

AVALIAÇÃO DO CLORETO DE DODECIL DIMETIL AMÔNIO PARA O CONTROLE DA MANCHA BACTERIANA DO TOMATEIRO

EVALUATION OF DIDECYL DIMETHYL AMMONIUM CHLORIDE FOR THE CONTROL OF TOMATO BACTERIAL SPOT

**Nadson de Carvalho PONTES¹; Abadia dos Reis NASCIMENTO²;
Raul Oliveira Martins VERDÚ³; Alice Maria QUEZADO-DUVAL³**

1. Doutorando, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa, MG, Brasil; 2. Professora, Doutora, Escola de Agronomia e de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás – UFG, Goiânia, GO, Brasil; 3. Graduando, Agronomia, Universidade Estadual de Goiás - UEG; 4. Pesquisadora, Embrapa Hortaliças, alice@cnph.embrapa.br.

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar a sensibilidade de isolados do complexo *Xanthomonas* spp. associado à mancha bacteriana do tomateiro ao cloreto de dodecil dimetil amônio e a sua eficiência no controle da doença. Este produto apresentou maior inibição *in vitro* aos isolados avaliados em relação ao hidróxido de cobre e aos cloretos de benzalcônio. Entretanto, não se observou redução da severidade da doença quando da utilização deste produto *in vivo*.

PALAVRAS-CHAVE: *Solanum lycopersicum* L. *Xanthomonas* spp. Controle químico.

A mancha bacteriana é uma das principais doenças do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), sendo responsável por perdas na produtividade e na redução na qualidade dos frutos. Esta doença é causada por quatro espécies de bactérias do gênero *Xanthomonas*: *X. euvesicatoria*, *X. vesicatoria*, *X. gardneri* e *X. perforans* (JONES et al., 2004). Atualmente, no Brasil prevalecem as espécies *X. gardneri* e *X. perforans*, sendo esta a de maior predominância (ARAÚJO et al., 2011).

Uma das principais formas de manejo desta doença é a utilização de agrotóxicos, principalmente os protetores. No Brasil, entre os produtos registrados para o controle da mancha bacteriana em tomate com este modo de ação, destaca-se os fungicidas cúpricos e os sanitizantes agrícolas (QUEZADO-DUVAL; LOPES, 2010). Entretanto, deve-se considerar que esses produtos podem ter sua eficiência reduzida em função do surgimento de populações do patógeno resistentes (MIRIK et al., 2007). O uso contínuo do mesmo princípio ativo é um dos fatores que pode ocasionar esse fenômeno, pela seleção de estirpes resistentes. Sendo assim, deve existir um constante acompanhamento da sensibilidade da população do patógeno a estes produtos, bem como o desenvolvimento e avaliação de novas moléculas.

Uma nova molécula que tem apresentado resultados promissores na inibição à fitopatógenos é o cloreto de dodecil dimetil amônio (CDDA) (ALVES et al., 2010; NASCIMENTO; AZEVEDO, 2006; SANTOS, 2008). Essa amônia quaternária é encontrada pelo nome comercial de Sporekill[®], que é utilizado na África do Sul como sanitizante agrícola. Este produto possui Registro

Especial Temporário (RET) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para ser avaliado como defensivo nas culturas de citros, fumo, manga e tomate (MAPA, 2009). Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a sensibilidade de isolados de *X. gardneri* e *X. perforans* ao CDDA e a sua eficiência no controle da mancha bacteriana, comparando-o com outros produtos protetores registrados para este fim.

