

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS – UFAL  
CAMPUS DE ENGENHARIA E CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CECA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS - PPGPP

RONALD BENVINDO BORGES SILVA

**DIVERSIDADE DE *Pectobacterium* spp. ASSOCIADAS À PODRIDÃO MOLE  
EM HORTALIÇAS NO ESTADO DE ALAGOAS**

RIO LARGO – AL

2026

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS – UFAL  
CAMPUS DE ENGENHARIA E CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CECA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS - PPGPP

RONALD BENVINDO BORGES SILVA

**DIVERSIDADE DE *Pectobacterium* spp. ASSOCIADAS À PODRIDÃO MOLE  
EM HORTALIÇAS NO ESTADO DE ALAGOAS**

Dissertação apresentado à coordenação  
do Programa de Pós-Graduação em Proteção de  
Plantas da Universidade Federal de Alagoas –  
UFAL, como requisito para a obtenção do título  
de Mestre em Proteção de Plantas.

**Orientador:** Prof. Dr. Adriano Márcio Freire  
Silva.

RIO LARGO – AL

2026

**Catálogo na Fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Campus de Engenharias Ciências Agrárias**  
**Bibliotecário Responsável: Stefano João dos Santos**

S568d    Silva, Ronald Benvindo Borges

Diversidade de *Pectobacterium* spp. Associadas à podridão mole em hortaliças no estado de Alagoas / Ronald Benvindo Borges Silva. – Rio largo, Al - , 2026.

51 f. : il.

Dissertação (Mestrado em proteção de plantas) Universidade Federal de Alagoas, Campus Ceca – Rio largo, 2026.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Márcio Freire Silva.

1. Doenças bacterianas, *Pectobacteriaceae*, Caracterização molecular. Título. II.

CDU: 631.46:635

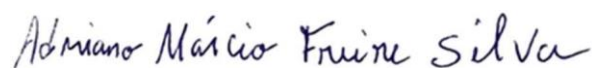
# FOLHA DE APROVAÇÃO

RONALD BENVINDO BORGES SILVA

DIVERSIDADE DE *Pectobacterium* spp. ASSOCIADAS À PODRIDÃO MOLE EM  
HORTALIÇAS NO ESTADO DE ALAGOAS

Dissertação submetida à banca examinadora  
do Programa de Pós-graduação em Proteção de  
Plantas do Campus de Engenharias e Ciências  
Agrárias, da Universidade Federal de Alagoas, e  
aprovada em 30 de janeiro de 2026.

**Banca examinadora:**



---

Prof. Dr. Adriano Márcio Freire  
Silva  
Presidente, Membro Titular

Documento assinado digitalmente  
 SARAH JACQUELINE CAVALCANTI DA SILVA  
Data: 13/04/2026 18:12:42-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Profa. Dra. Sarah Jacqueline Cavalcanti da Silva  
Membro titular (interno)

Documento assinado digitalmente  
 MAYRA MACHADO DE MEDEIROS FERRO  
Data: 11/04/2026 12:06:10-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dra. Mayra Machado de Medeiros Ferro  
Membro titular (externo)

## AGRADECIMENTOS

A realização deste mestrado representa não apenas a conclusão de uma etapa acadêmica, mas também a concretização de uma trajetória construída com o apoio, incentivo e colaboração de pessoas muito especiais, às quais manifesto a minha mais sincera gratidão.

Inicialmente, expresso minha profunda gratidão aos meus pais, José Raimundo e Lídia Borges (em memória) pelo apoio incondicional, pela compreensão e pelos valores transmitidos ao longo de toda a minha caminhada.

À minha namorada, Camilla Amanda, expresso meu sincero agradecimento pela compreensão, pelo apoio constante e pela presença ao longo de toda essa jornada.

Agradeço, em especial, a Iara Costa e Frederico Feijó, pelo incentivo contínuo, pelo conhecimento compartilhado e pela parceria ao longo deste percurso. Suas contribuições foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Fagner, meu amigo e irmão de jornada, registro minha gratidão pelo apoio, pela disponibilidade e pelas valiosas contribuições durante esse processo.

Aos amigos do Laboratório de Fitopatologia Molecular e Virologia Vegetal, expresso meu apreço pelo ambiente de cooperação, aprendizado e respeito construído ao longo desta jornada.

Aos amigos que formei durante a pós-graduação, agradeço pela convivência, pela parceria e pelo apoio mútuo ao longo desta etapa, que certamente contribuíram significativamente para a conclusão deste trabalho.

Ao meu orientador, Adriano Márcio, expresso minha gratidão pela orientação, amizade e pelos conhecimentos transmitidos ao longo de toda a formação.

Agradeço, igualmente, as Professoras Sarah Jacqueline e Mayra Ferro, pelas contribuições, ensinamentos, amizade e disposição em colaborar com a pesquisa.

À Universidade Federal de Alagoas e à Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Alagoas, registro meu reconhecimento pelo suporte institucional e financeiro durante toda a formação.

Por fim, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta etapa, deixo consignado o meu mais sincero agradecimento.

## RESUMO

Os cultivos de hortaliças estão presentes em diversos municípios do Estado de Alagoas, sendo um importante recurso econômico para os pequenos produtores locais. No entanto, diversas hortaliças tem apresentado sintomas de podridão mole, uma doença altamente destrutiva causada principalmente por bactérias do gênero *Pectobacterium*. Apesar disso, há poucas informações sobre a diversidade desse patógeno no estado. Neste estudo, 50 isolados patogênicos pertencentes ao gênero *Pectobacterium* foram obtidos de alface, couve e pimentão em regiões produtoras do estado de Alagoas e caracterizados com base na filogenia, utilizando sequências parciais da região 16S rDNA e dos genes *gapA*, *mdh*, *icdA*, *proA* e *recA*. Nas análises moleculares utilizando a região 16S rDNA com os 26 isolados, identificou-se três haplótipos em clados distintos em uma árvore de verossimilhança. A partir dessa análise, oito isolados representativos foram selecionados para compor a filogenia de inferência Bayesiana com os dados concatenados dos genes *gapA*, *mdh*, *icdA*, *proA* e *recA*. Através das análises moleculares três espécies de *Pectobacterium* foram identificadas causando podridão mole em hortaliças no estado de Alagoas: *Pectobacterium brasiliense*, *Pectobacterium aroidearum* e *Pectobacterium* sp. Nesse contexto, o estudo constitui o primeiro relato de espécies pertencentes ao gênero *Pectobacterium* em hortaliças no Estado de Alagoas, Brasil.

**Palavras-chave:** Doenças bacterianas, Pectobacteriaceae, Caracterização molecular.

## ABSTRACT

Vegetable crops are present in several municipalities in the state of Alagoas, representing an important economic resource for small local producers. However, many vegetables have shown symptoms of soft rot, a highly destructive disease mainly caused by bacteria of the genus *Pectobacterium*. Despite this, there is little information about the diversity of this pathogen in the state. In this study, 50 pathogenic isolates belonging to the genus *Pectobacterium* were obtained from lettuce, cabbage, and bell peppers in producing regions of the state of Alagoas and characterized based on phylogeny, using partial sequences of the 16S rDNA region and the genes *gapA*, *mdh*, *icdA*, *proA*, and *recA*. In molecular analyses using the 16S rDNA region with the 26 isolates, three haplotypes were identified in distinct clades in a likelihood tree. Based on this analysis, eight representative isolates were selected to compose the Bayesian inference phylogeny with concatenated data from the genes *gapA*, *mdh*, *icdA*, *proA*, and *recA*. Through molecular analyses, three species of *Pectobacterium* were identified causing soft rot in vegetables in the state of Alagoas: *Pectobacterium brasiliense*, *Pectobacterium aroidearum*, and *Pectobacterium* sp. In this context, the study constitutes the first report of species belonging to the genus *Pectobacterium* in vegetables in the State of Alagoas, Brazil.

