



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE
PERNAMBUCO**

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOPATOLOGIA**

Dissertação de Mestrado

**Seleção de genótipos de cebola resistentes à podridão das escamas
e reação de isolados de *Burkholderia semiarida* e *B. sola* ao cobre**

Fabiola Vital

Recife - PE

2023

FABIOLA VITAL

**SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE CEBOLA RESISTENTES À PODRIDÃO DAS
ESCAMAS E REAÇÃO DE ISOLADOS DE *Burkholderia semiarida* E *B. sola*
AO COBRE**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós- Graduação em Fitopatologia da
Universidade Federal Rural de Pernambuco,
como parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Siqueira da Gama

Coorientadora: Prof^a. Dra. Elineide Barbosa de Souza

Coorientador: Dr. Júlio Carlos Polimeni de Mesquita

RECIFE - PE

JULHO 2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

V836s Vital, Fabiola

Seleção de genótipos de cebola resistentes à podridão das escamas e reação de isolados de *Burkholderia semiarida* e *B. sola* ao cobre / Fabiola Vital. - 2023.
58 f. : il.

Orientador: Marco Aurelio Siqueira da Gama.
Coorientadora: Elineide Barbosa de Souza.
Inclui referências e anexo(s).

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Recife, 2023.

1. *Allium cepa*. 2. Complexo *Burkholderia cepacia*. 3. Controle químico. 4. Podridão das escamas. I. Gama, Marco Aurelio Siqueira da, orient. II. Souza, Elineide Barbosa de, coorient. III. Título

**SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE CEBOLA RESISTENTES À PODRIDÃO DAS
ESCAMAS E REAÇÃO DE ISOLADOS DE *Burkholderia semiarida* E *B. sola*
AO COBRE**

FABIOLA VITAL

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 28/07/2023

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Marco Aurélio Siqueira da Gama

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Adriano Márcio Freire Silva (UFAL)

Dr. Willams José de Oliveira (EECAC/UFRPE)

RECIFE - PE

JULHO 2023

*A minha família que sempre está comigo mesmo de longe,
e que é meu motivo para seguir em frente na minha vida,
e à minha avó, Paulène Vital, por ter me ensinado
tantas coisas desde a minha infância
até hoje, para me tornar a pessoa
incrível que eu sou hoje*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre cuidar de mim, me dar força e fé para superar todos os momentos difíceis encontrados ao longo do estudo, e me permitir realizar esse sonho.

A minha mãe, Astride Vital, por ter me dado a vida para que eu pudesse me tornar a pessoa incrível e forte que sou hoje, e pelo carinho e apoio.

A minha avó, Paulène Vital, ela sabe o quanto é importante para mim.

Ao meu tio, Padre Paulin Vital, quem sempre foi, é e será um pai para mim, pelas orações e apoio financeiro à minha educação por vários anos.

A minha irmã e amiga, Sagine Vital, pelo amor, por sua atenção comigo.

Ao meu primo, Dupleix Vital, pelo apoio e por nunca duvidar da minha capacidade.

Ao meu namorado e companheiro, Yvens Nelson, por todo o seu amor e por sua paciência.

Ao meu estimado orientador, Prof. Dr. Marco Aurélio Siqueira da Gama, pela orientação, pela paciência, pelo apoio e ensinamentos.

A minha querida coorientadora, Prof.^a Dra. Elineide Barbosa de Souza, pelo carinho, pelo apoio e pela atenção que ela me deu no meu trabalho.

Ao meu coorientador, Dr. Júlio Carlos Polimeni de Mesquita, pelo apoio e pela ajuda da chegada dos bulbos de cebola no Laboratório de Fitobacteriologia, utilizados nos meus experimentos.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pela contribuição na minha formação.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa acadêmica.

A Greecy, pelos ensinamentos e as colegas do Laboratório de Fitobacteriologia especialmente David, pela ajuda, passando várias madrugadas comigo no laboratório avaliando meus experimentos, Lucas Lucena, Rodrigo, Keyla e Walter pelas ajudas, e Stefany, Igor, Fernanda, e Maria Clara, pelos momentos compartilhados no laboratório.

Aos meus conterrâneos e amigos, em particular Midouin que eu considero como um irmão para mim, estou muito grata pelas suas ajudas, e Hansheys, Ezechiél e Welson.

Aos amigos dos cursos de mestrado e doutorado da UFRPE, Dionísio, Ana Paula, e René. A mim, por não ter desistido mesmo nas dificuldades que eu enfrentei, por ter aceitado este desafio e por ter tido coragem de ir atrás do meu sonho.

A todos que diretamente ou indiretamente contribuíram nessa conquista, muito obrigada!

" Confia no Senhor e ele satisfará os desejos do seu coração. Entrega seu caminho ao Senhor,
confia nele e ele tudo fará! "

Salmo 37: 4-5.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	V
GENERAL ABSTRACT.....	IX
CAPÍTULO I.....	10
1. A cultura da cebola.....	11
2. Podridões das escamas da cebola	13
3. Características do complexo <i>Burkholderia cepacia</i>	15
4. Fontes de resistência a doenças em cebola.....	17
5. Sensibilidade a cúpricos	18
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
CAPÍTULO II.....	28
RESUMO	29
ABSTRACT	30
MATERIAL E MÉTODOS.....	32
Origem dos isolados, condições de cultivo e preparo de suspensão	32
Análise da agressividade dos isolados de <i>B. semiarida</i> e <i>B. sola</i>	33
Seleção de genótipos de cebola resistentes a <i>Burkholderia semiarida</i> e <i>B. sola</i>	33
Avaliação da estabilidade da resistência de genótipos de cebola.....	34
Determinação da concentração mínima inibitória de cobre a isolados de <i>B. semiarida</i> e <i>B. sola</i>	34
Sensibilidade dos isolados de <i>B. semiarida</i> e <i>B. sola</i> ao cobre <i>in vitro</i>	35
Sensibilidade dos isolados de <i>B. semiarida</i> e <i>B. sola</i> ao cobre <i>in vivo</i>	36
Análises estatísticas	36
RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
Análise da agressividade dos isolados de <i>Burkholderia semiarida</i> e <i>B. sola</i>	37
Seleção de genótipos de cebola resistentes a <i>Burkholderia semiarida</i> e <i>B. sola</i>	38
Avaliação da estabilidade da resistência de genótipos de cebola a <i>B. semiarida</i> e <i>B. sola</i>	39
Determinação da concentração mínima inibitória de cobre a isolados de <i>B. semiarida</i> e <i>B. sola</i>	40
Sensibilidade dos isolados de <i>B. semiarida</i> e <i>B. sola</i> ao cobre <i>in vitro</i>	41
Sensibilidade dos isolados de <i>B. semiarida</i> e <i>B. sola</i> ao cobre <i>in vivo</i>	41
CONCLUSÕES	42
REFERÊNCIAS	43
CONCLUSÕES GERAIS	57

RESUMO GERAL

A cebola (*Allium cepa* L.) é acometida por uma série de doenças que podem causar grandes perdas. Dentre as principais doenças que afetam esta cultura, destaca-se a podridão bacteriana das escamas, causada por espécies do complexo *Burkholderia cepacia*. A doença se destaca nas regiões produtoras do semiárido do Nordeste brasileiro por apresentar-se amplamente disseminada, ocorrer no campo e na fase de pós-colheita e causar perdas de até 50% da produção. Na região semiárida do Nordeste brasileiro, somente *B. cenocepacia*, *B. orbicola*, *B. semiarida*, e *B. sola* foram detectadas dentre as espécies do CBC associadas a doença, sendo as duas últimas espécies recentemente descritas. Assim, esse estudo teve como objetivos selecionar genótipos de cebola resistentes a *B. semiarida* e *B. sola*, e avaliar a reação de isolados dessas espécies ao cobre. Foram inoculados quatro isolados de *B. semiarida* e um isolado de *B. sola* em bulbos de cebolas comerciais para avaliação de agressividade dos isolados. Posteriormente, a reação de 44 genótipos de cebola à podridão de escamas foi avaliada utilizando o isolado mais agressivo de cada espécie, sendo selecionados 28 genótipos resistentes a *B. semiarida* e 30 genótipos a *B. sola*. Em seguida, os três isolados mais agressivos de *B. semiarida* e o isolado mais agressivo de *B. sola* foram inoculados em bulbos de cebola dos genótipos selecionados para avaliação da estabilidade da resistência. Dezesesseis genótipos mantiveram a resistência a *B. semiarida* e 30 genótipos a *B. sola*. Os genótipos Alfa São Francisco, Baia do Cedo, Baia Periforme Agrocere, Baia Periforme Super Precoce, Beta Cristal, BRS Rio Verde, Carrancas, Crioula Mercosul, IPA 10, IPA 2, Juporanga, Primavera, Primeiro, Rainha e São Paulo mantiveram-se estáveis para as duas espécies, demonstrando o potencial desses genótipos como fontes promissoras de resistência à podridão das escamas. A concentração mínima inibitória foi determinada pela avaliação da sensibilidade ao cobre usando os três isolados mais agressivos de *B. semiarida* e o isolado de *B. sola*. Foram analisadas soluções de sulfato de cobre nas concentrações finais de 0, 100, 200, 300, 400, 500 e 600 mg.L⁻¹ de Cu²⁺. Não houve crescimento bacteriano nas concentrações a partir de 300 e 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ para *B. semiarida* e *B. sola*, respectivamente. Para avaliar a atividade do cobre sobre os isolados, duas repetições de cada tratamento foram selecionadas ao acaso, e em seguida, 10 µL foram inoculados em catafilos de cebola comerciais. Simultaneamente, 100 µL do tratamento também foram plaqueados em placas de Petri com meio de cultura NYDA. Os catafilos inoculados não apresentaram sintomas e não foi observado o crescimento bacteriano em placa de Petri nas concentrações de 300 e 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺, para *B. semiarida* e *B. sola*, respectivamente. Em seguida, a reação de 19 isolados de *B. semiarida* e 1 isolado de *B. sola* foi avaliada em placas de Petri com meio mínimo suplementado com 200 e 300 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ e 300 e 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺, respectivamente. Não foi observado crescimento bacteriano em placas nas concentrações de 300 e 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ para os isolados de *B. semiarida* e *B. sola*. Por fim, bulbos de cebola foram pulverizados com cobre utilizando as concentrações 300 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ para *B. semiarida* e 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ para *B. sola* e inoculados com 10 µL das suspensões de quatro isolados mais agressivos. A diferença de severidade da podridão em escamas entre os bulbos tratados e não tratados com cobre não foi significativa (P>0,05) para as duas espécies. Conclui-se que 15 genótipos apresentaram resistência a isolados das duas espécies estudadas e o cobre demonstrou atividade bactericida *in vitro* sobre as duas espécies bacterianas a partir da concentração de 300 e 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ para os isolados de *B. semiarida* e *B. sola*, respectivamente, mas não demonstrou reação *in vivo* nas concentrações avaliadas.

Palavras-chave: *Allium cepa*; Complexo *Burkholderia cepacia*; Controle químico; Podridão das escamas.

GENERAL ABSTRACT

Onion (*Allium cepa* L.) is affected by a series of diseases that can cause great losses. Among the main diseases that affect this crop, sour skin, caused by species of the *Burkholderia cepacia* complex (Bcc) stands out in the semi-arid producing regions of northeastern Brazil because it is widely disseminated, occurs in the field and in the post-harvest phase, and causes losses of up to 50% of production. In the semi-arid region of northeastern Brazil, only *B. cenocepacia*, *B. orbicola*, *B. semiarida*, and *B. sola* were detected among the disease-associated BCC species, the last two species being recently described. Thus, this study aimed to select onion genotypes resistant to *B. semiarida* and *B. sola*, and to evaluate the reaction of strains of these species to copper. Four strains of *B. semiarida* and one strain of *B. sola* were inoculated into commercial onion cataphylls to evaluate the aggressiveness of the strains. Subsequently, the reaction of 44 onion genotypes to sour skin was evaluated using the most aggressive strain of each species, selecting 28 genotypes resistant to *B. semiarida* and 30 genotypes to *B. sola*. Then, the three most aggressive strains of *B. semiarida* and the most aggressive strain of *B. sola* were inoculated into onion bulbs of the selected genotypes to evaluate resistance stability. Sixteen genotypes maintained resistance to *B. semiarida* and 30 genotypes to *B. sola*. The Alfa São Francisco, Baia do Cedo, Baia Periforme Agrocere, Baia Periforme Super Precoces, Beta Cristal, BRS Rio Verde, Carrancas, Crioula Mercosul, IPA 10, IPA 2, Juporanga, Primavera, Primeiro, Rainha and São Paulo genotypes remained stable for both species, demonstrating the potential of these genotypes as promising sources of resistance to sour skin. The minimum inhibitory concentration was determined by assessing copper sensitivity using the three most aggressive *B. semiarida* strains and one *B. sola* strain. Copper sulfate solutions were analyzed at final concentrations of 0, 100, 200, 300, 400, 500 and 600 mg.L⁻¹ of Cu²⁺. There was no bacterial growth at concentrations from 300 and 400 mg.L⁻¹ of Cu²⁺ for *B. semiarida* and *B. sola*, respectively. To evaluate the activity of copper on the strains, two repetitions of each treatment were randomly selected, and then, 10 µL were inoculated into commercial onion cataphylls. Simultaneously, 100 µL of the treatment were also plated in Petri dishes with NYDA culture medium. Inoculated cataphylls did not show symptoms and bacterial growth was not observed in Petri dishes at concentrations of 300 and 400 mg.L⁻¹ of Cu²⁺, for *B. semiarida* and *B. sola*, respectively. Then, the reaction of 19 strains of *B. semiarida* and 1 strain of *B. sola* was evaluated in Petri dishes with minimal medium supplemented with 200 and 300 mg.L⁻¹ of Cu²⁺ and 300 and 400 mg.L⁻¹ of Cu²⁺, respectively. No bacterial growth was observed on plates at concentrations of 300 and 400 mg.L⁻¹ of Cu²⁺ for *B. semiarida* and *B. sola* strains. Finally, onion bulbs were sprayed with copper using concentrations of 300 mg.L⁻¹ of Cu²⁺ for *B. semiarida* and 400 mg.L⁻¹ of Cu²⁺ for *B. sola* and inoculated with 10 µL of suspensions of the four most aggressive strains. The difference in sour skin severity between bulbs treated and not treated with copper was not significant (P>0.05) for the two species. It was concluded that 15 genotypes showed resistance to strains of the two studied species and copper showed bactericidal activity *in vitro* on both bacterial species from the concentration of 300 and 400 mg.L⁻¹ of Cu²⁺ for the strains of *B. semiarida* and *B. sola*, respectively, but showed no reaction *in vivo* at the evaluated concentrations.

Keywords: *Allium cepa*; *Burkholderia cepacia* complex; Chemical control; Sour skin.

CAPÍTULO I

Introdução geral

SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE CEBOLA RESISTENTES À PODRIDÃO DAS ESCAMAS E REAÇÃO DE ISOLADOS DE *Burkholderia semiarida* E *B. sola* AO COBRE

INTRODUÇÃO GERAL

1. A cultura da cebola

A cebola (*Allium cepa* L.) está presente em quase todos os continentes (KUNZ et al., 2009), caracterizando-se como a terceira hortaliça de maior valor agregado do mundo, apenas atrás do tomate (*Solanum lycopersicum* L.), e da batata (*Solanum tuberosum* L.) (EL BALLA et al., 2013). Em relação ao volume de produção e valor econômico, a cultura é de grande importância entre as hortaliças cultivadas no Brasil (RESENDE; COSTA, 2007; BAIA, 2019). A cebola é consumida principalmente in natura, na forma de saladas, e como condimento ou tempero (COSTA; RESENDE, 2007; VELEZ 2017). Essa hortaliça apresenta elevado valor nutricional e características como sabor, pungência, aroma e propriedades terapêuticas (KUNZ et al., 2009), e também se destaca no Brasil pela grande importância socioeconômica e como a cultura mais produzida dentro do gênero *Allium*.

O gênero *Allium* faz parte da classe Monocotyledoneae, ordem Asparagales e Família Alliaceae. Este gênero inclui uma série de espécies hortícolas, como *A. cepa* L. (cebola), *A. fistulosum* L. (cebolinha), *A. sativum* L. (alho), *A. ampeloprasum* L. (alho-porro) e *A. tuberosum* L. (cebolinha chinesa) (RESENDE; KIILL; SOUZA, 2016; VELEZ 2017).

A cebola é nativa das regiões temperadas, que atualmente incluem Afeganistão, Irã e a antiga União Soviética (KUNZ et al., 2009). Por mais de 5000 anos esta hortaliça foi cultivada, e não é mais encontrada em sua forma selvagem. As espécies mais próximas são *A. galanthum* L. e *A. vavilovii* L., que podem ser encontradas em suas formas selvagens nos centros de origem descritos acima, com exceção do Irã (GOLDMAN; HAVEY; SCHROECK, 2000; VELEZ 2017). Os principais produtores mundiais no ano de 2021 detectados foram China, Índia, Egito e Estados Unidos, os quais produziram juntos cerca de 53 milhões de toneladas (FAO, 2021). Por sua vez, o Brasil apresenta-se em nono lugar no ranking dos 10 maiores produtores de cebola do mundo (FAO, 2014).

