

Ácidos orgânicos no controle da murcha bacteriana do pimentão

Alessandra de L. Garcia¹, Elineide B. de Souza² & Rosa de L. R. Mariano¹

¹ Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP 52171-900, Recife-PE, Brasil. E-mail: alessandralgarcia@hotmail.com; rrbac@gmail.com

² Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, Área de Microbiologia, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP 52171-900, Recife-PE, Brasil. E-mail: elineidebs@yahoo.com.br

RESUMO

Neste estudo foi analisado o efeito de ácidos orgânicos de ação sanitizante no controle da murcha bacteriana do pimentão (*Capsicum annuum* L.) ocasionada por *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. Foram avaliadas, *in vitro*, a sensibilidade da bactéria aos ácidos ascórbico, cítrico e láctico (0,25, 0,5, 1, 2,5, 5 e 10%) e a mistura estável dos ácidos ascórbico 1%, cítrico 0,475% e láctico 0,475% (0, 0,8, 2,5, 5, 10 e 100%) (v:v). Após teste de fitotoxidez, a mistura estável 0,8% e ácidos ascórbico, cítrico e láctico 1% foram selecionados e testados para redução da severidade da murcha sendo aplicados por imersão de raízes ou pulverização da parte aérea. O patógeno foi inoculado por ferimento de raízes e deposição do inóculo. *In vitro*, *R. solanacearum* mostrou alta sensibilidade ao ácido láctico 10% e média aos ácidos láctico 5 e 2,5%, ascórbico e cítrico 10%, além da mistura estável 100%. Todos os tratamentos aplicados por imersão de raízes elevaram significativamente o período de incubação (PI) e reduziram a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), destacando-se o ácido láctico 1% (100%). Os ácidos cítrico e láctico 1% e a mistura estável 0,8%, também elevaram o PI e reduziram a AACPD em até 46,1% quando aplicados por pulverização.

Palavras-chave: ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido láctico, *Capsicum annuum*, *Ralstonia solanacearum*

Organic acids on the control of bacterial wilt of bell pepper

ABSTRACT

The effect of disinfectant organic acids on the control of bacterial wilt of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) caused by *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. was evaluated. The *in vitro* sensitivity of bacteria to the ascorbic, citric and lactic (0.25, 0.5, 1, 2.5, 5 and 10%) acids and the stable mixture of the ascorbic (1%), citric (0.475%) and lactic (0.475%) acids (0.4, 0.8, 2.5, 5, 10 and 100%) (v/v) was evaluated. After the phytotoxicity test the 0.8% stable mixture and ascorbic, citric and lactic acids 1% were selected and tested for bacterial wilt severity reduction, by root immersion or shoot spraying. The pathogen was inoculated by wounding roots and deposition of the inoculum. *In vitro*, *R. solanacearum* showed high sensitivity to lactic acid 10% and medium sensitivity to lactic acid (5 and 2.5%), ascorbic and citric acids 10% and stable mixture 100%. All treatments applied by root immersion significantly increased the incubation period (IP) and reduced the area under the disease progress curve (AUDPC), mainly lactic acid 1% (100%). The citric and lactic acids 1% and stable mixture 0.8% also increased IP and reduced AUDPC until 46.1% when applied by shoot spraying.

Key words: ascorbic acid, citric acid, lactic acid, *Capsicum annuum*, *Ralstonia solanacearum*

Introdução

A murcha bacteriana, devido à *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al., é uma das doenças bacterianas mais importantes do mundo capaz de causar danos em cerca de 450 espécies de plantas pertencentes a mais de 54 famílias botânicas, entre as quais culturas de alto valor econômico, como banana (*Musa* spp.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), batata (*S. tuberosum* L.), berinjela (*S. melongena* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.) (Xu et al., 2009).

No Brasil, a murcha bacteriana das solanáceas tem ocorrido principalmente nas Regiões Nordeste, Norte e em alguns polos de produção de terras baixas na Região Sudeste. Em temperatura e umidade muito altas, as perdas podem chegar a 100%, sobretudo em plantios sucessivos, em razão da capacidade da bactéria em sobreviver no solo por longos períodos (Lopes & Quezado-Duval, 2007).