**Keywords:** Bacterial diseases, Pectobacteriaceae, Molecular characterization.

## LISTAS DE FIGURAS

|                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Morfologia de colônia de vidro quebrado dos isolados bacterianos obtidos. ...                                 | 19 |
| Figura 2. Genotipagem de bactérias pectinolíticas baseada no marcador <i>Eric</i> -PCR.....                             | 20 |
| Figura 3. Rede de haplótipos formada por isolados pertencentes ao gênero <i>Pectobacterium</i> . ....                   | 21 |
| Figura 4. Árvore filogenética com as respectivas espécies de <i>Pectobacterium</i> de cada .....                        | 23 |
| Figura 5. Prevalência de <i>Pectobacterium</i> spp. causadoras de podridão mole em hortaliças no Estado de Alagoas..... | 24 |



## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1. <i>Primers</i> empregados na amplificação de segmentos genômicos via método de PCRs .....                  | 15 |
| Tabela 2. Sequências genômicas parciais utilizadas nas análises de MLSA, provenientes do banco de dados GenBank..... | 17 |
| Tabela 3. Isolados bacterianos obtidos de hortaliças nos municípios de Alagoas. ....                                 | 19 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**ADE** – Água destilada esterilizada

**BLASTn** – *Basic Local Alignment Search Tool for Nucleotides*

**°C** – Grau Celsius

**CEASAS** – Centrais de Abastecimento Sociedade Anônima

**CIPRES** – *Cyberinfrastructure for Phylogenetic Research*

**CPG** – Caseína hidrolisada, peptona e glicose

**CVP** – Cristal violeta pectato

**DNA** – Ácido desoxirribonucleico

**DNASP** - *DNA Sequence Polymorphism*

**DNTP** – Desoxirribonucleotídeo Trifosfato

**ELISA** – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

**FAO** – *Food and Agriculture Organization*

**GenBank** – Banco de Dados de Sequências Genéticas

**IB** – Inferência Bayesiana

**IBGE** – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

**IBSBF** – Coleção de Culturas de Fitobactérias do Instituto Biológico

**MEGA6** – *Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6*

**MgCl<sub>2</sub>** – Cloreto de magnésio

**MLSA** – *Multilocus Sequence Analysis*

**MrBAYES** – *Bayesian Phylogenetic analysis*

**MUSCLE** – *Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation*

**mL** – Mililitro

**Mm** – Milímetro

**MV** – Máxima verossimilhança

**NCBI** – *National Center for Biotechnology Information*

**ng** – Nanograma

**ng/μl** – Nanogramas por microlitro

**Pae** – Pectina acetil esterase

**PAUP** – *Phylogenetic Analysis Using*

**Pb** – Par de bases

**PCR** – Reação de Cadeia de Polimerase

**qPCR** – Reação de Cadeia de Polimerase quantitativa

**repPCR** – Sequências palindrômicas extragênicas repetitivas

**Pel** – Pectato liase

**Pme** – Pectina metil esterase

**Pnl** – Pectina liase

**rDNA** – Ácido desoxirribonucleico ribossomal

**RNA** – Ácido ribonucleico

**Rep-RNA** – RNA autorreplicante

**SEBRAE** - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas

**SEPLAG** - Secretaria de Planejamento, Gestão e Patrimônio

**t/ha** – Toneladas por hectare

**U/μL** – Unidades por microlitro

**UFC** – Unidades formadoras de colônia

**μL** – Microlitro

**μM** – Micromolar

## SUMÁRIO

|                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------|----|
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                   | 1  |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA.....                                        | 3  |
| 2.1. Importância das hortaliças.....                                 | 3  |
| 2.2. Produção de hortaliças no Estado de Alagoas.....                | 4  |
| 2.3. Podridão mole bacteriana .....                                  | 5  |
| 2.4. Pectobacteriaceae causadoras de podridão mole .....             | 6  |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS.....                                           | 12 |
| 3.1. Local da pesquisa .....                                         | 12 |
| 3.2. Obtenção e seleção dos isolados bacterianos .....               | 12 |
| 3.3. Teste de patogenicidade em alface, couve e pimentão.....        | 12 |
| 3.4. Extração de DNA e análises moleculares.....                     | 13 |
| 3.4.1. Obtenção do perfil genômico dos isolados.....                 | 13 |
| 3.4.2. Haplotipagem e caracterização molecular.....                  | 13 |
| 3.4.3. Análises filogenéticas.....                                   | 17 |
| 4. RESULTADOS .....                                                  | 19 |
| 4.1. Coleta dos isolados bacterianos.....                            | 19 |
| 4.2. Teste de patogenicidade dos isolados.....                       | 19 |
| 4.3. Genotipagem dos isolados pelo método de rep-PCR .....           | 20 |
| 4.4. Determinação do gênero bacteriano pela rede de haplótipos ..... | 20 |
| 4.5. Análise das sequências multilocus (MLSA).....                   | 21 |
| 5. DISCUSSÃO.....                                                    | 25 |
| 6. CONCLUSÃO.....                                                    | 27 |
| 7. REFERÊNCIAS .....                                                 | 28 |

## 1. INTRODUÇÃO

As hortaliças constituem importantes fontes alimentares devido à presença de fitoquímicos, vitaminas, minerais e fibras, essenciais para manutenção da saúde humana (Rolnik; Olas, 2020). A China é a principal produtora de hortaliças do mundo, com aproximadamente 1,1 bilhão de toneladas, enquanto Brasil constitui uma pequena parcela, com cerca de 9 milhões de toneladas, concentradas predominantemente nas regiões sul e sudeste do país (FAO *et al.*, 2020).

No Nordeste brasileiro, a horticultura está amplamente distribuídas em diversos estados, incluindo Alagoas (Brainer, 2021). Entre as mesorregiões alagoanas, o Agreste se destaca como o principal polo hortícola, com o município de Arapiraca apresentando a maior produtividade e concentrando mais de 800 produtores responsáveis pelo cultivo de uma grande variedade de hortaliças (SEBRAE, 2023). Dentre as principais culturas produzidas na região, destaca-se o coentro (10.773 toneladas), tomate (9.501 toneladas) e batata-doce (5.837 toneladas) (SEPLAG, 2016; IBGE, 2017).

Apesar da importância econômica e social do cultivo de hortícolas, o setor ainda enfrenta desafios significativos, especialmente relacionados à manutenção da qualidade dos produtos destinados à exportação (Mattos *et al.*, 2009). Entre os obstáculos no plantio de olericulturas, destaca-se a elevada suscetibilidade das culturas a doenças, como a podridão mole bacteriana, que ocasiona perdas expressivas ao longo da cadeia produtiva (Lana; Moita, 2020).

A podridão mole bacteriana é uma doença de ampla distribuição, afetando diversas culturas de hortaliças em todo mundo, incluindo o Brasil (Cardoso, 2019). Entre os principais agentes fitopatogênicos destacam-se espécies do gênero *Pectobacterium*, bactérias pectinolíticas produtoras de enzimas capazes de degradar a pectina, componente estrutural da parede celular vegetal (Grimault *et al.*, 1997). Os sintomas característicos são encharcamento, maceração, perda da coloração e odor fétido, os quais são intensificados por condições ambientais favoráveis, especialmente elevada temperatura e umidade (Romeiro, 2005). Esses fatores aceleram a progressão da doença, reforçando a necessidade da aplicação de técnicas de diagnósticos para identificação da podridão mole (Van Gijsegem; Van Der Wolf; Toth, 2021).

A identificação de bactérias fitopatogênicas, pode ser realizada por meio das características morfológicas, testes bioquímicos e imunológicos; no entanto, as técnicas moleculares têm se destacado pela maior precisão e reprodutibilidade (Umesha; Avinash, 2015). Entre essas abordagens, a *polymerase chain reaction*, apresenta uma alta sensibilidade e confiabilidade, obtendo-se um rápido resultado. Desta forma, a PCR se tornou uma ferramenta essencial para a detecção mais precisa de espécies-alvo, contribuindo diretamente para tomada de decisões do manejo da doença em hortaliças (Preethi; Umesha, 2025).

No Estado de Alagoas, estudos sobre a diversidade de bactérias associadas à podridão mole em hortaliças ainda são limitados. Considerando que o conhecimento dessa diversidade é fundamental para o desenvolvimento de estratégias eficazes de manejo da doença, o presente estudo teve por objetivo identificar a diversidade de *Pectobacterium* spp. causadoras de podridão mole em hortaliças cultivadas no Estado de Alagoas, utilizando análise de sequências multilocus (MLSA).

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Importância das hortaliças

As hortaliças constituem um amplo grupo de plantas que desempenham um papel fundamental na alimentação, devido à sua composição de macro e micronutrientes essenciais para a saúde humana (Rolnik; Olas, 2020). Em 2018, a produção de hortaliças alcançou aproximadamente 1,1 bilhão de toneladas, com a China respondendo por 50,7% desse total. No mesmo ano, o Brasil atingiu uma produtividade de 9 milhões de toneladas (FAO *et al.*, 2020). Adicionalmente, dados indicam que, em 2015 a horticultura brasileira registrou uma produção superior a 19 milhões de toneladas (Clemente, 2015).

Estima-se que no Brasil, mais de 30 espécies de hortaliças sejam cultivadas em atividades agrícolas, sendo responsável pela geração de mais de 13 milhões de empregos na agricultura familiar (Carvalho; Kist; Beling, 2019). Entre os cultivos que concentram os maiores volumes de produção destacam-se o tomate, a batata, a cebola, a cenoura, a batata-doce e o alho. Essa diversidade de hortaliças, representa uma vantagem para os pequenos agricultores, por possibilitar o escalonamento da produção e o cultivo em diferentes épocas do ano (Clemente, 2015).

A Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) realizou um levantamento sobre a comercialização de hortícolas, incluindo alface, batata, cebola, cenoura e tomate em Centrais de Abastecimento (CEASAs) de diversos estados brasileiros, abrangendo os período de 2023 a 2025. Nesse intervalo, foi registrada um movimentação de 5 milhões de toneladas comercializadas. Em 2023, o maior volume de comercialização ocorreu em agosto, com cerca de 450 mil toneladas. Em 2024, outubro apresentou uma média de 440 mil toneladas, enquanto que em 2025, o pico foi observado em julho, com aproximadamente de 430 mil toneladas comercializadas (Companhia Nacional de Abastecimento, 2025).

Segundo o Censo Agropecuário 2017, a região do Nordeste brasileiro possui a maior quantidade de estabelecimentos nacionais dedicados à horticultura, abrangendo cerca de 41%. No entanto, a região do Sudeste se destaca pelo maior valor de produção em comparação as outras macrorregiões. Nas regiões do Nordeste brasileiro, o Estado do Maranhão produz principalmente coentro, alface, cebolinha, quiabo e milho verde; O Piauí destaca-se na produção de coentro, cebolinha, alface, milho verde, tomate e

pimentão. Já nos Estados da Paraíba, Rio Grande do Norte, Pernambuco, Alagoas e Sergipe, se assemelham na preferência da produção de batata-doce, coentro e alface. No estado da Bahia, tem-se a maior produção de tomate e alface (Brainer, 2021).

## **2.2. Produção de hortaliças no Estado de Alagoas**

A horticultura é bastante distribuída pelo estado de Alagoas, presente em diversos municípios, constituindo uma importante fonte econômica tanto para o estado quanto para às unidades familiares que compõem 90,6% dos estabelecimentos agropecuários (SEPLAG, 2016). De acordo com o Censo Agropecuário do IBGE (2017), Alagoas obteve uma vasta produção de hortaliças em toneladas, com destaque para o coentro, que liderou com 10.773 toneladas, seguindo pelo tomate (9.501 toneladas) e pela batata-doce (5.837 toneladas). Na sequência, destacam-se a produção de alface (4.329 toneladas), inhame (3.095 toneladas), abóbora (1.642 toneladas), couve (1.166 toneladas) e pimentão (933 toneladas). A cebolinha apresentou uma produção de 931 toneladas, enquanto o repolho alcançou 425 toneladas. As hortícolas rúcula, berinjela, couve-flor e cebola, registraram produções menores de 107, 70, 22 e 6 toneladas, respectivamente.

Entre as mesorregiões alagoanas, destaca-se o Agreste como o principal produtor de hortaliças, englobando vários municípios que desempenham essa atividade agrícola como Limoeiro de Anadia, União dos Palmares, Arapiraca, Taquarana, entre outros. O município de Arapiraca é a principal região com maior produção de hortaliças no agreste alagoano, englobando cerca de 800 produtores que cultivam uma grande variedade de hortaliças como alface, coentro, cebolinha, entre outros (SEBRAE, 2023).

No entanto, na região do Sertão alagoano, os produtores rurais se adaptaram-se às condições locais e implementaram o cultivo de hortaliças em pequenas propriedades, tanto para subsistência quanto para obtenção de uma renda econômica. O município de Água Branca, é um grande produtor de segmentos orgânicos, cultivando variedades intermitentes como coentro, tomate, pimentão, alface, cebolinha, couve, pimenta e abóbora (Barboza, 2022).

No Leste alagoano, apesar da predominância de cana-de-açúcar, não é somente dessa cultura que se movimenta a economia dessa mesorregião. O solo fértil e clima chuvoso, favorece o desenvolvimento de diversas culturas. Em Coruripe, encontra-se a produção de hortaliças como alface, repolho, couve, coentro, chuchu, abóbora, batata-doce, macaxeira e inhame (Dos Santos, 2019).



Apesar das condições favoráveis de solo e clima em Alagoas para o plantio de hortaliças, os diferentes fatores ambientais podem aumentar a susceptibilidade na instalação e propagação de patógenos que causam danos direto ou indiretamente a produção (Pereira; Pinheiro, 2012). As doenças bacterianas, como podridão mole pode ocorrer no pré ou pós colheita, resultando em danos significativos que levam a perda total da safra (Chaves; Tofoli, 2024).

### **2.3. Podridão mole bacteriana**

A podridão mole é uma doença bacteriana causada por bactérias pectinolíticas pertencentes à família *Pectobacteriaceae*, que infectam uma ampla gama de hospedeiros vegetais e provocam danos irreversíveis às plantas. Esses patógenos produzem enzimas extracelulares como pectato liase (Pel), pectina liase (Pnl), pectina metil esterase (Pme) e pectina acetil esterase (Pae), responsáveis pela degradação da pectina, um componente estrutural importante da parede celular que confere rigidez ao tecido vegetal (Dess *et al.*, 2017).

Entre os diversos organismos capazes de causar podridão mole em hortaliças, destacam-se a virulência de espécies do gênero *Pectobacterium*, associadas a culturas como batata, cebola, tomate e pimentão. A doença pode ocorrer tanto em pré quanto em pós- colheita, sendo influenciada por fatores ambientais, edáficos pelas condições fisiológicas do hospedeiro, que favorecem a colonização e a disseminação dos fitopatógenos (Filho *et al.*, 2018).

Diversas hortaliças são afetadas pela podridão mole, resultando em perdas significativas durante o cultivo. Entre as principais culturas afetadas, destacam-se a alface e a couve-chinesa, que apresentam sintomas iniciais de murcha das folhas externas. À medida que a doença progride, observa-se encharcamento, maceração e esverdeamento, culminando no apodrecimento total da planta (Ren; Petzoldt; Dickson, 2001).

Em batata, a podridão mole manifesta-se por lesões úmidas e escurecimento das hastes, podendo evoluir para amarelamento e murcha da parte aérea em condições mais severas. Os tubérculos infectados apresentam textura amolecida ou cremosa, coloração escura e odor desagradável. As bactérias associadas aos tubérculos doentes, podem ser liberadas no solo e disseminarem para tubérculos adjacentes, principalmente por meio de água contaminada (Beriam; Destéfano; Occhiena, 2020).

Em culturas como tomate, berinjela e pimentão, observa-se escurecimento do caule, enquanto nos frutos surgem manchas encharcadas e irregulares, geralmente

iniciadas nos pedúnculos, que evoluem para apodrecimento total com aspecto amolecidos (Bergamin; Kimati; Amorim, 1995).

Atualmente, não existem métodos de controle da podridão mole, sendo as estratégias disponíveis baseadas principalmente em medidas preventivas e profiláticas para mitigar os danos causados pela doença (Motyka *et al.*, 2017). Apesar dos avanços tecnológicos, ainda há necessidade do desenvolvimento de ferramentas capazes de detectar precocemente bactérias pectinolíticas, de modo a reduzir os impactos sobre as culturas vegetais. A diversidade dos gêneros que integram a Família Pectobacteriaceae, aliada à influência de fatores ambientais e a susceptibilidade dos hospedeiros, representam um grande desafio para o controle da podridão mole (Kabir; Taheri; Dumenyo, 2020).

#### **2.4. Pectobacteriaceae causadoras de podridão mole**

O gênero *Pectobacterium* é amplamente estudado por causar significativas perdas econômicas em diferentes culturas. Espécies pertencentes a esse gênero, estão listadas entre as 10 bactérias fitopatogênicas mais destrutivas do mundo (Mansfield *et al.*, 2012). Taxonomicamente, o gênero pertence ao domínio Bacteria, Filo Proteobacteria, Classe Gammaproteobacteria, Ordem Enterobacteriales e, recentemente, alocado na Família Pectobacteriaceae. Estas bactérias são Gram-negativas, anaeróbicas facultativas, apresentam formato de bastonetes com a presença de flagelos (Adeolu *et al.*, 2016).

As espécies de *Pectobacterium* e *Dickeya* foram inicialmente agrupadas no gênero *Erwinia* como proposto por Winslow *et al.* (1920), que inclui bactérias pectinolíticas Gram-negativas, flageladas, fermentativas e não esporulantes. Esse agrupamento foi subdividido em três seções: Amylovora (espécies necrotróficas), Carotovora (espécies pectinolíticas causadoras de podridão mole) e Herbicola (isolados que apresentavam pigmentos amarelos, incluindo saprófitas). Posteriormente, em 1945, Waldee propôs a transferência das bactérias pectinolíticas do grupo Carotovora para o gênero *Pectobacterium*, uma reclassificação posteriormente consolidada por Dye (1969).

