espécie, as cultivares

geralmente exibem altas variações nos níveis de suscetibilidade a bacteriose (KEIL; FOGLE, 1974).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar e classificar genótipos de pessegueiro quanto à reação a *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, visando auxiliar programas de melhoramento genético no sentido de criar novas cultivares resistentes a doença assim como a utilização de fontes de resistência em cruzamentos.

Diante dessa situação foram realizados três experimentos visando avaliar a reação de genótipos de pessegueiro, em diferentes condições. No experimento em condições naturais avaliou-se a incidência, a severidade e a desfolha ocasionada pela doença em plantas adultas. Em laboratório avaliou-se a severidade e quantificaram-se alguns compostos bioquímicos em folhas destacadas e inoculadas com o patógeno. Em ambiente controlado (estufa) avaliou-se a severidade da doença em plantas juvenis.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A CULTURA DO PESSEGUEIRO

O pessegueiro pertence à família Rosácea, subfamília Prunoideae, gênero *Prunus* (L.), e subgênero *Amygdalus*, sendo que existem cinco espécies reconhecidas, entretanto apenas *Prunus persica* L. Batsch é explorado comercialmente (BARBOSA, et al., 1990; RASEIRA; NAKASU, 2002). São admitidas três variedades botânicas pertencentes à *Prunus persica*: a vulgaris, variedade explorada de valor econômico (pêssego comum); a nucipersica, aspecto semelhante à anterior, entretanto, desprovida de pêlos (nectarina); e a platicarpa, que apresenta frutos de forma achatada e recobertos de pêlos (pêssego achatado), atualmente com reduzido aproveitamento econômico (SACHS; CAMPOS, 1998).

O pessegueiro é originário da China, onde se encontra a maior diversidade genética, embora tenha vários centros de origem secundários de acordo com a sua dispersão no globo, onde atuaram a pressão de seleção natural e humana de acordo com as preferências regionais e as condições edafoclimáticas dominantes (RASEIRA; NAKASU, 2002). Seu cultivo data de, pelo menos 4.000 anos, sendo que no Brasil a cultura foi introduzida em 1532 por Martin Afonso de Souza, no atual estado de São Paulo. No Brasil, cultura adquiriu importância econômica somente a partir da década de 60, impulsionado pela indústria conserveira, que se desenvolveram no sul do país. Segundo Campos et al. (2005), 57% da produção nacional de pêssego destina-se para consumo *in natura* e 43% para a industrialização.

De acordo com dados da FAO (2009), a área mundial cultivada, em 2007, com pessegueiro e nectarineira foi de 1.496.021 hectares. Os maiores produtores mundiais foram: China, Itália, Estados Unidos, Espanha e Grécia, sendo responsáveis por 72% da produção mundial, que atingiu 17,4 milhões de toneladas. O Brasil ocupa o 12º lugar, com 238,5 mil toneladas (1,36% da produção mundial), numa área plantada de 24.200 hectares.

Segundo IBRAF (2008) a produção nacional de pêssego de mesa é ainda insuficiente para atender a demanda do mercado interno, o que tem levado a um aumento significativo de importações, que em 2007 foi de 12 mil toneladas.

As condições climáticas brasileiras não são as mais adequadas para a produção desta frutífera de clima temperado, se comparadas com as condições do Chile, Argentina e países do hemisfério Norte. Em grande parte das áreas de produção no sul do Brasil, o acúmulo de horas de frio no inverno ($< 7,2^{\circ}\text{C}$), é insuficiente para uma brotação e floração adequadas, a umidade relativa do ar é alta no verão e com ventos fortes em alguns locais, que favorecem a disseminação de patógenos, principalmente bactérias. Além disso, ocorre grande flutuação térmica e geadas tardias, em agosto e setembro, eventos típicos de regiões subtropicais, coincidindo com a época de frutificação das plantas, ocasionando danos nos frutos.

Apesar disso, o cultivo do pessegueiro tem se expandido muito no Brasil nas últimas décadas, tanto em área cultivada quanto em produtividade, tendo em vista o grande potencial de mercado, e em consequência do emprego de técnicas culturais e cultivares adequadas.

A produção de pêssego no estado do Paraná, em 2007, foi de 17.814 toneladas em uma área de 1.772 hectares. O rendimento médio foi um pouco superior a 10 t.ha^{-1} , totalizando uma arrecadação de quase R\$ 19 milhões. Dentre as cidades com maior produção estão Lapa, Araucária, Congonhinhas, Mandirituba e Francisco Beltrão, com produções de 5.400, 1.320, 960, 720 e 620 toneladas respectivamente (IBGE, 2009). Em 2005/2006 foram produzidas 18 toneladas de pêssego de forma orgânica. (SEAB, 2008).

Na região Sudoeste do Paraná o cultivo do pessegueiro se apresenta como uma boa alternativa às condições da agricultura familiar, adaptando-se aos solos, relevo e características climáticas existentes, principalmente para os pequenos agricultores que utilizam a mão-de-obra familiar, apresenta-se como uma alternativa de renda agregada em pequenas áreas.

Entretanto, o cultivo do pessegueiro não é uma atividade comercial tradicional nesta região do Paraná, sendo encontrado comumente em pequenos pomares domésticos. Especificamente, a partir de 1998, intensificou-se seu cultivo devido à implantação de programas municipais de incentivo à produção frutífera. Através destes programas, muitos agricultores familiares adotaram o pessegueiro como forma de diversificação de suas atividades, com possibilidade de proporcionar

maior rentabilidade à propriedade rural. Foram implantados, aproximadamente, 400 ha de pessegueiro, os quais, segundo dados do SEAB/DERAL obtiveram produtividade média de 7.500 kg.ha⁻¹ nas safras 2001/2002 e 2002/2003 (PERIN et al., 2003). Isto ocorreu porque, ao contrário de outras atividades mais consolidadas, como grãos e bovinocultura leiteira, a fruticultura apresenta algumas particularidades - inclusive de ordem sócio-cultural - que tornam sua permanência dentre as atividades do sistema de produção extremamente vulnerável. Entre elas, a melhoria constante da qualidade dos frutos é a mais importante, pois é uma exigência cada vez maior do mercado consumidor, sendo este o maior desafio da atividade na região, com vistas a obter maior valor na venda do produto. A melhoria da qualidade dos frutos demanda necessariamente a profissionalização da mão-de-obra familiar, assistência técnica especializada e ações de apoio ao associativismo visando principalmente uma comercialização eficiente. O cultivo de cultivares de dupla finalidade poderia viabilizar a instalação de agroindústrias familiares de compotas na região, tendo como alternativa a comercialização *in natura*, em anos de safras abundantes.

Isto demonstra o grande potencial de geração de renda com o cultivo de pêssigo na região. Desse modo, para que o produtor mantenha sua rentabilidade é necessário que ele apresente uma maior produtividade, frutos com boa qualidade comercial e tenha condições de armazenamento adequado, possibilitando a venda escalonada e o alcance de mercados mais distantes, principalmente grandes centros de consumo, como Curitiba, São Paulo e outros.

O aumento da demanda e da importação brasileira, demonstram a existência de um bom mercado para esta fruta, sendo que a produção de frutos com elevado padrão de qualidade, com bom tamanho, aparência e sabor, é um dos fatores mais importantes no êxito comercial dos pomares de pessegueiro.

2.2 A BACTERIOSE

A Bacteriose causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* (Smith) reclassificada por Vauterin et al. (1995) foi relatada pela primeira vez em ameixeira (*Prunus saliciana* L.) na América do Norte no estado de Michigan - USA, em 1903. Atualmente, encontra-se em praticamente todas as regiões de cultivo de

pessegueiro, ameixeira, damasqueiro e nectarineira do mundo, exceto em locais de baixa precipitação onde não lhe são proporcionadas condições para o desenvolvimento (BOUDON; MANCEAU; NOTTÉGHEM, 2005; OEPP/EPPO, 2006).

No Brasil a doença foi relatada inicialmente, em 1944, no estado de São Paulo, sendo atualmente encontrada em todas as zonas de produção. Entretanto estudos mais avançados sobre a epidemiologia, fontes de resistência e agente causal foram realizados somente após a década de 90, sendo que ainda há deficiência de informações sobre a doença, principalmente quanto ao agente causal (MAY DE MIO; GARRIDO; UENO, 2004).

O agente causal da bactéria *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, é uma bactéria gram-negativa, com um flagelo, formato de bastonete, tamanho de 0,2-0,4 x 0,8-1,0mm, aeróbica estrita, colônia amarela em meio Agar - nutriente (ROMEIRO, 1996).

As bactérias são diferenciadas principalmente por suas características nutricionais ou fisiológicas, ou patovares, que são tipos diferenciados entre si quanto à habilidade de infectar determinadas espécies hospedeiras (LOPES; QUEZADO-SOARES, 1997). Du Plessis (1988) encontrou virulência diferencial de *X. arboricola* pv. *pruni* dependendo da espécie que coloniza, sendo mais comum e severa a colonização no pessegueiro e ameixeira, porém menos intensa no damasqueiro.

A bacteriose do pessegueiro é considerada uma doença muito importante, principalmente quando as condições ambientais são favoráveis para sua ocorrência. Os principais danos são cancro nos ramos, mancha em frutos e desfolha precoce, resultando no enfraquecimento da planta e redução de produção na safra seguinte. Os sintomas ocorrem em folhas, ramos e frutos (FORTES; MARTINS, 1998).

O surgimento da doença é favorecido por condições de alta umidade relativa do ar e temperaturas altas durante o crescimento vegetativo da planta, condição típica da região sul durante o final da primavera e verão (FELICIANO, 1973; MOHAN et al.; 1977; MAY DE MIO; GARRIDO; UENO, 2004; OEPP/EPPO, 2006).

Nas folhas os sintomas iniciais são manchas angulares, de aspecto aquoso com halo amarelo, áreas de tecido foliar ficam translúcidas devido à expulsão da água das células da planta infectada para os espaços intercelulares, em geral a lesão aumenta formando uma necrose de coloração púrpura ou preta que

mais tarde se desprende do limbo foliar. As lesões se concentram nas regiões de acumulação de gotas de chuva e orvalho, onde geralmente inicia-se a infecção progredindo posteriormente para o restante da folha (OEPP/EPPO, 2006). A desfolha precoce ocasionada pela doença resulta em enfraquecimento da planta e redução da próxima safra, além de inviabilizar o cultivo em locais muito favoráveis a sua ocorrência (GARRIDO; SONEGO, 2006).

Pode ainda manifestar-se por cancrios de primavera e cancrios de verão nos ramos. Os cancrios de verão ocorrem sobre os ramos crescidos no ramo do ano, as lesões aparecem durante o ano de infecção, são mais comuns em anos de precipitações fortes e ocorrem durante o verão após haver infecção geral da folhagem. Os cancrios de primavera ocorrem no outono, mas não são visíveis até a primavera seguinte, é a fonte primária de inóculo (FORTES; MARTINS, 1998; MAY DE MIO; GARRIDO; UENO, 2004; OEPP/EPPO, 2006).

Nos frutos os sintomas são inicialmente na forma de manchas aquosas, depois se transformam em lesões de coloração marrom, com posterior rachadura e formação de crateras. Os frutos infectados são indesejáveis para o processamento devido à dificuldade de se removerem as lesões que atingem a polpa, e para o consumo in natura, por terem a aparência comprometida, perdendo o valor comercial (FORTES; MARTINS, 1998).

A infecção na planta por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* ocorre pela penetração da mesma por aberturas naturais como estômatos, lenticelas e zona de abscisão foliar, bem como os ferimentos causados por diversos fatores, destacando-se os provocados pelo vento e pelo ataque de insetos e ácaros (MAY DE MIO, GARRIDO; UENO; 2004). Embora não tenham sido estudados suficientemente como sítio de penetração de patógenos nos hidatódios, que são pequenos orifícios presentes na região do limbo foliar, por onde extravasa fluídos de gutação, sua anatomia sugere ser ali um ambiente ideal para penetração de bactérias (AMORIM, 1995).

A bactéria encontra ao chegar ao sítio de infecção uma série de barreiras e dificuldades que precisam ser vencidas antes que a penetração e colonização do tecido ocorram, pode encontrar paralela e concomitantemente condições favoráveis, ao invés de adversas (ROMEIRO, 2000). O sucesso da colonização e multiplicação de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* no tecido do hospedeiro depende das condições de temperatura e umidade. A faixa de

temperatura para a multiplicação da bactéria é de 16-33°C e a umidade deve ser suficiente para causar congestão de água no tecido da planta. A congestão de água na folha, o tempo de molhamento foliar e a temperatura são importantes para o desenvolvimento da bacteriose do pessegueiro (MONTEIRO et al., 2004). Entre temperatura e umidade, a umidade é considerada mais importante para ocorrência de bacteriose, vários trabalhos têm mostrado uma relação entre a intensidade de ocorrência da doença e o número de dias com chuvas. Segundo Lopes e Quezado-Soares (1997) o patógeno é dependente de água para a sua infecção, colonização e disseminação. Para se locomover na superfície da planta até encontrar um sítio para penetração, a fitobactéria depende, quase sempre, do movimento flagelar, para tanto há necessidade de um filme de água (ROMEIRO, 2000).

A sobrevivência de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* ocorre primariamente nos espaços intercelulares do córtex, parênquima do floema e xilema de ramos produzidos na estação anterior e também em gemas. A disseminação da bacteriose é de forma passiva. A curta distância a disseminação ocorre através de gotículas de águas carregadas pelo vento quando ocorre chuva, manuseio de plantas molhadas e operações de poda (MAY DE MIO; GARRIDO; UENO, 2004), e a longa distancia através mudas, material de propagação (ramos e borbulhia) e frutos contaminados. As bactérias fitopatogênicas são heterotróficas, bastante versáteis, com grande capacidade de adaptação a ambientes diversos, necessitam de fontes orgânicas de carbono para seu desenvolvimento. Como utilizam substratos orgânicos também como fontes de energia são classificadas como organismos quimio-heterotróficos (ROMEIRO, 1996).

Com sua multiplicação ocorrendo na parte aérea, sua população decresce rapidamente quando no solo, muitas vezes não sobrevivendo de um ano para outro. A destruição dos restos culturais torna-se importante no controle (LOPES; QUEZADO-SOARES, 1997).

2.3 CONTROLE DA BACTERIOSE E MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

O controle químico deve ser feito preventivamente, pois atualmente não existem produtos curativos eficientes. A aplicação de produtos a base de cobre é restrito ao período de dormência, final e início do ciclo vegetativo do pessegueiro.

O uso de quebra-ventos tem sido recomendado para reduzir a disseminação da bacteriose, o impacto do vento associado à chuva causa ferimentos na folha, além de facilitar a disseminação da bactéria no pomar.

O uso de cultivares resistentes juntamente com o emprego de medidas de exclusão são recomendáveis no controle da bacteriose causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* (MONTEIRO et al., 2004; ROMEIRO, 1996). Entretanto, até o momento não foram encontradas cultivares imunes à doença, e sim diferentes níveis de sensibilidade (KEIL; FOGLE, 1974; WERNER et al., 1986; TOPP; SHERMAN, 1990; TOPP et al., 1993; MARTINS; RASEIRA, 1996; KRESTZSCHMAR; ROSSETO; MARTINS, 1998; CITADIN et al., 2005), indicando a existência de uma resistência horizontal. Layne (1966) sugere que diferentes genes controlam a resistência à bacteriose em folhas e frutos respectivamente.

Para alguns pesquisadores a resistência de uma estrutura, não implica necessariamente, no mesmo grau de resistência de outras. Scorza e Sherman (1996) alertam sobre possíveis diferenças no grau de resistência em frutos, ramos e folhas. Topp e Sherman (1990) avaliando a aplicabilidade de métodos de avaliação em campo, em ameixeira, obtiveram valores de herdabilidade no sentido amplo moderado (0,42 a 0,58) considerando todos os métodos empregados, indicando que é possível aumentar o grau de resistência das cultivares à *Xanthomonas*, entretanto com maior chance de sucesso de se obter resistência nos ramos do que nas folhas. Contudo para a obtenção de germoplasma de ampla adaptação com bom nível de resistência, devem ser consideradas diferenças na virulência das distintas estirpes da bactéria, devendo ser testadas várias destas, provenientes de diversas regiões de cultivo (MARTINS; RASEIRA, 1996). Diversos estudos relatam haver uma grande diversidade genética da bactéria, que geralmente varia de região para região de cultivo (ZACARDELLI; BAZZI, 1998; BOUDON; MANCEAU; NOTTÉGHEM, 2005).

2.4 TÉCNICAS DE AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À BATERIOSE

Os programas de melhoramento de pessegueiro procuram criar novas cultivares que agreguem características agrônômicas desejáveis e que sejam menos suscetíveis às doenças. A seleção de genótipos resistentes, pela simples observação de seu comportamento em campo, é dificultada, pois muitas vezes não ocorrem condições favoráveis para o desenvolvimento dos sintomas característicos da doença. Assim, técnicas rápidas e precisas que permitam classificar os genótipos e aumentar a segurança na seleção de genótipos resistentes são desejáveis.

A avaliação de doenças através da metodologia de utilização de folhas destacadas apresenta a possibilidade de destacar folhas da planta, inocular e mantê-las em condições favoráveis para manifestação dos sintomas (CLINTON; McCORMICK, 1924; RANDHAWA; CIVEROLO, 1985; HAMMERSCHLAG, 1988; KRESTZSCHMAR; ROSSETO; MARTINS, 1998).

O uso dessa técnica tem como vantagem a economia de espaço, de material do hospedeiro, de inóculo dos patógenos, facilidade e exatidão das observações, menor risco de contaminações, uniformidade da unidade experimental, facilidade de controle e manipulação dos ambientes.

As folhas destacadas, se bem acondicionadas, apresentam, atividades metabólicas como transpiração, respiração, fotossíntese e síntese de proteínas muito próximas as condições existentes na planta. Porém a senescência e a degeneração relativamente rápida dos tecidos das folhas destacadas de várias espécies vegetais têm sido considerados como os fatores mais limitantes para estudos que requerem períodos de tempo mais longos (CLINTON; McCORMICK, 1924; YARWOOD, 1946).

Na avaliação para resistência a mancha preta e ferrugem em híbridos entre o amendoim e espécies silvestres de *Arachis*, Fávero et al. (2005), utilizaram com sucesso a técnica de folhas destacadas desenvolvida por Moraes e Salgado (1982).

Citadin et al. (2005), estudando técnicas de avaliação da resistência de ameixeira a bacteriose, em condições de campo, encontraram que a severidade nas folhas e o número de cancos nos ramos por metro linear foram mais eficientes em detectar as diferenças no grau de resistência entre genótipos distintos.

2.5 DEFESAS BIOQUÍMICAS

Apesar das aparências, as plantas não aceitam de modo passivo as agressões que sofrem de vírus, bactérias, insetos e demais organismos ou de agentes não-biológicos como radiação, temperaturas extremas, poluição e outros. Para sobreviver, durante sua evolução, elas desenvolveram mecanismos de resposta a danos e doenças, acionados assim que reconhecem a agressão (PINHEIRO et al, 1999).

Na interação patógeno-hospedeiro, moléculas ligadas aos mecanismos de defesa são ativadas. Os compostos produzidos pela planta, durante o processo infeccioso, e todo o desenvolvimento da doença são importantes para desencadear mecanismos de resistência contra o organismo invasor. Produtos do metabolismo secundário, como compostos fenólicos, ativação das peroxidases e fenilalanina amonialiase - FAL, (CAVALCANTI; BRUNELLI; STANGARLIN, 2005) e acúmulo de proteínas relacionadas à patogenicidade (DURRANT; DONG, 2004), estão entre os diversos mecanismos envolvidos na resistência das plantas. O patógeno mobiliza suas armas químicas para atacar o hospedeiro em potencial, enquanto que este último, através de mecanismos estruturais e/ou bioquímicos, procura defender-se do patógeno (PASCHOLATTI et al, 1998).