Em função da alta diversidade dos isolados, *R. solanacearum* tem sido classificada, de acordo com propriedades fenotípicas e genéticas, em: cinco raças (He et al., 1983), seis biovars (Hayward, 1991), quatro filotipos, 52 sequevars e 11 biotipos (Fegan & Prior, 2005; Toukam et al., 2009; Xu et al., 2009). No estado de Pernambuco, a murcha bacteriana do pimentão é causada por *R. solanacearum* raça 1, filotipos I e II, biovars 1 e 3, biotipos 3, 6 e 8. No entanto, há predominância de mais de 97% do filotipo I, biovar 3 e biotipo 8 (Garcia et al., 2013).

O controle da murcha bacteriana é extremamente difícil, em virtude da já comentada diversidade infraespecífica da bactéria, ampla gama de hospedeiros (Hayward, 1991) e sobrevivência no solo por longos períodos a grandes profundidades (Lopes & Quezado-Duval, 2007) tornando o uso de agroquímicos inviável e antieconômico (Lopes, 1994). Portanto, o manejo integrado utilizando rotação de culturas, plantio em áreas indenes, resistência genética, manejo da água e solarização, é sugerido. A falta de cultivares de pimentões resistentes e defensivos agrícolas eficazes continua sendo a grande limitação a maiores patamares de produção de pimentão e exploração de áreas infestadas pela bactéria.

O controle alternativo tem sido uma opção para o manejo de bacterioses importantes no Brasil, incluindo o uso de extratos vegetais e óleos essenciais além, de alguns produtos comerciais à base de extratos cítricos e ácidos orgânicos. A mistura estável composta pelos ácidos orgânicos: ascórbico (1%), cítrico (0,475%) e láctico (0,475%) naturalmente estabilizados, é um produto comercial de ação sanitizante, formulado para utilização em ambientes e superfícies de agroindústrias, sendo eficiente contra bactérias e fungos diversos (Quinabra, 2007). Apesar de não ser um produto indicado para uso agrícola, foi eficiente no controle de doenças de plantas causadas por *Xanthomonas*, *Erwinia* e *Pseudomonas* (Molina, 2001) e tem sido utilizado (0,8%, semanalmente) para controle da murcha bacteriana em tomateiro, por alguns produtores das Mesorregiões do Agreste e Mata de Pernambuco.

Considerando os elevados prejuízos ocasionados pela murcha bacteriana em pimentão, cujo controle ainda é insatisfatório e que não existem relatos científicos do uso de ácido orgânicos neste patossistema, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito dos ácidos cítrico, ascórbico e

láctico, isoladamente e como mistura estável, no controle da doença considerando fitotoxidez, inibição *in vitro* e redução da severidade da doença.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido na casa de vegetação da Área de Fitossanidade do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Utilizou-se o isolado CGH41 de *R. solanacearum*, pertencente à raça 1, filotipo I, biovar 3, biotipo 8, proveniente de planta de pimentão com sintomas típicos de murcha coletada no município de Chã Grande, no estado de Pernambuco, Brasil. O isolado CGH41 está depositado na Coleção de Culturas do Laboratório de Fitobacteriologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Recife, Brasil). Este isolado é representativo de uma população de 78 isolados e causa murcha seis dias após inoculação por corte de raízes e deposição de 15 mL de suspensão bacteriana (5×10^8 UFC mL⁻¹) em plantas de pimentão com 21 dias (Garcia et al., 2013). Todo inóculo foi preparado a partir do crescimento da bactéria com 48 h de cultivo em meio NYDA (20 g de ágar, 10 g de dextrose, 5 g de peptona, 5 g de extrato de levedura e 3 g de extrato de carne, completando-se o volume para 1000 mL com água destilada) a 28 ± 2 °C. O crescimento bacteriano foi diluído em água destilada esterilizada ajustando-se à concentração com auxílio de um fotocolorímetro (Analyser 500M, Brazil) para $A_{570} = 0,54$, que corresponde à concentração de 5×10^8 UFC mL⁻¹, de acordo com equação previamente determinada (Garcia et al., 2013).