Com base em análises genômicas, Samson *et al.* (2005) propuseram a reclassificação de *Erwinia chrysanthemi* em um novo gênero, denominado *Dickeya*, inicialmente composta por seis espécies. Posteriormente, Adeolu *et al.* (2016), revisaram a classificação da antiga família Enterobacteriaceae, reorganizando-a na ordem Enterobacteriales, que passa a englobar diversas famílias, incluindo a Pectobacteriaceae. Essa família, frequentemente referida como “Soft rot Pectobacteriaceae” reúne gêneros de bactérias fitopatogênicas responsáveis por podridão mole, destacando-se *Pectobacterium* e *Dickeya*, além de outros gêneros associados, como *Lonsdalea* e *Brenneria* (Adeolu *et*

*al.*, 2016).

Avanços nas análises filogenéticas, particularmente baseadas na região 16S rDNA, resultaram em um aumento significativo no número de espécies reconhecidas do gênero *Pectobacterium*. Atualmente, são descritas 20 espécies, incluindo *P. actinidiae*, *P. aquaticum*, *P. aroidearum*, *P. atrosepticum*, *P. betavascularum*, *P. brasiliense*, *P. cacticida*, *P. carotovorum*, *P. fontis*, *P. odoriferum*, *P. parmentieri*, *P. parvum*, *P. peruvienne*, *P. polaris*, *P. polonicum*, *P. punjabense*, *P. quasiahquaticum*, *P. versateli*, *P. wasabiae* e *P. zantedeschiae* (Van Gijsegem; van der Wolf; Toth, 2021).

O gênero *Dickeya* também apresentou um aumento no número de espécies por meio das análises filogenéticas, genômicas e fenotípicas de isolados de coleções antigas. Como resultado, uma reorganização taxonômica foi proposta, culminando no reconhecimento de 12 espécies aceitas: *D. aquatica*, *D. chrysanthemi*, *D. dadantii*, *D. dianthicola*, *D. fangzhongdai*, *D. lacustris*, *D. oryzae*, *D. paradisiaca*, *D. poaceiphila*, *D. solani*, *D. undicola* e *D. zae* (Hugouvieux-Cotte-Pattat; Pédrón; Gijsegem, 2023).

Nesse contexto, observa-se que ao longo dos anos, a organização taxonômica dos agentes causadores de podridão mole tem sido fundamentada em testes bioquímicos, sorológicos e moleculares (Narayanasamy, 2011). Destacam-se, em especial, as abordagens moleculares baseadas na análise da região 16S ribossomal, por se tratarem de métodos rápidos, específicos e altamente sensíveis. Essas abordagens envolvem a *Polymerase chain reaction* (PCR), na qual fragmentos de DNA são amplificados por meio de *primers* específicos direcionados a genes delimitados. A partir dessas análises, torna-se possível uma reorganização mais confiável das espécies, contribuindo para maior precisão na sua caracterização taxonômica (Kang; Knwon; Go, 2003).

## **2.5. Métodos de diagnósticos e identificação de *Pectobacterium* spp.**

Entre os métodos clássicos de identificação bacteriana, destacam-se as abordagens baseadas na caracterização morfológica das colônias das bactérias pectinolíticas. Nessas análises, observa-se o aspecto de “vidro quebrado” com o auxílio de lupa com iluminação oblíqua, que constitui uma característica diagnóstica típica de bactérias produtoras de pectina (Kelman; Dickey, 1995). Adicionalmente, outras características das colônias são observadas a olho nu, como o formato, a coloração e textura (Baris, 2009; Ryskaliyeva *et al.*, 2020). Somando-se a isso, existe a técnica de coloração de Gram, que é um método colorimétrico para evidenciar a composição da parede celular bacteriana, permitindo a distinção entre bactérias gram-positivas ou gram-negativas (Wilson, 1997).

Além dessas abordagens, os testes bioquímicos são amplamente utilizados, por

serem técnicas simples e de baixo custo. Por meio desses testes, é possível avaliar a degradação de pectina, o equilíbrio de pH, a produção de indigoidina, entre outras reações metabólicas (Shrestha, 2025). Os meios de culturas seletivos são amplamente utilizados para identificação de bactérias pectinolíticas, destacando-se o meio de cristal violeta pectato (CVP), amplamente reconhecido como o mais seletivo para detecção de bactérias produtoras de pectina. De forma complementar, o meio de caseína-peptonaglicose (CPG) que também é usado para a mesma finalidade (Kelman; Dickey, 1995; Hélias *et al.*, 2012). Além disso, pode-se utilizar o meio de cultura Miller-Scroth para identificação e diferenciação de espécies do gênero *Pectobacterium* (Pierce; McCain, 1992).

Apesar da importância dos testes bioquímicos para identificação dos organismos cultivados *in vitro*, essas técnicas apresentam limitações consideráveis, como a falta de padrões característicos dos isolados patogênicos com gêneros ou espécies conhecidas e dependência de condições específicas para o crescimento bacteriano, levando a uma baixa precisão dos resultados (Toth; Avrova; Hyman, 2001). Outro fator limitante, é que os métodos bioquímicos apresentam precisão restrita na identificação de bactérias não convencionais. Essas abordagens tendem a ser mais acuradas para a caracterização de bactérias comuns e pouco exigentes, mostrando-se menos eficientes para o diagnóstico de grupos bacterianos atípicos ou com maiores exigências nutricionais (Arbefeville; Timbrook; Garner, 2024).

Ainda sobre os métodos convencionais, destaca-se os métodos sorológicos usados para detecção de espécies bacterianas, como os testes de aglutinação (Graham, 1963), imunofluorescência (De Boer; Copeman; Vrugink, 1979), difusão dupla em agar (Dickey; Zumoff; Uyemoto, 1984) e Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – ELISA (Gorris *et al.*, 1994). Entre as técnicas citadas, a ELISA é o método imunoenzimático mais utilizado, em razão do seu baixo custo, alta sensibilidade e especificidade, além da possibilitar a realização de análise simultânea de múltiplas amostras (Sakamoto *et al.*, 2018). Esse diagnóstico, baseia-se na reação antígeno-anticorpo, sendo selecionados antígenos específicos que compõem a parede celular bacteriana da espécie de interesse. Entretanto, os métodos imunológicos como o ELISA podem apresentar resultados falso-positivos, além de limitações de detecção de patógenos que estejam em baixas concentrações (Filho, 2023).

Diante dos fatores limitantes dos métodos convencionais, buscaram-se alternativas mais eficazes para identificação bacteriana. Diante disso, a técnica molecular por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) tornou-se uma forte aliada na detecção e organização das classes bacterianas em níveis de gêneros e espécies. Diferentemente dos

testes bioquímicos e fisiológicos, o PCR permite uma detecção mais precisa e relativamente rápida de bactérias fitopatogênicas (López *et al.*, 2017).

Entre os tipos de PCR, ressalta-se o PCR convencional, que permite detectar a presença ou ausência de um alvo específico por meio do uso de um único par de primer, apresentando como vantagens a alta sensibilidade e especificidade, além de não sofrer interferência de outros primers, porque só é utilizado um par (Rahman *et al.*, 2013). Enquanto que a PCR multiplex, possibilita a utilização de múltiplos primers específicos na mesma reação em cadeia, permitindo a detecção simultânea da espécie-alvo (Czechowski *et al.*, 2004).

Outro método relevante é a PCR em tempo real (qPCR) ou quantitativa, a qual oferece elevada sensibilidade, especificidade e, sobretudo, um tempo de processamento reduzido quando comparado a outras técnicas aplicadas aos diagnósticos de fitopatógenos (Cankar *et al.*, 2006). O qPCR utiliza marcadores fluorescentes, que amplificam e quantificam em tempo real o DNA ou RNA, sendo amplamente adotado na atualidade (Harshitha; Arunraj, 2021). Ademais, destaca-se o PCR com sequências palindrômicas extragênicas repetitivas (rep-PCR), que é empregado para avaliar a relação entre os isolados. Esse método é menos complexo e utiliza primers complementares a sequência de DNA duplicadas, que são naturalmente mais presentes nos genomas bacterianos. Desta forma, o rep-PCR permite identificar os isolados de espécies distintas (Havenga *et al.*, 2022).

Diversos estudos são conduzidos e baseados em sequências de análises moleculares da região 16S Ribossomal. O conhecimento acerca da região 16S, mostrou-se promissor para uma organização precisa dos microrganismos procariontes, uma vez que essa é evolutivamente conservada nas bactérias. Ainda assim, existem variações específicas na sequência de pares de bases nessa região, permitindo a diferenciação dos tipos bacterianos (Atlas; Bartha, 1998).