Primeiramente, foi avaliada a inibição *in vitro* do crescimento bacteriano com a utilização dos produtos hidróxido de cobre (HC, Kocide[®]), cloretos de benzalcônios (CB, Fegatex[®]) e CDDA. Foram avaliadas três concentrações do produto comercial: a recomendada de acordo com a bula para a aplicação a campo (HC 3 g.L⁻¹ e CB 2,5 mL.L⁻¹), a metade da recomendada e 50% acima da recomendada. Para o CDDA, utilizou-se a mesma concentração do CB para efeito de comparação, tendo em vista serem do mesmo grupo químico (amônias quaternárias). Os produtos foram adicionados ao meio Nutriente Agar (NA) fundente, previamente autoclavado. A mistura foi homogeneizada e vertida para placas de Petri, que foram divididas em seis setores. Em cada setor foi depositada uma alíquota de 10 µL de suspensão bacteriana (5x10⁸ ufc.mL⁻¹) de cada um dos isolados utilizados no experimento. Como testemunha, utilizou-se meio NA sem a adição dos produtos. As culturas foram incubadas a 28°C por 96 horas. Avaliou-se então a presença ou não de crescimento dos isolados após 96 horas de incubação das culturas. Este ensaio seguiu o delineamento experimental inteiramente

Avaliação do cloreto...

casualizado, com três repetições para cada tratamento.

Para avaliar o efeito dos produtos no controle da mancha bacteriana, efetuou-se o semeio da cultivar de tomateiro Heinz 9992 em bandejas 450 células contendo substrato comercial. Decorridos 21 dias após o semeio, as mudas foram transplantadas para vasos de 1L e procedeu-se a primeira aplicação dos produtos, utilizando apenas a concentração recomendada, descrita no teste *in vitro* e aplicação de água no tratamento controle (testemunha). Sete dias depois do transplante foi realizada uma segunda aplicação e, em seguida, as plantas foram submetidas à câmara úmida por 48 horas. Estas foram então inoculadas com a pulverização de suspensão bacteriana (5×10^7 ufc.mL⁻¹) do isolado mais insensível aos princípios ativos em geral no teste *in vitro*. As plantas foram mantidas em câmara úmida por mais 48 horas. Avaliou-se a severidade da mancha bacteriana, estimando-se o percentual de área foliar lesionada após 10 dias da inoculação.

O experimento *in vivo* seguiu um delineamento experimental inteiramente casualizado, com sete repetições para os quatro tratamentos (cloreto de benzalcônio [CB]; hidróxido de cobre [HC]; cloreto de dodecil dimetil amônio [CDDA]; testemunha [tratado apenas com água]). A parcela experimental consistiu de uma amostra de 10 folíolos retirada de cada planta que compunha a parcela. Para avaliar a significância do efeito dos tratamentos, foi efetuado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Observando-se diferenças entre os tratamentos por este teste, as médias foram comparadas pelo teste de Fisher (LSD, $P \leq 0,01$) utilizando os dados transformados para valores em postos (ranks). As análises foram efetuadas no programa estatístico SAS 9.1 (SAS Institute, Cary, NC), utilizando os procedimentos NPAR1WAY, RANK e GLM.

No ensaio *in vitro* (Tabela 1), dos 25 isolados avaliados, 21 foram insensíveis ao HC e um aos CB na concentração recomendada, sendo possível observar crescimento bacteriano nas três repetições. Quando a concentração foi aumentada em 50%, foi possível observar crescimento nas três repetições em 18 dos isolados no tratamento com hidróxido de cobre. Não houve crescimento bacteriano quando da adição de CDDA ao meio nas diferentes concentrações avaliadas. O isolado 2010-93 (*X. perforans*) foi o mais insensível aos produtos CB e HC, sendo utilizado para o experimento em casa de vegetação.

Quanto ao controle da mancha bacteriana em plantas, houve diferença entre os tratamentos

PONTES, N. C. et al.

(Kruskal-Wallis, qui-quadrado=0,0094). Entretanto, apenas o tratamento com a aplicação de CB apresentou uma redução significativa da severidade da doença em relação à testemunha (Figura 1). A aplicação de HC não diferiu da testemunha tratada com água quanto à severidade da doença, o que pode ser explicado pela baixa sensibilidade do isolado ao cobre, evidenciada nos ensaios *in vitro*. A aplicação de CDDA não manteve os bons resultados do ensaio *in vitro*. Uma alta volatilidade, fácil degradação ou baixa aderência à superfície foliar são hipóteses que podem explicar a baixa eficiência deste produto no controle da doença, mesmo com a sua alta inibição aos isolados do patógeno. Nenhum produto ocasionou fitotoxidez nas plantas.