No teste de sensibilidade *in vitro* de *R. solanacearum* aos ácidos ascórbico, cítrico e láctico, isoladamente e como mistura estável composta pelos ácidos orgânicos: ascórbico (1%), cítrico (0,475%) e láctico (0,475%) uma alíquota de 1 mL da suspensão bacteriana, preparada como descrito anteriormente, foi adicionada a 99 mL de meio NYDA ainda fundente, sendo vertidos em placas de Petri. Após solidificação do meio de cultura, cinco poços com 0,6 cm de diâmetro foram demarcados em pontos equidistantes da placa com o auxílio de um furador de plástico. Em quatro poços da placa foi adicionado o ácido ou mistura estável, na mesma concentração e, como testemunha, foi adicionada água destilada esterilizada no poço central. Os tratamentos seguintes foram utilizados: ácido ascórbico, ácido cítrico e ácido láctico nas concentrações 0,25, 0,5, 1, 2,5, 5 e 10% e mistura estável a 0,4, 0,8, 2,5, 5, 10 e 100%. A avaliação foi realizada após 48 h de incubação a 28 ± 2 °C pela medição do halo de inibição do crescimento bacteriano, em dois sentidos diametralmente opostos, com a ajuda de um paquímetro. A sensibilidade do isolado às concentrações dos produtos foi classificada em três grupos de acordo com as reações de: resistência (halo ≤ 14 mm), média sensibilidade (14 mm < halo < 20 mm) e alta sensibilidade (halo ≥ 20 mm) (Acar & Goldstein, 1986). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 25 tratamentos incluindo a testemunha, com quatro repetições, sendo cada parcela constituída por uma placa de Petri com quatro poços contendo o ácido ou mistura estável. Análises de regressão foram realizadas e equações geradas no modelo quadrático

com auxílio do programa Statistix 9 for Windows (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA).

As concentrações de ácidos determinadas pela análise do ponto de inflexão da curva de regressão gerada e também as testadas *in vitro*, foram avaliadas quanto à fitotoxidez em plantas de pimentão pelos métodos de imersão de raízes e pulverização da parte aérea. Utilizaram-se, ainda, plantas de pimentão cv. Atlantis com 21 dias após o plantio cultivadas em bandeja de isopor contendo substrato Basaplant® (Base Agro Indústria e Comércio, Brasil). No primeiro método as plantas foram retiradas das bandejas e tiveram suas raízes imersas durante três minutos nos tratamentos. Em seguida, as plantas foram transplantadas para vasos plásticos com capacidade de 500 mL contendo solo natural: substrato Basaplant® (1:3, v:v). No segundo método, os mesmos tratamentos foram testados pela pulverização da parte aérea até completo molhamento. Nos dois métodos, a avaliação da fitotoxidez constou da observação do surgimento de anormalidades no desenvolvimento ou na coloração das plantas.