Por fim, ressalta-se a análise de sequências multilocus (MLSA), que vem sendo cada vez mais utilizada na organização taxonômica e na identificação de espécies bacterianas (Glaeser; Kämpfer, 2015). Essa abordagem baseia-se no sequenciamento de nucleotídeos de diversos genes codificadores de proteínas para alcançar uma melhor correlação entre os isolados. A MLSA proporciona uma maior precisão filogenética, uma vez que as sequências são concatenadas em uma ordem definida e alinhadas com as sequências de referências correspondentes (Gevers *et al.*, 2005).

Diante do exposto, observa-se que as técnicas tradicionais ainda permanecem em uso, sobretudo por fornecerem um parâmetro inicial do tipo bacteriano analisado (Scala; Pucci; Loreti, 2018). No entanto, as técnicas moleculares, como PCR e MLSA, representam um avanço significativo na identificação e organização taxonômica de maneira mais precisa e confiável, razão pela qual estão sendo amplamente utilizada em diversas pesquisas científicas (De Jesús *et al.*, 2024).

## 2.6. Diversidade de espécies de *Pectobacterium* em hortaliças

O gênero de *Pectobacterium* compreende uma ampla diversidade de espécies fitopatogênicas capazes de infectar diferentes hospedeiros, apresentando a habilidade de persistir de forma latente em plantas assintomáticas (Ma *et al.*, 2007). Esta capacidade favorece a propagação da bactéria através de manejo na cultura, água contaminada e restos culturais, contribuindo para instalação da doença, especialmente hortaliças, que apresentam uma susceptibilidade a doenças (Czajkowski *et al.*, 2011).

As hortaliças são as principais culturas afetadas pela podridão mole causada por espécies do gênero *Pectobacterium* (Zaczek-Moczydłowska *et al.*, 2019). Em cultivos de chicória no Estado de São Paulo, foram observados sintomas de encharcamento e necrose, sendo a infecção por *Pectobacterium brasiliense* confirmada por análise molecular do DNA isolado (Appy *et al.*, 2023).

O *Allium fistulosum*, popularmente conhecido como cebolinha, apresenta elevada suscetibilidade a doenças bacterianas, incluindo a podridão mole. Bulbos sintomáticos localizados em cultivos na China, foram desinfestados para posterior isolamento das bactérias e, por meio da análise das sequências de rDNA da região 16S, verificou-se elevada similaridade com *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (Zhu *et al.*, 2023).

Em brócolis, registrou-se uma significativa perda na produção devido a infecção bacteriana, caracterizada por sintomas de podridão e odor desagradável. A partir de três isolados obtidos, foi possível realizar testes fisiológicos, bioquímicos e moleculares do DNA total extraído, confirmando a presença da *Pectobacterium polaris* como agente causal da podridão mole nessa cultura (Qin *et al.*, 2024).

Tecidos vegetais de pimentão, repolho, cenoura, alface, batata e abobrinha, apresentando sintomas característicos de podridão mole, foram utilizados para o isolamento bacteriano. As amostras foram submetidas à reação em cadeia da polimerase (PCR) e, posteriormente, a análises filogenéticas dos genes *dnaX*, *gapA* e *leuS*. Os

resultados evidenciaram a presença das espécies *P. brasiliense*, *P. carotovorum*, *P. polaris* e *P. versatile* (Parvin, Taghavi; Osdaghi, 2023).

Em folhosas, a podridão mole manifestou-se no repolho por meio de maceração tecidual e descolamento das folhas. A análise da sequência multilocus dos genes *dnaX*, *mdh*, *icdA* e *proA* realizada com cinco isolados, confirmou-se a presença de *Pectobacterium carotovorum*, *Pectobacterium versatile* e *Pectobacterium odoriferum* (Jelusic *et al.*, 2023). Outro estudo identificou em alface sintomas de murcha, descoloramento e odor desagradável. O isolamento bacteriano foi realizado, seguido pela análise do genoma completo, confirmando-se a ocorrência de *Pectobacterium* (Thomas; Narine; Saravanakumar, 2024).

A berinjela representa uma cultura de expressiva importância agrícola, porém é frequentemente acometida pela podridão mole bacteriana. No estudo conduzido por He *et al.* (2023), foram obtidos 15 isolados a partir de lesões no caule, típicas da doença. Posteriormente, realizaram-se ensaios bioquímicos, análises das sequências do gene 16S rRNA e multilocus, bem como testes de patogenicidade. Os resultados confirmaram a infecção por *Pectobacterium*.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Local da pesquisa**

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Bioquímica e Fitopatologia do *Campus* de Engenharias e Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Alagoas, CECA/UFAL.

#### **3.2. Obtenção e seleção dos isolados bacterianos**

Os isolados bacterianos foram coletados em alface, couve e pimentão com sintomas típicos de podridão mole em plantios comerciais nos municípios de Arapiraca, Limoeiro de Anadia e Taquarana no estado de Alagoas, Brasil. A seleção dos isolados se deu a partir da identificação bacterianas em meio CPG (1g de caseína hidrolisada, 10g de peptona, 10g de glicose, 18g de ágar, completando o volume com água destilada esterilizada (ADE) até completar 1000mL. Através desse meio, as colônias jovens de bactérias pectinolíticas que apresentaram aspecto de “vidro quebrado” foram selecionadas (Kelman e Dickey 1995). Os novos isolados bacterianos foram catalogados e depositados na coleção de Fitopatógenos da Universidade Federal de Alagoas (COUFAL).

#### **3.3. Teste de patogenicidade em alface, couve e pimentão**

Para o teste de patogenicidade em folhas de alface e couve, utilizou-se suspensões bacterianas [ $A_{570} = 0,36 (\pm 1,0 \times 10^9 \text{ UFC mL}^{-1})$ ] preparadas a partir de culturas que cresceram em meio casamino acid-peptone-glucose (CPG) por 48 h a uma temperatura de 28°C. As suspensões foram inoculadas pelo método de picada, que consiste na realização de uma lesão na nervura central das folhas, seguida da deposição de 20 µL da suspensão bacteriana. No caso do pimentão, a inoculação foi realizada em lados opostos do fruto, utilizando palitos previamente esterilizados, obtendo pequena quantidade da colônia bacteriana e penetrando a uma profundidade de 1 mm (Mariano *et al.*, 2016). O tratamento controle consistiu em folhas de alface e couve, e fruto de pimentão inoculados com ADE. Após as inoculações, as folhas e frutos foram submetidos à câmara úmida por 6 horas e as avaliações realizadas até 48 horas após a inoculação.



### 3.4. Extração de DNA e análises moleculares

A extração do DNA genômico foi realizado de acordo com o método descrito por Ausubel *et al.* (2003). A qualidade do DNA genômico foi visualizada em gel de agarose e corado com SyBr Gold (*Thermo Fish Scientific*). As amostras foram quantificadas em *NanoDrop Lite Plus Spectrophotometer*, ajustadas para concentração final de 20 ng/μl, e armazenadas a - 20° C.

#### 3.4.1. Obtenção do perfil genômico dos isolados

Os isolados patogênicos à alface, couve e pimentão foram selecionados para realização de uma triagem inicial por meio da técnica de genotipagem (rep-PCR) adaptada de Versalovic *et al.* (1991). Utilizando-se o par de primers ERIC (ERIC1R 5'ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC3' e ERIC2R 5'AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG3'), as reações de PCR receberam 1X de Master Mix 2X (Promega) (0,05 U/μL de Taq DNA polimerase, tampão de reação, 4 Mm de MgCl<sub>2</sub>, 0,4 Mm de cada DNTP), 10 μM de cada primer e 100 ng de DNA.

As amostras foram amplificadas em termociclador modelo MaxyGene Gradient, com as seguintes condições: desnaturação inicial a 95°C por 7 minutos; 30 ciclos de desnaturação a 94°C 1 minuto, anelamento a 53 °C por 1 minuto e extensão a 65 °C por 8 minutos, seguido de uma extensão final a 65 °C por 15 minutos. Os produtos da PCR foram visualizados em gel e agarose a 1,5%, corados com SyBr e visualizados em sob luz UV.

#### 3.4.2. Haplotipagem e caracterização molecular

Inicialmente foi realizada um haplotipagem com base na comparação das sequências de nucleotídeos da região 16S rDNA. As sequências dos isolados foram analisadas com o algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1990) e o banco de dados de nucleotídeos não-redundante GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) para determinar as sequências com as quais elas compartilham maior identidade. A rede de haplótipos foi determinada pela construção de uma árvore filogenética de verossimilhança realizada no programa MEGA v.12. Após essa análise, isolados representativos de cada haplótipo foram selecionados para compor a filogenia sequenciando o seguinte conjunto de genes: Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase A, Malato desidrogenase, Isocitrato desidrogenase, específica para NADP<sup>+</sup>, Gama glutamil fosfato redutase e Recombinase A para identificação precisa das espécies *Pectobacterium*.