Dentre estes mecanismos de defesa temos as chamadas defesas constitutivas, presentes na planta, funcionando como barreiras físicas, sendo representadas por estruturas como: ceras, cutículas, parede celular espessa, tricomas, adaptações em estômatos e fibras vasculares, além das substâncias químicas pré-formadas como os fenóis, alcalóides, lactonas insaturadas, glicosídeos fenólicos, glicosídeos cianogênicos, fototoxinas, inibidores protéicos e enzimas hidrolíticas (PASCHOLATI et al., 1998; AGRIOS, 2005).

Existem os mecanismos de defesa que somente são desencadeados quando a planta detecta o ataque do patógeno agressor. As defesas pós-formadas ou induzidas, ausentes ou de pouca expressividade em plantas saudáveis, são aquelas que se tornam evidentes somente após a invasão do patógeno ou quando a planta é injuriada (ROMEIRO, 2000). Os fatores de defesa envolvem ainda a formação de compostos como fitoalexinas e proteínas relacionadas à patogênese (Proteínas RP) e espécies ativas de oxigênio (EAOs) (PASCHOLATI et al., 1998; AGRIOS, 2005). As PRPs acumuladas em plantas como resposta à infecção são produzidas como

resposta a infecção por patógenos e estão estreitamente relacionadas com o fenômeno de Resistência Sistêmica Adquirida – SAR, acumulam-se em locais de infecção e em sítios remotos destes, em casos de indução de resistência sistêmica. A SAR pode ser conceituada como um mecanismo de defesa induzida por agentes bióticos ou abióticos ou infecção localizada por patógenos, que confere proteção à planta a um amplo espectro de microorganismos (DURRANT; DONG, 2004).

Além da resposta de hipersensibilidade, que se caracteriza pelo rápido e localizado colapso do tecido vegetal em volta do local da infecção, há aumento na concentração ou síntese de PRPs, dentre as quais algumas enzimas como as β -1,3-glucanases, quitinases e peroxidases e, ainda, a resistência sistêmica adquirida (SAR), que se caracteriza pela indução da resistência em locais da planta distantes do local da infecção pelo patógeno (ROMEIRO, 2000). As peroxidases não têm relação direta com a SAR, no entanto, a alteração de sua atividade é um indício de alteração do metabolismo da planta, como na formação da lignina pela polimerização de fenóis (LABANCA, 2002).

As estruturas de defesa histológica compreendem as camadas de cortiça que podem ser formadas em resposta a injúria mecânica e à presença de patógenos; a camada de abscisão, no caso das folhas, que pode ser precedida pela formação de zonas de lignificação internamente as mesmas, e de tiloses formadas nos vasos do xilema em resposta ao estresse abiótico, envelhecimento e/ou invasão por patógenos vasculares (PASCHOLATI; LEITE, 1995).

O funcionamento da célula e suas respostas às pressões do ambiente dependem fundamentalmente das reações bioquímicas que nela ocorrem, as quais estabelecem seu padrão fisiológico de ação e respostas. A ativação de compostos bioquímicos induz a resposta de defesa vegetal. As respostas de defesa se iniciam pelo reconhecimento do patógeno, que pode ser mediado pela interação entre os genes de resistência da planta R e de avirulência do patógeno (avr) ou pela ligação de eliciadores não específicos a possíveis receptores da planta. Para que ocorra o desencadeamento de respostas de defesa da planta a fatores adversos é importante a percepção molecular de sinais por parte dela. Assim, é possível que os receptores estejam próximos dos locais onde determinados estímulos ocorrem, como na membrana plasmática para estímulos extracelulares e no citoplasma e/ou núcleo para sinais que ocorrem intracelularmente (CAVALCANTI; BRUNELLI; STANGARLIN, 2005).

No processo de interação dos microorganismos patogênicos com a planta, ocorre o estabelecimento da compatibilidade (susceptibilidade) ou incompatibilidade (resistência) (HEIL; BOSTOCK, 2002).

A quantificação da atividade de macromoléculas do metabolismo primário bem como atividades de enzimas e compostos relacionados ao metabolismo secundário pode sugerir quais foram os mecanismos de resistência ativados.

A resistência de plantas ao ataque de patógenos pode ser entendida como a capacidade que elas desenvolveram de impedir, restringir ou retardar a penetração destes organismos em seus tecidos, diminuindo os efeitos danosos potenciais (FERNANDES, 2004).

Para Taiz e Zeiger (2004) as diferenças existentes entre cultivares e/ou espécies quanto à resistência à patógenos, frequentemente, dizem respeito à velocidade e à intensidade das reações da planta. Plantas resistentes respondem mais rápida e vigorosamente aos patógenos do que aquelas suscetíveis.

Os diferentes mecanismos estruturais e bioquímicos que podem contribuir para a resistência das plantas contra fitopatógeno são geneticamente determinados e sua efetividade mostra-se dependente da expressão dos mesmos no momento certo, em magnitude adequada e em uma sequência lógica, após o contato do patógeno com o hospedeiro.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA EXPERIMENTAL

O pomar experimental de pessegueiros encontra-se localizado no município de Pato Branco-PR, latitude 26° 10' 39" S, longitude 52° 41' 21" W e 755 metros de altitude. O solo é classificado como Latossolo Vermelho aluminoférrico de textura argilosa, com relevo suave ondulado. A coleção se encontra em uma encosta com exposição leste, com filas orientadas, predominantemente, no sentido Norte-Sul, de acordo com as curvas de nível. Nas entrelinhas mantém-se cobertura de solo, composta por trevo branco (*Trifolium repens*) e plantas voluntárias. As práticas de manejo, como adubação, roçagem, capinas, raleio, tratamento de inverno controle de pragas e doenças e podas, são realizadas conforme recomendações gerais para a cultura, porém não se utiliza produtos cúpricos. Não há quebra-ventos e não é realizada a quebra de dormência através do uso de produtos químicos.

O clima é do tipo Cfa (Classificação de Köppen) com média de 224 horas de frio abaixo de 7°C (maio a outubro) ou 166 horas (maio a julho) com amplitudes variando de 76 (1998) a 318 (2003) horas abaixo de 7°C. A temperatura média das máximas é de 25,1°C e média das mínimas de 14,3°C. A temperatura mínima absoluta já registrada foi de -4°C para o mês de julho, com possibilidade de ocorrência de temperaturas negativas e geadas no mês de setembro.

3.2 GENEALOGIA DO GERMOPLASMA

A coleção, na sua maioria, oriundas do Programa de Melhoramento da Embrapa Clima Temperado-RS, é composta atualmente por 47 seleções e 17 cultivares, dividida em cultivares destinada ao consumo 'in natura', para industrialização, sendo que alguns destes servem também para consumo 'in natura' caracterizados como cultivares e/ou seleções de dupla finalidade, e cultivares com finalidade ornamental. Cada genótipo introduzido consta de três a cinco plantas conduzidas em sistema de vaso, com espaçamento 5m x 4m.

A genealogia dos genótipos utilizados nos experimentos encontra-se descrita na Tabela 1.

Tabela 1 – Genealogia dos genótipos de pessegueiro utilizados nos experimentos. UTFPR – *Campus Pato Branco*, 2009.

GENÓTIPOS	P1	P2
Conserva 803	Esmeralda (MS) (Alpes (Aldrighi x Tapes) x RR 37.201)	Conserva 555
Conserva 1153	Conserva 677 (<i>Brilhante</i> (Convênio x Pelotas 76) x <i>NJC 97</i>) <i>PL</i>	Granada (<i>Conserva 471</i> (Alpes x <i>Conserva 102</i>)) <i>PL</i>) <i>PL</i>
Conserva 1125	Conserva 594 (<i>Capdeboscq</i> ((Lake City x Intermediário) <i>PL</i>) x <i>Madrugador</i> (Aldrighi x Taquari Precoce) <i>PL</i>	Pepita = <i>Precocinho PL</i> = ((<i>Diamante</i> (Convênio x Pelotas 77)) <i>PL</i>) <i>PL</i>
Rubimel	Chimarrita (<i>Babcock</i> x <i>Flordabella</i>)	Flordaprince
Conserva 1223	Conserva 678 (<i>Conserva 334</i> x <i>Conserva 606</i> ((Morro Redondo x <i>Madrugador</i>)) <i>PL</i>)	A249
Conserva 844	Não identificado	-
Conserva 1127	Maciel (<i>Conserva 171</i> (Aldrighi x Pelotas 76) x <i>Conserva 334</i>)	A 320
Tropic Beauty	Origem Flórida	-
Santa Áurea	Cerrito ((<i>Lake City</i> x <i>Intermediário</i>) <i>PL</i>	<i>NJC 88</i>
Conserva 655	Conserva 497 (<i>Cerrito</i> ((<i>Lake City</i> x <i>Intermediário</i>) <i>PL</i>) x <i>Pioneiro</i> (Aldrighi x Taquari Precoce)) x <i>RR 33272</i>) <i>PL</i>	Diamante (<i>Convênio</i> (Amsdem x Abóbora) <i>PL</i>) x <i>Pelotas 77</i>)
Conserva 1187	Conserva 594 (<i>Capdeboscq</i> (<i>Lake City</i> x <i>Intermediário</i>) <i>PL</i>) x <i>Madrugador</i> (Aldrighi x Taquari Precoce)) <i>PL</i>	Granada (<i>Conserva 471</i> (Alpes x <i>Conserva 102</i>)) <i>PL</i>) <i>PL</i>
Conserva 977	Não identificado	-
Bonão	Conserva 594 (<i>Capdeboscq</i> ((Lake City x Intermediário) <i>PL</i>) x <i>Madrugador</i> (Aldrighi x Taquari Precoce)) <i>PL</i>	Pepita = <i>Precocinho PL</i> = ((<i>Diamante</i> (Convênio x Pelotas 77)) <i>PL</i>) <i>PL</i>
Atenas	Jade ou Conserva 533 (<i>Alpes</i> (Aldrighi x Tapes) x <i>RR 53 272</i>) <i>PL</i>	-
Cascata 1055	Chinoca (<i>Coral</i> (Delicioso x Interlúdio) <i>PL</i> x <i>Gang Shen Shang</i>)	Granada (<i>Conserva 471</i> (Alpes x <i>Conserva 102</i>)) <i>PL</i>) <i>PL</i>
Conserva 1186	Granada (<i>Conserva 471</i> (Alpes x <i>Conserva 102</i>)) <i>PL</i>) <i>PL</i>	Cons. 708 (<i>Cons. 334</i> x <i>Cons. 606</i> ((Morro Redondo x <i>Madrugador</i>) <i>PL</i>))
Conserva 681	Conserva 472 PL (<i>Alpes</i> (Aldrighi x Tapes) x <i>Ouro</i>) <i>PL</i>	-
Cascata 967	Sinuelo	Fla 3-2
Conserva 1205	Conserva 672 (<i>Topázio</i> (Convênio x Pelotas 76) x <i>Conserva 334</i>)	Leonense
Tropic Snow	(Univ. Florida)	-
Conserva 1129	Conserva 536 (<i>Cerrito</i> ((<i>Lake City</i> x <i>Intermediário</i>) <i>PL</i>) x <i>RR 53272</i>)	Diamante (<i>Convênio</i> (Amsdem x Abóbora) <i>PL</i>) x <i>Pelotas 77</i> (<i>Cardeal</i> x Aldrighi) <i>PL</i>)
Cascata 587	Sulina (<i>Princesa</i> x <i>Premier</i>)	C1 R4 T135
Conserva 688	(Aldrighi)	RR 37 201) PL
Conserva 871	Lord = (Abóbora x Taquari Precoce) <i>PL</i>	Diamante (<i>Convênio</i> (Amsdem x Abóbora) <i>PL</i>) x <i>Pelotas 77</i> (<i>Cardeal</i> x Aldrighi) <i>PL</i>) <i>PL</i>
Cascata 1070	BR3 = <i>Pala PL</i> = (<i>Coral</i> x <i>Panamint</i>)	A333
Conserva 985	Eldorado (<i>Gaudério</i> ((<i>Delicioso</i> x <i>Interlúdio</i>) <i>PL</i>) x <i>Serrano</i> ((<i>City Row 29</i>) <i>PL</i> de <i>New Jersey</i>))	Conserva 611 (<i>Conserva 253</i> (Morro Redondo x <i>Tarumã</i>) x <i>NJC 88</i>)
Cascata 1063	Ametista (<i>Alpes</i> (Aldrighi x Tapes) x <i>RR 37.201</i>) <i>PL</i>	A 170
Cascata 962	Cascata 597 PI (<i>Casc 546</i> x <i>C2 R22 T17</i>)	-
Cascata 1065	Cascata 864 PL (<i>Chiripá</i> x <i>Chimarrita</i> (<i>Babcock</i> x <i>Flordabella</i>))	-
Olímpia	Bolinha	7-28

3.3 AVALIAÇÃO DA INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DE BACTERIOSE OCASIONADA POR *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* EM FOLHAS DE PESSEGUEIRO, EM CONDIÇÕES NATURAIS.

No ciclo 2006/2007 foram avaliados 22 genótipos. Nas avaliações do ciclo 2007/2008 foram acrescentados mais oito genótipos da mesma coleção num total de 30 genótipos. Para cada genótipo avaliado foram utilizadas três plantas e em cada planta cinco ramos do ano, localizados no terço médio da copa, distribuídos de forma equidistante em todo seu perímetro.

Nesses ramos foram realizadas cinco avaliações periódicas com intervalo de aproximadamente 30 dias, a partir de novembro. Em cada avaliação foram quantificadas a incidência (% de folhas com sintomas da doença), a severidade da doença (% da área foliar atacado), e a desfolha. A avaliação da severidade foi baseada na escala diagramática desenvolvida por Citadin et al. (2008) (Figura 1). A determinação da desfolha foi realizada na última avaliação dentro do período avaliado, com a retirada dos ramos marcados, considerando a diferença do número de folhas no período do enfolhamento.

A partir dos dados obtidos sobre a severidade e a incidência, foram traçadas as curvas de progresso da doença para cada genótipo e calculadas a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), utilizando-se a seguinte equação:

$$AACPD = \sum_{i=1}^n ([Y_{t+1} - Y_i] \times 0,5) [T_{t+1} - T_i]$$

onde: Y_i = porcentagem da área foliar/incidência afetada pela bacteriose na i -ésima observação, T_i = tempo (em dias) no momento da i -ésima observação e n = número total de observações (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado com três repetições. A unidade experimental foi composta por três plantas. Os dados em percentual foram transformados em $\text{arc.seno} \sqrt{x/100}$, submetidos à análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). As análises estatísticas realizadas através do programa computacional genes (CRUZ, 2006).

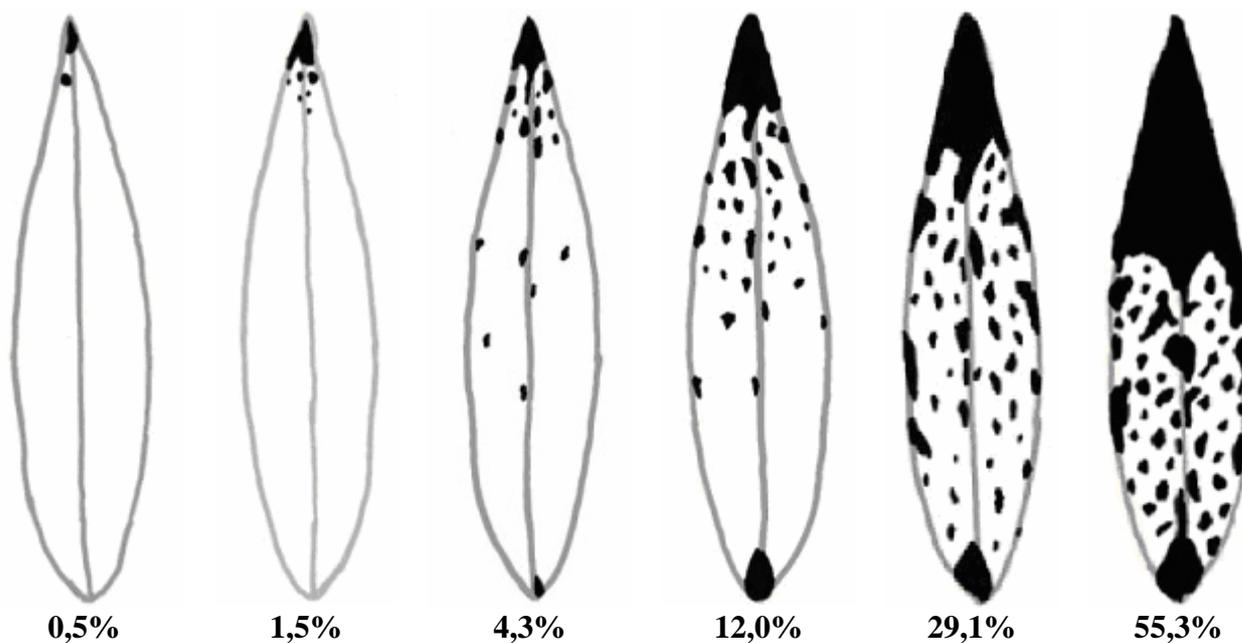


Figura 1 – Escala diagramática para avaliação da severidade de bacteriose em pessegueiro causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, proposta por Citadin et al. (2008).

3.4 AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DE BACTERIOSE EM FOLHAS DESTACADAS DE PESSEGUEIRO INOCULADAS POR INFILTRAÇÃO COM *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*.

Para realização deste experimento foram utilizados os genótipos Conserva 985, Conserva 871, Conserva 1129 e ‘Tropic Snow’, que tiveram comportamento de resistência a bacteriose e Conserva 1153, ‘Bonão’, Conserva 1125 e ‘Atenas’, que foram os mais suscetíveis nas avaliações realizadas em condições naturais.

Para que o tempo decorrido entre a coleta das folhas e o início da incubação fosse o menor possível, os genótipos foram divididos em dois grupos para facilitar os procedimentos de inoculação, sem, no entanto prejudicar o período de incubação e as avaliações. Em cada dia foram coletadas folhas em 2 genótipos resistentes e 2 suscetíveis. No primeiro dia (13.02.2008) coletaram-se folhas dos genótipos Conserva 985, Conserva 1153, Atenas e Conserva 871, no dia seguinte (14.02.2008) dos genótipos Conserva 1129, ‘Tropic Snow’, Conserva 1124 e Conserva 1125, realizando-se de imediato os procedimentos de inoculação e incubação (Apêndice A).

3.4.1 Obtenção do Inóculo

A bactéria *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* foi isolada de folhas com sintomas característicos da doença, coletadas de diferentes genótipos do pomar experimental da UTFPR – *Campus* Pato Branco. O inóculo foi obtido a partir da cultura pura da bactéria. A contaminação foi eliminada através de sucessivas repicagens, em placas de Petri, contendo meio BDA (Batata, Dextrose e Agar) e mantida em câmara de crescimento. A concentração da suspensão bacteriana foi ajustada para 10^8 UFC.mL⁻¹, através da adição de 10 mL de água destilada e esterilizada na placa de Petri contendo as culturas, friccionando levemente as colônias com auxílio de um pincel.

3.4.2 Material Vegetal

Foram coletadas folhas sadias e completamente expandidas do terço médio do ramo do ano, de três plantas de cada genótipo selecionado. Em seguida, as folhas foram colocadas em sacos plásticos etiquetados e levadas ao Laboratório de Fitopatologia da UTFPR – *Campus* Pato Branco, onde foram selecionadas as folhas sem danos mecânicos, sem incidência de doenças fúngicas ou bacterianas, túrgidas e sem sinais de deficiência nutricional. Seguindo-se de lavagem em água corrente e enxágue com água destilada estéril, sendo mantidas resfriadas a temperatura de 4°C dentro de sacos plásticos de polietileno pulverizados internamente com água destilada estéril para mantê-las com alta umidade relativa até sua utilização.