Em produtos a base de cloro, são relatadas perdas significativas por volatilização (LAGE FILHO; ANDRADE JÚNIOR, 2007). Mais especificamente, no caso do CDDA, tem-se relato da natureza volátil deste produto, inclusive com a sua detecção no ar, em ambiente hospitalar, onde este é utilizado para limpeza (VICENT et al., 2007). Segundo Vicent et al. (2007), a concentração do produto no ar, o que é indicativo de volatilidade, é ainda maior quando o produto é aplicado por pulverização. Assim, caso este produto tenha um baixo poder residual na planta, a sua eficiência no controle de doenças pode ser comprometida.

Os resultados confirmam os indícios de surgimento de populações de *Xanthomonas* spp. insensíveis aos produtos à base de cobre utilizados para o controle da mancha bacteriana do tomateiro (QUEZADO-DUVAL; LOPES, 2010), reforçando a necessidade da oferta de novos princípios ativos.

Apesar de os testes *in vitro* serem eficientes para a seleção novas moléculas inibidoras ao patógeno, estes não dispensam a necessidade de avaliar o controle da doença *in vivo*. Novos trabalhos com o CDDA podem ser realizados a fim de identificar os fatores que afetam sua eficiência neste tipo de teste, bem como avaliar metodologias que possibilitem sua utilização.

Tabela 1- Sensibilidade *in vitro* de isolados de *Xanthomonas* spp. aos produtos avaliados em diferentes concentrações. Brasília, 2010.

Isolados	Hidróxido de cobre			Cloreto de benzalcônio						Cloreto de dodecil dimetil amônio			T ²									
	0,5 x R ¹			1,5 x R			0,5 x R			1,5 x R												
2002-17 ^{XP}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2002-18 ^{XP}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2003-6 ^{XP}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2004-12 ^{XP}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2004-25 ^{XP}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2004-50 ^{XG}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
2005-3 ^{XP}	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2005-30 ^{XP}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2005-31 ^{XP}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2005-34 ^{XP}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2005-52 ^{XP}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2005-61 ^{XP}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2006-51 ^{XG}	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2007-3 ^{XP}	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
2007-5 ^{XP}	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2007-51 ^{XP}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2007-56 ^{XP}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2007-60 ^{XG}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2007-77 ^{XG}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2008-75 ^{XG}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2009-170 ^{XP}	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2009-188 ^{XP}	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2009-289 ^{XP}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2010-93 ^{XP}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
2010-94 ^{XP}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

¹R = Concentração recomendada (3 g.L⁻¹ = hidróxido de cobre; 2,5 mL.L⁻¹ = cloretos de benzalcônio e cloreto de dodecil dimetil amônio). ²Testemunha. ^{a,b,c}Foram expressos os resultados observados para as três repetições de cada tratamento. + presença de colônias bacterianas; - ausência de colônias após 96 horas de incubação das culturas. ^{XG} *X. gardneri*. ^{XP} *X. per*