Os tratamentos que não ocasionaram fitotoxidez em plantas de pimentão, foram selecionados para os testes *in vivo* em casa de vegetação. Os ácidos foram aplicados por imersão de raízes e pulverização, conforme já descrito. Três dias após a aplicação dos produtos, as plantas foram inoculadas individualmente fazendo-se, com auxílio de um bisturi inserido no solo, um corte em formato de meia lua no sistema radicular, no qual foram depositados 15 mL da suspensão bacteriana contendo 5×10^8 UFC mL⁻¹ (Félix et al., 2012). Como testemunhas, foram utilizadas plantas tratadas com água destilada pelos dois métodos. As plantas foram mantidas em casa de vegetação com temperatura média de 32 ± 5 °C e umidade relativa média de 60 ± 5 %. A avaliação foi realizada diariamente, durante 15 dias, determinando-se: a) período de incubação (PI), determinado pelo número de dias entre a inoculação e o surgimento dos sintomas da doença. As plantas que não apresentaram sintomas da doença tiveram o período de incubação ajustado para 16 dias, correspondendo ao período de avaliação total mais um dia, conforme proposição de Iamsupasit et al. (1993); b) severidade (SEV), avaliada com auxílio de escala de notas descritiva de 0 a 4 (Nielsen & Haynes, 1960), em que: 0 = ausência de sintomas, 1 = plantas com 1/3 das folhas murchas, 2 = plantas com 2/3 das folhas murchas, 3 = plantas totalmente murchas e 4 = plantas mortas; e c) área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), calculada conforme Shaner & Finney (1977). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 5x2, representados pelos cinco tratamentos, incluindo a testemunha e dois métodos, imersão de raízes e pulverização da parte aérea. Cada tratamento consistiu de cinco repetições, sendo cada repetição constituída por uma planta por vaso. O experimento foi repetido e visto que não foram observadas diferenças significativas ($P \leq 0,05$) quanto às variâncias das réplicas, os dados foram avaliados em conjunto. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de comparação de médias LSD ($P \leq 0,05$), com auxílio do programa Statistix 9 for Windows.

Resultados e Discussão

A análise das médias dos halos de inibição em meio de cultura de acordo com Acar & Goldstein (1986) demonstrou

que *R. solanacearum* apresentou reação de alta sensibilidade ao ácido láctico 10% e média sensibilidade ao ácido láctico 5 e 2,5%, ácido ascórbico 10%, ácido cítrico 10% e mistura estável 100%. Aos outros tratamentos, *R. solanacearum* apresentou reação de resistência (Tabela 1).

As equações de regressão foram ajustadas considerando-se os efeitos quadráticos significativos na análise de variância ($P \leq 0,01$) e permitiram verificar as concentrações mais eficientes a serem testadas *in vivo*, a saber: 80% da mistura estável ($y = 0,0013 + 0,0339x - 0,000204x^2$), 10% de ácido ascórbico ($y = 0,2634 + 0,1416x + 0,00042x^2$), 7,5% de ácido cítrico ($y = 0,5176 + 0,2728x - 0,0184x^2$) e 9% de ácido láctico ($y = 0,063 + 0,5404x - 0,027x^2$).

A inibição *in vitro* de *R. solanacearum* pelos produtos em altas concentrações pode estar relacionada ao baixo pH dos ácidos e à mistura estável utilizados. O pH da mistura estável de ácidos orgânicos na diluição 10% se mantém entre 2,5 e 3,5 (Quinabra, 2007). O pH ótimo para o crescimento de qualquer organismo é uma medida do pH do meio extracelular. O pH interno de uma célula bacteriana deve ser mantido dentro dos limites para seu crescimento. Para organismos neutrófilos, o pH deve ser mantido próximo à neutralidade, entre 6 e 8, para evitar destruição de macromoléculas celulares, a exemplo do DNA (Madigan et al., 2010). Considerando que *R. solanacearum* é uma bactéria neutrófila em um ambiente ácido como o promovido pela aplicação de altas concentrações de ácidos ou mistura estável de ácidos, o DNA se torna instável e, conseqüentemente, a célula não sobrevive.

Apesar desta mistura estável de ácidos orgânicos não ser um produto registrado para o uso agrícola, sua eficiência é citada no controle de bactérias dos gêneros *Xanthomonas*,

Tabela 1. Reação de *Ralstonia solanacearum* aos ácidos cítrico, ascórbico e láctico, isoladamente e como mistura estável, avaliada pelo diâmetro dos halos de inibição do crescimento bacteriano