3.4.3 Inoculação

Para inoculação da bactéria foi utilizado o método de infiltração por pressão através de uma seringa plástica sem agulha conforme metodologia desenvolvida por Kretschmar; Rosseto e Martins (1998). A suspensão bacteriana foi injetada na face inferior de cada folha disposta sobre uma placa de Petri forrada com papel filtro, até se obter um círculo encharcado de tecido foliar de cerca de 4 mm de diâmetro. Foram inoculados oito sítios por folha (Figura 2). Após a

inoculação, as folhas foram secas com papel absorvente para retirar o excesso de inóculo, pulverizadas com água destilada estéril e cortadas as partes basais dos pecíolos foliares, com bisturi flambado, e posteriormente plantadas em Agar-água 2% em embalagem plástica N 10 (20 x 12 x 3cm), (Figura 3). Todo o processo de inoculação foi realizado em câmara de fluxo laminar. Cada embalagem contendo duas folhas, após fechamento, foi envolta por um saco plástico de polietileno pulverizado internamente com água destilada para manter o ambiente com umidade relativa alta. Em seguida, as embalagens foram transportadas para câmara de crescimento e mantidas à temperatura de 27°C, com alta umidade relativa durante todo o período de incubação. As folhas que serviram como tratamento controle foram inoculadas com solução salina a 0,1% na mesma metodologia em que se usou a suspensão com bactéria.



Figura 2 – Folhas destacadas de pessegueiro e inoculadas com *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.



Figura 3 – Embalagem plástica N 10 com folhas destacadas de pessegueiro e inoculadas com *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. UTFPR - Campus Pato Branco, 2009.

3.4.4 Incubação

As folhas foram mantidas em câmara de crescimento a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12 horas de fotoperíodo com avaliações no 6^o, 8^o e 10^o dia após a inoculação (Figura 4).



Figura 4 – Folhas destacadas de pessegueiro e inoculadas com *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, na câmara de crescimento. UTFPR - Campus Pato Branco, 2009.

A avaliação da severidade da doença foi baseada na escala proposta por Civerolo e Keil (1976) (Tabela 2).

Tabela 2 – Escala de notas para avaliação da reação de folhas destacadas de pessegueiro inoculadas com *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, pelo método de infiltração com seringa plástica sem agulha. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.

Nota	Sintomas
1	Nenhuma lesão aparente.
2	Área acinzentada e/ou com escurecimento de nervuras, vistas contra a luz.
3	Lesões cinza claras, com aparência de encharcadas, com escurecimento de nervuras mais acentuado e centro escurecido.
4	Centro escuro, bem definido, pequeno, sem ou com leve halo clorótico.
5	Centro escuro, bem definido, grande, marrom e/ou quase negro, com forte halo clorótico ou já em destacamento da lesão.

Escala baseada em Civerolo e Keil (1976). Nota 1 = Imune; Nota 2 = Resistente; Nota 3 = Moderadamente resistente; Nota 4 = Suscetível; Nota 5 = Muito suscetível.

3.4.5 Análises Bioquímicas

As análises de açúcares totais e redutores, proteínas totais, compostos fenólicos, atividade das enzimas peroxidases e fenilalanina amonialiase (FAL) em tecidos foliares, foram realizadas nos genótipos Conserva 985, 'Tropic Snow', Conserva 1125 e 'Atenas', no Laboratório de Bioquímica e Fitopatologia da UTFPR - Campus Dois Vizinhos. Discos foliares foram coletados no dia da instalação do experimento, denominada amostra zero (sem inoculação). Outras coletas foram realizadas em 24, 72, 120 e 168 horas de incubação. Nas folhas inoculadas, as coletas dos discos foliares foram realizadas em cada uma das repetições, já nas folhas sem inoculação, coletou-se apenas uma amostra nos respectivos tempos, sem constituir repetições, sendo considerada como avaliação controle. As amostras coletadas foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido até as análises.

A quantificação de açúcares totais foi determinada pelo método fenol-sulfúrico descrito por Dubois et al. (1956). Foram pesadas 200 mg de folhas de pessegueiro correspondente a cada repetição dos tratamentos anteriormente descritos, transferiu-se para almofariz, acrescentou-se 5 mL da solução tampão (fosfato 0,2 M, pH 7,5), e macerou-se a mistura completamente, transferindo-se o extrato vegetal para ependorfe, seguindo-se de centrifugação a 10000 g por 10 minutos a 4°C. Em seguida transferiu-se 20 µL do sobrenadante para tubo de ensaio, adicionando-se 0,5 mL de fenol a 5% e 2,5 mL de ácido sulfúrico

concentrado. Os tubos foram agitados em vortex e após as soluções atingirem a temperatura ambiente, realizou-se a leitura em espectrofotômetro, modelo Novatecnica, a 490 nm. A concentração de açúcares totais foi determinada através da curva padrão de glicose, e expressa em mg.g^{-1} de tecido.

A quantificação de açúcares redutores foi determinada pelo método do dinitrosalicilato - DNS (MILLER, 1959), com a pesagem de 200 mg de folhas de pessegueiro correspondente a cada uma das três repetições de cada tratamento. As amostras foram transferidas para almofariz, acrescentou-se 5 mL da solução tampão (fosfato 0,2 M, pH 7,5), e macerou-se a mistura completamente, transferindo-se o extrato vegetal para ependorfe, seguindo-se de centrifugação a 14.000 g por 10 minutos a 4°C. Em seguida, transferiu-se 0,5 mL do sobrenadante para o tubo de ensaio, adicionando-se 1 mL do reagente DNS; os tubos foram agitados em vortex e colocados por 5 minutos em banho-maria a 30°C e resfriados em temperatura ambiente. Os volumes foram completados para 10 mL com água destilada, seguindo-se a leitura em espectrofotômetro, modelo Novatecnica, a 540 nm. A concentração de açúcares redutores foi determinada em função da curva padrão de glicose e expresso em mg.g^{-1} de tecido.

A concentração de proteínas solúveis totais foi determinada colorimetricamente pelo método descrito por Bradford (1976). Amostras de 200 mg de folhas de pessegueiro correspondente a cada tratamento foram maceradas em almofariz com adição de 10 mL da solução tampão fosfato 0,2 M pH 7,5, o extrato foi colocado em tubos ependorfe devidamente identificados, e centrifugados durante 10 minutos a 14.000 g e a 4°C; após a centrifugação, transferiu-se 40 μL do sobrenadante para tubos de ensaio, adicionando-se 460 μL de água destilada e 1 mL do reagente Bio-Rad diluído 1:4. Os tubos foram agitados em vortex, colocado na cubeta e levado ao espectrofotômetro, modelo Novatecnica, procedendo à leitura a 630 nm, para obter o valor da absorbância. As leituras das amostras correspondentes aos extratos enzimáticos foram convertidas em concentração de proteína solúvel, por comparação com as leituras de soluções padrões de albumina de soro bovino (BSA) nas concentrações de 0, 25, 50, 100, 150 e 200 mg.L^{-1} .

A determinação de compostos fenólicos foi realizada em duas etapas, segundo Bialeski e Turner (1966). Iniciou com a pesagem de 200 mg de folhas de pessegueiro correspondente a cada tratamento, e maceração em almofariz com 5 mL da solução MCA (metanol, clorofórmio, água 6/2,5/1,5), transferindo-se o

extrato vegetal para ependorfe seguindo-se de centrifugação a 6.000 g a 20°C por 20 minutos, coletando-se o sobrenadante total. Do resíduo sólido restante foi realizado nova extração, adicionando mais 4 mL de MCA, agitando no vortex e centrifugando novamente a 6.000 g a 20°C por 20 minutos. Em seguida foi coletado o sobrenadante e adicionou-se ao primeiro sobrenadante, obtendo o extrato MCA. Ao extrato MCA foi adicionado 1 mL de clorofórmio e 1,5 mL de água destilada, e nova centrifugação a 6.000 g, a 20°C por 15 minutos. A segunda etapa foi realizada pelo método adaptado de Jennings (1991). Retirou-se 0,5 mL da parte superior do sobrenadante, adicionou-se 0,5 mL de água + 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (diluído 1:10), misturado em vortex e após 15 minutos, adicionado 5 mL do reagente alcalino A (preparado de carbonato de sódio a 2% em solução de hidróxido de sódio 0,1 N), agitando-se novamente em vortex e após 50 minutos realizado a leitura em espectrofotômetro modelo Novatecnica, a 760 nm. A quantidade de compostos fenólicos foi expressa em mg.g^{-1} de tecido vegetal (peso fresco). Como controle utilizou-se água destilada na proporção do material vegetal.

A quantificação da atividade de peroxidases pelo método de Matsuno e Uritami (1972), foi iniciada com a pesagem de 200 mg de folhas de pessegueiro correspondente a cada tratamento, transferiu-se para almofariz sobre gelo, acrescentou-se 4,0 mL da solução tampão (fosfato 0,05 M pH 7 com 0,005 g de polivinilpirolidona), e macerou-se a mistura completamente, transferindo-a para ependorfe, mantidos sempre resfriados, e em seguida foram centrifugados a 4.000 g por 20 minutos a 4°C, transferindo-se 3 mL do sobrenadante para o tubo de ensaio, no qual se encontrava preparada uma solução contendo 5 mL tampão citrato pH 5,0, 0,5 mL água oxigenada 3% mais 0,5 mL de guaiacol 0,5%. Agitou-se em vortex e incubou-se por 15 minutos em banho-maria a 30°C. Após, a reação foi paralisada, acrescentando-se 0,5 mL de bisulfito de sódio e mantido 10 minutos em gelo. A leitura foi realizada em espectrofotômetro, modelo Novatecnica, a 450 nm. No controle utilizou-se 3 mL de água destilada. O resultado expresso em unidades enzimáticas por minuto de peroxidase.

A determinação da atividade da fenilalanina amonialiase (FAL) iniciou com a pesagem de 200 mg de folhas de pessegueiro correspondente a cada tratamento, transferiu-se para almofariz previamente gelado, acrescentou-se 6,0 mL do tampão de extração, a 4°C, e macerou-se a mistura completamente, a qual foi centrifugada em seguida a 6000 g por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi diluído

antes da análise da atividade enzimática e da determinação da proteína solúvel, pipetando-se 200 µL do mesmo e acrescentando-se 5 mL do tampão de extração. Este foi preparado com uma mistura de 22,2 g de Tris; 0,37 g de EDTA; 85,5 g de sacarose; 10 g de PVP e completou-se o volume para 1000 mL de água destilada, após ajustar o pH para 8,0 com ácido clorídrico 2,0 N. A atividade da FAL foi avaliada com base na diferença de absorbância resultante da conversão da fenilalanina em ácido trans-cinâmico (HYODO; KURODA; YANG, 1978). Para isto pipetou-se para tubos de ensaio 1,5 mL de cada extrato enzimático, acrescentou-se 1,0 mL do tampão de extração e 0,5 mL de fenilalanina (49,6 mg/mL), para a prova em branco o extrato enzimático foi substituído por água destilada. A mistura foi incubada a 40°C por uma hora, interrompendo-se a reação com banho de gelo e procedendo-se as leituras espectrofotométricas a 290 nm. Os resultados foram expressos em unidades de absorbância por minuto, por miligrama de proteína.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com oito repetições. A unidade experimental foi composta por duas folhas. Os dados da severidade da doença, obtidos com auxílio da escala de Civerolo e Keil (1976) (Tabela 2), foram transformados pela fórmula $(X + 0,5)^{1/2}$, e submetidos à análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$), pelo programa computacional genes (CRUZ, 2006). Para as análises bioquímicas os dados foram apresentados utilizando-se da estatística descritiva (média e desvio padrão).

3.5 AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DE BACTERIOSE OCACIONADA POR *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* EM FOLHAS DE PESSEGUEIROS CULTIVADOS EM AMBIENTE CONTROLADO.

Com o objetivo avaliar em ambiente controlado a severidade da bacteriose nas folhas de plantas juvenis de pessegueiro conduzidas em vasos, foram produzidas mudas dos genótipos Conserva 985, Conserva 871, Conserva 1129 e 'Tropic Snow' que tiveram comportamento de resistência a bacteriose e os genótipos Conserva 1153, 'Bonão', Conserva 1125 e 'Atenas' que tiveram comportamento de suscetibilidade a bacteriose, nas avaliações realizadas em condições naturais. As mudas foram obtidas por meio de enxertia de borbulhia. O porta-enxerto utilizado foi originado da cultivar Capdebosq propagado por sementes estratificadas em geladeira (PEREIRA; MAYER, 2005). Durante toda a fase de

viveiro, os porta-enxertos foram mantidos em sacos plásticos perfurados (28 x 18 cm). Após 90 dias da germinação as mudas foram retiradas da estufa e colocadas a pleno sol para propiciar um melhor desenvolvimento das mesmas. A enxertia foi realizada em dezembro de 2007. Foram realizados os tratamentos culturais necessários para o desenvolvimento das plantas de pessegueiro, conforme recomendações de Pereira, Nachtgal e Roberto (2002).

Foram transferidas 5 plantas de cada genótipo sem incidência de bacteriose, em 28.08.2008, para casa de vegetação do Centro de Biotecnologia Agroindustrial do Paraná – Cenbapar (Figura 5).

No dia 14.09.2008 observou-se uma manifestação de bacteriose bastante significativa na maioria dos genótipos, sem que estes tenham sido inoculados, iniciando-se a avaliação da severidade da doença nos mesmos em 15.09.2008. Foi realizada a mensuração da área lesionada em 3 folhas representativas de cada planta para obtenção do índice foliar da severidade, de cada genótipo, em relação ao índice total da folha, através do Medidor de Área Foliar modelo 3100 – Licor. Optou-se pela não utilização da escala proposta por Citadin et al. (2008), pois devido ao excessivo molhamento foliar proporcionado pela nebulização (Figura 6), o sintoma da doença ocorria em todo o limbo foliar e não iniciava-se pelo ápice da folha ou próximo da nervura principal, sintoma característico da doença em condições de campo, conforme representado pela escala diagramática (Figura 1).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 5 repetições, sendo cada unidade experimental constituída de 1 planta com 3 unidades de observação, as folhas. Os dados em percentual foram transformados em \sqrt{x} , submetidos à análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se programa computacional genes (CRUZ, 2006).



Figura 5 – Disposição dos genótipos de pessegueiro na casa de vegetação do Cenbapar para avaliação de severidade ocasionada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.



Figura 6 – Nebulização das plantas juvenis de pessegueiro na casa de vegetação do Cenbapar. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 AVALIAÇÃO DA INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DE BACTERIOSE OCACIONADA POR *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* EM FOLHAS DE PESSEGUEIRO, EM CONDIÇÕES NATURAIS.

Não foram encontrados genótipos imunes à doença, contudo verificou-se diferentes níveis de sensibilidade entre os genótipos, o que reforça os resultados obtidos por Layne (1966); Keil e Fogle (1974); Werner et al. (1986); Martins e Raseira (1996); Kretschmar, Rosseto e Martins (1998); Citadin et al. (2005).

4.1.1 Avaliações no ciclo 2006/2007

Pela análise de agrupamento, utilizando-se do teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$) aplicadas à AACPD para Incidência e Severidade, e para o percentual de Desfolha na última avaliação (Tabela 3), formaram-se três grupos que se diferenciam com relação ao nível de sensibilidade à bacteriose causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*.

Na avaliação de desfolha foram classificados como resistentes os genótipos Conserva 1129, 'Tropic Snow', Conserva 871 e Conserva 985, os quais tiveram percentuais de desfolha entre 14,81 a 27,43%. Os genótipos Conserva 977, Conserva 962 e 'Rubimel' foram considerados moderadamente suscetíveis sendo que nesse grupo, observou-se percentual de desfolha entre 35,09 a 48,26%. Os demais genótipos foram classificados como suscetíveis, com destaque para o genótipo Conserva 1153, que apresentou o maior percentual de desfolha (92,91%).

Quanto à severidade, o genótipo Conserva 1153 apresentou a maior área abaixo da curva de progresso da doença, diferindo significativamente de todos os genótipos avaliados. Os genótipos Conserva 1187, Conserva 1223, 'Atenas', Conserva 1127 e Conserva 1125 apresentaram comportamento intermediário, sendo considerados moderadamente suscetíveis. Os demais genótipos apresentaram menor AACPD, variando de 538,44 ('Bonão') a 68,70 ('Tropic Snow') e não diferiram entre si, porém vale destacar que os menores valores de AACPD foram observados nos genótipos 'Tropic Snow', Conserva 985 e Conserva 871.

Para os valores de AACPD calculados com base nas avaliações de incidência da doença, a maioria dos genótipos estão reunidos no grupo de maior incidência. No grupo intermediário, encontram-se os genótipos Conserva 1070, Conserva 655 e Conserva 688. No grupo de menor incidência encontram-se os genótipos Conserva 977, Conserva 962, 'Rubimel', Conserva 1129, 'Tropic Snow', Conserva 871 e Conserva 985.

Na análise conjunta dos resultados, obtidos em relação à incidência, severidade e desfolha destacam-se com maior nível de resistência, os genótipos 'Tropic Snow', Conserva 871, Conserva 985 e Conserva 1129.

Tabela 3 – Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para incidência, severidade e percentual de desfolha ocasionada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, em genótipos de pessegueiro, em condições naturais no ciclo 2006/2007. UTFPR - Campus Pato Branco, 2009.

GENÓTIPOS	INCIDÊNCIA		SEVERIDADE		MÉDIAS REAIS	DESFOLHA (%)
	AACPD		AACPD			
Conserva 1153	10046,53*	a	1276,66*	a	8,61	92,91*
Conserva 1070	7339,33	b	373,92	c	2,54	82,46
Cascata 1063	9290,45	a	505,56	c	3,45	81,69
Conserva 1187	11230,61	a	883,67	b	6,04	81,66
Conserva 1223	9380,80	a	609,57	b	4,14	77,90
Atenas	10268,07	a	709,65	b	4,87	77,26
Conserva 844	8834,50	a	363,12	c	2,52	77,03
Conserva 1127	11192,47	a	910,65	b	6,19	75,66
Tropic Beauty	10144,50	a	370,61	c	2,60	72,53
Bonão	11834,62	a	538,44	c	3,86	71,97
Olímpia	10425,95	a	397,62	c	2,77	70,09
Conserva 1125	11454,91	a	749,11	b	5,17	65,81
Conserva 655	7426,30	b	437,00	c	3,18	62,56
Conserva 1205	9970,20	a	289,82	c	2,02	57,85
Conserva 688	7469,78	b	426,98	c	2,87	52,79
Conserva 977	4024,65	c	145,90	c	0,98	48,26
Conserva 962	4464,36	c	106,49	c	0,74	38,10
Rubimel	5435,64	c	140,94	c	0,98	35,09
Conserva 1129	5655,74	c	190,71	c	1,30	27,43
Tropic Snow	3056,09	c	68,70	c	0,48	24,87
Conserva 871	4330,68	c	102,02	c	0,71	18,52
Conserva 985	3766,81	c	98,06	c	0,66	14,81
Médias	8047,41		440,70			59,42
CV (%)	15,25		54,00			22,24

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

A média nos percentuais de incidência dos genótipos avaliados no ciclo 2006/2007 apresentou, de maneira geral, um crescimento quase linear, atingido um valor máximo de 97,80% na última avaliação. Por ser considerada uma doença policíclica esse aumento da incidência pode estar relacionado com a fonte de

inóculo inicial, representada pelo grande número de plantas infectadas e elevado número de lesões por planta. Segundo Camargo e Bergamin Filho (1995) as plantas infectadas durante o ciclo da cultura servirão de fonte de inóculo para novas infecções durante o mesmo ciclo. As médias de severidade dos genótipos avaliados foram baixas, porém com valores crescentes desde as primeiras avaliações, atingindo um máximo de 8,80%. A curva que representa a desfolha é sempre crescente, atingindo um máximo de 59,42% de desfolha na última avaliação (Figura 7).