De acordo com o último registro nacional sobre a produção de cebola no Brasil, em 2021 foram produzidas aproximadamente 1.640.628 toneladas de bulbos, destacando-se

Santa Catarina como maior estado produtor do Brasil, com uma produção de 481.233 toneladas. No Nordeste, destacam-se os Estados de Bahia e Pernambuco como os maiores produtores da região, os quais produziram respectivamente 260.399 e 61.739 toneladas, representando 97,7% da produção regional (IBGE, 2023).

No Nordeste brasileiro, a região do submédio do Vale do São Francisco é considerada grande produtora de cebola. Os principais municípios de Pernambuco produtores desta hortaliça são Belém do São Francisco, Cabrobó, Lagoa Grande, Orocó, Petrolândia, e Santa Maria da Boa Vista. Por sua vez, no estado da Bahia, os principais municípios produtores de cebola são: Abaré, Casa Nova, Curaçá, Itaguaçu, Juazeiro e Sento Sé (RESENDE; COSTA, 2016). Fora da vizinhança do Submédio do Vale do São Francisco, a cebolicultura também é praticada nos municípios baianos de Irecê, João Dourado e Mucugê (OLIVEIRA et al., 2019; VELEZ 2021).

A região Nordeste possui a vantagem de ser a única região brasileira que oferta o produto durante todos os meses do ano devido às condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento da cultura, como temperatura e fotoperíodo adequados (SILVA, 2016). No Vale do São Francisco, ainda são cultivadas bastante as cultivares IPA 10, IPA 11 e um pouco da Texas Grano-502. As novas cultivares híbridas são distribuídas de acordo com os dias do ano, sendo dias curtos, intermediários e longos. Para cultivares de dias curtos e intermediários o plantio é realizado de abril a julho e dias longos de agosto a março. Materiais de dias intermediários e curtos recomenda se os materiais precoces ou intermediários com ciclo variando entre 90 e 110 dias da primeira rega até a colheita. São cultivares de coloração amarela, como Aquarius, Andrômeda, Samurai, 1205, Atacama, 5605, Nomad, Podium, e coloração roxa Mata Hari, Sofire e Rubi. Para dias longos, as cultivares Fernanda, Serena, Canarana e Campo Lindo de coloração amarela, bem como as cultivares de coloração roxa Gamay e Rio Vermelho são recomendadas para região Nordeste (Informação verbal)¹.

Apesar da alta produção de cebola no Brasil, existem problemas fitossanitários que são fatores limitantes para a cultura se não forem adotadas medidas de manejo adequadas. A cultura da cebola pode ser acometida por diversas doenças que podem ser causadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides (GAVA; TAVARES, 2016). Dentre as doenças causadas por bactérias, a podridão das escamas da cebola causa grandes perdas econômicas (BEER et al. 2012; BAIA, 2019).

¹ Notícia fornecida por Dr. Willams José de Oliveira, por e-mail.

2. Podridões das escamas da cebola

A podridão das escamas da cebola é uma doença de ampla distribuição (WOODELL FILHO; BOFF, 2006). A doença tem sido observada em áreas de cultivo de diversos países, como Estados Unidos, Japão e Brasil (BURKHOLDER, 1950; SOTOKAWA; TAKIKAWA, 2004; OLIVEIRA et al., 2017; VELEZ, 2021). No Brasil, tem sido identificada oficialmente nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Santa Catarina, Minas Gerais (MALAVOLTA JR. et al., 2008), Bahia e Pernambuco (OLIVEIRA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2019; BAIA et al., 2021; VELEZ et al., 2023).

O termo “podridão das escamas” tem sido utilizado como uma nomenclatura generalista atribuída podridões em bulbos de cebola causadas por bactérias de diferentes gêneros e espécies, cuja sintomatologia e nome da doença podem mudar conforme à bactéria envolvida (SILVA et al., 2018). As principais bactérias associadas a doença são espécies do complexo *Burkholderia cepacia* (CBC), como *B. cenocepacia* Vandamme et al. (OLIVEIRA et al., 2017), *B. orbicola* (MORALES-RUÍZ et al., 2022), *B. cepacia* (Palleroni e Holmes) Yabuuchi et al., *B. semiarida* Velez et al., *B. sola* Velez et al. (VELEZ, et al., 2023), *B. gladioli* pv. *alliicola* (Burkholder) Young et al., *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula (BAIA et al., 2021; OLIVEIRA et al., 2019); WORDELL FILHO et al., 2006) e *Serratia marcescens* Bizio (MARQUES et al., 1994). Quando a podridão é causada pelas espécies do CBC, a doença tem como nome habitual camisa d’água ou podridão bacteriana das escamas, pois a deterioração ocorre nas camadas mais externas do bulbo. BURKHOLDER, 1950; SILVA et al., 2018).

Dentre as diferentes podridões identificadas, destaca-se a podridão bacteriana das escamas, a qual apresenta-se como uma doença amplamente disseminada, que ocorre no campo e também na fase de pós-colheita, podendo causar até 50% de prejuízos à produção (WOODELL FILHO; BOFF, 2006; BAIA, 2019). O primeiro assinalamento no mundo dessa doença foi realizado por Burkholder em 1950. Nessa ocasião, o autor observou a doença em campos de produção de cebola no estado de Nova York, nos Estados Unidos. Devido ao cheiro perceptível de vinagre nos bulbos doentes, o autor chamou a doença de “sour skin” (BURKHOLDER, 1950; OLIVEIRA, 2019). A podridão das escamas tem sido associada a espécies do CBC, como *B. ambifaria*, *B. cenocepacia*, *B. cepacia*, *B. orbicola*, *B. pyrocinia* (TSUJI; KADOTA, 2020; BAIA et al., 2021). Na região semiárida do Nordeste brasileiro, *B. gladioli* pv. *alliicola* (OLIVEIRA et al., 2019), *B. cenocepacia*, *B. orbicola* (OLIVEIRA et al., 2017; BAIA et al., 2021) têm sido observadas de forma predominante nos municípios

produtores dos Estados da Bahia e Pernambuco. Além disso, duas novas espécies do CBC foram recentemente identificadas nessa região, a saber: *B. semiarida* e *B. sola* (VELEZ et al., 2023).

A doença apresenta sintomas característicos de uma podridão viscosa, de coloração amarelada a marrom claro, firme, podendo haver a quebra de uma ou poucas escamas internas do bulbo (MOHAN, 1995). As escamas adjacentes às infectadas podem permanecer firmes e, embora sejam observadas podridões nas escamas individualmente, todo o bulbo é comprometido (DAVIS et al., 2014; ROBERTS, 2013). Em geral, a infecção ocorre no campo após a formação dos bulbos devido a disseminação das bactérias pelo solo ou água de irrigação, mas também pode ocorrer durante o armazenamento (PARKE; GURIAN-SHERMAN, 2001). Na presença de ferimentos, temperatura ideal (30 e 35°C) e presença de água livre, os danos causados pela podridão das escamas podem ser mais graves (DAVIS, et al., 2014). Além disso, acontece grande parte das perdas durante o armazenamento (PARKE; GURIAN-SHERMAN, 2001). Nesse contexto, os ferimentos causados durante o manejo da cultura e colheita ou quando as folhas secam durante a maturação dos bulbos, são modo de penetração das bactérias (DAVIS, et al., 2014).

Para o manejo da doença, é importante ter conhecimento prévio da etiologia e epidemiologia da doença. Assim, as medidas de controle dependem da identificação adequada do agente causal envolvido, pois, do contrário, essas medidas podem ocasionar perda de tempo e dinheiro, levando a perdas ainda mais consideráveis. Portanto, o correto diagnóstico da doença e a identificação de seu agente causal são fundamentais para o resultado do controle (SILVA, et al., 2018). O manejo da podridão das escamas em cebola deve ser realizado de forma preventiva (REIS; HENZ; LOPES, 2015). Por ser um patógeno que penetra por meio de ferimentos, deve-se ter o máximo cuidado nos tratos culturais durante o ciclo da cultura e no manuseio de bulbos durante a colheita e no armazenamento, evitando-se qualquer impacto que possa comprometer a integridade das escamas ou ferir as folhas próximo ao pescoço (WORDELL FILHO; BOFF, 2006).

Além disso é aconselhável usar bulbos e sementes saudáveis, evitar o excesso de umidade no solo, evitar o uso de ferramentas agrícolas onde a doença foi detectada, realizar rotação com as espécies de outras famílias botânicas, controlar pragas, eliminar plantas com sintomas em campo e descartar bulbos colhidos que apresentam sintomas, colher bulbos apenas de estágio correto de maturação, e armazenar os bulbos em baixas temperaturas, com baixa umidade do ar e em locais ventilados (ROMEIRO, 2000; GAVA; TAVARES, 2016; VELEZ, 2017). Também é recomendado o uso de práticas que reduzam a chance de contaminação da água de irrigação com essa bactéria e a eliminação dos bulbos infectados deve ser realizada antes do

armazenamento, pois a doença pode ser disseminada de bulbos infectados para bulbos sadios (SILVA, et al., 2018).

O uso de cultivares resistentes é o método de controle mais eficaz, econômico e seguro por diminuir o uso de agroquímicos e é compatível com outras práticas de manejo de doenças de plantas (CAMARGO, 2011; VELEZ 2017). De acordo com Gava e Tavares, não existem variedades comprovadamente resistentes à podridão em escamas, o que poderia diminuir consideravelmente as perdas causadas pela doença (GAVA; TAVARES, 2016). No entanto, estudo recente analisou a tolerância de 58 genótipos de cebolas a três isolados de *B. gladioli* pv. *allicola*, e demonstrou que 37 genótipos apresentaram níveis de tolerância a esta bactéria, contudo apenas sete apresentaram estabilidade na tolerância aos três diferentes isolados deste patógeno. Diante desses resultados, os autores concluíram que esses sete genótipos se apresentam como fontes promissoras tolerantes à podridão escorregadia da cebola, podendo ser utilizados em programas de melhoramento visando à obtenção de variedades de cebola com resistência a doença (VELEZ et al., 2020). Além disso, em estudo recente de avaliação de resistência de 44 genótipos de cebola a isolados de *B. cenocepacia* e *B. orbicola*, as quais predominam nas principais áreas produtoras da região Nordeste do Brasil (BAIA et al., 2021), foi demonstrado que sete genótipos se mantiveram uma resistência estável a ambas as espécies bacterianas, os caracterizando como fontes promissoras de resistência a doença (SILVA, 2023).

3. Características do complexo *Burkholderia cepacia*

Burkholderia cepacia foi descrita pela primeira vez em 1950 por Burkholder causando podridão bacteriana das escamas de cebola no estado de Nova York, sendo classificada inicialmente como *Pseudomonas cepacia*. Contudo, o epíteto *P. cepacia* perdeu a sua validade após ter sido excluído da “Approved Lists of Bacterial Names” em 1980 (SKERMAN et al., 1980), sendo revivido no ano seguinte por Palleroni e Holmes (1981). Posteriormente, o gênero *Burkholderia* foi proposto para acomodar espécies de *Pseudomonas* que formavam o grupo II de homologia rRNA-DNA (YABUUCHI et al. 1992), ocasião em que *P. cepacia* foi reclassificada como *B. cepacia*. Após seu relato em cebola, os isolados de *B. cepacia* também passaram a ser associados a ambientes clínicos, solo, plantas e água de rio (PALLERONI; HOLMES, 1981; VANDAMME et al., 1997). Além disso, diversos estudos revelaram heterogeneidade considerável entre estes isolados (BEVIVINO et al., 1994; BUTLER et al., 1995; GILLIS et al., 1995; SIMPSON et al., 1994; TABACCHIONI et al., 1995; TYLER et al., 1995; YOHALEM; LORBER, 1994).

A diversidade entre os isolados classificados como *B. cepacia* e a falta de métodos de identificação confiáveis levaram a realização de um estudo taxonômico polifásico que revelou que isolados de *B. cepacia* obtidos a partir de pacientes com fibrose cística, de outras amostras clínicas humanas e do ambiente pertenciam a pelo menos cinco espécies genômicas distintas, passando a serem chamadas coletivamente de complexo *B. cepacia* (CBC) (VANDAMME et al., 1997).

O complexo *Burkholderia cepacia* (CBC) é atualmente formado por um grupo versátil de 26 espécies intimamente relacionadas (MARTINA et al., 2018; MORALES-RUIZ et al., 2022; VELEZ et al., 2023), que podem ser satisfatoriamente identificadas usando análise de sequência multilocus (MLSA) com genes housekeeping (BAIA et al., 2021; PEETERS et al., 2013; TSUJI; KADOTA, 2020) e estudos genômicos (SANTOS et al., 2018; VANLAERE et al., 2009; WALLNER et al., 2019). As bactérias do complexo *B. cepacia* possuem a forma de bastonetes, são Gram negativas, aeróbicas, oxidase positiva, possuem células móveis que medem de 1,6 a 3,2 µm por 8 a 10 µm, apresentando um ou mais flagelos polares. Elas pertencem ao filo Proteobacteria, classe das Betaproteobacteria, família Burkholderiaceae e ao gênero *Burkholderia* (MAHENTHIRALINGAM; BALDWIN; DOWSON, 2008). A temperatura ótima de crescimento ocorre a 37°C, mas podem crescer até 42°C.

Todas as espécies do complexo *B. cepacia* possuem um grande genoma, variando de 6 e 9 Mb, uma característica genética responsável pela sua capacidade em causar doença em diferentes organismos e capacidade de sobreviver em diferentes ambientes (MAHENTHIRALINGAM; BALDWIN; DOWSON, 2008). Além disso, o genoma varia de dois a quatro cromossomos de diferentes tamanhos, contendo um grande número de sequências de inserção (MOREIRA; SILVA; ABRAHÃO, 2010). Adicionalmente, as espécies presentes no CBC, podem ser encontradas nos mais variados ambientes, como em água de rios (VANDAMME et al., 1997), solo (MARTINA et al., 2018), plantas (endofiticamente ou causando doença) (GILLIS et al., 1995), ambiente hospitalar (MARTINA et al., 2018) e humanos (COENYE et al., 2001), (VANDAMME et al., 2003).

B. cenocepacia é subdividida em quatro linhagens filogenéticas caracterizadas como IIIA, IIIB, IIIC e IIID (VANDAMME et al., 2003). Até o momento, apenas a linhagem IIIB foi associada causando podridão das escamas (OLIVEIRA et al., 2017). Estudos recentes mostraram que *B. cenocepacia* é abundante na rizosfera de várias culturas economicamente importantes (BALANDREAU et al., 2001; FIORE et al., 2001). *B. cenocepacia* abriga isolados virulentos e transmissíveis, que estão associados a alta mortalidade entre pacientes com fibrose cística (MAHENTHIRALINGAM et al., 2001), sendo as linhagens IIIA e IIID as mais

encontradas em amostras clínicas (MAHENTHIRALINGAM et al., 2000; VANDAMME et al., 2003), enquanto a linhagem IIIB é encontrada em ambientes clínicos e habitats naturais, como rizosfera de cebola, banana e milho, bem como no solo (MAHENTHIRALINGAM et al., 2000; VANDAMME et al., 2003). Por sua vez, a linhagem IIIC foi encontrada apenas no solo até o momento (VANDAMME et al., 2003).

Além disso, duas novas espécies do CBC foram recentemente identificadas nessa região, a saber: *B. semiarida* e *B. sola* (VELEZ et al., 2023). *B. semiarida* foi classificada com este epíteto para fazer uma alusão ao fato de terem sido obtidos isolados desta espécie causando podridão das escamas da cebola no semiárido do Nordeste brasileiro, enquanto o epíteto *B. sola* reflete o fato de que apenas um isolado desta espécie foi obtido nesta região.

4. Fontes de resistência a doenças em cebola

Aumentar a produtividade agrícola é o principal objetivo dos programas de melhoramento genético, cuja visão é fornecer alimentos para uma população que cresce a cada ano e em um mundo de área limitada. Isso pode ser feito diretamente e indiretamente. A forma direta ocorre através do desenvolvimento de variedades altamente produtivas, enquanto a forma indireta ocorre pela obtenção de variedades resistentes (FERREIRA, 2006).

A resistência genética refere-se à capacidade de algumas espécies de plantas em suprimir, reduzir ou retardar lesões e danos causados por patógenos. Além disso, a resistência é caracterizada por sua natureza dinâmica e coordenada, dependendo da expressão de seus mecanismos em uma sequência lógica, depois do contato do patógeno com o hospedeiro. Nesse sentido, a resistência apresenta-se como um sistema multicomponente, onde seu nível resulta da soma das contribuições individuais dos diferentes mecanismos de resistência (PASCHOLATI; LEITE, 1995).