Tratamento	Diâmetro dos halos de inibição (mm) ¹	Sensibilidade de <i>R. solanacearum</i> ²
Ácido láctico 10%	27,87	AS
Ácido láctico 5%	19,43	MS
Ácido ascórbico 10%	17,25	MS
Ácido láctico 2,5%	14,62	MS
Ácido cítrico 10%	14,18	MS
Mistura estável ³ 100%	14,00	MS
Ácido cítrico 5%	13,12	R
Ácido cítrico 2,5%	12,50	R
Ácido ascórbico 5%	9,68	R
Ácido cítrico 1%	7,21	R
Ácido cítrico 0,5%	6,96	R
Ácido ascórbico 2,5%	6,00	R
Ácido láctico 1%	5,25	R
Ácido ascórbico 1%	5,25	R
Ácido cítrico 0,25%	5,12	R
Ácido láctico 0,5%	3,93	R
Mistura estável 10%	3,00	R
Ácido ascórbico 0,5%	2,75	R
Ácido ascórbico 0,25%	2,68	R
Mistura estável 5%	1,87	R
Mistura estável 2,5%	1,25	R
Ácido láctico 0,25%	0,87	R
Mistura estável 0,8%	0,0	R
Mistura estável 0,4%	0,0	R

¹Valores são médias de dois experimentos. ²Determinada pela mensuração do tamanho do halo de inibição (Acar & Goldstein, 1986). ³Mistura estável dos ácidos cítrico (0,475%), ascórbico (1%) e láctico (0,475%)

Erwinia e *Pseudomonas* (Molina, 2001), e tem sido utilizado no controle da murcha bacteriana em tomateiro, por alguns produtores das Mesorregiões do Agreste e Mata de Pernambuco. No entanto, não existem trabalhos científicos que demonstrem sua ação no controle de *R. solanacearum*. Por outro lado, o extrato cítrico componente desta mistura estável faz parte da composição de produto indutor de resistência, que tem sido testado contra alguns patógenos, inclusive bactérias, tanto *in vitro* como *in vivo* na proteção de plantas (Motoyama et al., 2003; Cavalcanti et al., 2006). Este produto inibiu o crescimento de *R. solanacearum* e *X. axonopodis* pv. *manihotis* Dye nas concentrações 0,1 e 0,5% com halos de 2,5, 6,9 e 2,4, 8,2 mm, respectivamente (Motoyama et al., 2003). Outros produtos, tais como sanitizantes, óleos e extratos, têm sido testados para inibição do crescimento de *R. solanacearum*.

A aplicação de ácido ascórbico 10%, ácido cítrico 7,5%, ácido láctico 9% e mistura estável 80%, por imersão das raízes e pulverização na parte aérea em plantas de pimentão com 21 dias, foi seguida após algumas horas do surgimento de manchas foliares, caracterizado como fitotoxidez. Em algumas plantas tratadas por imersão das raízes, murcha e morte também foram observadas. A fitotoxidez ocorre quando o limiar de tolerância de uma planta exposta a uma condição de estresse é atingido. Revelada por lesões irreversíveis ou sintomas crônicos, é um mecanismo natural da planta na tentativa de desintoxicar as células de determinada molécula (Carvalho et al., 2009). Diferentes produtos aos quais a planta é exposta para o controle de doenças e/ou pragas ou, ainda fertilizantes, podem causar esta reação e, portanto, recomenda-se que sejam testados antecipadamente.

Diante da fitotoxidez das concentrações selecionadas a partir das regressões, todas aquelas testadas *in vitro* foram avaliadas para fitotoxidez. As únicas concentrações que não causaram fitotoxidez, tanto por imersão quanto por pulverização, foram os ácidos ascórbico, cítrico e láctico 1% e mistura estável 0,8%, as quais foram utilizadas para os testes de redução da severidade da doença.

Apesar de inexistirem trabalhos demonstrando a ação dos ácidos cítrico, ascórbico e láctico, isoladamente e como mistura estável no controle de doenças de plantas, foi possível, na presente pesquisa, verificar, em casa de vegetação, redução significativa ($P \leq 0,05$) da severidade da murcha bacteriana do pimentão em comparação com a testemunha, tanto em relação ao período de incubação quanto à AACPD (Tabela 2).