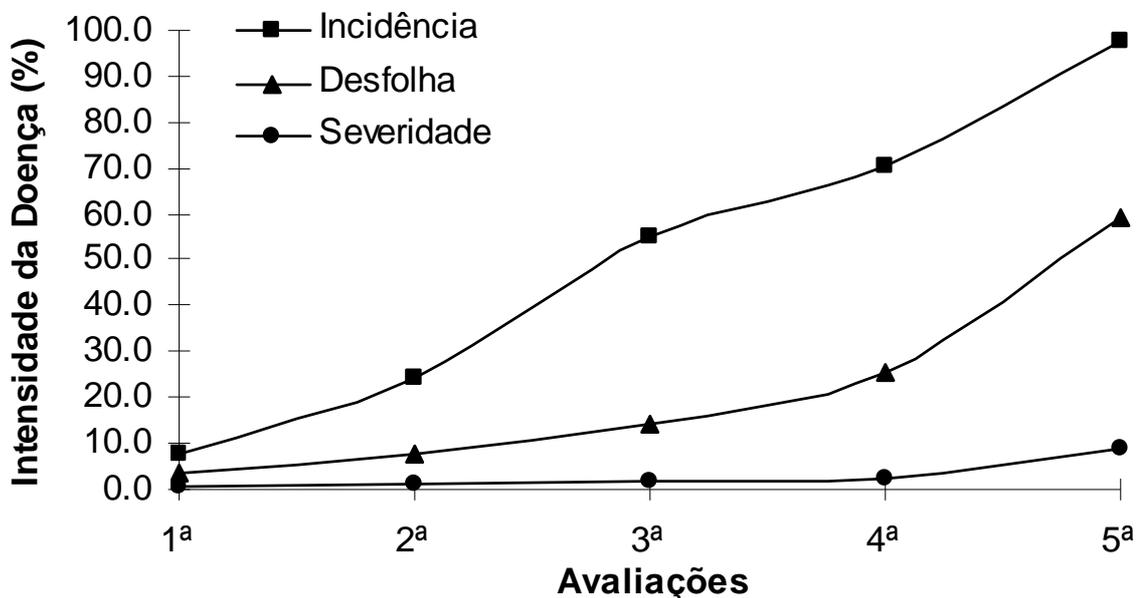


Figura 7 – Curvas de incidência, severidade e desfolha ocasionada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, média de todos os genótipos de pessegueiro avaliados no ciclo 2006/2007. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.

A Figura 8 mostra a evolução da severidade dos genótipos Conserva 985, Conserva 871, Conserva 1129 e ‘Tropic Snow’, resistentes à bacteriose e dos genótipos Conserva 1153, ‘Bonão’, Conserva 1125 e ‘Atenas’, suscetíveis à bacteriose, nas avaliações realizadas em condições naturais. A severidade é baixa nas avaliações iniciais, porém com destaque nos genótipos suscetíveis, mantendo-se superior e ampliando as diferenças entre genótipos suscetíveis e resistentes nas demais avaliações.

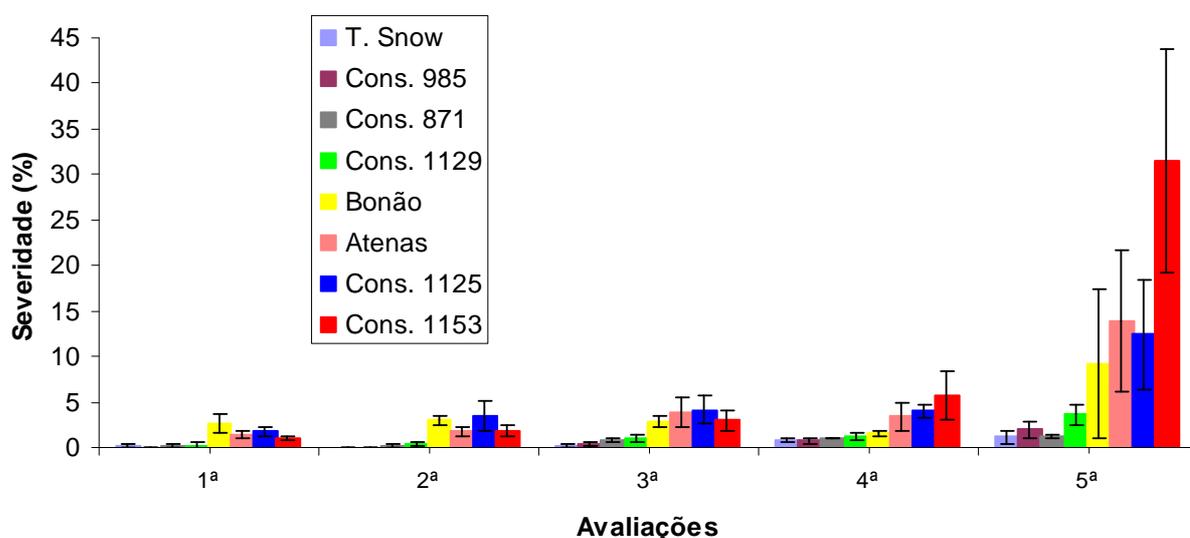


Figura 8 – Evolução da severidade da doença causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* em 8 genótipos de pessegueiro avaliados no ciclo 2006/2007. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.

No período de avaliação do experimento, que compreendeu os meses de novembro de 2006 a fevereiro de 2007, a temperatura média foi de 22,5°C, com máxima de 34,4°C e mínima de 10,2°C (Figura 9). A umidade relativa do ar média foi de 75%, com precipitações elevadas e muitos dias com chuva (Figura 10), condições consideradas adequadas para o desenvolvimento da doença, em virtude do molhamento foliar por um período mais longo com água livre na folha favorecendo a infecção pelo patógeno. Vários trabalhos têm mostrado uma relação entre a intensidade de ocorrência da doença e o número de dias com chuvas. Segundo Lopes e Quezado-Soares (1997), o patógeno é dependente de água para a sua infecção, colonização e disseminação. Para se locomover na superfície da planta até encontrar um sítio para penetração, a fitobactéria depende, quase sempre, do movimento flagelar, para tanto há necessidade de um filme de água (ROMEIRO, 2000).

Ressalta-se também que o pomar não possui quebra-ventos o que favorece ainda mais a infecção e disseminação da doença. Os ferimentos causados pelo vento tornam-se sítios de penetração do patógeno (MAY DE MIO; GARRIDO; UENO, 2004).

Também não foram utilizados bactericidas ou produtos a base de cobre, que poderiam restringir a infecção das plantas pela bactéria. Neste ciclo as

doenças fúngicas, principalmente a ferrugem da folha, foram rigorosamente controladas, de forma que a desfolha observada foi ocasionada pela bacteriose.

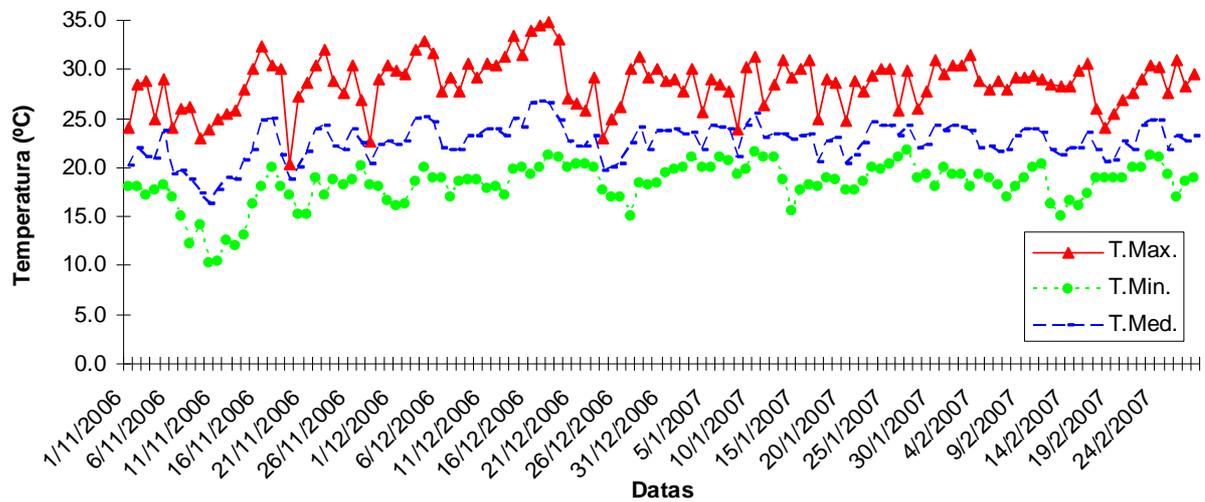


Figura 9 – Temperaturas Máximas, Médias e Mínimas da região de Pato Branco no período de novembro de 2006 a fevereiro de 2007. UTFPR – *Campus Pato Branco*, 2009.

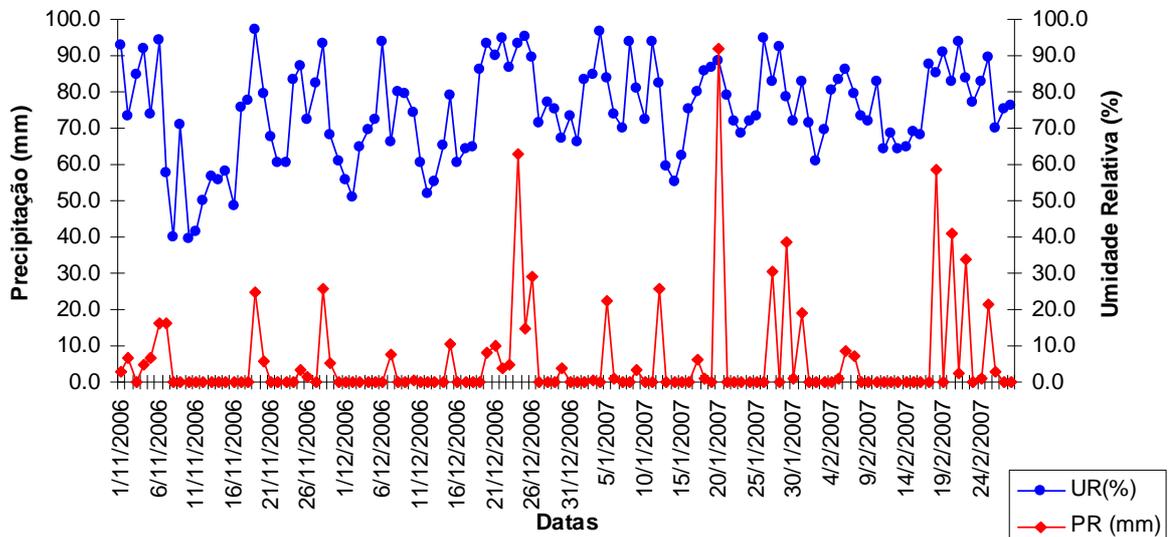


Figura 10 – Precipitação e Umidade Relativa do Ar da região de Pato Branco no período de novembro de 2006 a fevereiro de 2007. UTFPR – *Campus Pato Branco*, 2009.

Observou-se que genótipos susceptíveis apresentam brotação antecipada em relação aos resistentes, o que pode ter contribuído para um maior índice da doença no período avaliado, pois aumentou o tempo de exposição ao patógeno (Tabela 4).

O número de dias decorridos da plena brotação dos genótipos até cada avaliação, avaliados no ciclo 2006/2007, está discriminado na Tabela 4.

Tabela 4 – Número de dias decorridos da plena brotação dos genótipos de pessegueiro até cada avaliação, no ciclo 2006/2007. UTFPR – *Campus Pato Branco*, 2009.

GENÓTIPOS	PLENA BROTAÇÃO	AVALIAÇÕES				
		1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a
Bonão	23/junho/2006	114	135	172	214	263
Conserva 834	23/junho/2006	114	135	172	214	263
Tropic Beauty	23/junho/2006	114	135	172	214	263
Conserva 1127	23/junho/2006	114	135	172	214	263
Conserva 803	01/julho/2006	106	127	164	206	255
Conserva 1153	02/julho/2006	105	126	163	205	254
Atenas	07/julho/2006	100	121	158	200	249
Conserva 1125	07/julho/2006	100	121	158	200	249
Conserva 1187	07/julho/2006	100	121	158	200	249
Tropic Snow	12/julho/2006	95	116	153	195	244
Conserva 962	23/julho/2006	84	105	142	184	233
Conserva 844	26/julho/2006	81	102	139	181	230
Conserva 688	26/julho/2006	81	102	139	181	230
Conserva 872	26/julho/2006	81	102	139	181	230
Conserva 1063	26/julho/2006	81	102	139	181	230
Rubimel	26/julho/2006	81	102	139	181	230
Conserva 655	01/agosto/2006	75	96	133	175	224
Conserva 977	01/agosto/2006	75	96	133	175	224
Conserva 1186	05/agosto/2006	71	92	129	171	220
Conserva 985	10/agosto/2006	66	87	124	166	215
Conserva 1070	10/agosto/2006	66	87	124	166	215
Conserva 1223	10/agosto/2006	66	87	124	166	215
Conserva 1205	10/agosto/2006	66	87	124	166	215
Conserva 1065	10/agosto/2006	66	87	124	166	215
Conserva 871	18/agosto/2006	58	79	116	158	207
Conserva 1055	25/agosto/2006	51	72	109	151	200
Conserva 1129	25/agosto/2006	51	72	109	151	200
Conserva 681	25/agosto/2006	51	72	109	151	200
Conserva 967	25/agosto/2006	51	72	109	151	200
Conserva 626	01/setembro/2006	44	65	102	144	193

4.1.2 Avaliações no ciclo 2007/2008

Nas avaliações realizadas no ciclo 2007/2008 (Tabela 5), observa-se algumas coincidências quanto à sensibilidade dos genótipos dentro dos três parâmetros avaliados, em relação ao ciclo anterior, embora se deva ressaltar que a avaliação de desfolha final foi fortemente influenciada pela ocorrência de ferrugem da folha [*Tranzschelia discolor* (Fuckel) Tranzschel & Litvinov].

Devido à grande quantidade de grupos formados, quando se avaliou o progresso da doença através da incidência, ficou difícil separar genótipos resistentes

de suscetíveis. De maneira geral, observa-se concordância desses dados quando comparados com os obtidos analisando o progresso de bacteriose através da severidade. Os genótipos Conserva 1127, Conserva 1125, Conserva 1153, 'Rubimel', Conserva 803, Conserva 688, Conserva 1187 e Cascata 1070 apresentaram as maiores áreas abaixo da curva de progresso da doença tanto para incidência quanto para severidade. Os genótipos Conserva 871, Conserva 985, Conserva 1129, Cascata 587 e 'Tropic Snow' apresentaram menor evolução da doença no período avaliado, evidenciada pelos menores valores da AACPD obtidos nestes genótipos, indicando que os mesmos possam ser mais resistentes a doença.

Quanto à severidade formaram-se seis grupos, diferindo significativamente entre si. Os genótipos Conserva 871, Conserva 985, Conserva 587, Cascata 1063, Conserva 1205, 'Olímpia', Conserva 1129, Conserva 1065, 'Tropic Snow' e Conserva 967 apresentaram menor AACPD para severidade. Já o genótipo Conserva 1127 apresentou o maior valor da AACPD, diferindo significativamente dos demais genótipos, seguidos de Conserva 1125 e Conserva 803, que formaram o segundo grupo de maior valor de AACPD. Os demais genótipos se situam em grupos intermediários.

Os resultados obtidos em relação à desfolha, também permitiram agrupamento dos genótipos de um modo semelhante ao de severidade, indicando uma provável relação desta com a severidade. Os genótipos Conserva 1127, Conserva 1125, Conserva 803 e 'Rubimel' apresentaram maiores percentuais de desfolha e não diferiram entre si. Os genótipos que apresentaram menor desfolha foram: Cascata 967, 'Tropic Snow', Cascata 1065, Conserva 1129, 'Olímpia', Cascata 1063, Cascata 587, Conserva 985 e Conserva 871, e não diferiram entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). Os demais genótipos se situam em grupos intermediários.

Analisando conjuntamente a incidência, severidade e desfolha, os genótipos mais resistentes foram: 'Tropic Snow', Conserva 871, Conserva 985 e Conserva 1129. Apesar de apresentar baixo índice de desfolha (7,66%), a cultivar Olímpia, nas observações visuais em campo, apresentou um comportamento variável, com elevada incidência e severidade, principalmente nos ramos que estavam expostos a ação dos ventos predominantes. Por outro lado, nas áreas mais protegidas, foi observado um baixo índice da doença. Isto é um indicativo da importância de proteger as plantas da ação direta dos ventos, quando em plantio

comercial, e também da dificuldade de se classificar genótipos quanto à reação a bacteriose somente com avaliações em campo. Assim, genótipos considerados resistentes, em avaliações de campo, devem ser testados em condições controladas, com alto potencial de inóculo, e favoráveis a manifestação da doença, para verificar se, de fato, a condição de resistência se mantêm.

Tabela 5 – Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para incidência, severidade e percentual de desfolha ocasionados por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, em genótipos de pessegueiro, em condições naturais no ciclo 2007/2008, UTFPR - Campus Pato Branco, 2009.

GENÓTIPOS	INCIDÊNCIA		SEVERIDADE		DESFOLHA (%)		
	AACP	AACP	MÉDIAS REAIS	MÉDIAS REAIS			
Conserva 1127	6397,33*	a	391,41*	a	4,05	77,79*	a
Conserva 1125	4546,63	d	332,70	b	5,30	72,42	a
Conserva 803	3592,62	f	127,87	b	1,98	86,64	a
Rubimel	4770,61	c	96,59	c	1,48	83,22	a
Conserva 1223	3499,43	f	75,36	c	1,21	43,64	c
Conserva 655	3643,69	f	69,06	c	0,84	40,71	c
Cascata 1070	5099,47	b	65,66	c	0,83	50,08	b
Conserva 1153	3055,28	h	60,44	c	0,91	66,23	a
Conserva 688	5028,57	b	56,42	c	0,65	14,41	d
Conserva 1187	4835,82	d	51,69	c	0,70	37,59	c
Santa Áurea	2600,72	j	50,90	c	0,73	39,28	c
Tropic Beauty	4097,23	e	50,62	c	0,69	49,43	b
Conserva 681	2573,38	j	39,27	d	0,55	58,20	b
Conserva 844	3589,50	f	36,56	d	0,53	55,88	b
Cascata 962	3739,37	f	33,55	d	0,44	20,30	d
Conserva 1186	2811,37	i	28,96	d	0,45	41,49	c
Atenas	3281,45	g	28,67	d	0,38	43,33	c
Cascata 1055	3006,48	h	28,50	d	0,42	37,47	c
Bonão	3606,20	f	26,63	d	0,36	36,62	c
Conserva 977	2362,79	k	19,37	d	0,28	47,27	b
Cascata 967	2778,65	i	17,90	e	0,20	12,33	d
Tropic Snow	3027,61	h	12,68	e	0,16	18,73	d
Cascata 1065	1542,85	n	11,21	e	0,18	20,71	d
Conserva 1129	911,58	p	10,77	e	0,16	13,11	d
Olímpia	1977,97	l	10,29	e	0,14	7,66	d
Conserva 1205	1450,89	n	10,18	e	0,16	27,61	c
Cascata 1063	2313,17	k	8,89	e	0,11	11,58	d
Cascata 587	2047,12	l	8,77	e	0,12	24,01	d
Conserva 985	1754,01	m	7,21	e	0,10	9,75	d
Conserva 871	1175,64	o	4,41	e	0,06	15,07	d
Médias	3155,57		59,08			38,75	
CV (%)	15,43		16,00			30,47	

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

No período de avaliação do experimento que compreendeu os meses de novembro de 2007 a fevereiro de 2008 a temperatura média foi de 21,7°C, com máxima de 34,2°C e mínima de 9,4°C (Figura 11). Neste ciclo a umidade relativa do ar média foi de 69,7%, porém as precipitações foram menores que no ciclo

2006/2007, com períodos prolongados de seca ao longo do período de avaliação, principalmente a partir da 3ª avaliação (20.12.2007) (Tabela 12). Este fato pode ter contribuído para uma menor ocorrência de bacteriose, que resultou numa menor média para ACCPD para incidência e severidade, bem como uma menor desfolha. A congestão de água na folha, o tempo de molhamento foliar e a temperatura são importantes para o desenvolvimento da bacteriose do pessegueiro (MONTEIRO et al., 2004).