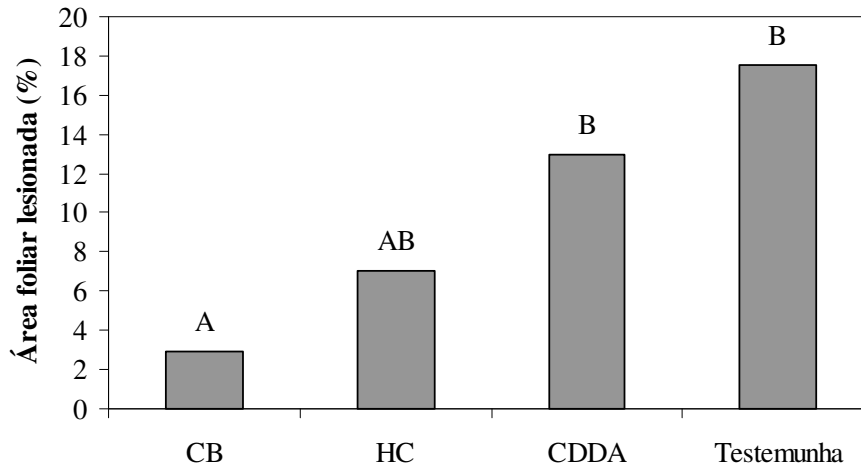


Figura 1. Médias de severidade da mancha bacteriana em plantas de tomate tratadas com cloretos de benzalcônio (CB), hidróxido de cobre (HC) e cloreto de dodecil dimetil amônio (CDDA), e inoculadas com *X. perforans*. Para o teste de comparação de médias, utilizou-se os valores em postos (ranks). Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (LSD, $P \leq 0,01$). Brasília, 2010.

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the efficiency of didecyl dimethyl ammonium chloride *in vitro* inhibition of *Xanthomonas* spp. and the control of tomato bacterial spot. This product showed a higher *in vitro* inhibition of the pathogen, compared to copper hydroxide and benzalkonium chloride. However, there was no reduction in disease severity when the product was sprayed on the plants.

KEYWORDS: *Solanum lycopersicum* L., *Xanthomonas* spp., chemical control.

REFERÊNCIAS

- ALVES, O. A.; OLIVEIRA, M. M. S.; SANTOS, L. A.; SOUZA, L. J. N.; SILVEIRA, E. B.; MARIANO, R. L. R. Efeito do cloreto de dodecil dimetil amônio na inibição do crescimento de *Ralstonia solanacearum*. X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão. **Anais...** Recife: UFRPE, 2010.
- ARAÚJO, E. R.; COSTA, J. R.; PONTES, N. C.; MAZUTTI, J.; FERREIRA, M. A. S. V.; QUEZADO-DUVAL, A. M. Prevalence of *Xanthomonas perforans* associated with bacterial spot in processing tomato crops in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 36 (suplemento), p. 697-697, 2011 (abstract).
- JONES, J. B.; LACY, G. H.; BOUZAR, H.; STALL, R. E.; SCHAAD, N. W. Reclassification of xanthomonads associated with bacterial spot of tomato and pepper. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 27, p. 755-762, 2004.
- LAGE FILHO, F. A.; ANDRADE JUNIOR, E. R. Tratabilidade da água do reservatório do Guarapiranga: efeitos da ozonização sobre algumas variáveis de qualidade da água. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v. 12, p. 212-221, 2007.
- MAPA. Resumos dos pedidos de Registro Especial Temporário atendendo aos dispositivos legais do artigo 27 do Decreto 4.074, de 04 de janeiro de 2002, que regulamenta a Lei 7.082, de 11 de julho de 1989. **Diário Oficial da União de 09/12/2009**, Seção 1, Página 4. Ato N° 64, 2009.
- MIRIK, M.; AYSAN, Y.; CINAR, O. Copper-resistant strains of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye in the eastern Mediterranean region of Turkey. **Journal of Plant Pathology**, n. 89, v. 1, p. 153-154, 2007.

NASCIMENTO, L. M.; AZEVEDO, F. A. Avaliação da eficiência da aplicação de diferentes doses de Sporekill em Tangor Murcott para o controle de *Penicillium digitatum*. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, Hermosillo, v. 7, n. 2, p. 93-103, 2006.

QUEZADO-DUVAL A. M.; LOPES C. A. **Mancha bacteriana: uma atualização para o sistema de produção integrada de tomate indústria**. Brasília: Embrapa Hortaliças (Circular técnica 84), 2010. 28 p.
SANTOS, L.O. **Conservação pós-colheita de mangas produzidas na região de Jaboticabal**. Dissertação (Produção Vegetal) UNESP, 2008. 116p.

VICENT, G.; KOPFERSCHMITT-KUBLER, M. C.; MIRABEL, P.; PAULI, G. MILLET, M. Sampling and analysis of quaternary ammonium compounds (QACs) traces in indoor atmosphere. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 133, p. 25-30, 2007.