No método de imersão de raízes, todos os tratamentos elevaram significativamente o PI e reduziram a AACPD, destacando-se o ácido láctico 1%, que proporcionou 100% de controle da murcha bacteriana em pimentão (Tabela 2) considerando que as plantas não exibiram sintomas externos ou internos da doença. No método de pulverização da parte aérea, também todos os tratamentos elevaram significativamente o PI, em relação à testemunha, destacando-se a mistura estável 0,8% (74,8%) e o ácido cítrico 1% (69,3%). Já a AACPD foi reduzida significativamente pelo ácido cítrico 1% (46,1%), mistura estável 0,8% (45,1%) e ácido láctico 1% (42,7%) (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito dos ácidos cítrico, ascórbico e láctico, isoladamente e como mistura estável, no controle da murcha bacteriana do pimentão aplicados por imersão das raízes (I) ou pulverização da parte aérea (P) em plantas com 21 dias, avaliados pelo período de incubação (PI) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em casa de vegetação

Produtos	PI (dias)		AACPD	
	I	P	I	P
Mistura estável ¹ 0,8%	8,2 ^c cB	10,7 aA	19,5 cA	16,1 aA
Ácido ascórbico 1%	11,3 bA	6,1 bB	10,4 bA	27,0 bB
Ácido cítrico 1%	13,5 abA	8,8 abB	4,1 bA	15,8 aB
Ácido láctico 1%	16,0 ^a aA	7,9 bB	0,0 aA	16,8 aB
Testemunha	2,7 dA	2,7 cA	30,3 dA	29,3 bA
C.V.(%)	19,62		33,69	

¹ Mistura estável dos ácidos cítrico (0,475%), ascórbico (1%) e láctico (0,475%). ² Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste LSD ($P \leq 0,05$). Valores são médias de dois experimentos (n=10). Dados transformados em $\sqrt{(x+0,5)}$. ³ Valor correspondente ao número de dias da avaliação + 1, uma vez que a doença não foi observada (Iamsupisit et al., 1993)

O controle total da doença pela imersão de raízes em ácido láctico 1% é realmente muito promissor no manejo da murcha bacteriana em pimentão, devendo ser somado a outras medidas de controle, como plantio em áreas indenens, rotação de culturas, manejo da água e da fertilidade do solo. É importante considerar que este nível de redução da doença foi obtido mesmo se inoculando suspensão concentrada do patógeno após corte de raízes, o que não ocorre comumente no campo mas denota a eficiência do tratamento. Embora não existam pesquisas com esses ácidos no controle da murcha bacteriana, outros produtos vegetais têm sido analisados mas não conferem mais que 39% de proteção de plantas, conforme relatado para o produto à base de extrato cítrico na proteção contra a mancha bacteriana (*X. vesicatoria* (Doidge) Vauterin et al.) em tomateiro (Cavalcanti et al., 2006). No entanto, Mello (2009) reportou que a 0,2% este produto não foi eficiente no controle da podridão mole em couve-chinesa.

Com exceção da mistura estável, a aplicação dos produtos pelo método de imersão de raízes foi mais eficiente do que a pulverização da parte aérea, tanto aumentando o PI quanto reduzindo a AACPD (Tabela 2). A eficácia de um produto pode ser influenciada pelo processo de aplicação. A biofumigação com óleos é muito utilizada, com bons resultados (Pradhanang et al., 2003; Ji et al., 2005; Paret et al., 2010), mas em campo pode exigir grandes quantidades de produto. A pulverização da parte aérea é prática porém nem sempre eficiente, como verificado no presente trabalho. No entanto, a imersão de raízes, além de prática, pode reduzir a quantidade de produto necessário ao tratamento e se tornar uma etapa do sistema de produção de mudas.

Não se observou relação entre os resultados *in vitro* e *in vivo*, quando os ácidos foram utilizados em baixas concentrações. Desta forma, a redução significativa da severidade da doença obtida, de até 100%, aponta, possivelmente, para o mecanismo de indução de resistência, visto que, apenas em altas concentrações foi evidenciada uma ação direta dos ácidos ascórbico, cítrico, láctico e sua mistura estável sobre o patógeno. A ausência de atividade antibiótica *in vitro* é um dos critérios utilizados para se distinguir resistência induzida de outros mecanismos de controle de doenças (Mello, 2009).