Em anos ou locais em que ocorrem condições adequadas para o desenvolvimento da doença, os genótipos tendem a maior homogeneidade, formando poucos grupos, como observado no ciclo 2006/07. Nestas condições é que se deve proceder a identificação de genótipos resistentes, pois são menores as chances de se considerar tolerantes ou resistentes genótipos que na verdade são suscetíveis. No entanto, existe sempre a possibilidade de se selecionar genótipos suscetíveis, principalmente quando a seleção for procedida por observações em campo, onde a distribuição do inóculo e o ambiente não são homogêneos. Uma vez selecionados, tais genótipos devem ser submetidos a testes mais rigorosos, com inoculação artificial e mantidos em condições ambientais adequadas para o desenvolvimento da doença, para que estes possam expressar seu real potencial de resistir a um patógeno. Assim, com base nas observações em condições naturais, durante os ciclos de 2006/2007 e 2007/2008, foram selecionados os genótipos Conserva 985, Conserva 871, Conserva 1129, e 'Tropic Snow', que se mostraram mais resistentes, e os genótipos Conserva 1153, 'Bonão', Conserva 1125 e 'Atenas', que se mostraram mais suscetíveis.

Cabe salientar que nos genótipos que tiveram comportamento de suscetibilidade a bacteriose, o período compreendido entre a plena brotação e a última avaliação foi maior (Tabela 6).

Os genótipos selecionados, a partir dos resultados das avaliações em campo, foram submetidos à técnica de inoculação por infiltração em folhas destacadas, conforme descrito no item 3.4; bem como plantas em vasos foram mantidas em casa de vegetação sob condições adequadas de umidade e temperatura para que ocorresse a manifestação da doença, conforme descrito no item 3.5. Os resultados desses experimentos encontram-se descritos nos itens 4.2 e 4.3.

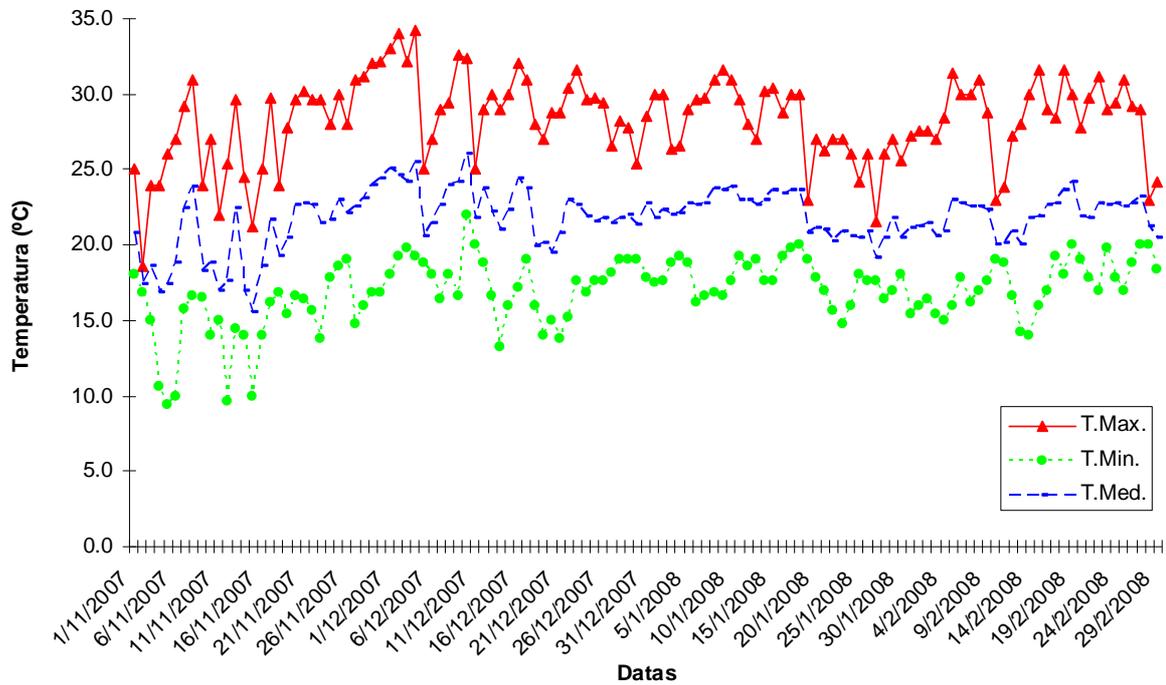


Figura 11 – Temperaturas Máximas, Médias e Mínimas da região de Pato Branco no período de novembro de 2007 a fevereiro de 2008. UTFPR – *Campus Pato Branco*, 2009.

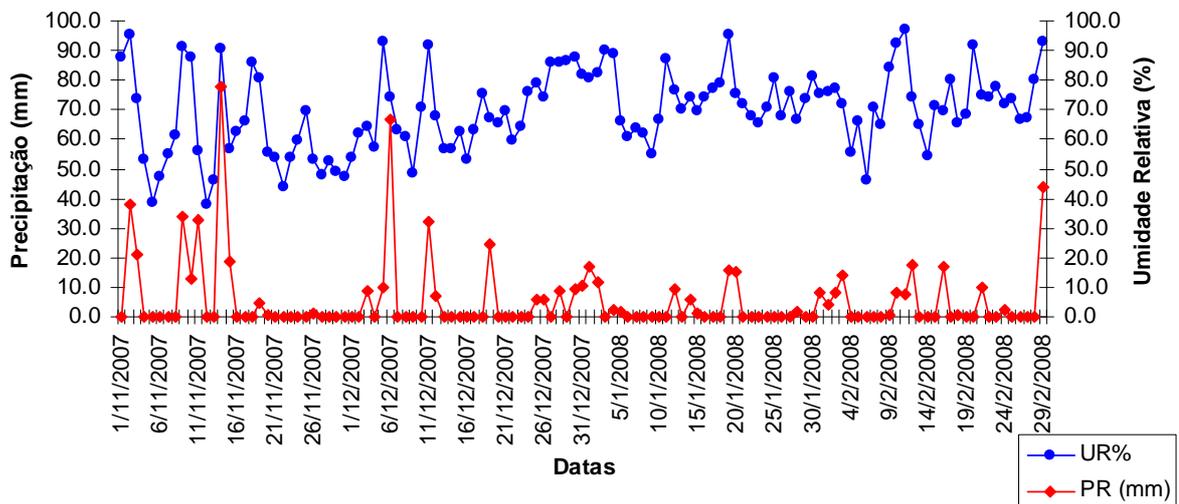


Figura 12 – Precipitação e Umidade Relativa do Ar da região de Pato Branco no período de novembro de 2007 a fevereiro de 2008. UTFPR – *Campus Pato Branco*, 2009.

Tabela 6 – Número de dias decorridos da plena brotação dos genótipos de pessegueiro até cada avaliação, no ciclo 2007/2008. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.

GENÓTIPOS	PLENA BROTAÇÃO	AVALIAÇÕES				
		1ª	2ª	3ª	4ª	5ª
Bonão	20/junho/2007	120	148	183	210	229
Tropic Beauty	20/junho/2007	120	148	183	210	229
Conserva 1153	20/junho/2007	120	148	183	210	229
Conserva1125	20/junho/2007	120	148	183	210	229
Rubimel	26/junho/2007	114	142	177	204	223
Conserva 1127	03/julho/2007	107	135	170	197	216
Conserva 834	10/julho/2007	100	128	163	190	209
Conserva 1187	10/julho/2007	100	128	163	190	209
Conserva 803	13/julho/2007	97	125	160	187	206
Atenas	13/julho/2007	97	125	160	187	206
Tropic Snow	13/julho/2007	97	125	160	187	206
Conserva 688	20/julho/2007	90	118	153	180	197
Conserva 844	30/julho/2007	80	108	143	170	187
Conserva 977	30/julho/2007	80	108	143	170	187
Conserva 655	30/julho/2007	80	108	143	170	187
Conserva 872	30/julho/2007	80	108	143	170	187
Conserva 1063	30/julho/2007	80	108	143	170	187
Conserva 1186	30/julho/2007	80	108	143	170	187
Conserva 1205	30/julho/2007	80	108	143	170	187
Conserva 962	06/agosto/2007	73	101	136	163	180
Conserva 985	06/agosto/2007	73	101	136	163	180
Conserva 1125	06/agosto/2007	73	101	136	163	180
Conserva 681	06/agosto/2007	73	101	136	163	180
Conserva 1070	11/agosto/2007	68	96	131	158	175
Conserva 1065	13/agosto/2007	66	94	129	156	173
Conserva 1129	13/agosto/2007	66	94	129	156	173
Conserva 871	13/agosto/2007	66	94	129	156	173
Conserva 626	20/agosto/2007	59	87	122	149	166
Conserva 967	20/agosto/2007	59	87	122	149	166
Conserva 1055	20/agosto/2007	59	87	122	149	166

4.2 AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DE BACTERIOSE EM FOLHAS DESTACADAS DE PESSEGUEIRO INOCULADAS POR INFILTRAÇÃO COM *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*.

Os resultados representam uma média das avaliações realizadas no 6º, 8º e 10º dia após inoculação. As avaliações foram encerradas no 10º dia de incubação porque algumas folhas já apresentavam destacamento da lesão no sítio inoculado, chegando ao limite máximo de infecção, conforme escala de avaliação. Observou-se, também, que as folhas tornaram-se amareladas, indicando senescência, tanto as do tratamento controle como as inoculadas. Esta dificuldade também foi observada por Yarwood (1946) que abordava como principal responsável pelo insucesso de muitos trabalhos, a morte ou senescência relativamente rápidas das folhas, após serem destacadas das plantas.

Houve diferença significativa entre os genótipos testados para severidade de bacteriose nas folhas, as quais variaram em notas de 1,5 a próximo de 3,5, segundo escala proposta por Civerolo e Keil (1976), mas nenhum foi imune. Os genótipos que apresentaram os menores índices de doença foram Conserva 985 e Conserva 1129, enquanto que Conserva 1153, 'Atenas' e Conserva 1125 foram os que apresentaram os maiores índices. 'Tropic Snow', 'Bonão' e Conserva 871 apresentaram índices intermediários, diferindo dos resultados encontrados nas avaliações em condições naturais, em que o 'Bonão' foi classificado como suscetível e o 'Tropic Snow' como resistente à bacteriose na folha. Os resultados apresentados para os genótipos Conserva 1125, 'Atenas' e Conserva 1153 corroboram os resultados obtidos nas avaliações em condições naturais, apresentando-se como suscetíveis a bacteriose (Figura 13). Kretzschmar, Rosseto e Martins, (1998) encontraram resultados semelhantes aos observados em campo, avaliando a reação de cultivares de pessegueiro à *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* inoculadas por infiltração em folhas destacadas.

Marques et al. (2007) confirmaram através da inoculação em hastes e folhas destacadas de plantas adultas de goiabeira, a patogenicidade de isolados causadores da seca dos ponteiros causada por *Erwinia psidii*.

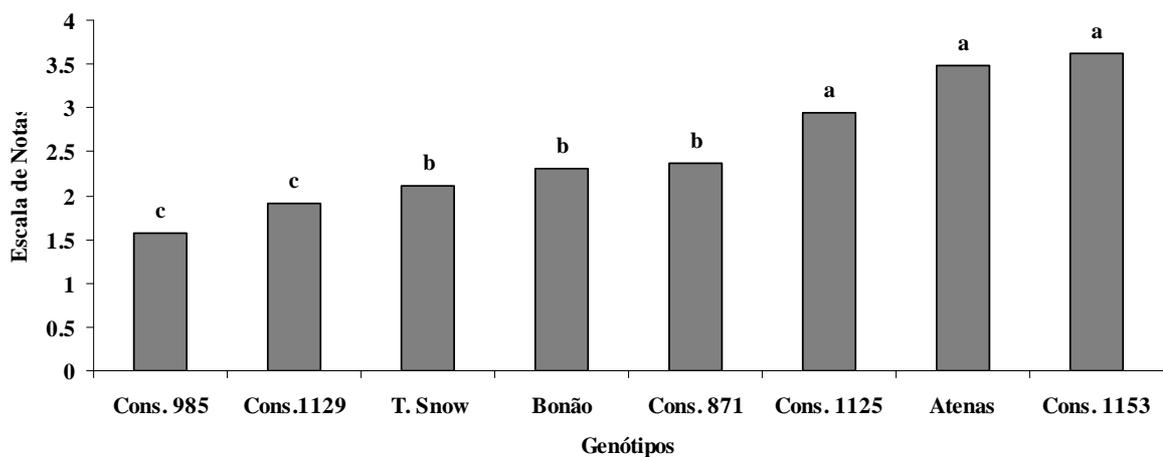


Figura 13 - Severidade da doença baseada na escala de notas proposta por Civerolo e Keil (1976), em folhas destacadas de genótipos de pessegueiro. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). UTFPR - Campus Pato Branco, 2009. C.V (%) = 9,28.

4.2.1 Análises Bioquímicas

Na quantificação de açúcares redutores em folhas com inoculação observou-se que os genótipos Conserva 985 e 'Tropic Snow', considerados como resistentes, possuíam menores teores no dia da instalação do experimento, sendo que não se observou grandes alterações até 168 horas após a inoculação. Padrão semelhante também foi observado nas folhas não inoculadas (Figura 14A e 14B). Já os genótipos Conserva 1153 e Conserva 1125, que foram os mais suscetíveis a doença, apresentaram, no dia da instalação do experimento, quantidades maiores de açúcares redutores (Figura 14C e 14D) que os genótipos Conserva 985 e 'Tropic Snow'. Maiores quantidades de açúcares redutores (glicose, frutose e manose), nos genótipos suscetíveis, podem ter favorecido o processo de infecção e colonização da bactéria, sendo que posteriormente ocorreu um decréscimo nas quantidades desses açúcares, conforme se observa nas avaliações feitas após a inoculação para Conserva 1153 (Figura 14C) e na avaliação de 24 horas após a inoculação para Conserva 1125 (Figura 14D). A hipótese que pode ser considerada é que as plantas mais suscetíveis tendem a apresentar quantidades maiores de açúcares redutores, justificada na concepção da trofobiose, segundo o qual *“todo o processo vital encontra-se sob a dependência da satisfação das necessidades do organismo vivo”*. Isto significa que a planta ou o órgão será atacado somente na medida em que seu estado bioquímico corresponda às exigências tróficas do parasita (CHABOUSSOU, 1999).

De maneira geral observou-se que os genótipos mais suscetíveis apresentaram teores de açúcares redutores (Figura 14) mais elevados que os resistentes, da mesma forma que o observado para açúcares totais (Figura 15).

Níveis elevados de açúcares totais (reduzidos + sacarose) podem estar relacionados ao aumento da atividade metabólica destas plantas, pois os ciclos metabólicos estão integrados e um processo de indução de compostos do metabolismo secundário pode afetar o metabolismo primário, porém não de forma eficiente que permitisse o controle da doença.

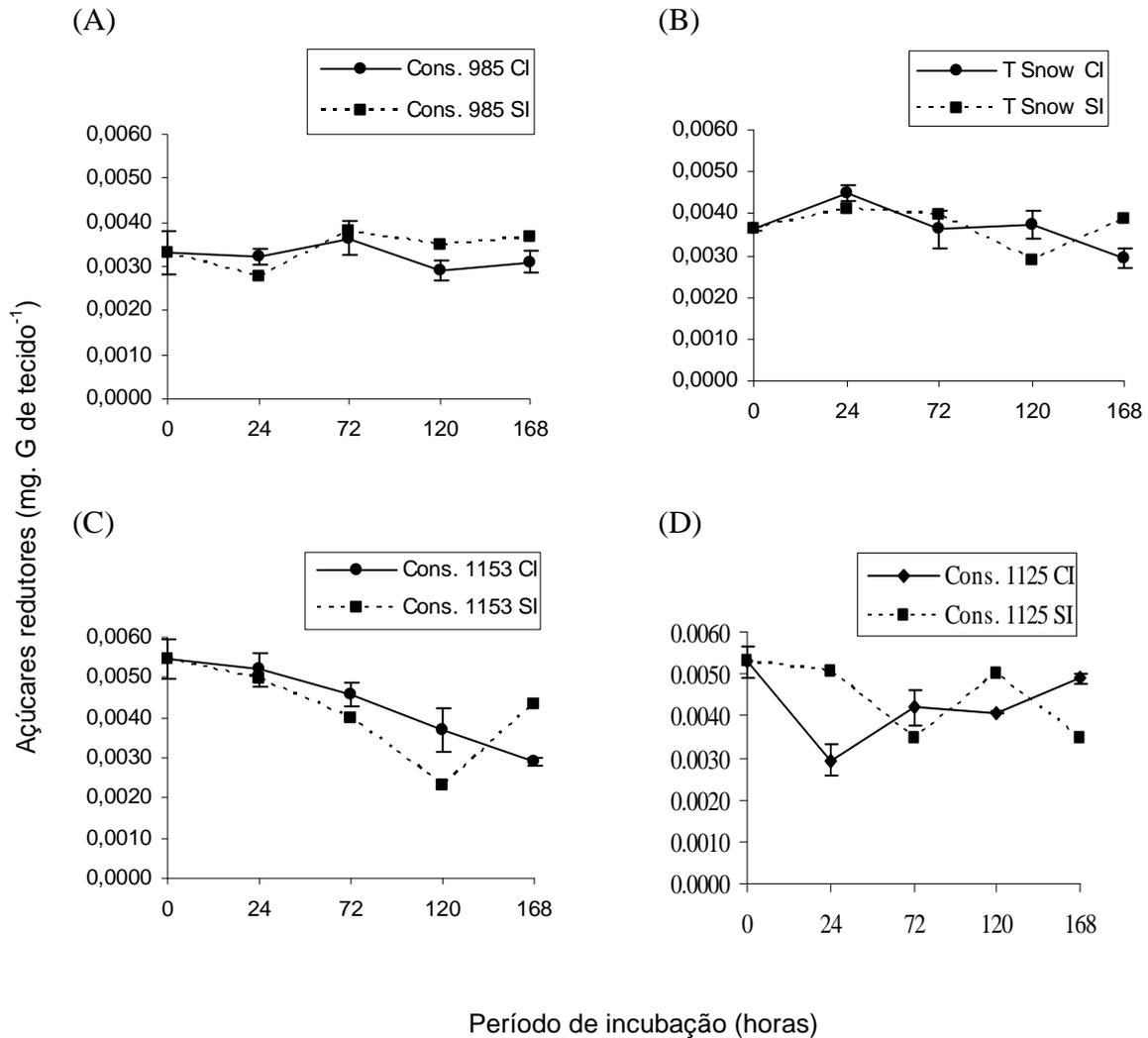


Figura 14 – Evolução dos teores de açúcares redutores em folhas de genótipos de pessegueiro, com inoculação (CI) e sem inoculação (SI) de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, em diferentes períodos de incubação. As barras indicam o desvio padrão. UTFPR - Campus Pato Branco, 2009.