Do ponto de vista ambiental, o uso de cultivares resistentes é o método de controle mais eficaz, econômico e seguro por diminuir o uso de agroquímicos e ser compatível com outras práticas de manejo de doenças de plantas (CAMARGO, 2011; VELEZ 2017). No entanto, a obtenção de genótipos resistentes a doenças é um trabalho de grande complexidade, no qual devem ser traçadas estratégias para gerar e manter alguns genótipos resistentes. Isso acontece porque os patógenos desenvolvem estratégias que tem vantagens seletivas sobre o genótipo do hospedeiro (MATTIELO; BARBEIRI; CARVALHO, 1997).

Em um programa de melhoramento, algumas etapas devem ser adotadas para obter uma variedade com níveis satisfatórios de resistência genética. Dentre essas etapas, a identificação

de genótipos e de genes que conferem resistência em variedades das espécies a serem melhoradas ou de espécies taxonomicamente relacionadas. Após a etapa de identificação, os genes de resistência devem ser transferidos para a variedade de interesse por um dos métodos de hibridização conhecidos, examinando-se o comportamento e distinguindo plantas resistentes de plantas suscetíveis (FERREIRA, 2011; VELEZ 2017).

O Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) em parceria com a EMBRAPA Semiárido e a EMBRAPA Hortaliças desenvolveram uma série de cultivares de cebola para a região Nordeste ao longo dos anos. A título de exemplo, destacam-se as cultivares das séries IPA, Alfa Tropical e Alfa São Francisco. Também foram realizados estudos de adaptação de cultivares, com o objetivo de selecionar as mais produtivas, resistentes às principais doenças e pragas, além de ser bem aceita pelo consumidor (SOUZA et al., 2008).

O melhoramento genético de cebola na região Nordeste do Brasil tem sido executado ininterruptamente desde o ano de 1972, contemplando cebolas roxas e amarelas, com o objetivo de desenvolver cultivares dotadas de elevado potencial produtivo, nível elevado de tolerância ao tripses (*Thrips tabaci*) e de resistência ao mal-de-sete-voltas (*Collectotrichum gloeosporioides*) e a raiz rosada (*Pyrenochaeta terrestris*), considerados como os principais problemas fitossanitários da região Nordeste, assim como, a melhor conservação pós-colheita, pungência moderada e a boa adaptação às condições ambientais locais (COSTA; CANDEIA; ARAUJO, 1999; SOUZA et al., 2008).

Apesar da grande importância da podridão bacteriana das escamas causadas por espécies de CBC na região Nordeste, poucos estudos foram realizados até o momento para avaliar a reação de genótipos de cebola a podridão das escamas. Nesse contexto, foi recentemente demonstrado que sete genótipos (F2 (EHCEB 20151030 x EHCEB 20133015), Cascuda T5, Crioula Mercosul, Juporanga, EHCEB 20111036, Cascuda T6 e EHCEB 20142028) apresentaram tolerância a isolados de *B. gladioli* pv. *alliicola* (VELEZ et al., 2020). Comportamento semelhante foi observado em relação a isolados de *B. cenocepacia* e *B. orbicola*, sendo observados sete genótipos (Baia Periforme Agrocere, Beta Cristal, BRS Rio Verde, Crioula Mercosul, IPA 7, Primeiro e Rainha) com bons níveis de tolerância a isolados dessas espécies (SILVA, 2023).

5. Sensibilidade a cúpricos

Os cúpricos são produtos quimicamente heterogêneos, apresentando largo espectro de ação antifúngica e antibacteriana, baixa toxidez aos animais e ao homem, como por exemplo,

o oxicloreto de cobre, hidróxido de cobre, óxido cuproso e sulfato básico de cobre (KIMATI, 2011). Quanto à mobilidade, o fungicida cúprico é classificado como não penetrante, ou seja, quando aplicado nas partes aéreas não é absorvido, não sendo translocado, permanecendo na superfície da planta no local onde foi pulverizado, sendo possível de ser lavado pela chuva (REIS et al., 2010). Este fungicida protetor é capaz de inibir muitos processos enzimáticos, atuando em diferentes lugares da célula, desde que ela possua atividade metabólica, agindo tanto na membrana como no protoplasma celular. As enzimas que os cúpricos inibem são: sacarase, catalase, arginase, asparaginase, betaglucosidase, entre outras (KIMATI, 1995).

Apesar de sua importância nos processos biológicos, o cobre é considerado uma substância extremamente tóxica para as células dos microrganismos, especialmente devido ao sinergismo com diferentes substâncias orgânicas (RESENDE, 1997; LOPES, 2002). Em altas concentrações, o cobre é capaz de gerar radicais livres que podem danificar o DNA e as membranas lipídicas das células (SILVA, 2017). Além disso, essa toxicidade é causada principalmente pelas propriedades intrínsecas do cobre, onde os íons livres sofrem reações de ciclo redox alternando entre Cu (I) e Cu (II), além de resultar na transferência de elétrons para o peróxido de hidrogênio e a geração concomitante de radicais hidroxila que prontamente atacam e danificam as biomoléculas celulares (SANTO; MORAIS; GRASS, 2010).

O cobre foi utilizado na medicina e na agricultura (BONDARCZUK; PIOTROWSKA-SEGET, 2013) como componente de agentes antibacterianos, algicidas e fungicidas (LOFTIN et al., 2005). O sulfato de cobre já era utilizado com fungicida no século XIX, recomendado para tratamento de sementes de trigo contra o carvão. Possuía alta solubilidade na água e penetrava em tecidos vegetais, sendo fitotóxico e, portanto, não era empregado em aplicações nas folhagens (SOUZA, 2018). Em 1882, acidentalmente, foi descoberta a calda bordalesa pelo botânico francês Pierre Marie Alexis Millardet, na região de Bordeaux na França no controle de míldio em videira (IVO, 2008; SOUZA, 2018). É um insumo utilizado em hortas e pomares orgânicos, devido a sua eficiência, principalmente em controlar várias doenças causadas por fungos (míldio, ferrugem, requeima, pinta preta, cercosporiose, antracnose, manchas foliares, podridões, entre outras) em diversas culturas, tendo efeito secundário contra bacterioses (IVO, 2008). Ao contrário de uma ampla gama de fungicidas disponíveis para o manejo de doenças fúngicas, existem apenas alguns bactericidas disponíveis para proteger as culturas (LAMICHHANE et al., 2018).

Os compostos antimicrobianos à base de cobre (CABCs) são estritamente usados como protetores, pois eles não têm atividade curativa ou sistêmica. Esses compostos quando estão em contato com água e pH baixo, liberam lentamente íons de cobre que são tóxicos para as células

microbianas, reduzindo consideravelmente o acúmulo de inóculo e prevenindo a infecção (LAMICHHANE et al., 2018).

Em geral, o cobre atua protegendo os tecidos vegetais contra infecções bacterianas e reduzindo a população bacteriana na superfície das folhas, exigindo várias aplicações do produto para obter o controle adequado de doenças bacterianas (LEITE JÚNIOR, 2000). Assim, aplicações regulares de produtos cúpricos caracterizam-se entre as principais práticas de manejo integrado para o controle de doenças bacterianas, a exemplo do programa de manejo integrado para a prevenção e o controle do cancro cítrico causado por *Xanthomonas citri* pv. *citri* (Hasse) Vauterin et al. desde o final da década de 80 no estado do Paraná (LEITE JÚNIOR, 2000), e em casos de ausência de produtos registrados para uso no controle de fitobacterioses (SILVA, 2017).

Aplicações contínuas podem conferir resistência a fim de garantir a eficácia do cobre (BEHLAU et al., 2013). De acordo com Silva, isolados resistentes ao cobre foram identificados em várias bactérias fitopatogênicas (SILVA, 2017). Nos estudos recentes, ao avaliar a sensibilidade de isolados de *B. gladioli* a produtos químicos e biológicos, os autores demonstraram que os isolados apresentaram resistência natural *in vitro* a produtos à base de cobre, antibióticos e biológicos (SERRET- LOPEZ et al., 2021). Tendo em vista a resistência elevada das espécies do CBC a vários metais pesados (HIGGINS et al., 2020), estudos visando a determinação do comportamento das espécies associadas a podridão das escamas da cebola em relação ao cobre são destacados fundamentais. Portanto, este estudo teve como objetivos selecionar genótipos de cebola resistentes à podridão bacteriana das escamas causada por isolados de *B. semiarida* e *B. sola* e avaliar a reação desses isolados ao cobre.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAIA, A. D. B. **Diversidade de espécies de *Burkholderia* causadoras de podridão em bulbos de cebolas no semiárido brasileiro.** 2019. 106f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2019. 106.
- BAIA, A. D. B.; SILVA, A. M. F.; RIBEIRO, B.G.; SOUZA, C.C.; SILVA JÚNIOR, W.; BALBINO, V.Q.; LEAL, C.M.; DE FARIAS, A.R. G.; SOUZA, E.B.; GAMA, M.A.S. Predominance of *Burkholderia cenocepacia* lineages causing onion sour skin in the semi-arid region of north-east Brazil. **Plant Pathology**, Oxford, v. 70, n. 3, p. 521–533, 1 abr. 2021.
- BALANDREAU, J.; VIALARD, V.; COURNOYER, B.; COENYE, T.; LAEVENS, S.; VANDAMME, P. *Burkholderia cepacia* genomovar III is a common plant-associated bacterium. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, p. 982-985. 2001.

BEER, S. V.; ASSELIN, J. E.; BONASERA, J. M.; ZAID, A. M.; HOEPTING, C. A. Research yields greater understanding of bacterial diseases of onion in New York. **Onion World**, New York, v. 1, p. 18–23. 2012.

BEHLAU, F.; HONG, J. C.; JONES, J. B.; GRAHAM, J. H. Evidence for acquisition of copper resistance genes from different sources in citrus-associated *Xanthomonas*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 103, n. 5, p. 409–418, 2013.

BEVIVINO, A.; TABACCHIONI, S.; CHIARINI, L.; CARUSI, M. V.; DELGALLO, M.; VISCA, P. Phenotypic comparison between rhizosphere and clinical isolates of *Burkholderia cepacia*. *Microbiology*, Reading, v. 140, p. 1069–1077. 1994.

BONDARCZUK, K.; PIOTROWSKA-SEGET, Z. Molecular basis of active copper resistance mechanisms in Gram-negative bacteria. **Cell Biology and Toxicology**, Princeton, v. 29, n. 6, p. 397–405, 2013.

BURKHOLDER, W. H. Sour skin, a bacterial rot of Onion bulbs. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 40, n. 1, p. 115–117, 1950.

BUTLER, S. L.; DOHERTY, C. J.; HUGHES, J. E.; NELSON, J. W.; GOVAN, J. R. W. *Burkholderia cepacia* and cystic fibrosis – do natural environments present a potential hazard. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 33, p. 1001–1004. 1995.

CAMARGO, L. E. A. Controle genético. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (eds.). *Manual de Fitopatologia. Princípios e conceitos*. 4. ed. São Paulo: **Agronômica Ceres**, v. 1, p. 325–340, 2011.

COENYE, T.; VANDAMME, P.; GOVAN, J. R.; LIPUMA, J. J. Taxonomy and Identification of the *Burkholderia cepacia* Complex. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 39, n. 10, p. 3427–3436, 2001.

COSTA, N. D.; RESENDE, G. M. de. Cultivares. In: _____ (Ed.). *Cultivo de cebola no Nordeste*. **Embrapa Semi-Arido**, 2007. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/162405/1/Cultivodacebola.pdf>>. Acesso em: 26 jun. 2023.

DAVIS, R. M.; AEGERTER, B. J.; LAEMMLEN, F. F.; VOSS, R. E. Onion and garlic, bacterial soft rot, pathogens: *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora*, *E. chrysanthemi*, *Pseudomonas gladioli*, and *Enterobacter cloacae*. UC Pest Management Guidelines. California: University of California, 2014. Disponível em: <<http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/r584100811.html>>. Acesso em: 29 jun. 2023.

EL BALLA, M. M. A.; HAMID, ABDELBAĞI. A.; ABDELMAGEED, A. H. A. Effects of time of water stress on flowering, seed yield and seed quality of common onion (*Allium cepa* L.) under the arid tropical conditions of Sudan. **Agricultural Water Management**. Amsterdam. v.121, p.149–157, 2013.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION). FAOSTAT [online]. Rome: Food and Agriculture Organization, 2021. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>. Acesso em: 13 jul. 2023.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, P. V. Resistência às doenças e aos insetos-praga. Melhoramento de plantas. 1. ed. Maceió: **Editora UFAL**, p. 477-480, 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Statistics division**. 2014. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>>. Acesso em: 08 ago. 2023.

GAVA, C. A. T.; TAVARES, S. C. C. H. Cultivo da cebola no Nordeste: doenças. 2016. Disponível em:

<https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducao6_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=3113&p_r_p_-996514994_topicoId=1843>. Acesso em: 29 jun. 2023.

GILLIS, M.; VAN, T. V.; BARDIN, R.; GOOR, M.; HEBBAR, P.; WILLEMS, A.; SEGERS, P.; KERSTERS, K.; HEULIN, T.; FERNANDEZ, M. P. Polyphasic taxonomy in the genus *Burkholderia* leading to an emended description of the genus and proposition of *Burkholderia vietnamiensis* sp. nov. for N2-fixing isolates from rice in Vietnam. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Salamanca, v. 45, n. 2, p. 274-289, 1995.

GOLDMAN, I. L.; HAVEY, M. J.; SCHROECK, G. History of public onion breeding programs and pedigree of public onion germplasm releases in the United States. **Plant Breeding Reviews**, Berlin, v. 20, p. 67-103, 2000.

HIGGINS, S.; GUALDI, S.; PINTO-CARBÓ, M.; EBERL, L. Copper resistance genes of *Burkholderia cenocepacia* H111 identified by transposon sequencing. **Environmental Microbiology Reports**, Hoboken, v. 12, n. 2, p. 241-249, 2020.

IBGE-INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Estatística da Produção Agrícola, 2023. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producaoagropecuaria/cebola/br>>. Acesso em: 29 jun. 2023.

IVO, S. M. de. Calda Bordalesa: utilidades e preparo. **Embrapa Agropecuária Oeste**, 2008. Disponível em:

<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/38833/1/FOL200837.pdf>>. Acesso em: 26 jun. 2023.

JACOBS, J. L.; FASI, A. C.; RAMETTE, A.; SMITH, J. J.; HAMMERSCHMIDT, R.; SUNDIN, G. W. Identification and Onion Pathogenicity of *Burkholderia cepacia* Complex isolates from the Onion Rhizosphere and Onion Field Soil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 74, n.10, p. 3121-3129, 2008.

KIMATI, H.; BERGAMIN FILHO, A. Princípios gerais de controle. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agrônômica Ceres, v.1, p. 692-709, 1995.

KIMATI, H.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Princípios gerais de controle. In: Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho, A (Eds.) **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 4. ed. Piracicaba: Ceres, p. 307, 2011.

KUNZ, V. L., SIRTOLI, L. F., FURLAN, L., POLETTI, L., PRIMO, M. A., e RODRIGUES, J. D. Produtividade de cebola sob diferentes fontes e modos de aplicação de adubos nitrogenados em cobertura. **Revista Biodiversidade** v. 8, p. 31-37, 2009.

LAMICHHANE, J. R.; OSDAGHI, E.; BEHLAU, F.; KÖHL, J.; JONES, J. B.; AUBERTOT, J. N. Thirteen decades of antimicrobial copper compounds applied in agriculture. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 38, p. 1-18, 2018.

LEE, Y. A.; CHAN, C. W. Molecular typing and presence of genetic markers among strains of banana fingertip rot pathogens, *Burkholderia cenocepacia*, in Taiwan. **Phytopathology**, Saint Paul, v.97, n. 2, p. 195-201, 2007.

LEITE JÚNIOR, R. P. **Surviving with Citrus Canker in Brazil**. Proceedings, 9th Congress of the International Society for Citriculture. Orlando FL., p. 890-896, 2000.

LOFTIN, I. R.; FRANKE, S.; ROBERTS, S. A.; WEICHSEL, A.; HÉROUX, A.; MONTFORT, W. R.; RENSING, C.; MCEVOY, M. M. A novel copper-binding fold for the periplasmic copper resistance protein CusF. *Biochemistry*, Washington, v. 9, n. 44 (31), p. 40-10533, 2005.

LOPES, C. V. G. Efeito do sulfato de cobre e de zinco no controle da população de fungos e bactérias do solo que causam intemperismo em arenitos de prédios históricos na Lapa (PR). 2002 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

MAHENTHIRALINGAM, E.; BALDWIN, A.; DOWSON, C. G. *Burkholderia cepacia* complex bacteria: opportunistic pathogens with important natural biology. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 104, n. 6, p. 1539-1551, 2008.