Os resultados desta pesquisa são promissores, visto que fornecem novas alternativas para o manejo da murcha

bacteriana no pimentão, sobretudo por ser esta doença ainda de controle extremamente difícil. No entanto, estudos futuros devem ser realizados para comprovar a eficiência dos ácidos láctico, cítrico, ascórbico e sua mistura estável em condições de cultivo protegido e campo, considerando-se a influência de fatores, tais como adsorção eventual do produto por micelas do solo, matéria orgânica, lixiviação, tamponamento do pH do solo e do produto. Adicionalmente, recomenda-se o estudo dos mecanismos de ação desses ácidos e seu impacto ambiental.

Conclusões

Os ácidos ascórbico, cítrico e láctico 1% e a mistura estável 0,8%, foram mais eficientes no controle da murcha bacteriana e, quando aplicados pela imersão de raízes, não apresentaram fitotoxidez e não tiveram ação direta sobre o patógeno *in vitro*. O controle total da doença obtido com ácido láctico 1% é muito promissor no manejo da murcha bacteriana em pimentão, devendo ser associado a outras medidas de controle.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, pela concessão de bolsas de produtividade em pesquisa a Elineide B. Souza (307348/2011-3) e Rosa L. R. Mariano (309.697/2011-5); à CAPES, pela bolsa de doutorado de Alessandra L. Garcia e à FACEPE, pelo financiamento do projeto (APQ 1574-5.01/12).

Literatura Citada

- Acar, J. F.; Goldstein, F. W. Disk susceptibility test. In: Rorian, V. (Ed.). Antibiotics in laboratory medicine. London: Willians & Wilkins, 1986. v.1, p.27-62.
- Carvalho, S. J. P.; Nicolai, M.; Ferreira, R. R.; Figueira, A. V. O.; Christoffoleti, P. J. Herbicide selectivity by differential metabolism: considerations for reducing crop damages. *Scientia Agricola*, v.66, n.1, p.136-142, 2009. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162009000100020>>.
- Cavalcanti, F. R.; Resende, M. L. V.; Zacaroni, A. B.; Ribeiro Júnior, P. M.; Costa, J. C.; Souza, R. M. Acibenzolar-Smetil e Ecolife® na indução de resistência e respostas de defesa do tomateiro contra a mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*). *Fitopatologia Brasileira*, v.31, n.4, p.372-380, 2006. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582006000400007>>.
- Fegan, M.; Prior, P. How complex is the *Ralstonia solanacearum* species complex? In: Allen, C.; Prior, P.; Hayward, A. C. (Ed.). Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. Saint. Paul: APS Press, 2005. p.449-461. <<http://espace.library.uq.edu.au/eserv/UQ:71427/ArielDocRQF2.pdf>>. 05 Set. 2013
- Félix, K. C. S.; Souza, E. B.; Michereff, S. J.; Mariano, R. L. R. Survival of *Ralstonia solanacearum* in infected tissues of *Capsicum annuum* and in soils of the state of Pernambuco, Brazil. *Phytoparasitica*, v.40, n.1, p.53-62, 2012. <<http://dx.doi.org/10.1007/s12600-011-0200-6>>.
- Garcia, A. L.; Lima, W. G.; Souza, E. B.; Michereff, S. J.; Mariano, R. L. R. Characterization of *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt in bell pepper in the state of pernambuco, Brazil. *Journal of Plant Pathology*, v.95, n.2, p.237-245, 2013. <<http://dx.doi.org/10.4454/JPP.V95I2.032>>.
- Hayward, A. C. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology*, v.29, p.65-87, 1991. <<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.py.29.090191.000433>>.
- He, L. Y.; Sequeira, L.; Kelman, A. Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum* from China. *Plant Disease*, v.67, n.12, p.1357-1361, 1983. <<http://dx.doi.org/10.1094/PD-67-1357>>.
- Iamsupasit, N.; Chakraborty, S.; Cameron, D. F.; Adkins, S. W. Components of quantitative resistance to anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in tetraploid accessions of the pasture legume *Stylosanthes hamata*. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, v.33, n.7, p.855-860, 1993. <<http://dx.doi.org/10.1071/EA9930855>>.
- Ji, P.; Momol, M. T.; Olson, S. M.; Pradhanang, P. M.; Jones, J. B. Evaluation of thymol as biofumigant for control of bacterial wilt of tomato under field conditions. *Plant Disease*, v.89, n.5, p.497-500, 2005. <<http://dx.doi.org/10.1094/PD-89-0497>>.
- Lopes, C. A. Situação da murcha bacteriana da batata no Brasil. In: Lopes, C. A.; Espinoza, N. R. (Eds.). Enfermedades bacterianas de la Papa: memorias del taller sobre enfermedades bacterianas de la Papa. Lima: CIP/Embrapa/CNPH, 1994. p.7-9.
- Lopes, C. A.; Quezado-Duval, A. M. Epidemiologia e controle das bacterioses das hortaliças. In: Zambolim, L.; Lopes, C. A.; Picanço, M. C.; Costa, H. (Eds.). Manejo integrado de doenças e pragas: hortaliças. Viçosa: Editora UFV, 2007. cap.4, p.115-162.
- Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Dunlap, P. V.; Clark, D. P. Crescimento microbiano. In: Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Dunlap, P. V.; Clark, D. P. (Eds.) Microbiologia de Brook. 12.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p.141-174.
- Mello, M. R. F. Eficiência de indutores e antibióticos no controle da podridão-mole em couve-chinesa. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2009. 100p. Tese Doutorado. <<http://www.pgfitopat.ufrrpe.br/teses/ds032.pdf>>. 05 Set. 2013.
- Molina, N. Uso de extractos botánicos en control de plagas y enfermedades. *Manejo Integrado de Plagas*, v.59, n.1, p.76-77, 2001. <<http://web.catie.ac.cr/informacion/rmip/rev59/pag76.pdf>>. 05 Set. 2013.
- Motoyama, M. M.; Schwan-Estrada, K. R. F.; Stangarlin, J. R.; Fiori, A. C. G.; Scapim, C. A. Efeito antimicrobiano de extrato cítrico sobre *Ralstonia solanacearum* e *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. *Acta Scientiarum Agronomy*, v.5, n.2, p.509-512, 2003. <<http://dx.doi.org/10.4025/actasciagr.v5n2i2.2333>>.
- Nielsen, L. W.; Haynes, F. L. Resistance in *Solanum tuberosum* to *Pseudomonas solanacearum*. *American Potato Journal*, v.37, p.260-267, 1960.