Para os teores de açúcares totais o controle sem inoculação apresenta comportamento variável dependendo dos genótipos (Figura 15). Com a inoculação ocorreu um acréscimo inicial dos teores de açúcares durante o período de incubação seguidos de um decréscimo, exceto para Conserva 985 (Figura 15A).

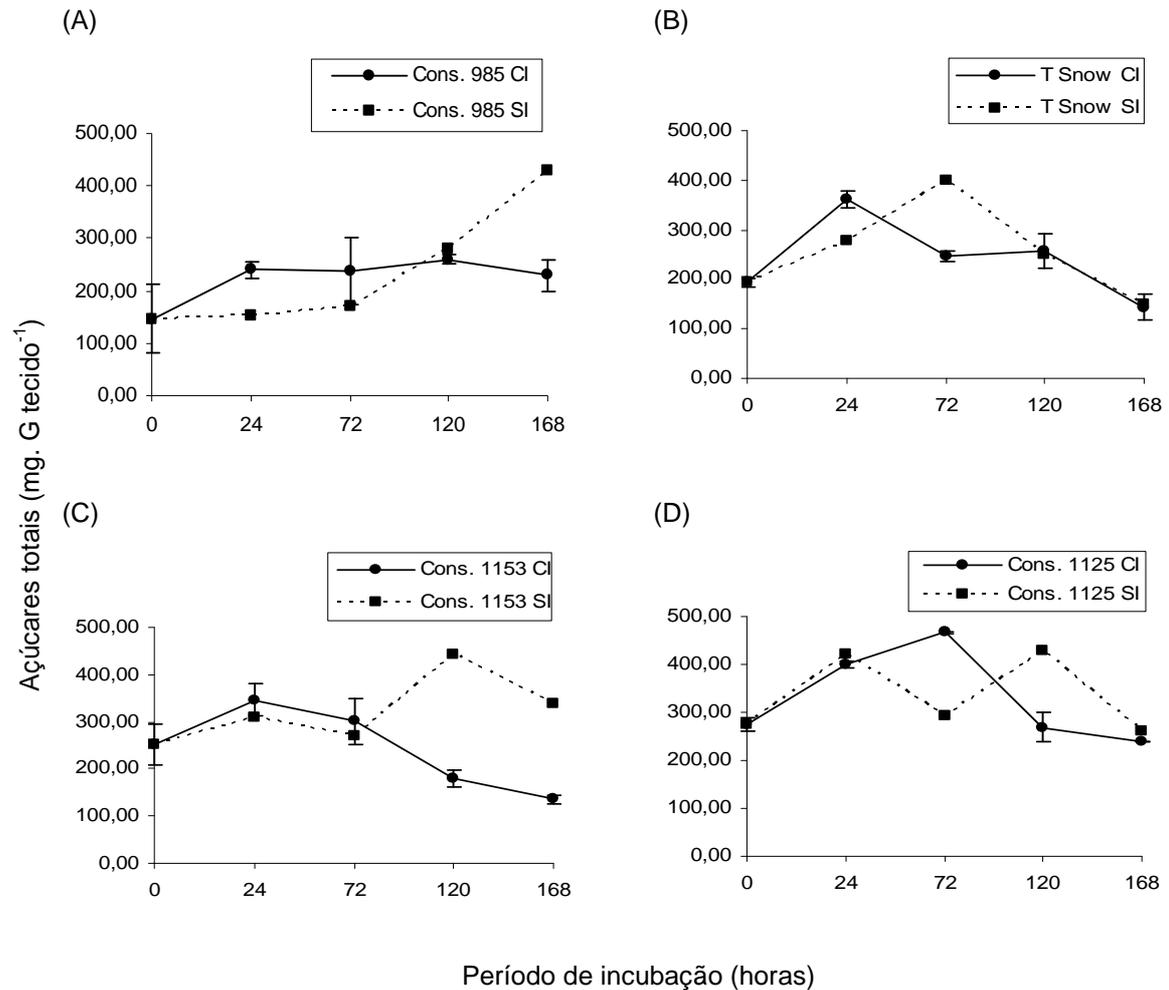


Figura 15 – Evolução dos teores de açúcares totais em folhas de genótipos de pessegueiro, com inoculação (CI) e sem inoculação (SI) de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, em diferentes períodos de incubação. As barras indicam o desvio padrão. UTFPR - Campus Pato Branco, 2009.

Para os teores de proteínas totais ocorreu um acréscimo até 120 horas após a inoculação para todos os genótipos (Figura 16), sendo que não foram observadas diferenças significativas entre genótipos (Apêndice B). Esse aumento dos teores de proteínas pode estar relacionado à síntese de proteínas-RPs. Entre as proteínas-RPs mais pesquisadas estão as β -1,3-glucanase e a quitinase, com atividade antimicrobiana hidrolítica, quebrando polímeros estruturais presentes na parede dos patógenos (GLAZEBROOK, 2005), proteínas essas que não foram avaliadas nesse experimento.

A queda observada após 120 horas, possivelmente esteja relacionado à degradação das proteínas ocasionadas pela senescência das folhas (Figura 16).

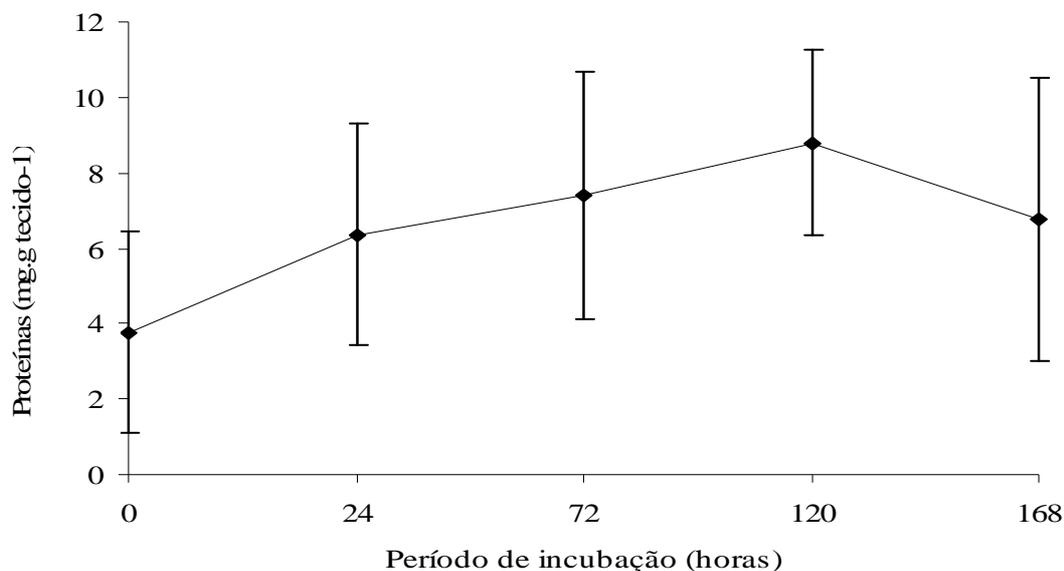


Figura 16 – Evolução dos teores de proteínas totais em folhas de genótipos de pessegueiro, inoculadas com *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, em diferentes períodos de incubação. UTFPR - Campus Pato Branco, 2009.

Quanto aos fenóis, ocorreu um ligeiro aumento até 72 horas após a inoculação o que pode ser devido à ativação da rota de defesa dos fenilpropanóides para produção de compostos fenólicos e o decréscimo posterior devido à utilização desses compostos e da não ocorrência de um novo estímulo ou devido à degenerescência das folhas, hipótese mais provável, pois comportamento semelhante também foi verificado nas folhas não inoculadas (Figura 17).

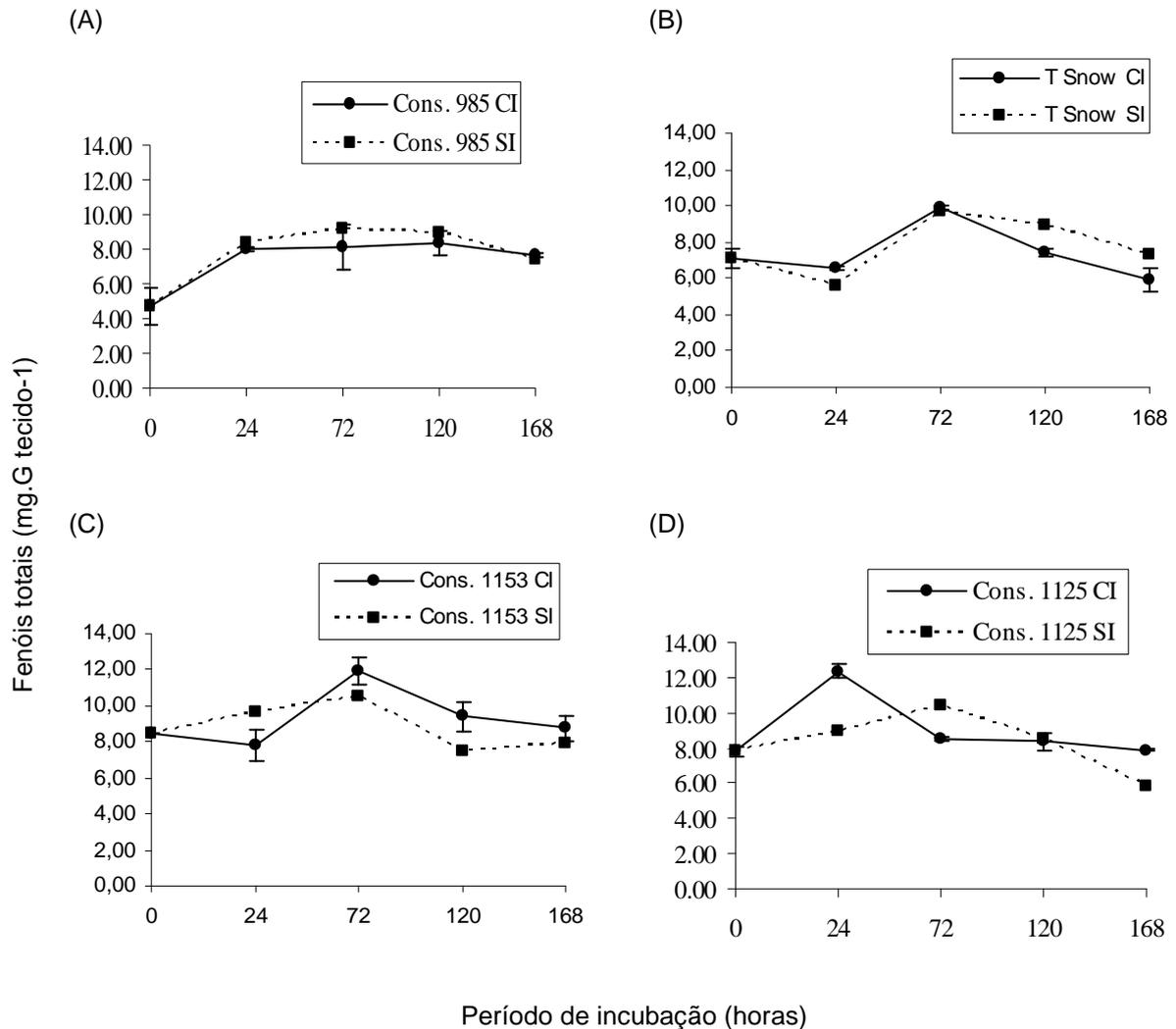


Figura 17 – Evolução dos teores de fenóis determinados em folhas de genótipos de pessegueiro, com inoculação (CI) e sem inoculação (SI) de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, em diferentes períodos de incubação. As barras indicam o desvio padrão. UTFPR - Campus Pato Branco, 2009.

Na atividade das enzimas peroxidases se observou uma grande elevação na atividade das mesmas até 168 horas após a inoculação (Figura 18). Possivelmente isso está relacionado ao avançado estágio de senescência das folhas.

Na interação planta-patógeno a indução da produção de peroxidases constitui um dos primeiro eventos, diretamente relacionado ao fenômeno da “explosão oxidativa”. O fenômeno contribui para uma rápida produção de EAOs, que causam a morte celular e possuem atividade antimicrobiana, agindo diretamente sobre o patógeno (HALFED-VIEIRA; SOUSA, 2002). Desta maneira, pode-se inferir

que nos genótipos resistentes, as EAOs poderiam agir contra o patógeno, no entanto isso não ficou evidente nesse experimento.

A alteração da atividade da peroxidase é um indício de alteração do metabolismo da planta, por ter sua atividade afetada pelo ataque de patógenos (LABANCA, 2002). Testando indutores em feijão, Rodrigues, Bezerra Neto e Coelho, (2006) não encontraram diferença significativa entre a atividade da peroxidase e a testemunha. Este resultado suporta a hipótese de que este não é o mecanismo pelo qual esses indutores ativam a resistência em caupi. Diferentemente, Oliveira et al. (2001) estudando o comportamento de genótipos de caupi resistentes e suscetíveis à antracnose e meloidoginose, encontraram um aumento significativo da atividade da peroxidase em resposta a infecção nas cultivares resistentes, sugerindo a participação dessa enzima no mecanismo de defesa das plantas.

A atividade de peroxidase tem sido associada a uma variedade de processos relacionados à defesa em plantas, até mesmo reações de hipersensibilidade, lignificação e suberização (SILVA; PASCHOLATI; BEDENDO, 2007).

A peroxidase pode ser tomada como um marcador bioquímico de estresse resultante de fatores bióticos e abióticos, pelo fato de ser a primeira enzima a ter atividade alterada, produzindo elevadas quantidades quando a planta é submetida a condições de estresse, independente do substrato ou do estresse aplicado (SIEGEL, 1993).

O genótipo suscetível Conserva 1125 (Figura 18D) apresentou redução na atividade das peroxidases no período de incubação até 120 horas, sugerindo que plantas com altos níveis de infecção, apresentam menor atividade da enzima. Uma vez que as peroxidases estão relacionadas com os mecanismos de defesa das plantas. Porém esse comportamento não é uma prova contundente da ação das peroxidases no mecanismo de defesa à bacteriose nesse genótipo.

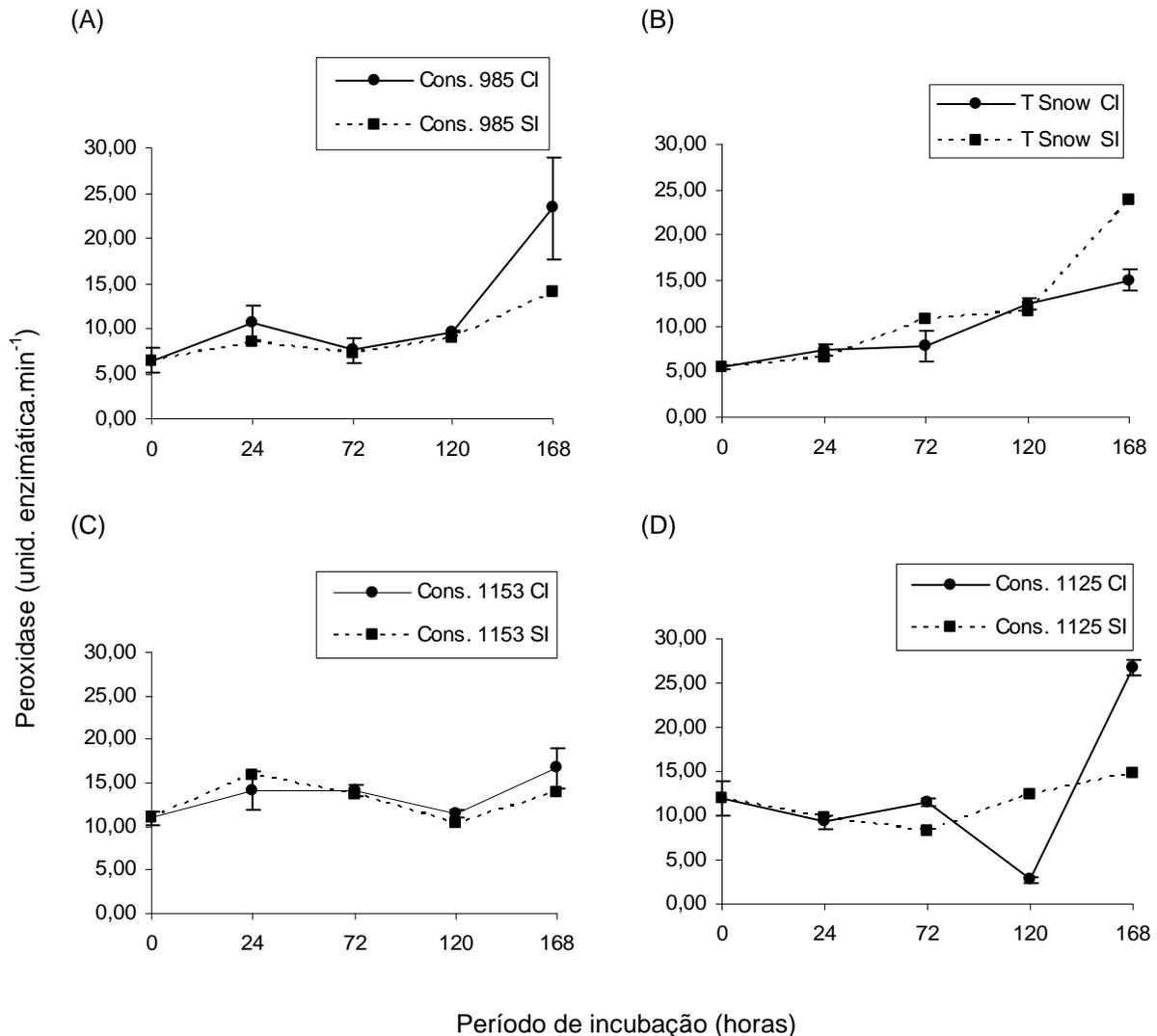


Figura 18 – Evolução dos teores de peroxidases em folhas de genótipos de pessegueiro, com inoculação (CI) e sem inoculação (SI) de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, em diferentes períodos de incubação. As barras indicam o desvio padrão. UTFPR - Campus Pato Branco, 2009.

Em condições de estresse, as plantas produzem elevadas quantidades da enzima peroxidase, caracterizando-se por ser a primeira enzima a alterar a sua atividade, não sendo limitada pelo tipo de estresse aplicado ou o substrato empregado (SIEGEL, 1993).

Zhao et al. (2005) observaram que as plantas que receberam estímulo de estresse apresentaram alta atividade da enzima peroxidases e FAL, em relação aquelas que não receberam o estímulo. Também no mesmo trabalho, os autores observaram que as plantas inoculadas com o patógeno apresentaram alta atividade destas enzimas.

A peroxidase é uma importante enzima das plantas e está envolvida em diversas reações, ligações de polissacarídeos, oxidação do ácido indol-3-acético, ligações de monômeros, lignificação, cicatrização de ferimentos, oxidação de fenóis, defesa de patógenos, regulação da alongação de células e outras (GASPAR et al. 1982; KAO, 2003).

Na análise da atividade da FAL (Figura 19), observaram-se alterações, porém não foram observadas diferenças significativas entre os genótipos e nem no período de incubação, nos diferentes dias após a inoculação (Apêndice C).

A FAL é uma enzima chave da via metabólica da fenilalanina. Além de fazer parte da classe de enzimas envolvidas com a formação de lignina, cujo acúmulo na parede celular é concomitante com o aumento na atividade de FAL, induzida por agente biótico ou abiótico (ZHAO et al., 2005).