MAHENTHIRALINGAM, E.; BISCHOF, J.; BYRNE, S. K.; RADOMSKI, C.; DAVIES, J. E.; AV-GAY, Y.; VANDAMME, P. DNA-based diagnostic approaches for identification of *Burkholderia cepacia* complex, *Burkholderia vietnamiensis*, *Burkholderia multivorans*, *Burkholderia stabilis*, and *Burkholderia cepacia* genomovars I and III. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 38, p. 3165–3173. 2000.

MAHENTHIRALINGAM, E.; URBAN, T. A.; GOLDBERG, J. B. The multifarious, multireplicon *Burkholderia cepacia* complex. **Nature Reviews Microbiology**, Londres, v. 3, n. 3, p. 144-156, 2005.

MALAVOLTA JR.; V. A.; BERIAM, L. O. S.; ALMEIDA, I. M. G.; RODRIGUES NETO, J.; ROBBS, C. F. Bactérias fitopatogênicas assinaladas no Brasil: uma atualização. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, p. 9-88. 2008.

MARQUES, A. S. A.; ROBBS, C. F.; BOITEUX, L. S.; PARENTE, P. M. **Índice de fitobacterioses assinaladas no Brasil**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 65p.

MARTINA, P.; LEGUIZAMON, M.; PRIETO, C. I.; SOUSA, S. A.; MONTANARO, P.; DRAGHI, W. O.; STÄMMLER, M.; BETTIOL, M.; DE CARVALHO, C. C. C. R.; PALAU, J.; FIGOLI, C.; ALVAREZ, F.; BENETTI, S.; LEJONA, S.; VESCINA, C.; FERRERAS, J.; LASCH, P.; LAGARES, A.; ZORREGUIETA, A.; LEITÃO, J. H.; YANTORNO, O. M.; BOSCH, A. *Burkholderia puraquae* sp. nov., a novel species of the *Burkholderia cepacia* complex isolated from hospital settings and agricultural soils. **Int J Syst Evol Microbiol**, v. 68, n. 1, p. 14-20, 2018.

MATTIELO, R. R.; BARBEIRI, R. L.; CARVALHO, F. I. F. Resistência das plantas às moléstias fúngicas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 27, n. 1, p. 161-168, 1997.

MOHAN, S. K. Leaf streak and bulb rot. In: Schwartz, In: H. F.; MOHAN, S. K. (Ed.). **Compendium of Onion and Garlic Diseases**. St. Paul: APS, 1995, p. 31.

MORALES-RUÍZ, L.M., RODRÍGUEZ-CISNEROS, M., KERBER-DÍAZ, J.C., ROJAS-ROJAS, F.U., IBARRA, J.A., ESTRADA-DE LOS SANTOS, P., 2022. *Burkholderia orbicola* sp. nov., a novel species within the *Burkholderia cepacia* complex. *Arch. Microbiol.* 204 (3), 1-9. <https://doi.org/10.1007/S00203-022-02778-0>.

MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; ABRAHÃO, R. S. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, Piauí, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.

OLIVEIRA, W. J. de. **Etiologia da podridão de escama da cebola no semiárido brasileiro**. 2016. 60f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2016.

OLIVEIRA, W. J.; SILVA, W. A.; SILVA, A. M. F.; CANDEIA, J. A.; SOUZA, E. B.; MARIANO, R. L. R.; GAMA, M. A. S. First report of *Burkholderia cenocepacia* causing sour skin of onion (*Allium cepa*) in Brazil. **Plant disease**, Saint Paul, v. 101, n. 11, p. 1950, 2017.

OLIVEIRA, W. J.; SOUZA, E. B.; SILVA, A. M. F.; LIMA, N. B.; LEAL, C. M. CANDEIA, J. A.; GAMA, M. A. S. Elucidating the etiology of onion bacterial scale rot in the semi-arid region of Northeastern Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 44, n. 6, p. 494-502, 2019.

PALLERONI, N. J.; HOLMES, B. *Pseudomonas cepacia* sp. nov, nom. rev. **International Journal of Systematic Microbiology**, Berks, v. 31, p. 479-481, 1981.

PARKE, J. L.; GURIAN-SHERMAN, D. Diversity of the *Burkholderia cepacia* complex and implications for risk assessment of biological control strains. **Annual Review of Phytopathology**, v. 39, p. 225-258, 2001.

PASCHOLATTI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos. 3 ed. São Paulo: **Agronômica Ceres**, p.417-453, 1995.

PEETERS, C.; ZLOSNIK, J. E. A.; SPILKER, T.; TREVOR, J.; HIRD, T. J.; LIPUMA, J. J.; VANDAMME, P. *Burkholderia pseudomultivorans* sp. nov., a novel *Burkholderia cepacia* complex species from human respiratory samples and the rhizosphere. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 36, n. 7, p. 483-489, 2013.

REIS, A.; HENZ, G. P.; LOPES, C. A. Cultivo da cebola: doenças, 2015. Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/paginas/sistemas_producao/cultivo_da_cebola/doencas.tm> Acesso em: 29 jun. 2023.

RESENDE, G. M. de; COSTA, N. D. Socioeconômica. In: COSTA, N. D.; RESENDE, G. M. de (Ed.). Cultivo da cebola no Nordeste. **Embrapa Semiárido**, 2007. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/162405/1/Cultivodacebola.pdf>>. Acesso em: 26 jun. 2023.

RESENDE, G. M.; COSTA, N. D. Cultivo de cebola do Nordeste: socioeconômica. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2016. Disponível em: <https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducaolf6_1g1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=3113&p_r_p_-996514994_topicoId=1836>. Acesso em: 29 jun. 2023.

RESENDE, G. M.; KIILL, L. H. P; SOUZA, R. J. Cultivo da cebola no Nordeste: Botânica Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2016. Disponível em: <https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducaolf6_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=col_mn-1&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=3113&p_r_p_-996514994_topicoId=1837> Acesso em: 29 jun. 2023.

RESENDE, M. A. Biodeterioração de monumentos históricos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, SANTO, C. E.; MORAIS, P. V.; GRASS, G. Isolation and characterization of bacteria resistant to metallic copper surfaces. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 76, n. 5, p. 1341-1348, 2010.

ROBERTS, S. Bacterial storage rots in onion caused by *Burkholderia gladioli* pv. *alliicola*. Warwick: Plant Health Solution, 2013. Disponível em: <http://www.planthealth.co.uk/downloads/Bga_Onions_Poster_2013_A4.pdf>. Acesso em: 29 jun. 2023.

ROMEIRO, R. S. Doenças causadas por bactérias em alho e cebola. In: ZAMBOLIM, L.; VALE F. X. R.; COSTA, H. (eds.) Controle de doenças de plantas hortaliças. Viçosa: **Editora UFV**, p.43-81, 2000.

SANTOS, P. E.; PALMER, M.; CHÁVEZ-RAMÍREZ, B.; BEUKES, C.; STEENKAMP, E.T.; BRISCOE, L.; KHAN, N.; MALUK, M.; LAFOS, M.; HUMM, E.; ARRABIT, M.; CROOK, M.; GROSS, E.; SIMON, M.F.; JUNIOR, F. B. D. R.; WHITMAN, W. B.; SHAPIRO, N.; POOLE, P. S.; HIRSCH, A. M.; VENTER, S. N.; JAMES, E. K. Whole Genome Analyses Suggests that *Burkholderia* sensu lato Contains Two Additional Novel Genera (*Mycetohabitans* gen. nov., and *Trinickia* gen. nov.): Implications for the Evolution of Diazotrophy and Nodulation in the *Burkholderiaceae*. *Genes* 9, 389, p. 1-23, 2018.

SERRET-LOPEZ, M.; ARANDA-OCAMPO, S.; ESPINOSA-VICTORIA, D.; ORTIZ-MARTINEZ, L. E.; RAMÍREZ-RAZO, K. Polyphasic characterization of *Burkholderia gladioli* isolated from onion and evaluation of its potential pathogenicity for other crops. **Mexican Journal of Phytopathology**, Texcoco, v. 39, n. 1, p. 21-40, 2021.

SILVA, A. M. F.; BAIA, A. D. B.; VELEZ, L. S.; OLIVEIRA, W. J.; GAMA, M. A. S. Diversidade taxonômica e patológica de espécies de *Burkholderia* causadoras de podridão das escamas da cebola. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, São Paulo, v. 26, p. 81- 95, 2018.

SILVA, E. I. da. **Sensibilidade a cúpricos e estrutura genética de populações de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola***. 2017. 82f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

SILVA, K.W.L. **Seleção de genótipos de cebola resistentes à podridão bacteriana das escamas e reação de isolados de *Burkholderia cenocepacia* e *B. orbicola* ao cobre**. 2023. 53f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) -- Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2023.

SILVA, W. A. da. **Caracterização epidemiológica da podridão em escama da cebola**, 2016. 50f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2016.

SIMPSON, I. N.; FINLAY, J.; WINSTANLEY, D. J.; DEWHURST, N.; NELSON, J. W.; BUTLER, S. L.; GOVAN, J. R. W. Multi-resistance isolates possessing characteristics of both *Burkholderia* (*Pseudomonas*) *cepacia* and *Burkholderia gladioli* from patients with cystic fibrosis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *Chemother.* v. 34, p. 353–361. 1994.

SKERMAN, V. B. D.; MCGOWAN, V.; SNEATH, P. H. A. Approved lists of bacterial names. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Berks, v. 30, p. 225–420. 1980.

SOTOKAWA, N.; TAKIKAWA, Y. Occurrence of bacterial rot of onion bulbs caused by *Burkholderia cepacia* in Japan. **Journal of General Plant Pathology**, Tokyo, v. 70, n. 6, p. 348–352, dez. 2004.

SOUZA J. O.; GRANGEIRO, L. C.; SANTOS, G. M.; COSTA, N. D.; SANTOS; C. A. F.; NUNES, G. H. S. Avaliação de genótipos de cebola no semiárido nordestino. **Horticultura Brasileira, Brasília**, v. 26, n. 1, p. 97-101, 2008.

SOUZA, M. B. de. **Eficácia de fungicida cúprico no controle das cercosporioses na cultura do amendoim**, 2018. 55f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias e Veterinárias) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2018.

TABACCHIONI, S.; VISCA, P.; CHIARINI, L.; BEVIVINO, A.; DISERIO, C.; FANCELLI, S.; FANI, R. Molecular characterization of rhizosphere and clinical isolates of *Burkholderia cepacia*. *Research in Microbiology*, Paris, v. 146, p. 531–542. 1995.

TSUJI, M.; KADOTA, I. Identification and phylogenetic analysis of *Burkholderia cepacia* complex bacteria isolated from rot of onion bulbs in Tohoku region of Japan. **Journal of General Plant Pathology**, Tsushima, v. 86, n. 5, p. 376–386, 25 jun. 2020.

TYLER, S. D.; STRATHDEE, C. A.; ROZEE, K. R.; JOHNSON, W. M. Oligonucleotide primers designed to differentiate pathogenic pseudomonads on the basis of the sequence of genes coding for 16S–23S rRNA internal transcribed spacers. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, Maryland, 2: 448–453. 1995.

VANDAMME, P.; HOLMES, B.; COENYE, T.; GORIS, J.; MAHENTHIRALINGAM, E.; LIPUMA, J. J.; GOVAN, J. R. *Burkholderia cenocepacia* sp. nov.--a new twist to an old story. **Research in Microbiology**, Paris, v. 154, n.2, p. 91–96, 2003.

VANDAMME, P.; HOLMES, B.; VANCANNEYT, M.; COENYE, T.; HOSTE, B.; COOPMAN, R.; REVETS, H.; LAUWERS, S.; GILLIS, M.; KERSTERS, K.; GOVAN, J. R. Occurrence of Multiple Genomovars of *Burkholderia cepacia* in Cystic Fibrosis Patients and Proposal of *Burkholderia multivorans* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 47, n. 4, p. 1188–1200, 1997.

VANLAERE, E.; BALDWIN, A.; GEVERS, D.; HENRY, D.; DE BRANDT, E.; LIPUMA, J. J.; MAHENTHIRALINGAM, E.; SPEERT, D. P.; DOWSON, C.; VANDAMME, P. Taxon K. A complex within the *Burkholderia cepacia* complex, comprises at least two novel species, *Burkholderia contaminans* sp. nov. and *Burkholderia lata* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 59, n.1, p. 102-111, 2009.

VELEZ, L. S. **Filogenômica e genômica comparativa de isolados de *Burkholderia* causadores de podridão das escamas da cebola**. 2021. 99f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2021.

VELEZ, L. S. **Seleção de genótipos de cebola resistentes à *Burkholderia gladioli* pv. *alliicola***. 2017. 41f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2017.

VELEZ, L. S.; ABURJAILE, F. F.; FARIAS, A. R.G.; BAIA, A. D. B.; OLIVEIRA W. J.; SILVA, A. M. F.; BENKO-ISEPPON, A. M.; AZEVEDO, V.; BRENIG B.; HAM J. H.; Souza, E. B.; GAMA, M. A. S. *Burkholderia semiarida* sp. nov. and *Burkholderia sola* sp. nov., two novel *B. cepacia* complex species causing onion sour skin. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 46, n. 3, p. 126415-126423, 2023.

VELEZ, L. S.; SILVA, A. M. F.; SANTOS, C. A. F.; ASSUNÇÃO, E. F.; SILVA, M. S.; SOUZA, E. B.; GAMA, M. A. S. da. Evaluation of onion genotypes to slippery skin caused by *Burkholderia gladioli* pv. *alliicola*. **Horticultura Brasileira**, Vitória da conquista, v. 38, n. 4, p. 350-355, 2020.

WALLNER, A.; KING, E.; NGONKEU, E. L. M.; MOULIN, L.; BÉNA, G. Genomic analyses of *Burkholderia cenocepacia* reveal multiple species with differential host- adaptation to plants and humans. **BMC Genomics**, London, v. 20, n. 1, p. 803, 2019.

WORDELL FILHO, J. A.; BOFF, P. Doenças de origem parasitária. In: WORDELL FILHO, J. A.; ROWE, E.; GONÇALVES, P. A. de S.; DEBARBA, J. F.; BOFF, P.; THOMAZELLI. Manejo fitossanitário da cebola. Florianópolis: **EPAGRI**, 2006. p. 19-162.

YABUUCHI, E.; KOSAKO, Y.; OYAIZU, H.; YANO, I.; HOTTA, H.; HASHIMOTO, Y.; EZAKI, T.; ARAKAWA, M. Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology group-II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Holmes 1981) comb. nov. **Microbiology and Immunology**, Amsterdam, v. 36, p. 1251-1275.1992.

YOHALEM, D. S.; LORBEER, J. W. Multilocus isoenzyme diversity among strains of *Pseudomonas cepacia* isolated from decayed onions, soils, and clinical sources. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 17, p. 116–124. 1994.