As reações de PCR montadas com 1µM de cada primer, 0,1mM de DNTP, 1,5mM de MgCl, 1X tampão, 1U de Taq e 50ng de DNA, seguindo o método de Dos Santos *et al.* (2019). Foram utilizados os primers 27Wf/1492Rv, sob as seguintes condições de termociclagem: desnaturação de 94°C por 2 minutos e 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 55°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 1 minuto; por fim, extensão final de 72°C por 10 minutos. Para identificação a nível de espécies dos isolados obtidos no presente estudo, foi realizada a amplificação via PCR utilizando primers específicos dos genes *gapA*, *mdh*, *icdA*, *proA* e *recA* (Tabela 1).

**Tabela 1.** *Primers* empregados na amplificação de segmentos genômicos via método de PCRs.

| GENES                              | NOME COMPLETO                                      | SEQUÊNCIA                                           | TAMANHO DA<br>SEQUÊNCIA (PB) | TERMOCICLAGEM                                                                                                                                                        | TIPO<br>GÊNERO<br>E ESPÉCIE | REFERÊNCIA               |
|------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| <b>gapA326F</b><br><b>gapA845R</b> | Gliceraldeído-3-fosfato<br>desidrogenase A         | ATCTTCCTGACCGACGAAACTGC<br>ACGTCATCTTCGGTGTTAACCCAG | 450                          | Desnaturação inicial; 95°C, 3 min;<br>30 ciclos (Desnaturação: 94°C, 30<br>seg, Anelamento: 52°C, 30 seg,<br>Extensão: 72°C, 1 min); Extensão<br>final, 72°C, 6 min. | Espécie                     | Ma <i>et al.</i> , 2007. |
| <b>mdh86F</b><br><b>mdh628R</b>    | Malato desidrogenase                               | CCCAGCTTCCTTCAGGTTTCAGA<br>CTGCATTCTGAATACGTTTGGTCA | 460                          | Desnaturação inicial; 95°C, 3 min;<br>30 ciclos (Desnaturação: 94°C, 30<br>seg, Anelamento: 52°C, 30 seg,<br>Extensão: 72°C, 1 min); Extensão<br>final, 72°C, 6 min. | Espécie                     | Ma <i>et al.</i> , 2007. |
| <b>icdA400F</b><br><b>icdA977R</b> | Isocitrato desidrogenase,<br>específica para NADP+ | GGTGGTATCCGTTCTCTGAACG<br>TAGTCGCCGTTTCAGGTTTCATACA | 520                          | Desnaturação inicial; 95°C, 3 min;<br>30 ciclos (Desnaturação: 94°C, 30<br>seg, Anelamento: 52°C, 30 seg,<br>Extensão: 72°C, 1 min); Extensão<br>final, 72°C, 6 min. | Espécie                     | Ma <i>et al.</i> , 2007. |

|               |                                    |                         |            |                                                                                                                                                                                                                        |                                 |                                         |
|---------------|------------------------------------|-------------------------|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------------|
| <b>proAF1</b> | Gama glutamil fosfato<br>reductase | CGGYAATGCGGTGATTCTGCG   | 630        | Desnaturação inicial; 95°C, 3 min;<br>30 ciclos (Desnaturação: 94°C, 30<br>seg, Anelamento: 52°C, 30 seg,<br>Extensão: 72°C, 1 min); Extensão<br>final, 72°C, 6 min.                                                   | Espécie                         | Ma <i>et al.</i> , 2007.                |
| <b>proAR1</b> |                                    | GGGTACTGACCGCCACTTC     |            |                                                                                                                                                                                                                        |                                 |                                         |
| <b>RecAf</b>  | Recombinase A                      | GGTAAAGGGTCTATCATGGG    | 730        | Desnaturação inicial; 95°C, 7 min;<br>30 ciclos (Desnaturação: 94°C, 1<br>min, Anelamento: 44°C, 1 min,<br>Extensão: 65°C, 8 min); Extensão<br>final, 65°C, 15 min.                                                    | Espécie                         | Warelton <i>et al.</i> ,<br>2002.       |
| <b>recAr</b>  |                                    | CCTTCACCATACATAATTTGGA  |            |                                                                                                                                                                                                                        |                                 |                                         |
| <b>27Wf</b>   | 16S ribosomal RNA                  | AGAGTTTGATCMTGGCTCAG    | 500 – 900  | Desnaturação inicial; 94°C, 2 min;<br>30 ciclos (Desnaturação: 94°C, 30<br>seg, Anelamento: 55°C, 30 seg,<br>Extensão: 72°C, 1 min); Extensão<br>final, 72°C, 10 min.                                                  | Gênero<br><i>Pectobacterium</i> | Dos Santos <i>et al.</i> ,<br>2019.     |
| <b>1492Rv</b> |                                    | GGTTACCTTGTTACCGACTT    |            |                                                                                                                                                                                                                        |                                 |                                         |
| <b>Eric1R</b> | Rep-PCR                            | ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC3  | 100 – 5000 | desnaturação inicial por 7 minutos<br>à 95°C; 30 ciclos de 1 minuto a 94°<br>C para desnaturação, 1 minuto a<br>53° C para anelamento e 8 minutos<br>a 65° C para extensão; e extensão<br>final por 15 minutos a 65° C | -                               | Versalovic;<br>Koueth; Lupski,<br>1991. |
| <b>Eric2R</b> |                                    | AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG3 |            |                                                                                                                                                                                                                        |                                 |                                         |

Fonte: Autor, 2026.

### 3.4.3. Análises filogenéticas

A análise filogenética foi realizada com as sequências de cada isolado selecionado, sendo inseridas no software Codon Code Aligner v. 6.0.2 ([www.codoncode.com](http://www.codoncode.com)) (Codon Code Corporation, Dedham, Massachusetts, USA), e analisadas visualmente. O arranjo dos nucleotídeos em posições ambíguas, foram corrigidos por comparação das sequências senso e anti-senso. Sequências parciais obtidas para os genes específicos de *icdA*, *gapA*, *mdh*, *proA* e *recA* foram analisadas com o algoritmo BLASTn e o banco de dados de nucleotídeos não-redundante do GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank)) para determinar as espécies com as quais compartilharam maior identidade de sequência (Altschul *et al.*, 1990; Ma *et al.*, 2007).

Os alinhamentos múltiplos das sequências foram realizados através do algoritmo MUSCLE implementado no programa MEGA v.6 e ajustados manualmente. As sequências genômicas das espécies de *Pectobacterium* que estavam disponíveis no GenBank também foram utilizadas na análise (Tabela 2). As árvores filogenéticas foram reconstruídas utilizando inferência Bayesiana com a ferramenta MrBayes (Ronquist *et al.*, 2012) v.3.2.6 disponibilizada no portal CIPRES (Miller *et al.*, 2010). O modelo de substituição de nucleotídeos e o modelo para distribuição de heterogeneidade foram escolhidos com o auxílio dos programas PAUP v.4.0b10 (Swofford, 2003) e MrModelTest2 v.2.3 (Nylander, 2004). As árvores foram visualizadas e editadas nos programas FigTree v. 1.4.23 ([tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree](http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree)).

**Tabela 2.** Sequências genômicas parciais utilizadas nas análises de MLSA, provenientes do banco de dados GenBank.

| Códigos    | Nome das espécies                  | <i>GAP</i> | <i>ICDA</i> | <i>MDH</i> | <i>RECA</i> | <i>PROA</i> |
|------------|------------------------------------|------------|-------------|------------|-------------|-------------|
| KC20       | <i>Pectobacterium aroidearum</i>   | MF443742   | MF443747    | MF443744.1 | -           | MF443743.1  |
| SCRI1043   | <i>Pectobacterium atrosepticum</i> | EU340587   | EF550736.1  | EF550788   | BX950851    | EF550945.1  |
| CFBP1526*  | <i>Pectobacterium atrosepticum</i> | JN600350.1 | JN600339    | JN600342.1 | DQ523478.1  | KCQ16512    |
| IBSBF1692* | <i>Pectobacterium carotovorum</i>  | EF550681.1 | EF550734.1  | EF550786.1 | KU510128.1  | EF550943.1  |