Os fenilpropanóides, compostos formados sobre a estrutura do hidrocarboneto fenilpropano, são importantes no crescimento vegetal, mas também atuam na proteção contra estresses ambientais. Seu metabolismo em plantas superiores também está associado à resistência e à síntese de componentes da parede celular vegetal. A enzima FAL provoca a primeira de uma série de reações metabólicas que gera inúmeros produtos naturais baseados em fenilpropanóides. A produção de tal enzima é regulada durante o crescimento vegetal, mas é também induzida em células vizinhas ao local de infecção.

As alterações bioquímicas como a elevação dos níveis de proteínas totais e fenóis totais sugerem que genótipos suscetíveis e resistentes ativam rotas de defesa vegetal após o processo de inoculação. A maior quantidade de açúcares redutores e totais nos genótipos suscetíveis antes da inoculação, também sugere que o processo de colonização possa ter sido facilitado nesses genótipos. No entanto, não se pode afirmar pelas análises realizadas nesse experimento, que houve participação dos compostos bioquímicos estudados no mecanismo de resistência ou suscetibilidade dos genótipos à bacteriose.

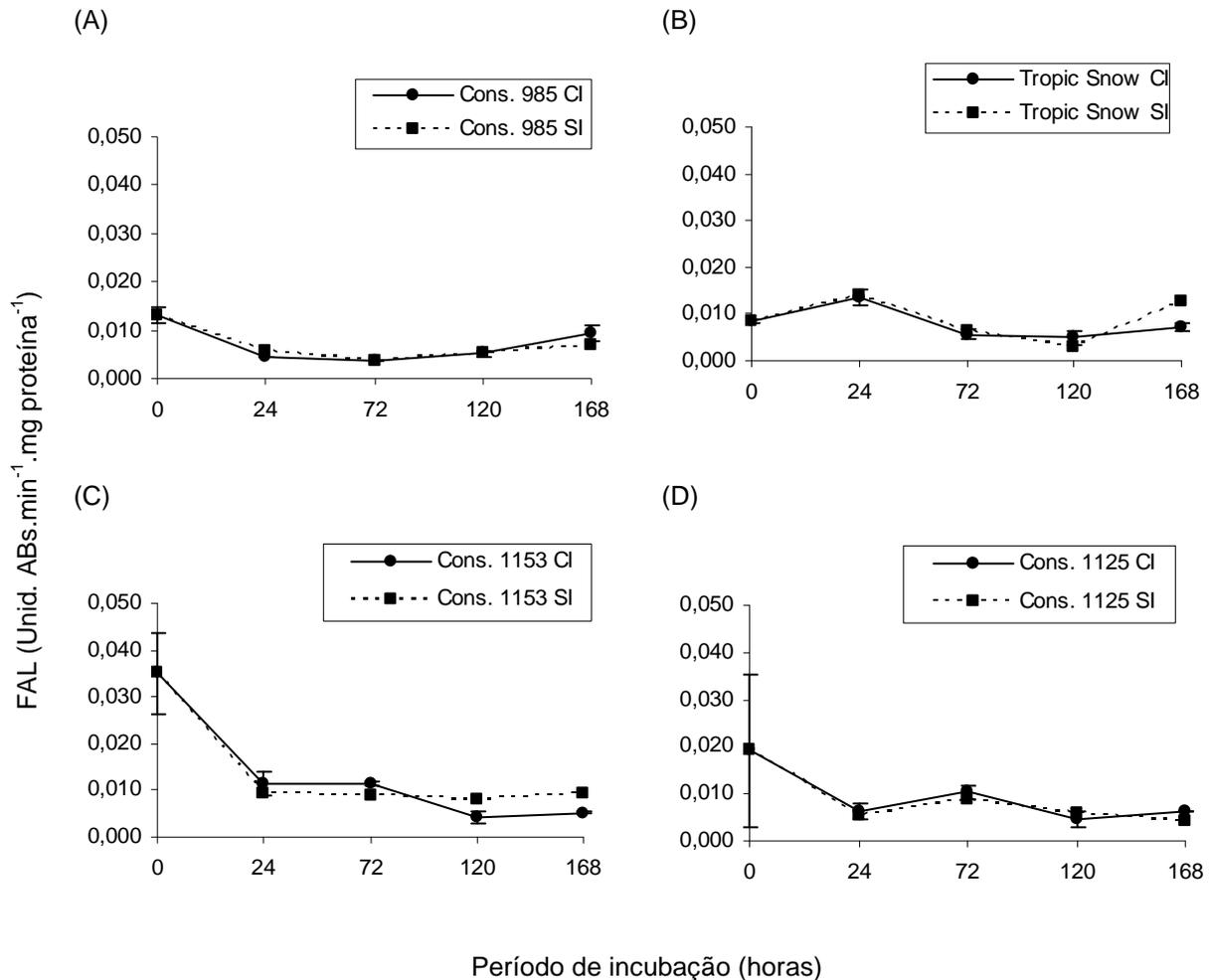


Figura 19 – Atividade da fenilalanina amonialiase (FAL) em folhas de genótipos de pessegueiro, com inoculação (CI) e sem inoculação (SI) de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, em diferentes períodos de incubação. As barras indicam o desvio padrão. UTFPR - Campus Pato Branco, 2009.

4.3 AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DE BACTERIOSE OCACIONADA POR *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* EM FOLHAS DE PESSEGUEIROS CULTIVADOS EM AMBIENTE CONTROLADO.

Apesar de não apresentarem diferenças significativas entre genótipos quanto à severidade (Apêndice D), os genótipos suscetíveis, de um modo geral, apresentaram os maiores percentuais de área lesionada, exceção ao genótipo Conserva 1125 que apresentou baixo percentual de lesão, chegando até mesmo a ser inferior a genótipos do grupo dos resistentes (Figura 20). Kamikoga, Lima e Costa, (2001) encontraram uma boa correspondência avaliando resistência de *Microsphaera diffusa* em cultura de soja no estágio de plântulas em

condições de casa de vegetação ou no estágio de planta adulta em condições de campo.

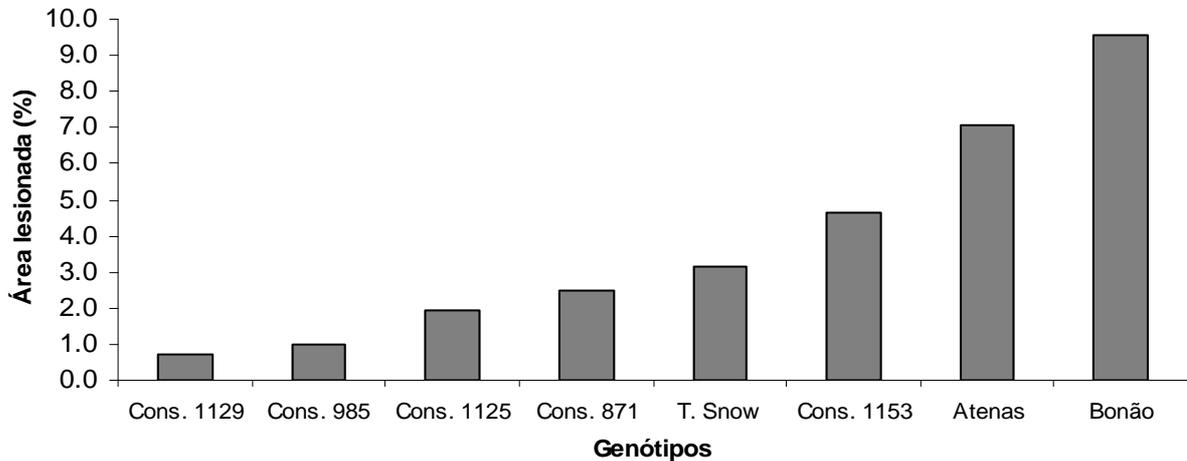


Figura 20 – Severidade da bacteriose ocasionada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* em folhas de genótipos de pessegueiro mantidos em ambiente controlado. UTFPR - Campus Pato Branco, 2009.

Esse resultado é um reflexo das características semelhantes dos sintomas, que nos genótipos resistentes apresentaram lesões puntiformes de diâmetro reduzido com halo clorótico reduzido ou ausente, distribuídas em toda folha e com queda do centro da lesão indicando uma reação de hipersensibilidade (RH).

A RH resulta na morte repentina de um número limitado de células do hospedeiro circundando os sítios de infecção. Segundo Pascholati & Leite (1995) essa reação é caracterizada principalmente pela capacidade metabólica da planta, é uma resposta celular extrema por parte da planta, podendo levar a um alto grau de resistência à doença. Além da resposta de hipersensibilidade, há aumento na concentração ou síntese de PRPs e, ainda, a indução da resistência em locais da planta distantes do local da infecção pelo patógeno (ROMEIRO, 2000).

A média das temperaturas no período avaliado que foi de 21,5°C (Figura 20) ficou abaixo do índice crítico de 28°C, que segundo Pinheiro et al. (1999) impede o surgimento de RH quando a infecção ocorre nessa temperatura, em virtude das plantas não acumularem ácido salicílico. Porém, está dentro da faixa de temperatura para a multiplicação da bactéria que é entre 16°C e 33°C (MONTEIRO et al., 2004).

As condições desfavoráveis proporcionadas pelo ambiente, onde não havia ocorrência de ventos, que poderiam causar ferimentos, da chuva na dispersão do inóculo, e derrubada de folhas (abscisão) e não incidência de insetos e ácaros, pode ter contribuído para uma baixa severidade, representada nos resultados de percentuais da área lesionada onde não se observou diferença significativa entre os genótipos testados (Figura 20). Segundo May de Mio, Garrido e Ueno, (2004) a disseminação da bacteriose se dá de forma passiva, a curta distância ocorre através de gotículas de águas carregadas pelo vento quando ocorre chuva. Outro fato que pode ser considerado é de que a fonte de inóculo não foi incrementada em face do maior crescimento vertical nas plantas jovens, não tendo nem vento, nem a chuva para disseminação.

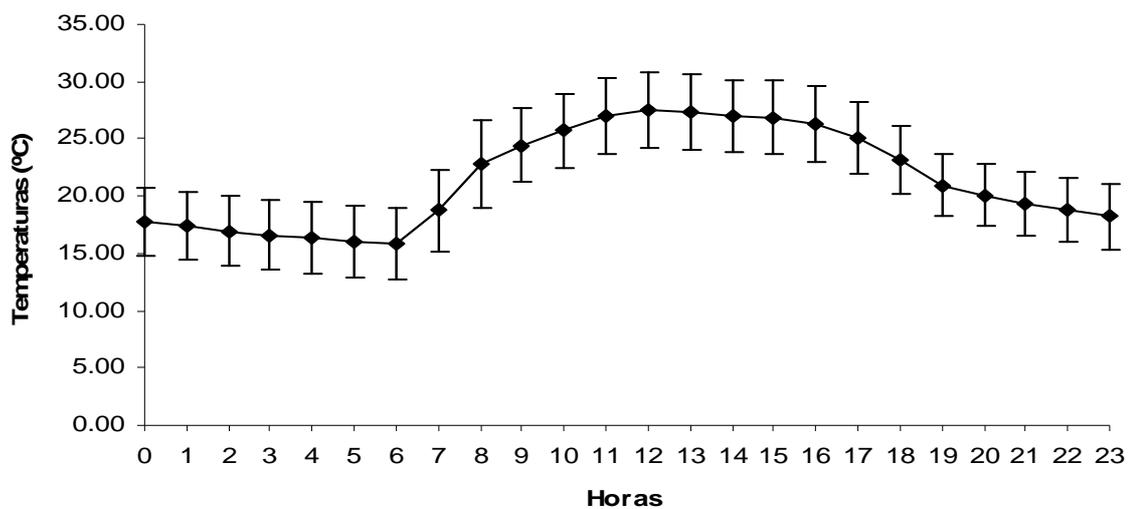


Figura 21 – Médias horárias de temperaturas no período de 28/08 a 30/10/2008, ocorridas na casa de vegetação. As barras indicam o desvio padrão. UTFPR - *Campus* Pato Branco, 2009.

O genótipo 'Tropic Snow' que tem apresentado um comportamento intermediário em relação à severidade, também apresentou uma reação de hipersensibilidade com destacamento das lesões, embora estas sejam maiores e sem a presença de halo (Tabela 7).

Tabela 7 – Caracterização dos sintomas de bacteriose ocasionada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* em folhas de genótipos de pessegueiro avaliados em ambiente controlado. UTFPR - Campus Pato Branco, 2009.

Genótipos	Características					
	Lesões	Quant.	Diâmetro	Halo	Coalescência	RH*
Cons. 985	puntiformes	muitas	reduzido	não	não	sim
Cons. 1129	puntiformes	muitas	reduzido	não	não	sim
Cons. 871	puntiformes	muitas	reduzido	não	não	sim
T. Snow	puntiformes	reduzida	grande	não	não	sim
Cons. 1153	angular	reduzida	grande	sim	sim	não
Bonão	angular	reduzida	grande	sim	sim	não
Cons. 1125	angular	reduzida	grande	sim	sim	não
Atenas	angular	reduzida	grande	sim	sim	não

*RH = Reação de Hipersensibilidade

Os genótipos considerados suscetíveis apresentaram lesões em menores quantidades, porém de maior diâmetro, formato arredondado e angulosas em alguns genótipos, com bastante coalescência atingindo grandes extensões do limbo foliar, presença de halo clorótico e tecido infectado/lesionado com encharcamento (Figura 22).

Outro fato observado é que nos genótipos resistentes as folhas permanecem verdes, fotossinteticamente ativas, ao contrário dos suscetíveis que apresentaram amarelecimento. Isto pode estar relacionado com a maior sensibilidade destes genótipos as enzimas secretadas pela bactéria.

Embora não tenha sido avaliada, ocorreu à desfolha na parte basal de uma planta da cultivar 'Bonão' no final do período de avaliação, em consequência da alta severidade (Figura 23).

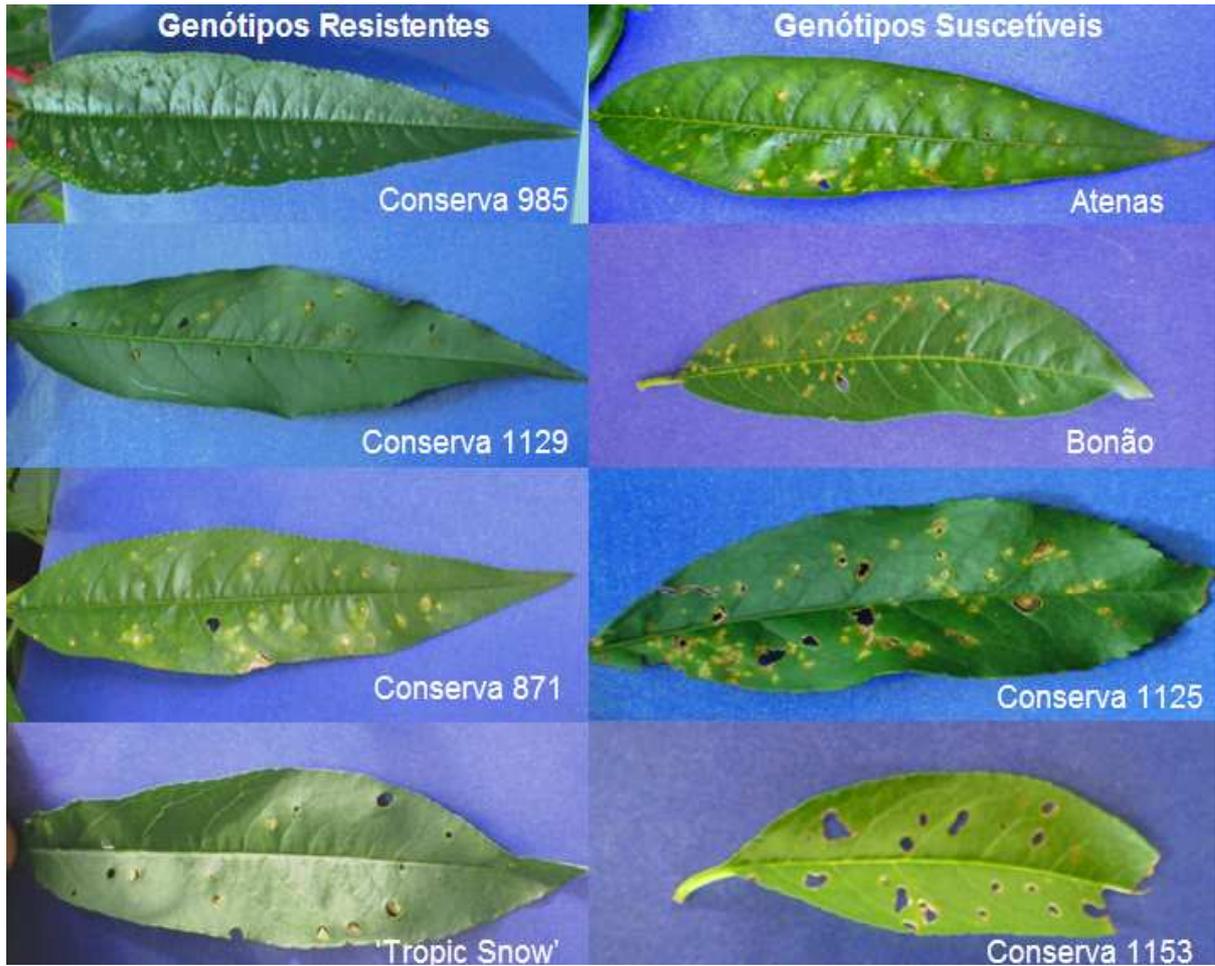


Figura 22 – Reação de genótipos de pessegueiro a bacteriose ocasionada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* em ambiente controlado. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.



Figura 23 – Folha da cultivar 'Bonão' com alta severidade, ocasionada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* em ambiente controlado. UTFPR – Campus Pato Branco, 2009.

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho pode-se concluir que:

- Em condições naturais os genótipos avaliados apresentaram níveis diferentes de sensibilidade, sendo que os genótipos Conserva 985, Conserva 1129, 'Tropic Snow' e Conserva 871 apresentaram-se como os mais resistentes, enquanto que Conserva 1127, Conserva 1125, 'Rubimel', Conserva 803 e Conserva 1153 os mais suscetíveis.

- No experimento com folhas destacadas, os genótipos Conserva 985 e Conserva 1129 apresentaram-se como os mais resistentes, enquanto que Conserva 1125, 'Atenas' e Conserva 1153 os mais suscetíveis.

- A técnica de inoculação por infiltração em folhas destacadas é viável para identificar genótipos resistentes à bacteriose.

- Não foi possível relacionar a resistência à bacteriose com os compostos bioquímicos estudados.

- No experimento com plantas conduzidas em ambiente controlado, ratificaram-se a resistência dos genótipos Conserva 985 e Conserva 1129 e de suscetibilidade dos genótipos Conserva 1153, 'Bonão' e 'Antenas' a bacteriose causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cultura do pessegueiro no Brasil evoluiu muito nas últimas décadas, graças à criação de cultivares mais bem adaptadas as condições de clima subtropical. Atualmente, os objetivos dos programas de melhoramento é agregar qualidade de fruto, estabilidade produtiva e resistência a doenças, dentre as quais, a resistência à bacteriose. Nesse sentido, a identificação de fontes de resistência, que possam ser utilizadas nos programas de cruzamentos ou ser indicadas como cultivares para zonas de maior risco de ocorrência da doença, torna-se fundamental. Aliado a isso, o desenvolvimento de técnicas eficientes, rápidas e de fácil aplicação, capazes de classificar, com segurança, grande número de genótipos, quanto a reação à bacteriose, também tem importância relevante. Assim, acredita-se que os resultados obtidos nesse trabalho contribuíram para o avanço do conhecimento do germoplasma de pessegueiro estudado e sua reação a bacteriose.