CAPÍTULO II

**Seleção de genótipos de cebola resistentes à podridão das escamas e
reação de isolados de *Burkholderia semiarida* e *B. sola* ao cobre**

Seleção de genótipos de cebola resistentes à podridão das escamas e reação de isolados de *Burkholderia semiarida* e *B. sola* ao cobre

Fabiola Vital¹; David F Duarte¹; Lucas P de Lucena¹; Adriano Márcio F Silva²; Júlio Carlos P Mesquita³; Elineide B de Souza¹; Marco Aurélio S da Gama¹

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife, Brasil, vitalfabie2@gmail.com, david.duarte.ferreira18@gmail.com, lucaspl94@yahoo.com.br, elineidebs@yahoo.com.br, marco.gama@ufrpe.br; ²Instituto Agronômico de Pernambuco, Belém de São Francisco, Pernambuco, Brasil, adrianomfsilva@yahoo.com.br; ³Instituto Agronômico de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil, julio.mesquita@ipa.br

RESUMO

A cebola (*Allium cepa* L.) está sujeita a uma série de doenças que podem causar grandes perdas. Dentre as principais doenças que afetam esta cultura, destaca-se a podridão bacteriana das escamas, causada por espécies do complexo *Burkholderia cepacia*. A doença se destaca nas regiões produtoras do semiárido do nordeste brasileiro por apresentar-se amplamente disseminada, ocorrer no campo e na fase de pós-colheita e causar perdas de até 50% da produção. Na região semiárida do Nordeste brasileiro, somente *B. cenocepacia*, *B. orbicola*, *B. semiarida*, e *B. sola* foram detectadas dentre as espécies do CBC associadas a doença, sendo as duas últimas espécies recentemente descritas. Assim, esse estudo teve como objetivos selecionar genótipos de cebola resistentes a *B. semiarida* e *B. sola*, e avaliar a reação dos isolados dessas espécies ao cobre. No início, 4 isolados de *B. semiarida* e 1 isolado de *B. sola* foram inoculados em bulbos de cebolas comerciais para avaliação de agressividade dos isolados. A reação de 44 genótipos de cebola à podridão de escamas foi avaliada utilizando o isolado mais agressivo de cada espécie. Foram selecionados 28 genótipos resistentes a *B. semiarida* e 30 genótipos a *B. sola*. Em seguida, os três isolados mais agressivos de *B. semiarida* e o isolado mais agressivo de *B. sola* foram inoculados em bulbos de cebola dos genótipos resistentes selecionados no trabalho anterior. 16 genótipos apresentaram resistência a *B. semiarida* e 30 genótipos a *B. sola*, enquanto os genótipos Alfa São Francisco, Baia do Cedo, Baia Periforme Agroceres, Baia Periforme Super Precoce, Beta Cristal, BRS Rio Verde, Carrancas, Crioula Mercosul, IPA 10, IPA 2, Juporanga, Primavera, Primeiro, Rainha e São Paulo mantiveram-se estáveis para as duas espécies justificando o potencial desses genótipos como fontes promissoras de resistência à podridão em escamas a fim de uso em programas de melhoramento visando à obtenção de variedades de cebola resistentes a doença. A concentração mínima inibitória foi determinada pela avaliação da sensibilidade ao cobre usando os três isolados mais agressivos de *B. semiarida* e o isolado de *B. sola* a soluções de sulfato de cobre nas concentrações finais de 0, 100, 200, 300, 400, 500 e 600 mg.L⁻¹ de Cu²⁺. Não houve crescimento bacteriano nas concentrações de 300, 400, 500 e 600 mg.L⁻¹ de Cu²⁺. Duas repetições de cada tratamento foram selecionadas ao acaso, e em seguida, catafilos de cebola comerciais foram feridos e inoculados com 10 µL das suspensões obtidas dos tratamentos. Simultaneamente, 100 µL do tratamento também foram plaqueados em placas de Petri com meio de cultura NYDA. Os catafilos inoculados não apresentaram sintomas e não foi

observado o crescimento bacteriano em placa a partir da concentração de 300 e 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺, confirmando a ação bactericida do cobre. Em seguida, foram inoculadas em placas de Petri com meio mínimo complementado das soluções de sulfato de cobre nas concentrações de 200, 300 e 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ suspensões de 19 isolados de *B. semiarida* e 1 isolado de *B. sola*. Não foi observado crescimento bacteriano em placas nas concentrações de 300 e 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺. Por fim, bulbos de cebola foram pulverizados com cobre utilizando as concentrações 300 e 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ e inoculados com 10 µL das suspensões de quatro isolados mais agressivos. A diferença de severidade da podridão em escamas entre os bulbos tratados e não tratados com cobre não foi significativa (P>0,05) para as duas espécies. Conclui-se que 15 genótipos apresentaram resistência a isolados das duas espécies estudadas e o cobre demonstrou atividade bactericida sobre as duas espécies bacterianas a partir da concentração de 300 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ para os isolados de *B. semiarida* e 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ para o isolado de *B. sola* e também não demonstrou reação sobre os isolados de *B. semiarida* e *B. sola*.

Palavras-chave: *Allium cepa*; Complexo *Burkholderia cepacia*; Controle químico; Camisa d'água.

ABSTRACT

Onion (*Allium cepa* L.) is subject to a series of diseases that can cause great losses. Among the main diseases that affect this crop, sour skin, caused by species of the *Burkholderia cepacia* complex (Bcc) stands out in the semi-arid producing regions of northeastern Brazil because it is widely disseminated, occurs in the field and in the post-harvest phase, and causes losses of up to 50% of production. In the semi-arid region of northeastern Brazil, only *B. cenocepacia*, *B. orbicola*, *B. semiarida*, and *B. sola* were detected among the disease-associated BCC species, the last two species being recently described. Thus, this study aimed to select onion genotypes resistant to *B. semiarida* and *B. sola*, and to evaluate the reaction of strains of these species to copper. Initially, 4 strains of *B. semiarida* and 1 strain of *B. sola* were inoculated into commercial onion bulbs to evaluate the aggressiveness of the strains. The reaction of 44 onion genotypes to sour skin was evaluated using the most aggressive strain of each specie. 28 genotypes resistant to *B. semiarida* and 30 genotypes to *B. sola* were selected. Then, the three most aggressive strains of *B. semiarida* and the most aggressive strain of *B. sola* were inoculated into onion bulbs of the resistant genotypes selected in the previous work. 16 genotypes showed resistance to *B. semiarida* and 30 genotypes to *B. sola*, while the genotypes Alfa São Francisco, Baia do Cedo, Baia Periforme Agrocere, Baia Periforme Super Precocce, Beta Cristal, BRS Rio Verde, Carrancas, Crioula Mercosul, IPA 10, IPA 2, Juporanga, Primavera, Primeiro, Rainha and São Paulo remained stable for both species, justifying the potential of these genotypes as promising sources of resistance to onion sour skin in order to be used in breeding programs aimed at obtaining varieties of disease resistant onion. The minimum inhibitory concentration was determined by assessing copper sensitivity using the three most aggressive strains of *B. semiarida* and the strain of *B. sola* to copper sulfate solutions at final concentrations of 0, 100, 200, 300, 400, 500 and 600 mg.L⁻¹ of Cu²⁺. There was no bacterial growth at concentrations of 300, 400, 500 and 600 mg.L⁻¹ of Cu²⁺. Two replicates of each treatment were randomly selected, and then commercial onion cataphylls were injured and

inoculated with 10 µL of the suspensions obtained from the treatments. Simultaneously, 100 µL of the treatment was also plated in Petri dishes with NYDA culture medium. Inoculated cataphylls did not show symptoms and bacterial growth on plaques was not observed from concentrations of 300 and 400 mg.L⁻¹ of Cu²⁺, confirming the bactericidal action of copper. Then, suspensions of 19 strains of *B. semiarida* and 1 strain of *B. sola* were inoculated in Petri dishes with minimal medium supplemented with copper sulfate solutions at concentrations of 200, 300 and 400 mg.L⁻¹ of Cu²⁺. No bacterial growth was observed in plates at concentrations of 300 and 400 mg.L⁻¹ of Cu²⁺. Finally, onion bulbs were sprayed with copper using concentrations of 300 and 400 mg.L⁻¹ of Cu²⁺ and inoculated with 10 µL of suspensions of 4 most aggressive strains. The difference in sour skin severity between bulbs treated and not treated with copper was not significant (P>0.05) for the two species. It was concluded that 15 genotypes showed resistance to strains of the two studied species and copper showed bactericidal activity on both bacterial species from the concentration of 300 mg.L⁻¹ of Cu²⁺ for strains of *B. semiarida* and 400 mg.L⁻¹ of Cu²⁺ for the *B. sola* strain and also showed no reaction on the *B. semiarida* and *B. sola* strains.

Keywords: *Allium cepa*; *Burkholderia cepacia* complex; Chemical control; Water shirt.

A cebola (*Allium cepa* L.) está presente em quase todos os continentes (Kunz et al., 2009) e é a terceira hortaliça de maior valor comercial do mundo, apenas atrás do tomate (*Solanum lycopersicum* L.), e da batata (*S. tuberosum* L.) (El Balla et al., 2013). No Brasil, a cebolicultura se destaca pela grande importância socioeconômica e como a cultura mais produzida dentro do gênero *Allium* (Kunz et al., 2009). Baseado nos dados disponíveis no último registro sobre a produção nacional de cebola, em 2021 foram produzidas aproximadamente 1.640.628 toneladas de bulbos. Na região Nordeste, os Estados de Bahia e Pernambuco se destacaram como os maiores produtores, com respectivamente 260.399 e 61.739 toneladas de bulbos produzidos, o que representa 97,7% da produção regional (IBGE, 2023).

Dentre as doenças que podem ocorrer na cebola, destaca-se a podridão bacteriana das escamas por apresentar ocorrência generalizada, ocorrer no campo e na fase de pós-colheita e causar perdas de até 50% da produção (WORDELL FILHO; BOFF, 2006). A doença está associada a espécies do complexo *Burkholderia cepacia* (CBC), que atualmente é formado por um grupo versátil de 26 espécies filogeneticamente relacionadas (Martina et al., 2018; Morales-Ruiz et al., 2022; Velez et al., 2023), que podem ser satisfatoriamente identificadas usando análise de sequência multilocus com genes *housekeepings* (Baia et al., 2021; Peeters et al., 2013; Tsuji; Kadota, 2020) e estudos genômicos (Santos et al., 2018; Vanlaere et al., 2009;

Velez et al., 2023; Wallner et al., 2019). No Nordeste brasileiro, a diversidade de espécies do CBC associadas a podridão bacteriana das escamas foi recentemente estudada usando essas ferramentas, sendo observada a ocorrência de duas novas espécies do CBC causadoras de podridão bacteriana das escamas, as quais foram formalmente descritas como *B. semiarida* e *B. sola* (Velez et al., 2023).

O uso de cultivares resistentes é um método de controle eficaz, econômico e compatível com outras práticas de manejo de doenças de plantas (Camargo, 2011). Nesse contexto, estudos recentes analisaram o comportamento de genótipos de cebolas a *B. gladioli* pv. *alliicola*, agente causal da podridão escorregadia das escamas, sendo observado que sete genótipos apresentaram tolerância estável ao patógeno (Velez et al., 2020). Em outro estudo, a tolerância estável a *B. cenocepacia* e *B. orbicola* também foi observada em sete genótipos de cebolas (Silva, 2023). Esses resultados indicam que existe uma alta probabilidade de serem encontrados genótipos de cebola com bons níveis de tolerância a *B. semiarida* e *B. sola*, o que abriria boas perspectivas para exploração de genótipos tolerantes a podridão das escamas em programas de melhoramento.

Associado ao uso de variedades resistentes, os fungicidas cúpricos têm sido utilizados para proteger o tecido vegetal contra as infecções bacterianas (Bondarczuk & Piotrowska-Seget, 2013; Leite Júnior, 2000). Portanto, considerando que a infecção na cebola ocorre quando as bactérias do CBC colonizam os ferimentos em folhas jovens (Kawamoto e Lorbeer, 1974), os fungicidas cúpricos poderiam ser estrategicamente utilizados para proteger esses ferimentos e reduzir a concentração de células nas folhas. Sendo assim, este estudo teve como objetivos selecionar genótipos de cebola tolerantes à podridão bacteriana das escamas causada por isolados de *B. semiarida* e *B. sola* e avaliar a reação de isolados dessas espécies ao cobre.

MATERIAL E MÉTODOS

Origem dos isolados, condições de cultivo e preparo de suspensão

Isolados de *B. semiarida* e *B. sola* associados à podridão bacteriana das escamas de cebola na região semiárida do Nordeste do Brasil, previamente caracterizados por meio de análises moleculares (Baia et al., 2021) e genômicas (Velez et al., 2023), foram obtidos da

Coleção de Culturas Rosa Mariano (CCRM) do Laboratório de Fitobacteriologia (LAFIBAC) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), e reativados em meio TBT (5 g/L de glicose, 1 g/L de L-asparagina, 1 g/L de NaHCO_3 , 0,5 g/L de KH_2PO_4 , 0,1 g/L de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,05 g/L de azul de tripano, 0,01 g/L de tetraciclina e 20 g/L de ágar) (Hagedorn et al., 1987), com incubação à temperatura de 29°C por 48 h, em incubadora tipo Biochemical Oxygen Demand (B.O.D.). Para montagem dos experimentos, os isolados foram cultivados em meio NYDA (10 g/L de dextrose, 5 g/L de extrato de levedura, 3 g/L de extrato de carne, 5 g/L de peptona e 22 g/L de ágar) por 36 a 48 h a uma temperatura de 29°C, e as suspensões bacterianas foram preparadas em água destilada esterilizada (ADE), sendo as concentrações ajustadas para $A_{570} = 0,54$, que corresponde a 10^8 UFC mL^{-1} . Os experimentos descritos a seguir foram realizados separadamente para cada espécie e cada experimento foi realizado em duplicata.

Análise da agressividade dos isolados de *B. semiarida* e *B. sola*

Catafilos de cebola destacados, obtidos de bulbos comerciais de cebolas amarelas, foram feridos a uma profundidade de 2,5 mm com auxílio de um alfinete entomológico, e inoculados com suspensões bacterianas dos isolados CCRMBC16, CCRMBC33, CCRMBC74 e CCRMBC171, de *B. semiarida*, e do isolado CCRMBC51, de *B. sola*. As inoculações foram realizadas por meio da deposição de 10 μL da suspensão bacteriana sobre os ferimentos. Catafilos tratados de forma semelhante com ADE formaram o controle negativo. Posteriormente, os catafilos foram colocados sobre placas de Petri, as quais foram dispostas dentro de bandejas plásticas contendo quatro folhas de papel toalha embebidas em 20 ml de ADE. As bandejas foram recobertas com sacolas plásticas transparentes para criar uma câmara úmida, sendo incubadas em 29°C durante 48 h. As avaliações foram realizadas às 48 h após a incubação, medindo-se o diâmetro da lesão em dois sentidos opostos usando-se um paquímetro (Inox 150 MM Digital).

Seleção de genótipos de cebola resistentes a *Burkholderia semiarida* e *B. sola*

Quarenta e quatro genótipos de cebola (Tabela 1) pertencentes aos programas de melhoramento genético da cebola da Embrapa Hortaliças e do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) foram avaliados quanto a resistência a *B. semiarida* e *B. sola*. Bulbos de

cebola "classes 2, 3 e 4" (35 - 90 mm de diâmetro), cultivados na estação experimental do IPA em Belém do São Francisco-PE, foram feridos a uma profundidade de aproximadamente 2,5 mm com auxílio de um alfinete entomológico e inoculados com 10µL de suspensões bacterianas dos isolados CCRMBC171 (*B. semiarida*) e CCRMBC51 (*B. sola*). Após inoculação, os bulbos foram depositados em bandejas plásticas com câmara úmida e incubados em B.O.D. a 30°C por 48h. Bulbos tratados de forma semelhante com ADE formaram o controle negativo. As avaliações foram feitas por meio de determinação do período de incubação da doença (PI), que corresponde ao período em horas entre a inoculação do patógeno e o início dos sintomas, e severidade da doença, obtida pelas medidas do diâmetro da lesão em dois sentidos opostos após as 48 h de incubação.

Avaliação da estabilidade da resistência de genótipos de cebola

Bulbos de cebola "classes 2, 3 e 4" (35 - 90 mm de diâmetro) dos genótipos Alfa São Francisco, Alvorada, Baia do Cedo, Baia Periforme Agrocere, Baia Periforme Super Precoce, Beta Cristal, Bola Precoce, BRS 367, BRS Rio Verde, Carrancas, Conquista, Crioula Mercosul, Imperatriz, IPA 10, IPA 11, IPA 2, IPA 9, Juporanga, Optima PF, Perola, Primavera, Primeiro, Rainha, São Paulo, Serrana, Texas Grano (Tx 05), Texas Grano 24 e Texas Grano 502 foram inoculados com 10µL de suspensões bacterianas dos isolados CCRMBC16, CCRMBC74, CCRMBC171 de *B. semiarida*, enquanto bulbos dos genótipos Alfa São Francisco, Alvorada, Baia do Cedo, Baia Periforme Agrocere, Baia Periforme Super Precoce, Beta Cristal, Bola Precoce, BRS 367, BRS Rio Verde, Carrancas, Conquista, Crioula Mercosul, H9, Imperatriz, IPA 3, IPA 6, IPA 10, IPA 11, IPA 2, IPA 9, Jubileu, Juporanga, Optima PF, Primavera, Primeiro, Rainha, São Paulo, Serrana, Texas Grano 24 e Texas Grano 502 foram inoculados com 10µL de suspensões bacterianas do isolado CCRMBC51 de *B. sola*. Após as inoculações, os bulbos foram incubados conforme já descrito. Bulbos tratados de forma semelhante com ADE formaram o controle negativo. As avaliações foram realizadas após a incubação determinando-se a severidade conforme já descrito.

Determinação da concentração mínima inibitória de cobre a isolados de *B. semiarida* e *B. sola*

Soluções de sulfato de cobre (ICO) P.A – A.C.S. (Synth, Diadema, SP, Brasil) nas concentrações finais de 0, 100, 200, 300, 400, 500 e 600 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ foram utilizadas para

determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de isolados de *B. semiarida* (CCRMBC16, CCRMBC74 e CCRMBC171) e *B. sola* (CCRMBC51). As soluções de cobre foram preparadas em água destilada esterilizada (ADE) e depois filtradas em membrana milipore de 0,22 µm. A CMI foi determinada em placas de microtitulação mediante o cultivo em meio Luria-Bertani suplementado com sulfato de cobre nas concentrações supracitadas. Os tratamentos foram compostos de 100 µL de meio de cultura, 100 µL de solução de sulfato de cobre nas respectivas concentrações, e 10 µL das suspensões bacterianas. O controle positivo foi composto de meio de cultura, ADE e suspensão bacteriana, enquanto o controle negativo foi composto de meio de cultura, sulfato de cobre e ADE. As microplacas foram identificadas e incubadas em B.O.D. à temperatura de 30°C, durante 48 horas. O experimento foi conduzido com sete repetições para cada tratamento e as avaliações foram realizadas através da observação visual da presença ou ausência de crescimento bacteriano.