|                   |                                                                  |          |          |          |          |          |
|-------------------|------------------------------------------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
|                   | Subsp<br><i>brasiliense</i>                                      |          |          |          |          |          |
| <b>ATCC15713*</b> | <i>Pectobacterium carotovorum</i><br>subsp<br><i>carotovorum</i> | CP001657 | CP001657 | CP001657 | CP001657 | CP001657 |
| <b>SCRI482</b>    | <i>Pectobacterium carotovorum</i><br>subsp <i>odorierum</i>      | EU340589 | EU340589 | EU340589 | EU340589 | EU340589 |
| <b>ATCC43762*</b> | <i>Pectobacterium betavascularum</i>                             | FJ895843 | FJ895844 | FJ895845 | FJ217089 | FJ895847 |
| <b>CFBP8475*</b>  | <i>Pectobacterium pamentieri</i>                                 | CP015749 | CP015749 | CP015749 | CP015749 | CP015749 |
| <b>ATCC 43316</b> | <i>P. wasabiae</i>                                               | FJ895855 | FJ895856 | FJ895857 | DQ859798 | FJ895859 |
| <b>COUFAL0728</b> | <i>Pectobactrium brasiliense</i>                                 | PZ244499 | PZ244507 | PZ244515 | PZ244531 | PZ244523 |
| <b>COUFAL0729</b> | <i>Pectobactrium brasiliense</i>                                 | PZ244500 | PZ244508 | PZ244516 | PZ244532 | PZ244524 |
| <b>COUFAL0730</b> | <i>Pectobactrium brasiliense</i>                                 | PZ244501 | PZ244509 | PZ244517 | PZ244533 | PZ244525 |
| <b>COUFAL0731</b> | <i>Pectobactrium aroidearum</i>                                  | PZ244502 | PZ244510 | PZ244518 | PZ244534 | PZ244526 |
| <b>COUFAL0732</b> | <i>Pectobactrium aroidearum</i>                                  | PZ244503 | PZ244511 | PZ244519 | PZ244535 | PZ244527 |
| <b>COUFAL0733</b> | <i>Pectobactrium aroidearum</i>                                  | PZ244504 | PZ244512 | PZ244520 | PZ244536 | PZ244528 |
| <b>COUFAL0734</b> | <i>Pectobactrium sp.</i>                                         | PZ244505 | PZ244513 | PZ244521 | PZ244537 | PZ244529 |
| <b>COUFAL0735</b> | <i>Pectobactrium sp.</i>                                         | PZ244506 | PZ244514 | PZ244522 | PZ244538 | PZ244530 |

Fonte: Autor,2026.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Coleta dos isolados bacterianos

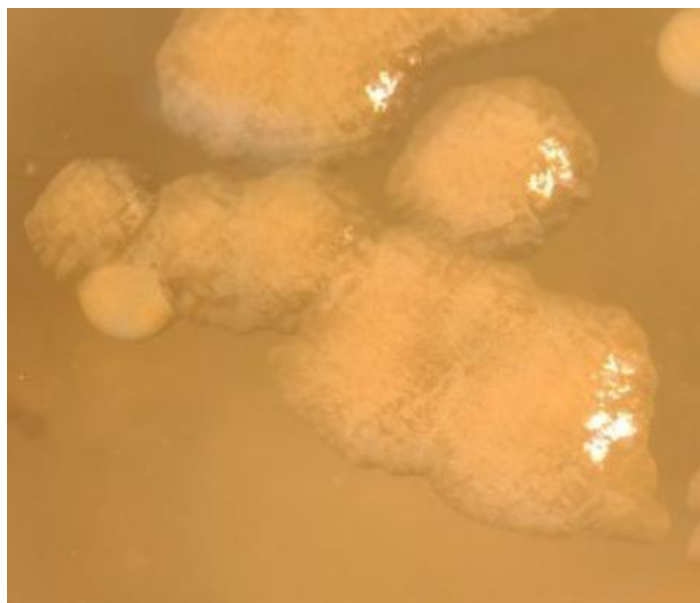
Um total de 66 isolados foi obtido a partir de folhas de alface e couve, assim como de frutos de pimentão (Tabela 3). As colônias dos isolados bacterianos apresentaram em meio CPG aspecto de “vidro quebrado”, característica típica de bactérias pectinolíticas causadoras de podridão mole (Figura 1).

**Tabela 3.** Isolados bacterianos obtidos de hortaliças nos municípios de Alagoas.

| Municípios de coletas | Quantidade de isolados | Hortaliças sintomáticas |
|-----------------------|------------------------|-------------------------|
| Arapiraca             | 40                     | Alface e couve          |
| Taquarana             | 10                     | Alface e pimentão       |
| Limoeiro de Anadia    | 16                     | Alface                  |

Fonte: Autor, 2026.

**Figura 1.** Morfologia de colônia de vidro quebrado dos isolados bacterianos obtidos.



Fonte: Autor, 2026.

### 4.2. Teste de patogenicidade dos isolados

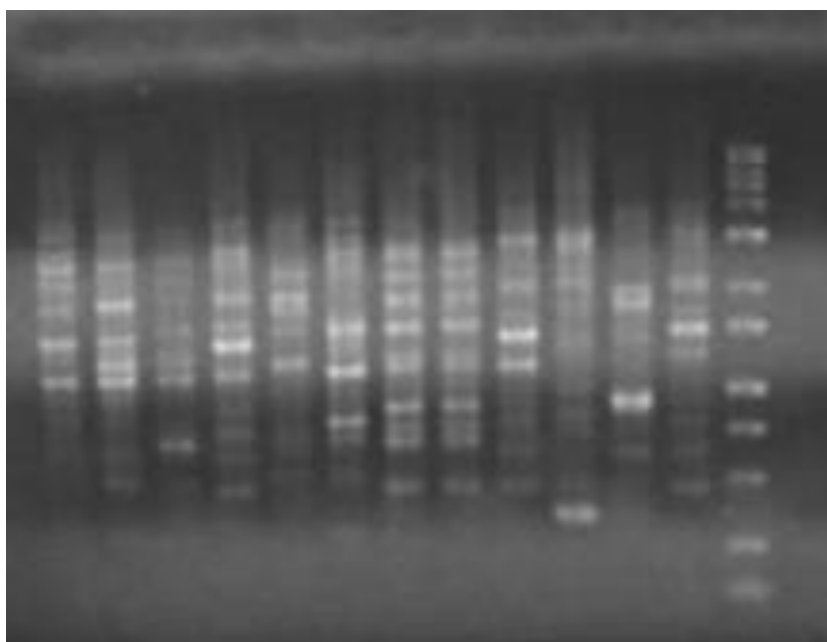
No teste de patogenicidade 50 isolados obtidos foram patogênicos a alface, couve e pimentão, sendo capazes de causar podridão mole nos seus respectivos hospedeiros. Foram observados sintomas característicos da doença, como odor fétido, encharcamento e maceração dos tecidos vegetais, resultando na perda total das hortaliças.

Nenhum sintoma foi observado no tratamento controle. As bactérias foram reisoladas a partir dos tecidos sintomáticos, e os isolados recuperados apresentaram características morfológicas idênticas às das culturas de origem cumprindo assim, os postulados de Koch.

### 4.3. Genotipagem dos isolados pelo método de rep-PCR

A genotipagem foi realizada por meio do método de Rep-PCR utilizando o marcador *Eric*. Esse ensaio evidenciou a presença de diferentes linhagens clonais entre os 50 isolados patogênicos. Desta forma, foram selecionados dois representantes de cada linhagem, totalizando 26 isolados escolhidos para haplotipagem baseada nas sequências da região 16S ribossomal (Figura 2).

**Figura 2.** Genotipagem de bactérias pectinolíticas baseada no marcador *Eric*-PCR.



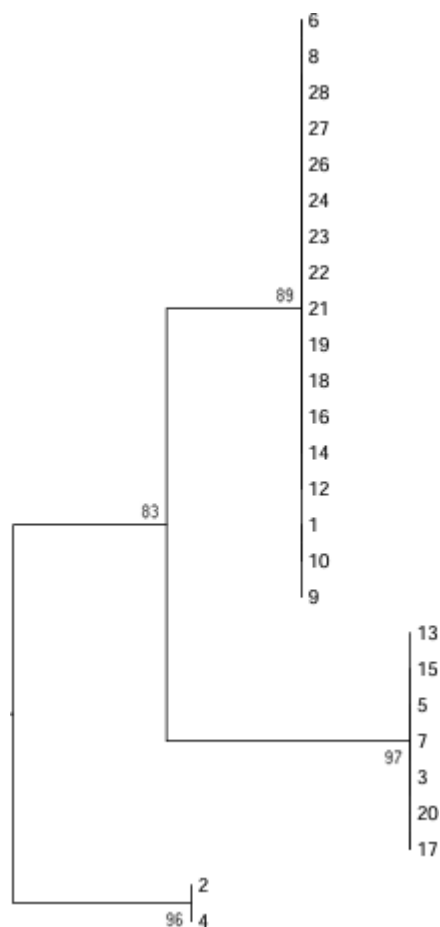
Fonte: Autor, 2026.