- Paret, M. L.; Cabos, R.; Kratky, B. A.; Alvarez, A. M. Effect of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* race 4 and bacterial wilt of edible ginger. *Plant Disease*, v.94, n.5, p.521-527, 2010. <<http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-94-5-0521>>.
- Pradhanang, P. M.; Momol, M. T.; Olson, S. M.; Jones, J. B. Effects of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* population density and bacterial wilt incidence in tomato. *Plant Disease*, v.87, n.4, p.423-427, 2003. <<http://dx.doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.4.423>>.
- Quinabra. Higienizante nobre para ambientes e superficies - Kilol-L®, 2007. <http://www.quinabra.com.br/prod_ia_kilolg.html>. 04 Set. 2013.
- Shaner, G.; Finney, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. *Phytopathology*, v.15, n.8, p.1051-1056, 1977. <<http://dx.doi.org/10.1094/Phyto-67-1051>>.
- Toukam, G. M. S.; Cellier, G.; Wicker, E.; Guilbaud C.; Kahane, R.; Allen, C.; Prior, P. Broad diversity of *Ralstonia solanacearum* strains in Cameroon. *Plant Disease*, v.93, n.11, p.1123-1130, 2009. <<http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-93-11-1123>>.
- Xu, J.; Pan, Z. C.; Xu, J. S.; Zhang, Z.; Zhang, H.; Zhang, L. Q.; He, L. Y.; Feng, J. Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains from China. *European Journal of Plant Pathology*, v.125, p.641-653, 2009. <<http://dx.doi.org/10.1007/s10658-009-9512-5>>.