A ação do cobre sobre os isolados foi determinada selecionando-se duas repetições de cada tratamento ao acaso, e em seguida, inoculando-as em catafilos de bulbos de cebola comerciais conforme já descrito. Catafilos tratados similarmente com ADE constituíram o controle negativo. As bandejas foram incubadas e a severidade foi avaliada conforme já descrito. Além disso, a incidência da doença nos catafilos também foi determinada. Simultaneamente, 100 µL dos tratamentos também foram plaqueados em placas de Petri com meio de cultura NYDA. As placas foram incubadas em B.O.D. à temperatura de 30°C durante 48 horas. Após a incubação, foi observada a presença ou ausência de crescimento bacteriano.

Sensibilidade dos isolados de *B. semiarida* e *B. sola* ao cobre *in vitro*

O teste de sensibilidade ao cobre *in vitro* foi analisado para dezenove isolados de *B. semiarida* (CCRMBC16, CCRMBC17, CCRMBC30, CCRMBC33, CCRMBC34, CCRMBC59, CCRMBC73, CCRMBC74, CCRMBC75, CCRMBC76, CCRMBC78, CCRMBC79, CCRMBC114, CCRMBC115, CCRMBC131, CCRMBC139, CCRMBC142, CCRMBC171, CCRMBC241) às concentrações de 0, 200 e 300 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ e um isolado de *B. sola* (CCRMBC51) às concentrações de 0, 300 e 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺. O experimento foi conduzido em placas de Petri com meio de cultura para sais minerais de baixa complexidade – CYE (1,7 g de casitona; 0,35 g de extrato de levedura; 2 g de glicerol; e 15 g de ágar nutritivo (Andersen et al.1991) complementado de sulfato de cobre. Alíquotas de 20 µL das suspensões bacterianas foram depositadas em quatro pontos equidistantes sobre a superfície do meio de cultura, caracterizando o número de repetições para cada isolado. O controle negativo foi

composto por uma alíquota de 20 µL de ADE depositada ao centro da placa na superfície do meio. As placas foram cuidadosamente incubadas a temperatura de 30°C por 48 horas. As avaliações foram realizadas verificando-se a presença de crescimento bacteriano confluyente, correspondente ao crescimento esperado no meio CYE sem sulfato de cobre.

Sensibilidade dos isolados de *B. semiarida* e *B. sola* ao cobre *in vivo*

Bulbos de cebola comerciais foram feridos conforme já descrito e pulverizados até o escorrimento com 300 e 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺. Após a secagem em temperatura ambiente (25 ±3°C), os bulbos tratados com 300 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ foram inoculados com os isolados CCRMBC16, CCRMBC74 e CCRMBC171, enquanto bulbos tratados com 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ foram inoculados com o isolado CCRMBC51. Bulbos pulverizados com ADE constituíram o controle negativo. Os bulbos foram incubados em B.O.D. à temperatura de 30°C por 48h e as avaliações para determinação da severidade da doença foram realizadas conforme já descrito.

Análises estatísticas

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado para determinação da agressividade dos isolados e seleção de genótipos resistentes, sendo realizados com quatro e cinco repetições por tratamento (isolado), respectivamente, sendo cada repetição constituída por um catafilo ou bulbo de cebola contendo um ponto de inoculação. Por sua vez, os experimentos para avaliação da estabilidade da resistência foram conduzidos em arranjo fatorial (isolados X genótipos) com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por um bulbo de cebola.

Os experimentos para determinação da atividade do cobre foram realizados em delineamento experimental inteiramente casualizado com oito repetições, sendo cada repetição constituída por um catafilo de cebola, enquanto os experimentos de sensibilidade ao cobre *in vivo* foram realizados em delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por um bulbo.

Os dados obtidos foram avaliados como repetições no tempo. Os pressupostos da análise de variância (ANOVA) foram verificados pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene com o auxílio do programa Statistix (v. 9.0. Tallahassee, Flórida, Estados Unidos). As médias do período de incubação e da severidade foram analisadas por meio do teste de Skott-Knott ao nível de 5% de probabilidade usando o software estatístico Sisvar (v. 5.6) (Ferreira 2011). As diferenças entre

as duas espécies e as medias da severidade para espécie *B. sola* foram analisadas por meio do teste t ao nível de 5% de probabilidade usando o programa Statistix (v. 9.0.).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise da agressividade dos isolados de *Burkholderia semiarida* e *B. sola*

Não foram observadas diferenças significativas ($P \leq 0,05$) entre as severidades promovidas pelos isolados de *B. semiarida*. Os valores de severidade variaram de 9,08 mm (CCRMBC33) a 18,40 mm (CCRMBC171).

Comportamento diferente foi observado entre os isolados do complexo *B. cepacia* associados a podridão das escamas de cebola do semiárido do Nordeste brasileiro. Os isolados apresentaram valores de severidade entre 19,18 mm (CCRMBC16) a 24,49 mm (CCRMBC74) (Baia et al. 2021).

Da mesma forma, foram observados diferentes níveis de severidade em estudo de caracterização patológica da podridão das escamas causada pelos isolados do complexo *B. cepacia* isoladas de bulbos de cebola no nordeste do Brasil, que foram inoculados artificialmente em catafilos de cebola amarela de cultivar IPA 11. Os valores de severidade variaram de 56,25 mm (CCRMBC171) a 61 mm (CCRMBC33) (Oliveira et al., 2019).

O isolado CCRMBC51 promoveu o valor de severidade de 33,33 mm. De acordo com Baia et al. 2021, esse isolado apresentou um valor de severidade de 11,21 mm, o qual foi menos agressivo do que os isolados de *B. semiarida*. Apenas um isolado de *B. sola* (CCRMBC51) foi utilizado porque esse isolado foi obtido na região semiárida do Nordeste brasileiro.

Considerando que não foram observadas diferenças entre a agressividade dos isolados de *B. semiarida*, os dados dos quatro isolados foram considerados como repetições de *B. semiarida* para avaliar diferenças entre a agressividade das duas espécies. Dessa forma, foi observado que *B. sola* promoveu uma maior severidade da doença, sendo significativamente mais agressiva (test t; $P \leq 0,05$) a bulbos de cebola do que *B. semiarida*. Adicionalmente, CCRMBC16, CCRMBC74 e CCRMBC171 foram considerados como os isolados mais agressivos de *B. semiarida* e foram selecionados, juntamente com o único isolado de *B. sola*, CCRMBC51, para utilização na realização dos demais experimentos.

Seleção de genótipos de cebola resistentes a *Burkholderia semiarida* e *B. sola*

Diferentes níveis de resistência a podridão bacteriana das escamas foram observados entre os 44 genótipos de cebola inoculados artificialmente com o isolado mais agressivo de *B. semiarida* (CCRMBC171) e o isolado de *B. sola* (CCRMBC51). Para os isolados CCRMBC171 e CCRMBC51, o período de incubação (PI) e a severidade variaram de 1 a 11,4 horas e 1 a 10,8 horas e de 8,37 a 20,32 mm e 7,94 a 22,57 mm, respectivamente.

Pela avaliação da severidade de podridão nos bulbos inoculados com o isolado CCRMBC171, 28 genótipos apresentaram resistentes, com severidade variando de 8,37 a 13,53 mm, e 16 genótipos foram considerados como suscetíveis, com severidade de 14,12 a 20,32 mm, enquanto 30 genótipos foram considerados resistentes, com severidade variando de 7,94 a 14,38 mm, 8 genótipos foram moderadamente resistentes, com severidade de 15,41 a 18,23 mm, e 6 foram suscetíveis com severidade de 19,07 a 22,57 mm para o isolado CCRMBC51. Nenhum dos 44 genótipos analisados apresentou reação imune (ausência de doença) aos isolados das espécies relacionadas (Tabela 2 e Tabela 3). Os genótipos Alfa São Francisco, Alvorada, Baia do Cedo, Baia Periforme Agrocere, Baia Periforme Super Precoce, Beta Cristal, Bola Precoce, BRS 367, BRS Rio Verde, Carrancas, Conquista, Crioula Mercosul, Imperatriz, IPA 10, IPA 11, IPA 2, IPA 9, Juporanga, Optima PF, Primavera, Primeiro, Rainha, São Paulo, Serrana, Texas Grano 24 e Texas Grano 502 são considerados resistentes aos isolados de *B. semiarida* e *B. sola*.

Velez et al. (2020) analisando a resistência de 58 genótipos de cebola à *B. gladioli* pv. *alliicola* causador de podridão escorregadia das escamas observou três grupos diferentes (resistente, moderadamente resistente e suscetível) numa proporção de 58,62%, 36,21% e 5,17% respectivamente. No presente trabalho, os genótipos Conquista e Rainha apresentaram resistência aos isolados CCRMBC171 de *B. semiarida* e CCRMBC51 de *B. sola*, também se comportaram como resistentes à *B. gladioli* pv. *alliicola*.

Estudos avaliando o desempenho produtivo de genótipos de cebola no semiárido nordestino e da resistência de genótipos de cebola à mancha púrpura, demonstrou que o genótipo ‘Régia’ foi um dos mais promissores na região do Submédio do Vale do São Francisco (Souza et al., 2008; Pereira et al., 2016). Além disso, os autores verificaram que este genótipo foi moderadamente resistente à esta doença. No entanto, considerando o comportamento à *B. semiarida* e *B. sola* avaliada no presente estudo, o genótipo ‘Régia’ apresentou-se suscetível para o isolado de *B. semiarida* e moderadamente resistente para o isolado de *B. sola*, também

foi considerado suscetível à espécie *B. gladioli* pv. *alliicola* analisada no trabalho de Velez et al. (2020).

Avaliação da estabilidade da resistência de genótipos de cebola a *B. semiarida* e *B. sola*

Quanto a avaliação da estabilidade, 28 genótipos resistentes a *B. semiarida* e 30 genótipos resistentes a *B. sola* foram analisados. Não foi observada interação entre os isolados e genótipos para as variáveis PI (período de incubação) e severidade para espécie *B. semiarida*. Houve diferença significativa entre os genótipos e os isolados. Portanto, diante da ausência de interação significativa a 5% de probabilidade, o comportamento dos genótipos foi analisado para separadamente para cada isolado.

Quanto a reação aos isolados CCRMBC16, CCRMBC74 e CCRMBC171 de *B. semiarida* verificou-se que 16 genótipos (Alfa São Francisco, Baia do Cedo, Baia Periforme Agrocere, Baia Periforme Super Precoces, Beta Cristal, BRS Rio Verde, Carrancas, Crioula Mercosul, IPA 10, IPA 2, Juporanga, Perola, Primavera, Primeiro, Rainha e São Paulo) se comportaram como resistentes, enquanto 12 genótipos (Alvorada, Bola Precoces, BRS 367, Conquista, Imperatriz, IPA 11, IPA 9, Optima PF, Serrana, Texas Grano (Tx 05), Texas Grano 24 e Texas Grano 502) comportaram-se como suscetíveis (Tabela 4). Todos os genótipos avaliados (Alfa São Francisco, Alvorada, Baia do Cedo, Baia Periforme Agrocere, Baia Periforme Super Precoces, Beta Cristal, Bola Precoces, BRS 367, BRS Rio Verde, Carrancas, Conquista, Crioula Mercosul, H9, Imperatriz, IPA 10, IPA 11, IPA 2, IPA 3, IPA 6, IPA 9, Jubileu, Juporanga, Optima PF, Primavera, Primeiro, Rainha, São Paulo, Serrana, Texas Grano 24 e Texas Grano 502) se comportaram como resistentes para o isolado CCRMBC51 de *B. sola* (Tabela 5).

Os genótipos Alfa São Francisco, Baia do Cedo, Baia Periforme Agrocere, Baia Periforme Super Precoces, Beta Cristal, BRS Rio Verde, Carrancas, Crioula Mercosul, IPA 10, IPA 2, Juporanga, Primavera, Primeiro, Rainha e São Paulo mantiveram-se estáveis quanto a resistência a podridão em escamas considerando os 3 isolados mais agressivos (CCRMBC16, CCRMBC74 e CCRMBC171) de *B. semiarida* e o isolado mais agressivo de *B. sola*. Levando em conta esses resultados, esses genótipos apresentaram-se como fontes promissoras de resistência à podridão bacteriana das escamas, podendo ser utilizados em programas de melhoramento genético de plantas visando à obtenção de variedades de cebola com resistência a doença.

Determinação da concentração mínima inibitória de cobre a isolados de *B. semiarida* e *B. sola*

Os três isolados (CCRMBC16, CCRMBC74 e CCRMBC171) de *B. semiarida* tratados com sulfato de cobre nas concentrações de 0, 100 e 200 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ apresentaram crescimento bacteriano nas microplacas similar ao observado no controle positivo, enquanto o isolado (CCRMBC51) de *B. Sola* apresentou crescimento bacteriano nas concentrações de 0, 100, 200 e 300 mg.L⁻¹ de Cu²⁺. A ausência de crescimento bacteriano foi observada a partir da concentração de 300 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ para os isolados de *B. semiarida* e na concentração de 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ para o isolado de *B. sola*, sendo identificada como a concentração mínima inibitória das duas espécies respectivamente, para uso nos ensaios seguintes de sensibilidade ao cobre.

Por outro lado, de acordo com Silva (2023), ao determinar a concentração mínima inibitória de cobre a 3 isolados (CCRMB157, CCRMBC55 e CCRMBC61) de *B. cenocepacia* e 3 isolados (CCRMBC60, CCRMBC67 e CCRMBC27) de *B. orbicola*, a concentração de 300 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ foi caracterizada como a concentração mínima inibitória para os isolados das duas espécies analisadas.

Também foi observado comportamento diferente de inibição de crescimento por Ansari *et al.* (2019) em isolados de *B. cenocepacia* (linhagens IIIA e IIIB), associadas a podridão digital da banana no Sudeste do Irã. Os autores demonstraram que os isolados apresentaram tolerância na concentração de 200 mg de sulfato de cobre. De acordo com Fleming e Trevors (1989), o cobre atua como um biocida de amplo espectro em concentrações mais altas, pois é capaz de interagir com ácidos nucléicos, interromper as reações bioquímicas e sítios ativos de enzimas, destruir os sistemas de transporte de energia, interferindo na integridade das membranas celulares. Nesse sentido, o resultado conquistado foi justificado.

Os catafilos inoculados com os isolados CCRMBC16, CCRMBC74 e CCRMBC171 não apresentaram sintomas de podridão bacteriana das escamas após os tratamentos com 300, 400, 500 e 600 mg.L⁻¹ de Cu²⁺, enquanto os catafilos inoculados com o isolado CCRMBC51 não apresentaram sintomas após os tratamentos com 400, 500 e 600 mg.L⁻¹ de Cu²⁺.

Não houve crescimento bacteriano em placa de Petri para os isolados CCRMBC16, CCRMBC74 e CCRMBC171 de *B. semiarida* sob a ação do sulfato de cobre nas concentrações de 300, 400, 500 e 600 mg.L⁻¹ de Cu²⁺, qual comportamento foi similar para o isolado CCRMBC51 de *B. sola* sob a ação do sulfato de cobre nas concentrações de 400, 500 e 600 mg.L⁻¹ de Cu²⁺. Considerando os resultados da avaliação das inoculações em catafilo e dos plaqueamentos, o cobre demonstrou atividade bactericida a partir da concentração de 300

mg.L⁻¹ de Cu²⁺ para os isolados de *B. semiarida* e 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ para o isolado de *B. sola*.

Sensibilidade dos isolados de *B. semiarida* e *B. sola* ao cobre *in vitro*

Foi observado crescimento bacteriano em placas para 9 isolados de *B. semiarida* na concentração de 200 mg.L⁻¹ de Cu²⁺, enquanto nenhum dos isolados de *B. semiarida* apresentaram crescimento bacteriano na concentração de 300 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ (Tabela 6). Também não foi observado crescimento bacteriano em placas nas concentrações de 300 e 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ para o isolado de *B. sola*.

Segundo Silva (2023), ao avaliarem a sensibilidade dos isolados de *B. cenocepacia* e *B. orbicola* ao cobre *in vitro*, os isolados CCRMB157, CCRMBC55 e CCRMBC61 de *B. cenocepacia* e CCRMBC60, CCRMBC67 e CCRMBC27 de *B. orbicola* não apresentaram crescimento bacteriano em placa sob a ação do sulfato de cobre nas concentrações de 300 e 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺.