Esse trabalho só foi possível de ser realizado graças à cooperação técnica científica existente entre a Embrapa Clima Temperado e a UTFPR. Nessa cooperação, a Embrapa disponibiliza anualmente as linhagens avançadas, obtidas no seu programa de melhoramento, para que sejam testadas nas condições climáticas do Sudoeste do Paraná. Os estudos realizados pela equipe da UTFPR visam gerar resultados que auxiliem o programa de melhoramento da Embrapa Clima Temperado, retroalimentando a criação de cultivares, ao mesmo tempo em que identificam genótipos adaptados às condições regionais.

A utilização de genótipos resistentes combinado com medidas profiláticas pode minimizar as perdas ocasionadas pela bacteriose. Além disso, deve-se evitar o plantio de genótipos suscetíveis em locais que favoreçam a ocorrência da doença.

Como continuidade da pesquisa, sugere-se testar os genótipos que se mostraram resistentes com estirpes de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* provenientes de diferentes locais de cultivo de pessegueiros, visando observar o comportamento destes quando submetidos ao inóculo de diferentes raças da bactéria. Sugere-se também estudar o modo de herança da resistência à bacteriose, pois isso facilitaria na obtenção de cultivares menos suscetíveis, que minimizem custos, melhoram a produtividade e a qualidade, atendendo as expectativas de um cultivo mais sustentável.

REFERÊNCIAS

ADASKAVEG, J.E. et al. **Peach rust caused by *Tranzschelia discolor* in Califórnia**. 2004. Disponível em: <<http://www.anrcatalog.ucdavis.edu/pdf/8011.pdf>>. Acesso em 11 de março de 2009.

AGRIOS, G.N. Genetics of plant disease. In: **Plant Pathology**. 6 ed. San Diego: Academic Press, 2005. p. 489-498.

AMORIM, L. Infecção. In: Bergamim Filho, A.; Kimati, H. & Amorim, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 3.ed. São Paulo, Agronômica Ceres,1995. v.1. p.295-308

BARBOSA, W. et al. **Ecofisiologia do desenvolvimento vegetativo e reprodutivo do pessegueiro em região subtropical**. Campinas. Instituto Agronômico, 1990. (Documentos, IAC 17)

BIELESKI, R.L.; TURNER, N.A. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v.17, p.278-293, 1966.

BOUDON, S.; MANCEAU, C.; NOTTÉGHEM, J.L. Structure and origin of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* populations causing bacterial spot of stone fruit trees in Western Europe. **Phytopathology**, Alexandria, v. 95, p. 1081-1088, 2005.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v.72, p.248-254, 1976.

CAMARGO, L.E.A.; BERGAMIM FILHO, A. Controle Genético. In: Bergamim Filho, A. & Amorim, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 3.ed. São Paulo, Agronômica Ceres, 1995. v.1 p.729-760

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to Plant Disease Epidemiology**. New York: John Willey & Sons, 1990. 532p.

CAMPOS, A.D. et al. Mercado e comercialização. In: **Cultivo do pessegueiro**. Brasília: Embrapa Clima Temperado, 2005. (Sistema de Produção, 4) Versão eletrônica, nov. 2005. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br>. Acesso em 21 de julho de 2008.

CAVALCANTI, L.S.; BRUNELLI, K.R.; STANGARLIN, J.R. Aspectos moleculares da resistência induzida. In: Cavalcanti, L.S.; Di Piero, R.M.; Cia, P.; Pascholati, S.F.; Resende, M.L.V.; Romeiro, R.S. (Eds.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. cap.4, p.81-124.

CITADIN, I. et al. Técnicas de avaliação da resistência de ameixeira à *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. **Revista Brasileira de fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, p. 390-393, 2005.

CITADIN, I. et al. Escala diagramática para avaliação da severidade de bacteriose em pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, p.327-330. 2008.

CIVEROLO, E.L.; KEIL, H.L. Evaluation of *Prunus spp* resistance to *Xanthomonas pruni* by artificial inoculation. **Fruit Varieties Journal**, Urbana, v.30, p.17-18. 1976.

CHABOUSSOU, F. Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos: a tória da trofobiose. 2. ed. Porto Alegre: L&PM, 1999. 272p.

CLINTON, G. P.; McCORMICK, F. A. Rust infection of leaves in Petri dishes. **Connecticut Agric. Exp. Station**, New Haven, Conn., n.260, p. 475 - 501. 1924.

CRUZ, C.D. **Programa genes**: Estatística experimental e matrizes. Viçosa: UFV, 2006. 285p.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v.28, p.350-356, 1956.

DU PLESSIS, H.J. Differential virulence of *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* to peach, plum, and apricot cultivars. **Phytopathology**, v. 78, p Alexandria, 1312-1315, 1988.

DURRANT, W. E.; DONG, X. Systemic Acquired Resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.42, p.185-209, 2004.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Base de dados FAOSTAT**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>> Acesso em: 09 de março de 2009.

FÁVERO, A.P. et al. **Avaliação para resistência a mancha preta e ferrugem em híbridos entre o amendoim e espécies silvestres de Arachis**. S.I. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005 (Boletim de Pesquisa 096)

FEHR, W. R. **Principles of Cultivar Development- Theory and Technique**. New York, Macmillan Publishing Company, 1987. 536p. v.1

FELICIANO, A. Bacteriose das Prunoideae. I. Efeito da localização do pomar e do quebra vento no desfolhamento do pessegueiro. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura (1973: Viçosa, MG) **Anais...** Viçosa: SBF,1973. p. 455-46 v.2

FERNANDES, C.F. **Expressão de enzimas relacionadas ao estresse oxidativo e ao mecanismo de defesa do feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] ao**

fungo Colletotrichum lindemuthianum (Sacc. & Magn.) Briosi & Cav. Tese de Doutorado em Bioquímica. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFC, Fortaleza, 162p. 2004.

FORTES, J.F.; MARTINS, O.M. Sintomatologia e controle das principais doenças. In: **A cultura do pessegueiro**. Brasília: EMBRAPA-SPI; Pelotas: EMBRAPA-CPACT, 1998 p. 243-264

GARRIDO, L. da R.; SÔNEGO, O.R. **Doenças do pessegueiro na Região da Serra Gaúcha**. Bento Gonçalves, Embrapa-CNPUV, 2006. (Circular Técnica 61)

GASPAR, T.H. et al. **Peroxidases**: a survey of their biochemical and physiological roles in higher plants. Genève: Université de Genève, 1982. 324p.

GLAZEBROOK, J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.43, p.205-227, 2005.

HALFELD-VIEIRA, B.A.; SOUSA, R.M. de. Bactérias residentes do filoplano de tomateiro como agentes de controle biológico de enfermidades da parte aérea da cultura. 2002. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

HAMMERSCHLAG, F.A. Selection of peach cells for insensitivity to culture filtrates of *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* and regeneration of resistant plants. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.16, p.865-869, 1988.

HEIL, M.; BOSTOCK, M.R. Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defences. **Annals of botany**, London, v.89, p.503-512, 2002.

HYODO, H.; KURODA, H.; YANG, S.F. Induction of phenylalanine ammonia-lyase and increase in phenolics in lettuce leaves in relation to the development of russet spotting caused by ethylene. **Plant Physiology**, San Diego, v.62, p.31-35, 1978.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: <www.ibge.gov.br/> Acesso em 27 de março de 2009.

IBRAF - INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. **Estatísticas**: importação de frutas frescas. 2008. Disponível em: <www.ibraf.org.br/> Acesso em 11 de março de 2009.

JENNINGS, A.C. The determination of dihydroxy phenolic compounds in extracts of plant tissues. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v.118, p.396-398, 1991.

KAMIKOGA, A.T.M.; LIMA, M.L.; COSTA, R.Z. da. Método da folha destacada para avaliar resistência da soja ao oídio. Tese (doutorado). Universidade Federal do

Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia. 2001.

KAO, C.H. Differential effect of sorbitol and polyethylene glycol on antioxidant enzymes in rice leaves. **Plant Growth Regulation**, The Hague, v.39, p.83-89, 2003.

KEIL, H. L.; FOGLE, H.W. Orchard susceptibility of some apricot, peach, and plum cultivars and selections to *Xanthomonas pruni*. **Fruit Varieties Journal**. Urbana, v.28, p.16-19, 1974.

KRETZSCHMAR, A. A.; ROSSETO, E. A.; MARTINS, O. M. Resistência de algumas cultivares de pessegueiro a *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* inoculadas por infiltração em folhas destacadas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 20, p. 213-219, 1998.

LABANCA, E. R. G. **Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*)**. Dissertação(Mestrado em agronomia) ESALQ - SP. Piracicaba, 2002. 107p.

LAYNE, R.E.C. Susceptibility of apricots to bacterial spot infection of foliage and fruit. **Plant Disease Reporter**, Ontário, V. 50, p. 112-115, 1966.

LOPES, C.A.; QUEZADO-SOARES, A.M. **Doenças Bacterianas das Hortaliças: Diagnose e Controle**. [S.I.]: EMBRAPA-CNPQ, 1997. 70p.

MARQUES, A.S.A. et al. Seca dos ponteiros da goiabeira causada por *Erwinia psidii*: níveis de incidência e aspectos epidemiológicos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, vol.29, p.488-493. 2007.

MARTINS, O.M.; RASEIRA, M.C.B. Sources of bacterial spot resistance in plum cultivars. **Fruits Varieties Journal**, Urbana, v. 50, p. 156-159, 1996.

MATSUNO, H.; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant & Cell Physiology**, Tokyo, v.23, p.1091-1101, 1972.

MAY DE MIO, L.L.; GARRIDO, L.; UENO, B. Doenças de fruteiras de caroço. In: Monteiro, L.B.; May de Mio, L.L.; Serrat, B.M.; Motta, A.C.; Cuquel, F.L. (Ed.) **Fruteiras de Caroço – Uma visão ecológica**, Curitiba: UFPR, 2004. p.169-222.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, Washington, v.31, p.426-428, 1959.

MOHAN, S.K. et al. Observações sobre a ocorrência de bacteriose incitada por *Xanthomonas pruni* (E. F. Smith) Dowson, no Estado do Paraná. In: **Congresso**

Brasileiro de Fruticultura (1977: Salvador, BA) **Anais...** Salvador: SBF, 1977. p. 417-419

MONTEIRO L.B. et al. **Fruteiras de Caroço: uma visão ecológica**. Curitiba: UFPR. Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, 2004. 309p.

MORAES, S. A.; SALGADO, C.L. Utilização da técnica de folhas destacadas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) para inoculações com *Cercospora arachidicola* Hori e *Cercosporidium personatum* (Bert. & Curt.) Ell & Ev. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.8, p.39-55, 1982.

OEPP/EPPO. *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. Bulletin OEPP/EPPO, Bulletin 36, p. 129-133, 2006. Disponível em <http://www.eppo.org> Acesso em 10 de julho de 2008.

OLIVEIRA, J.T.A. et al. Atividades peroxidásica e α -1,3 glucanásica elicítadas por agentes bióticos causadores de doenças e pelo estresse hídrico em feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. IN: Reunião Nacional de pesquisa de Caupi (5.: 2001:Teresina, PE). **Anais...** Teresina: [s.n.], 2001. p.19-23

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.) **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres,1995. cap.22, p.417-454. v.1

PASCHOLATI, S.F. et al. Mecanismos de patogenicidade em fungos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 6, p. 1-47, 1998.

PEREIRA, F.M; NACHTIGAL, J.C.; ROBERTO, S.R. **Tecnologia para a cultura do pessegueiro em regiões tropicais e subtropicais**. Jaboticabal: Funep, 2002. 62p.

PEREIRA, F.M.; MAYER, N.A. **Pessegueiro: tecnologias para a produção de mudas**. Jaboticabal: Funep, 2005. 65p.

PERIN, E. et al. **Referências modulares para a produção de frutas de caroço na região Sudoeste do Paraná**. Londrina: IAPAR/EMATER. 2003. 13p. (Redes de Referências para a Agricultura Familiar, Mesoregião Sudoeste).

PINHEIRO, M.M. de. et al. A defesa das plantas contra as doenças: Laboratório de Genética Molecular Vegetal, Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio de Janeiro. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, 147, 1999.

RANDHAWA, P.S.; CIVEROLO, E.L. A detached leaf bioassay for *Xanthomonas campestris* pv. *pruni*. **Phytopathology**, Alexandria, v.15, p.1060-1063, 1985.

RASEIRA, M.C.B.; NAKASU, B.H. Pessegueiro. In: BRUCKENER, C. H. **Melhoramento de fruteiras de clima temperado**. Viçosa, UFV, 2002.p. 89-126.

RODRIGUES, A.A.C.; BEZERRA NETO. E.; COELHO, R.S.B. Indução de resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *Tracheiphilum* em Caupi: eficiência de indutores abióticos e atividade enzimática elicitada. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília. 20 v.31, n.5, p.492-499, 2006.

ROMEIRO, R.S. **Fundamentos de Bacteriologia de Plantas**. Viçosa: UFV, 50p. 1996.

ROMEIRO, R.S. Doenças bacterianas de plantas no Brasil: problemas e perspectivas de controle. In: MANEJO Integrado: doenças, pragas e plantas daninhas. Visconde do Rio Branco: Suprema Gráfica Editora. 2000. 416p.

SACHS, S.; CAMPOS, A. D. O pessegueiro. In: Medeiros, C.C.B.; RASEIRA, M.C.B. **A cultura do pessegueiro**. Pelotas: Embrapa – CPACT, 1998 p. 13-19.

SCORZA, R.; OKIE, W.R. Peaches (*Prunus*). **Acta horticultrae**, Alexandria, 290, p. 175-231, 1991.

SCORZA, R.; SHERMAN, W.B. Peaches. In: JANICK, J., MOORE, J.N. **Fruit Breeding: Tree and Tropical fruits (Volume I)**. New York: John Wiley & Sons, Inc. 1996. v.1 p.325-440

SEAB - SECRETARIA DE AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO DO PARANÁ. **Valor Bruto da Agropecuária Paranaense de 2006**. Curitiba: SEAB/DERAL/DEB, 2008.

SIEGEL, B.Z. Plant peroxidases: an organismic perspective. **Plant Growth Regulation**, The Hague, v. 12, p. 303-312, 1993.

SILVA, R.F.; PASCHOLATI, S.F. & BEDENDO, I.P. Indução de resistência em tomateiro por extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum*. **Fitopatol. bras.** [online]. v. 32, n. 3, p.189-196. 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TOPP, B.L.; SHERMAN, W.B. Sources of bacterial spot resistance in japanense-Type plum cultivars. **Fruit Varieties Journal**, Urbana, v. 44, n. 1, p. 32-35, 1991.

TOPP, B.L. et al. Combining abilities of five Japanese plum cultivars for resistance to *Xanthomonas* steam canker. **HortScience**, Alexandria, v.28, p. 727-729, 1993.

VAUTERIN, L. et al. Reclassification of *Xanthomonas*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 45, p. 472-489, 1995.

WERNER, D.J. et al. Susceptibility of peaches and nectarines, plant introductions and other *Prunus* species to bacteria spot. **HortScience**, Alexandria, v.21, p.127-130, 1986.

YARWOOD, C.E. Detached leaf culture. **The Botanical Review**, Lancaster, n.12, p.1-56. 1946.

ZACARDELLI, M.; MALAGUTI, S.; BAZZI, C. Biological and epidemiological aspects of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* on Italy. **Journal of Plant Pathology**, San Diego, v. 80, n. 2, p. 125-132, 1998.

ZHAO, H. et al. Stress stimulus induced resistance to *Cladosporium cucumerinum* in cucumber seeding. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 44, p. 36-40, 2005.

APÊNDICES

ÍNDICE DE APÊNDICES

- APÊNDICE A – Quadro demonstrativo cronológico do experimento com folhas destacadas. UTFPR - *Campus* Pato Branco, 200978
- APÊNDICE B – Resumo da análise da variância dos teores de proteínas em genótipos de pessegueiro submetidos à inoculação por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* em diferentes períodos de incubação. UTFPR - *Campus* Pato Branco, 2009.78
- APÊNDICE C – Resumo da análise da variância da quantificação de fenilalanina amonialiase (FAL) em genótipos de pessegueiro submetidos à inoculação por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* em diferentes períodos de incubação. UTFPR - *Campus* Pato Branco, 2009.79
- APÊNDICE D – Resumo da análise da variância do percentual de severidade da bacteriose causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* da área lesionada em genótipos de pessegueiro em diferentes períodos de avaliação. UTFPR - *Campus* Pato Branco, 2009.79

APÊNDICE A – Quadro demonstrativo cronológico do experimento com folhas destacadas. UTFPR - Campus Pato Branco, 2009.

DATAS	GENÓTIPOS	
	Cons. 985 – Cons. 1153 'Atenas' – Cons. 871	Cons. 1129 – 'Tropic. Snow' Cons. 1124 – Cons. 1125
13/FEV	Inoculação e coleta de tecidos foliares (amostra zero)	-
14/FEV	Coleta de tecidos foliares (24 horas após inoculação)	Inoculação e coleta de tecidos foliares (amostra zero)
15/FEV	-	Coleta de tecidos foliares (24 horas após inoculação)
16/FEV	Coleta de tecidos foliares (72 horas após inoculação)	-
17/FEV	-	Coleta de tecidos foliares (72 horas após inoculação)
18/FEV	Coleta de tecidos foliares (120 horas após inoculação)	-
19/FEV	Avaliação evolução da doença	Coleta de tecidos foliares (120 horas após inoculação)
20/FEV	Coleta de tecidos foliares (168 horas após inoculação)	Avaliação evolução da doença
21/FEV	Avaliação evolução da doença	Coleta de tecidos foliares (168 horas após inoculação)
22/FEV	-	Avaliação evolução da doença
23/FEV	Avaliação evolução da doença	-
24/FEV	-	Avaliação evolução da doença

APÊNDICE B – Resumo da análise da variância dos teores de proteínas em genótipos de pessegueiro submetidos à inoculação por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* em diferentes períodos de incubação. UTFPR - Campus Pato Branco, 2009.

F.V	GL	QM	Prob. > F
Tempo	4	40,64187	0,00322*
Genótipos	3	3,80017	100,0 ^{ns}
Tempo x Genótipos.	12	13,07786	0,1569
Resíduo	40	8,59707	
Total	59		
Média		6,6245	
C.V (%)		44,26	

* significativo a 5% de probabilidade de erro.

ns = não significativo

APÊNDICE C – Resumo da análise da variância da quantificação de fenilalanina amonialiase (FAL) em genótipos de pessegueiro submetidos à inoculação por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* em diferentes períodos de incubação. UTFPR - Campus Pato Branco, 2009.

F.V	GL	QM	Prob. > F
Tempo	4	0,00399	0,34703 ^{ns}
Genótipos	3	0,00279	100,0 ^{ns}
Tempo x Genótipos.	12	0,00362	0,43131 ^{ns}
Resíduo	40	0,00347	
TOTAL	59		
Média		0,03027	
C.V (%)		194,56	

ns = não significativo

APÊNDICE D – Resumo da análise da variância do percentual de severidade da bacteriose causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* da área lesionada em genótipos de pessegueiro em diferentes períodos de avaliação. UTFPR - Campus Pato Branco, 2009.

F.V	GL	QM	Prob. > F
Tratamentos	7	1,260541	0,308275 ^{ns}
Resíduo	16	0,963706	
TOTAL	23		
Média		1,67425	
C.V (%)		58,63	

Os dados de percentual de área lesionada foram transformados para \sqrt{x} antes da análise estatística.

ns = não significativo