Por esse motivo, esses resultados destacam a importância de realizar trabalhos *in vivo* para verificar a reação do cobre sobre as espécies *B. semiarida* e *B. sola* analisadas e também para observar os efeitos quanto a sensibilidade/resistência, os efeitos sobre os produtos comercializados e por fim sugerir concentração ideal de produto a ser utilizado nos trabalhos de resistência a doenças bacterianas.

Sensibilidade dos isolados de *B. semiarida* e *B. sola* ao cobre *in vivo*

Os resultados da análise fatorial mostraram que não houve interação significativa entre os isolados e os tratamentos para a severidade para *B. semiarida*. Também não houve diferença significativa entre os tratamentos, enquanto foi observada diferença significativa entre os isolados CCRMBC16, CCRMBC74 e CCRMBC171 de *B. semiarida*.

Os dados de severidade avaliados nos bulbos inoculados com o isolado CCRMBC51 de *B. sola* foram analisados separadamente pelo teste T. Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos (bulbos tratados com cobre na concentração de 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ e bulbos tratados com ADE). A diferença de severidade da podridão em escamas entre os bulbos tratados com cobre e não tratados com cobre não foi significativa ($P>0,05$) para as duas

espécies, o que justificou que o cobre não demonstrou reação sobre os isolados CCRMBC16, CCRMBC74 e CCRMBC171 de *B. semiarida* e o isolado CCRMBC51 de *B. sola*.

Segundo Silva (2017), ao avaliarem a sensibilidade de setenta isolados de *X. citri* pv. *viticola* ao hidróxido e oxicloreto de cobre in vivo, todos os isolados causaram sintomas do cancro bacteriano nas folhas de plantas de videira previamente pulverizadas com cobre, com incidência de 100%. No entanto, diferenças ($P \leq 0,05$) foram observadas no período de incubação da doença entre os isolados sensíveis e tolerantes, com valores médios respectivamente de 10,7 e 6,3 dias para hidróxido de cobre e de 10,3 e 7 dias para oxicloreto de cobre. 33 % dos isolados foram classificados como tolerantes ao hidróxido de cobre a $140 \mu\text{g ml}^{-1} \text{Cu}^{2+}$ e 30 % ao oxicloreto de cobre a 70 ou $140 \mu\text{g ml}^{-1} \text{Cu}^{2+}$.

Como o cobre não apresentou reação sobre os isolados das duas espécies no presente estudo, a melhor solução a adotar seria usar outros produtos antibióticos para obter melhores resultados favorecendo o desenvolvimento de novas estratégias para um bom manejo da podridão das escamas de cebola no semiárido nordestino.

Os produtos hidróxido, oxicloreto e sulfato de cobre não são registrados para controle das doenças bacterianas (Silva, 2017), porém, têm registro destes produtos para o controle de doenças fúngicas como míldio, antracnose, podridão da uva madura, mancha foliar e podridão amarga (Agrofit, 2014). O cobre atua na proteção do tecido vegetal contra infecção por bactérias e na redução da população bacteriana na superfície foliar (Leite Júnior, 2000). Nesse contexto, são necessárias várias aplicações de cúpricos para obter controle adequado de fitobacterioses, e o uso contínuo desses produtos pode contribuir ao surgimento de isolados resistentes ou tolerantes ao cobre.

CONCLUSÕES

Conclui-se que 28 genótipos se comportaram como resistentes a *B. semiarida* e 30 genótipos a *B. sola*. Quinze genótipos (Alfa São Francisco, Baia do Cedo, Baia Periforme Agrocere, Baia Periforme Super Precoce, Beta Cristal, BRS Rio Verde, Carrancas, Crioula Mercosul, IPA 10, IPA 2, Juporanga, Primavera, Primeiro, Rainha e São Paulo) mantiveram-se estáveis a ambas as espécies bacterianas, indicando que esses genótipos são caracterizados como fontes promissoras de resistência a podridão bacteriana das escamas.

A concentração mínima inibitória (CMI) observada foi de 300 mg.L^{-1} de Cu^{2+} para *B. semiarida* e 400 mg.L^{-1} de Cu^{2+} para *B. sola*. O sulfato de cobre apresentou atividade

bactericida *in vitro* sobre as duas espécies bacterianas a partir da concentração de 300 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ para os isolados de *B. semiarida* e 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ para o isolado de *B. sola*, mas não demonstrou reação *in vivo* sobre os isolados de *B. semiarida* e *B. sola*.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. 2023. *Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários*. Available at: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acessado em 29 jun. 2023.
- ANSARI, M; TAGHAVI, SM; ZAREI, S; MIRI, K; PORTIER, P; OSDAGHI, E. 2019. Pathogenicity and molecular phylogenetic analysis reveal a distinct position of the banana fingertip rot pathogen among the *Burkholderia cenocepacia* genomovars. *Plant Pathology* 68(4): 804-815.
- BAIA, A. D. B. 2019. *Diversidade de espécies de Burkholderia causadoras de podridão em bulbos de cebolas no semiárido brasileiro*. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 106p. (Tese de Doutorado)
- BAIA, ADB; SILVA, AMF; RIBEIRO, BG; SOUZA, CC; JUNIOR, WJS; BALBINO, VQ; LEAL, CM; FARIAS, ARG; SOUZA, EB; GAMA, MAS. 2021. Predominance of *Burkholderia cenocepacia* lineages causing onion sour skin in the semi-arid region of northeast Brazil. *Plant Pathology* 70(3): 521–533.
- BEER, SV; ASSELIN, JE; BONASERA, JM; ZAID, AM; HOEPTING, CA. 2012. Research yields greater understanding of bacterial diseases of onion in New York. *Onion World* (1): 8-23.
- BONDARCZUK, K.; PIOTROWSKA-SEGET, Z. 2013. Molecular basis of active copper resistance mechanisms in Gram-negative bacteria. *Cell Biology and Toxicology*, 29(6):397-405.
- CAMARGO, LEA. 2011. Controle genético. In: AMORIM, L; REZENDE, JAM; BERGAMIN FILHO, A. (eds.). *Manual de Fitopatologia. Princípios e conceitos*. São Paulo, BR: Agronômica Ceres. p. 325-340.
- COSTA, ND; RESENDE, GM. Cultivares. In: _____ (Ed.). *Cultivo de cebola no Nordeste*. Embrapa Semi-Arido, 2007. Disponível em:

<<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/162405/1/Cultivodacebola.pdf>>.

Acesso em: 26 jul. 2023.

EL BALLA, MMA; HAMID, ABDELBAGI. A; ABDELMAGEED, AHA. 2013. Effects of time of water stress on flowering, seed yield and seed quality of common onion (*Allium cepa* L.) under the arid tropical conditions of Sudan. *Agricultural Water Management* 121: 149-157.

FLEMMING, CA; TREVORS, JT. 1989. Copper toxicity and chemistry in the environment: a review *Water, air, and soil pollution* 44:143-158.

GAVA, CAT; TAVARES, SCCH. 2016. *Cultivo da cebola no Nordeste: doenças*. Disponível em https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducaolf6_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&p_r_p_76293187_sistemaProducaoId=3113&p_r_p_-996514994_topicoId=1843 >. Acesso em: 29 jul. 2023.

HIGGINS, S; GUALDI, S; PINTO-CARBÓ, M; EBERL, L. 2020. Copper resistance genes of *Burkholderia cenocepacia* H111 identified by transposon sequencing. *Environmental Microbiology Reports* 12(2): 241-249.

IBGE-INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Estatística da Produção Agrícola*, 2023. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producaoagropecuaria/cebola/br>>. Acesso em: 29 jun. 2023.

JACOBS, JL; FASI, AC; RAMETTE, A; SMITH, JJ; HAMMERSCHMIDT, R; SUNDIN, GW. 2008. Identification and Onion Pathogenicity of *Burkholderia cepacia* Complex isolates from the Onion Rhizosphere and Onion Field Soil. *Applied and Environmental Microbiology* 74(10): 3121-3129.

KAWAMOTO, SO; LORBEER, JW. 1974. Infection of onion leaves by *Pseudomonas cepacia*. *Phytopathology* 64: 1440-1445.

KIMATI, H; BERGAMIN FILHO, A. 1995. Princípios gerais de controle. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H; AMORIM, L. (Eds.). *Manual de fitopatologia: princípios e conceitos*. São Paulo: Agronômica Ceres. p. 692-709.

KUNZ, VL, SIRTOLI, LF, FURLAN, L, POLETTI, L, PRIMO, MA, e RODRIGUES, JD. 2009. Produtividade de cebola sob diferentes fontes e modos de aplicação de adubos nitrogenados em cobertura. *Revista Biodiversidade* 8: 31-37.

LEE, YA; CHAN, CW. 2007. Molecular typing and presence of genetic markers among

- 563 strains of banana fingertip rot pathogens, *Burkholderia cenocepacia*, in Taiwan.
 564 *Phytopathology* 97(2): 195-201.
- 565 LEITE JÚNIOR, RP. 2000. Surviving with Citrus Canker in Brazil. Proceedings, 9th
 566 Congress of the International Society for Citriculture. Orlando, EUA. p. 890-896.
- 567 LOPES, CVG. 2002. *Efeito do sulfato de cobre e de zinco no controle da população de*
 568 *fungos e bactérias do solo que causam intemperismo em arenitos de prédios históricos na*
 569 *Lapa (PR)*. Universidade Federal do Paraná. 84 p. (Dissertação de mestrado).
- 570 MAHENTHIRALINGAM, E; URBAN, TA; GOLDBERG, JB. 2005. The multifarious,
 571 multireplicon *Burkholderia cepacia* complex. *Nature Reviews Microbiology* 3(3): 144-156.
- 572 MARTINA, P; LEGUIZAMON, M; PRIETO, CI; SOUSA, SA; MONTANARO, P;
 573 DRAGHI, WO; STÄMMLER, M; BETTIOL, M; DE CARVALHO, CCCR; PALAU, J;
 574 FIGOLI, C; ALVAREZ, F; BENETTI, S; LEJONA, S; VESCINA, C; FERRERAS, J;
 575 LASCH, P; LAGARES, A; ZORREGUIETA, A; LEITÃO, JH; YANTORNO, OM;
 576 BOSCH, A. 2018. *Burkholderia puraquae* sp. nov., a novel species of the *Burkholderia*
 577 *cepacia* complex isolated from hospital settings and agricultural soils. *Int J Syst Evol*
 578 *Microbiol* 68(1): 14-20.
- 579 MORALES-RUÍZ, LM, RODRÍGUEZ-CISNEROS, M, KERBER-DÍAZ, JC, ROJAS
 580 ROJAS, FU, IBARRA, JA, ESTRADA-DE LOS SANTOS, P. 2022. *Burkholderia*
 581 *orbicola* sp. nov., a novel species within the *Burkholderia cepacia* complex. *Arch.*
 582 *Microbiol* 204 (3): 1-9.
- 583 OLIVEIRA, WJ. 2016. *Etiologia da podridão de escama da cebola no semiárido brasileiro.*
 584 2016. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 60p. (Dissertação de Mestrado em
 585 Fitopatologia).
- 586 OLIVEIRA, WJ; SILVA, WA; SILVA, AMF; CANDEIA, JA; SOUZA, EB; MARIANO,
 587 RLR; GAMA, MAS. 2017. First report of *Burkholderia cenocepacia* causing sour skin
 588 of onion (*Allium cepa*) in Brazil. *Plant Disease* 101:1950.
- 589 OLIVEIRA, WJ; SOUZA, EB; SILVA, AMF; LIMA, NB; LEAL, CM; CANDEIA, JA;
 590 GAMA, MAS. 2019. Elucidating the etiology of onion bacterial scale rot in the semi-arid
 591 region of Northeastern Brazil. *Tropical Plant Pathology* 44(6): 494-502.
- 592 PEETERS, C.; ZLOSNIK, JEA; SPILKER, T; TREVOR, J; HIRD, TJ; LIPUMA, JJ;
 593 VANDAMME, P. 2013. *Burkholderia pseudomultivorans* sp. nov., a novel *Burkholderia*
 594 *cepacia* complex species from human respiratory samples and the rhizosphere. *Systematic*
 595 *and Applied Microbiology* 36(7): 483-489.
- 596 PEREIRA RB; OLIVEIRA VR; CARVALHO ADF; PINHEIRO, JB. 2016. Reação de

- genótipos de cebola à mancha púrpura. *Horticultura Brasileira* 34: 273-278.
- REIS, A; HENZ, GP; LOPES, CA. *Cultivo da cebola: doenças*, 2015. Disponível em:
http://www.cnph.embrapa.br/paginas/sistemas_producao/cultivo_da_cebola/doencas.tm
 Acesso em: 29 jun. 2023.
- SANTOS, PE; PALMER, M; CHÁVEZ-RAMÍREZ, B; BEUKES, C; STEENKAMP, ET;
 BRISCOE, L; KHAN, N; MALUK, M; LAFOS, M; HUMM, E; ARRABIT, M; CROOK,
 M; GROSS, E; SIMON, MF; JUNIOR, FBDR; WHITMAN, WB; SHAPIRO, N; POOLE,
 PS; HIRSCH, AM; VENTER, SN; JAMES, EK. 2018. Whole Genome Analyses Suggests
 that *Burkholderia* sensu lato Contains Two Additional Novel Genera (*Mycetohabitans* gen.
 nov., and *Trinickia* gen. nov.): Implications for the Evolution of Diazotrophy and
 Nodulation in the *Burkholderiaceae*. *Genes* 9, 389, p. 1-23.
- SILVA, EI. 2017. *Sensibilidade a cúpricos e estrutura genética de populações de*
Xanthomonas campestris pv. *viticola*. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 82p.
 (Tese de Doutorado).
- SILVA, KWL. 2023. *Seleção de genótipos de cebola resistentes à podridão bacteriana das*
escamas e reação de isolados de Burkholderia cenocepacia e B. orbicola ao cobre.
 Universidade Federal Rural de Pernambuco. 53 p. (Dissertação de mestrado)
- SOUZA, JO; GRANGEIRO, LC; SANTOS, GM; COSTA, ND; SANTOS, CAF; NUNES,
 GHS. 2008. Avaliação de genótipos de cebola no Semi-Árido Nordeste. *Horticultura*
Brasileira 26(1): 97-101.
- TSUJI, M; KADOTA, I. 2020. Identification and phylogenetic analysis of *Burkholderia*
cepacia complex bacteria isolated from rot of onion bulbs in Tohoku region of Japan.
Journal of General Plant Pathology 86(5): 376–386.
- VANLAERE, E; BALDWIN, A; GEVERS, D; HENRY, D; DE BRANDT, E; LIPUMA, JJ;
 MAHENTHIRALINGAM, E; SPEERT, DP; DOWSON, C; VANDAMME, P. 2009.
 Taxon K. A complex within the *Burkholderia cepacia* complex, comprises at least two
 novel species, *Burkholderia contaminans* sp. nov. and *Burkholderia lata* sp. nov.
International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 59 (1): 102-111.
- VELEZ, LS. 2021. *Filogenômica e genômica comparativa de isolados de Burkholderia*
causadores de podridão das escamas da cebola. Universidade Federal Rural de
 Pernambuco. 99p. (Tese de Doutorado).
- VELEZ, LS. 2017. *Seleção de genótipos de cebola resistentes à Burkholderia gladioli* pv.
alliicola. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 41p. (Dissertação de Mestrado)
- VELEZ, LS; ABURJAILE, FF; FARIAS, ARG; BAIA, ADB; OLIVEIRA WJ; SILVA,

- 631 AMF; BENKO-ISEPPON, AM; AZEVEDO, V; BRENIG B; HAM JH; Souza, EB;
632 GAMA, MAS. 2023. *Burkholderia semiarida* sp. nov. and *Burkholderia sola* sp. nov., two
633 novel *B. cepacia* complex species causing onion sour skin. *Systematic and Applied*
634 *Microbiology* 46(3): 126415-126423.
- 635 VELEZ, LS; SILVA, AMF; SANTOS, CAF; ASSUNÇÃO, EF; SILVA, MS; SOUZA, EB;
636 GAMA, MAS. 2020. Evaluation of onion genotypes to slippery skin caused by
637 *Burkholderia gladioli* pv. *Alliicola*. *Horticultura Brasileira* 38(4): 350-355.
- 638 WALLNER, A; KING, E; NGONKEU, ELM; MOULIN, L; BÉNA, G. 2019. Genomic
639 analyses of *Burkholderia cenocepacia* reveal multiple species with differential host
640 adaptation to plants and humans. *BMC Genomics* 20 (1): 803.
- 641 WORDELL FILHO, JA; BOFF, P. 2006. Doenças de origem parasitária. In: WORDELL
642 FILHO, JA; ROWE, E; GONÇALVES, PAS; DEBARBA, JF; BOFF, P; THOMAZELLI.
643 Manejo fitossanitário da cebola. Florianópolis, BR: EPAGRI, p. 19-162.

644

Tabela 1. Genótipos de cebola utilizados no presente estudo

Genótipo ¹	Genótipo
Alfa São Francisco	IPA 9
Alvorada	IPA 6
Baia do Cedo	IPA 7
Baia Periforme Agrocere	Jubileu
Baia Periforme Super Precoce	Juporanga
Beta Cristal	Leona
Bola Precoce	Nomad
Brisa Verão IPA 13	Optima PF
BRS 367	Perola
BRS Rio Verde	Poliana
Campo Lindo	Pop. Exp. VCE
Campo Lindo II	Primavera
Carrancas	Primeiro
Conquista	Rainha
Crioula Mercosul	Régia
H9	Roxa do Barreiro
Henry's Special	São Paulo
Imperatriz	Serrana
IPA 10	Texas Grano (Tx 05)
IPA 11	Texas Grano (Tx 09)
IPA 2	Texas Grano 24
IPA 3	Texas Grano 502

¹Genótipos de cebola pertencentes aos programas de melhoramento genético de cebola da Embrapa Hortaliças e do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA).

Tabela 2. Seleção de genótipos de cebola resistentes à podridão das escamas, através da inoculação do isolado CCRMBC171 de *Burkholderia semiarida*.

Genótipo	Período de incubação ¹	Severidade ³	Classe de Resistência
Alfa São Francisco	5,60 a ²	11,38 a	R ⁴
Alvorada	11,40 b	9,60 a	R
Baia do Cedo	6,20 b	11,27 a	R
Baia Periforme Agrocere	8,60 b	9,85 a	R
Baia Periforme Super	5,60 a	11,16 a	R
Precoce			
Beta Cristal	7,00 b	8,37 a	R
Bola Precoce	6,80 b	11,64 a	R
Brisa Verão IPA 13	1,00 a	18,69 b	S
BRS 367	8,40 b	11,58 a	R
BRS Rio Verde	2,75 a	11,74 a	R
Campo Lindo	1,50 a	15,08 b	S
Campo Lindo II	2,75 a	15,93 b	S
Carrancas	4,00 a	13,11 a	R
Conquista	8,80 b	12,99 a	R
Crioula Mercosul	3,40 a	12,04 a	R
H9	5,80 b	15,27 b	S
Henry's Special	7,60 b	15,57 b	S
Imperatriz	9,40 b	10,37 a	R
IPA 10	5,00 a	10,83 a	R
IPA 11	4,20 a	12,52 a	R
IPA 2	4,40 a	12,43 a	R
IPA 3	5,00 a	16,07 b	S
IPA 9	6,00 b	12,10 a	R
IPA 6	2,00 a	20,32 b	S
IPA7	1,00 a	14,56 b	S
Jubileu	3,80 a	14,83 b	S
Juporanga	6,60 b	11,24 a	R
Leona	1,50 a	16,73 b	S
Nomad	2,00 a	15,56 b	S
Optima PF	10,40 b	11,55 a	R
Perola	3,00 a	13,14 a	R
Poliana	2,25 a	17,05 b	S
Pop. Exp. VCE	1,00 a	16,84 b	S
Primavera	6,00 b	10,14 a	R
Primeiro	4,40 a	11,15 a	R
Rainha	9,80 b	9,15 a	R
Régia	10,60 b	14,83 b	S
Roxa do Barreiro	3,60 a	16,02 b	S
São Paulo	8,20 b	10,13 a	R
Serrana	7,40 b	13,37 a	R
Texas Grano (Tx 05)	10,60 b	13,53 a	R
Texas Grano (Tx 09)	8,20 b	14,12 b	S
Texas Grano 24	9,00 b	12,63 a	R

Texas Grano 502	4,20 a	12,82 a	R
C. V. (%)	56,06	23,41	

Abreviaturas: CCRMBC, Coleção de Culturas Rosa Mariano de *Burkholderia cenocepacia*; CV, coeficiente de variação.

¹Período de incubação da doença (PI), que corresponde ao período entre a inoculação e o início dos sintomas, em horas. ²Média de cinco repetições. ³Severidade da doença baseada nas medições do diâmetro da lesão em dois sentidos opostos. ⁴Classe de resistência: R (Resistente), e S (Suscetível). Médias na coluna seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott.

Tabela 3. Seleção de genótipos de cebola resistentes à podridão das escamas, através da inoculação do isolado CCRMBC51 de *Burkholderia sola*.

Genótipo	Período de incubação¹	Severidade³	Classe de Resistência
Alfa São Francisco	6,60 b ²	12,88 a	R ⁴
Alvorada	5,80 b	12,07 a	R
Baia do Cedo	2,00 a	12,33 a	R
Baia Periforme Agrocere	8,60 b	10,61 a	R
Baia Periforme Super	7,20 b	11,10 a	R
Precoce			
Beta Cristal	3,80 a	11,68 a	R
Bola Precoce	7,80 b	10,64 a	R
Brisa Verão IPA 13	1,00 a	19,32 c	S
BRS 367	8,80 b	11,41 a	R
BRS Rio Verde	3,75 a	12,48 a	R
Campo Lindo	3,00 a	19,07 c	S
Campo Lindo II	2,25 a	21,27 c	S
Carrancas	4,50 a	10,83 a	R
Conquista	7,20 b	12,42 a	R
Crioula Mercosul	10,80 b	9,74 a	R
H9	4,60 a	13,04 a	R
Henry's Special	8,20 b	15,80 b	MR
Imperatriz	8,40 b	12,21 a	R
IPA 10	4,00 a	12,49 a	R
IPA 11	6,80 b	13,95 a	R
IPA 2	4,40 a	12,20 a	R
IPA 3	4,60 a	11,65 a	R
IPA 9	6,80 b	9,32 a	R
IPA 6	3,00 a	13,14 a	R
IPA7	4,25 a	16,92 b	MR
Jubileu	4,60 a	10,74 a	R
Juporanga	6,40 b	9,20 a	R
Leona	1,50 a	22,57 c	S
Nomad	2,00 a	20,00 c	S
Optima PF	6,00 b	13,07 a	R
Perola	4,00 a	15,41 b	MR
Poliana	5,75 b	18,23 b	MR
Pop. Exp. VCE	2,75 a	21,93 c	S
Primavera	4,20 a	13,96 a	R
Primeiro	9,40 b	7,94 a	R
Rainha	9,40 b	10,12 a	R
Régia	7,00 b	17,34 b	MR
Roxa do Barreiro	5,20 a	15,81 b	MR
São Paulo	8,60 b	10,41 a	R
Serrana	5,00 a	11,26 a	R
Texas Grano (Tx 05)	7,60 b	16,47 b	MR
Texas Grano (Tx 09)	4,40 a	16,99 b	MR
Texas Grano 24	10,20 b	11,60 a	R
Texas Grano 502	6,40 b	14,38 a	R

C. V. (%)	54,80	27,33
-----------	-------	-------

Abreviaturas: CCRMBC, Coleção de Culturas Rosa Mariano de *Burkholderia cenocepacia*; CV, coeficiente de variação.

¹Período de incubação da doença (PI), que corresponde ao período entre a inoculação e o início dos sintomas, em horas. ²Média de cinco repetições. ³Severidade da doença baseada nas medições do diâmetro da lesão em dois sentidos opostos. ⁴Classe de resistência: R (Resistente), MR (Moderadamente resistente) e S (Suscetível). Médias na coluna seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott.

Tabela 4. Reação de genótipos de cebola à podridão das escamas avaliada através da inoculação dos isolados CCRMBC16, CCRMBC74 e CCRMBC171 de *Burkholderia semiarida*.

Genótipo	Período de incubação ¹	Severidade ³	Classe de Resistência
Alfa São Francisco	6,58 b ²	16,05 a	R ⁴
Alvorada	4,50 a	17,13 b	S
Baia do Cedo	3,67 a	14,21 a	R
Baia Periforme Agrocere	4,75 b	14,66 a	R
Baia Periforme Super	4,08 a	15,78 a	R
Precoce			
Beta Cristal	2,75 a	15,77 a	R
Bola Precoce	5,67 b	16,93 b	S
BRS 367	7,33 b	17,37 b	S
BRS Rio Verde	3,00 a	11,11 a	R
Carrancas	3,92 a	12,46 a	R
Conquista	4,50 a	17,13 b	S
Crioula Mercosul	3,92 a	13,98 a	R
Imperatriz	3,42 a	17,86 b	S
IPA 10	2,50 a	15,12 a	R
IPA 11	4,42 a	17,69 b	S
IPA 2	3,83 a	15,70 a	R
IPA 9	2,17 a	18,66 b	S
Juporanga	4,92 b	16,10 a	R
Optima PF	6,17 b	16,85 b	S
Perola	2,83 a	15,10 a	R
Primavera	5,25 b	15,04 a	R
Primeiro	3,00 a	14,04 a	R
Rainha	3,67 a	13,78 a	R
São Paulo	3,17 a	16,06 a	R
Serrana	3,00 a	18,50 b	S
Texas Grano (Tx 05)	6,00 b	18,60 b	S
Texas Grano 24	3,00 a	17,54 b	S
Texas Grano 502	3,17 a	22,54 b	S
C. V. (%)	66,34	26,81	

Abreviaturas: CCRMBC, Coleção de Culturas Rosa Mariano de *Burkholderia cenocepacia*; CV, coeficiente de variação.

¹Período de incubação da doença (PI), que corresponde ao período entre a inoculação e o início dos sintomas, em horas. ²Média de quatro repetições. ³Severidade da doença baseada nas medições do diâmetro da lesão em dois sentidos opostos. ⁴Classe de resistência: R (Resistente) e S (Suscetível). Médias na coluna seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott.

Tabela 5. Reação de genótipos de cebola à podridão das escamas avaliada através da inoculação do isolado CCRMBC51 de *Burkholderia sola*.

Genótipo	Período de incubação ¹	Severidade ³	Classe de Resistência
Alfa São Francisco	6,25 b ²	12,08 a	R ⁴
Alvorada	4,50 a	8,26 a	R
Baia do Cedo	2,50 a	14,72 a	R
Baia Periforme Agrocere	4,25 a	15,67 a	R
Baia Periforme Super	9,00 b	13,45 a	R
Precoce			
Beta Cristal	2,00 a	12,52 a	R
Bola Precoce	2,25 a	15,23 a	R
BRS 367	4,75 a	10,68 a	R
BRS Rio Verde	3,75 a	12,48 a	R
Carrancas	4,50 a	10,83 a	R
Conquista	3,75 a	12,68 a	R
Crioula Mercosul	3,75 a	12,98 a	R
H9	6,75 b	13,56 a	R
Imperatriz	2,50 a	16,95 a	R
IPA 10	1,75 a	17,10 a	R
IPA 11	3,50 a	15,75 a	R
IPA 2	2,25 a	17,02 a	R
IPA 3	5,25 b	13,58 a	R
IPA 6	3,00 a	13,14 a	R
IPA 9	2,75 a	16,72 a	R
Jubileu	3,50 a	13,69 a	R
Juporanga	6,25 b	14,08 a	R
Optima PF	9,50 b	13,15 a	R
Primavera	3,50 a	19,14 a	R
Primeiro	3,00 a	8,86 a	R
Rainha	2,75 a	13,85 a	R
São Paulo	6,50 b	13,18 a	R
Serrana	2,50 a	16,12 a	R
Texas Grano 24	2,25 a	16,54 a	R
Texas Grano 502	2,50 a	14,47 a	R
C. V. (%)	57,56	32,55	

Abreviaturas: CCRMBC, Coleção de Culturas Rosa Mariano de *Burkholderia cenocepacia*; CV, coeficiente de variação.

Período de incubação da doença (PI), que corresponde ao período entre a inoculação e o início dos sintomas, em horas. ²Média de quatro repetições. ³Severidade da doença baseada nas medições do diâmetro da lesão em dois sentidos opostos. ⁴Classe de resistência: R (Resistente). Médias na coluna seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott.

Tabela 6. Sensibilidade de isolados de *B. semiarida* e *B. sola* causadoras de podridão das escamas da cebola a diferentes concentrações de sulfato de cobre.

Isolado	Espécie do CBC	Estado/Cidade	Crescimento bacteriano nas concentrações de sulfato de cobre (mg.L ⁻¹)			
			0	200	300	400
CCRMBC16	<i>Burkholderia semiarida</i>	Petrolândia, PE	+	–	–	X
CCRMBC17	<i>Burkholderia semiarida</i>	Casa Nova, BA	+	–	–	X
CCRMBC30	NI	Petrolândia, PE	+	–	–	X
CCRMBC33	<i>Burkholderia semiarida</i>	Belém de São Francisco, PE	+	+	–	X
CCRMBC34	NI	Belém de São Francisco, PE	+	–	–	X
CCRMBC51	<i>Burkholderia sola</i>	Casa Nova, BA	+	X	–	–
CCRMBC59	NI	Orocó, PE	+	+	–	X
CCRMBC73	NI	Sento Sé, BA	+	–	–	X
CCRMBC74	<i>Burkholderia semiarida</i>	Belém de São Francisco, PE	+	+	–	X
CCRMBC75	NI	Petrolândia, PE	+	+	–	X
CCRMBC76	NI	Petrolândia, PE	+	+	–	X
CCRMBC78	NI	Petrolândia, PE	+	–	–	X
CCRMBC79	<i>Burkholderia semiarida</i>	Orocó, PE	+	+	–	X
CCRMBC114	NI	Orocó, PE	+	+	–	X
CCRMBC115	<i>Burkholderia semiarida</i>	Petrolândia, PE	+	+	–	X
CCRMBC131	<i>Burkholderia semiarida</i>	Sento Sé, BA	+	–	–	X
CCRMBC139	<i>Burkholderia semiarida</i>	Petrolândia, PE	+	–	–	X
CCRMBC142	NI	Casa Nova, BA	+	–	–	X
CCRMBC171	<i>Burkholderia semiarida</i>	Belém de São Francisco, PE	+	–	–	X
CCRMBC241	<i>Burkholderia semiarida</i>	Petrolândia, PE	+	+	–	X

Abreviaturas: CCRMBC, Coleção de Culturas Rosa Mariano de Burkholderia cenocepacia; NI, não identificada. Símbolos: +, isolados que cresceram nas placas de Petri; –, isolados que não cresceram nas placas. X: isolados não testados.

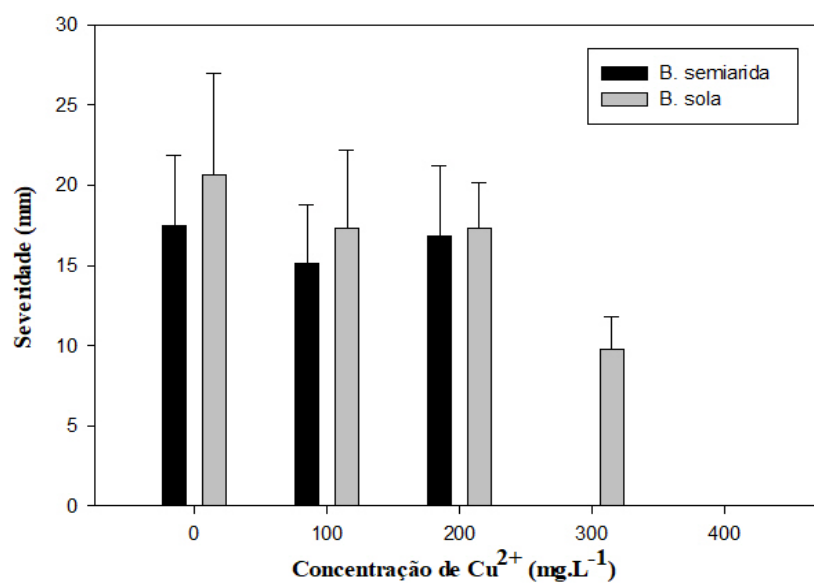


Figura 1: Severidade da podridão das escamas de cebola avaliada em catafilos de cebola inoculados com os isolados CCRMBC16, CCRMBC74 e CCRMBC171 de *Burkholderia semiarida* e o isolado CCRMBC51 de *B. sola* em diferentes concentrações de sulfato de cobre. Barras verticais correspondem ao desvio padrão da média.

CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES GERAIS

- Vinte e oito genótipos se comportaram como resistentes a *B. semiarida* e 30 genótipos a *B. sola*.
- Os genótipos Alfa São Francisco, Baia do Cedo, Baia Periforme Agrocere, Baia Periforme Super Precoce, Beta Cristal, BRS Rio Verde, Carrancas, Crioula Mercosul, IPA 10, IPA 2, Juporanga, Primavera, Primeiro, Rainha e São Paulo mantiveram-se estáveis a ambas as espécies bacterianas, indicando que esses genótipos são caracterizados como fontes promissoras de resistência a podridão bacteriana das escamas.
- O sulfato de cobre apresentou atividade bactericida *in vitro* sobre as duas espécies bacterianas a partir da concentração de 300 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ para os isolados de *B. semiarida* e 400 mg.L⁻¹ de Cu²⁺ para o isolado de *B. sola*, mas não demonstrou reação *in vivo* sobre essas espécies.