### 4.4. Determinação do gênero bacteriano pela rede de haplótipos

Os 26 isolados selecionados na genotipagem, ficaram distribuídos em três clados distintos na árvore de verossimilhança. O primeiro clado foi constituído por 17 isolados; o segundo por sete isolados e o terceiro por dois isolados (Figura 3). O número de isolados enviados para sequenciamento dos genes *gapA*, *icdA*, *mdh*, *proA* e *recA* foi reduzido: selecionados três isolados do clado 1 (16, 23 e 18), três do clado 2 (20, 7 e 15) e dois do clado 3 (2 e 4). Todos os isolados analisados foram identificados como pertencentes ao gênero *Pectobacterium*.



**Figura 3.** Rede de haplótipos formada por isolados pertencentes ao gênero *Pectobacterium*.



Fonte: Autor, 2026.

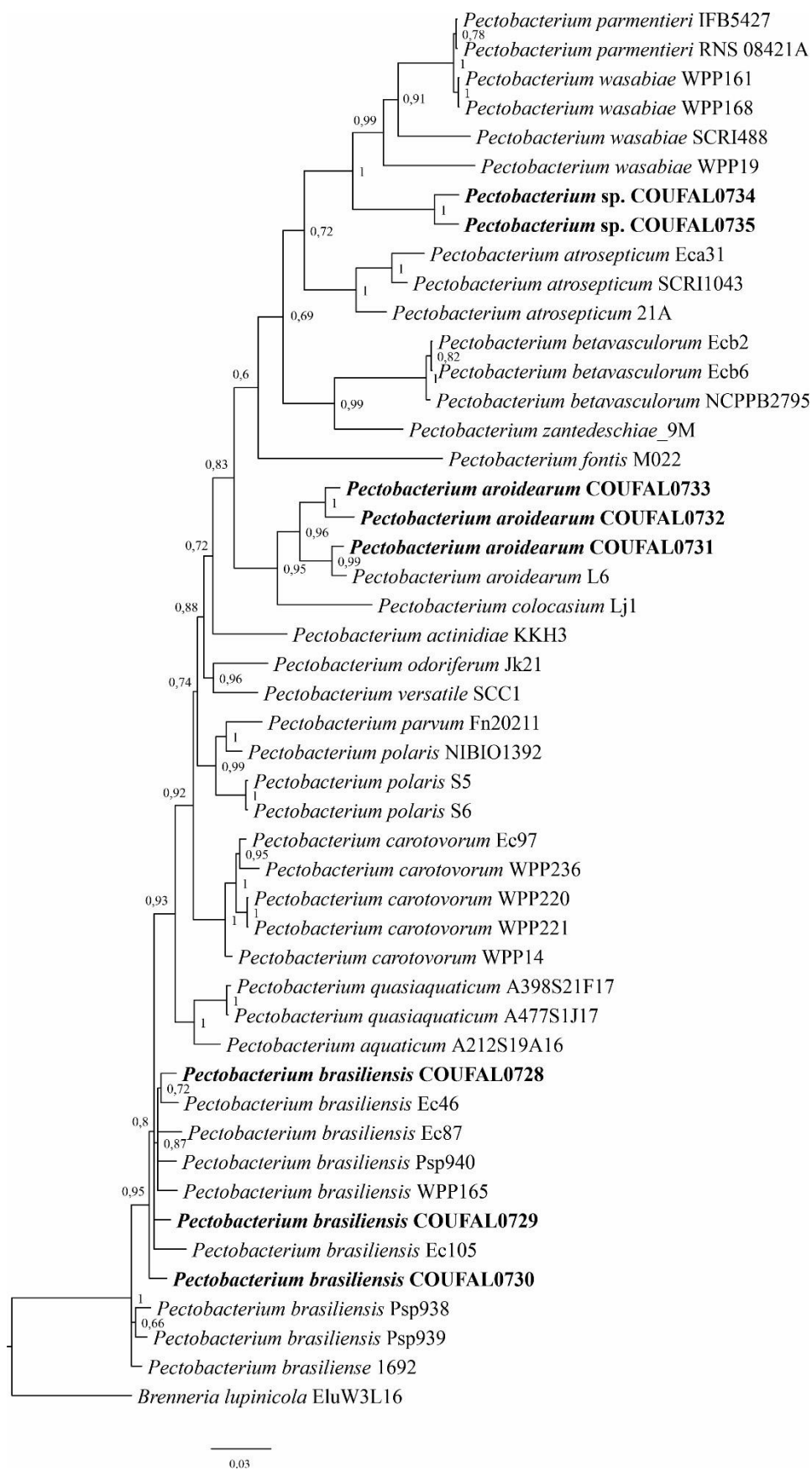
#### 4.5. Análise das sequências multilocus (MLSA)

Os isolados selecionados da rede de haplótipos foram submetidos à caracterização molecular, no qual foram obtidas sequências com 408 bases para *gapA*, 479 para *icdA*, 473 bases para *mdh*, 614 bases para *proA* e 631 para *recA*. A árvore filogenética de Inferência Bayesiana para o conjunto de dados combinados contou com 38 taxons sendo a espécie *Brenneria lupinicola* (EluW3L16) utilizada como taxon externo. O alinhamento apresentou 2569 caracteres, destes 504 eram sítios informativos parcimônia, 1902 eram sítios conservados e 667 eram sítios variáveis. Os limites dos loci nos alinhamentos foram: 1–408 para *gapA*, 409–887 para *icdA*, 888–1324 para *mdh*, 1325–1938 para *proA* e 1939–2569 para *recA*. Nos dados individuais para as análises filogenéticas de BI, foram calculados os seguintes modelos evolutivos de acordo com AIC, SIM+I+G para os genes *gapA*, *mdh* e *recA* e GTR+I+G para os genes *icdA* e *proA*.

Confirmando a análise preliminar da rede de haplótipos, a filogenia de inferência Bayesiana para os dados combinados (*icdA*, *gapA*, *mdh*, *proA* e *recA*) revelaram três espécies que agruparam em clados distintos dentro do gênero *Pectobacterium*, formando grupos bem suportados. Verificou-se que os isolados 16 (COUFAL0728), 23 (COUFAL0729) e 18 (COUFAL0730), gruparam-se com *Pectobacterium brasiliensis*. Os isolados 15 (COUFAL0731), 7 (COUFAL0732) e 20 (COUFAL0733), gruparam-se com *Pectobacterium aroidearum* e os isolados 2 (COUFAL0734) e 4 (COUFAL0735) não se agruparam com nenhuma espécie conhecida do gênero *Pectobacterium*, sendo aqui identificada como *Pectobacterium* sp. (Figura 4).

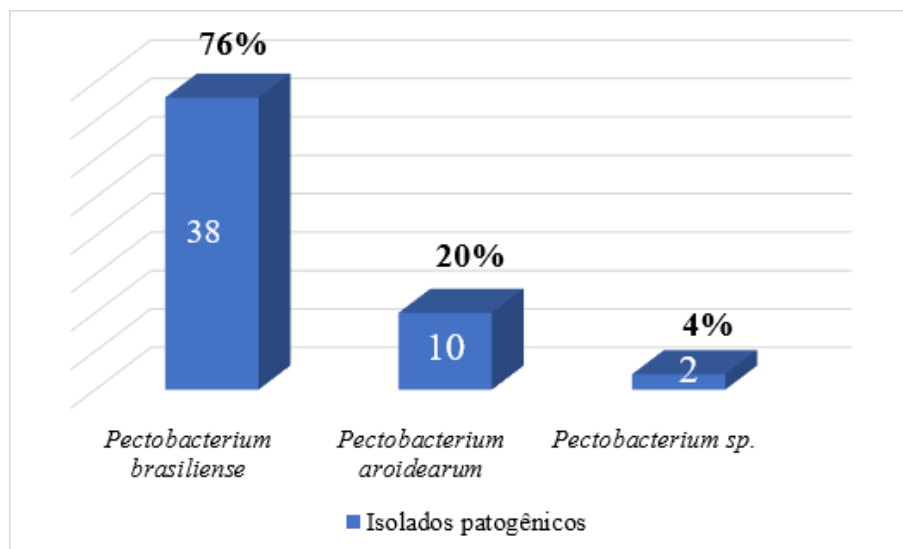
Ao analisar a predominância das espécies de *Pectobacterium* associadas às hortaliças no estado de Alagoas, verifica-se que, entre os 50 isolados patogênicos, a espécie *Pectobacterium brasiliensis* foi a mais frequente, correspondendo a 38 indivíduos (76%). Desses, 37 foram associados à cultura da alface e um à couve. Em menos frequência, 10 isolados foram identificados como *Pectobacterium aroidearum* (20%), sendo nove provenientes da alface e um do pimentão. Por fim, os dois isolados foram classificados como *Pectobacterium* sp. (4%), ocorrendo exclusivamente em plantas de alface (Figura 5).

**Figura 4.** Árvore filogenética com as respectivas espécies de *Pectobacterium* de cada isolado selecionado na técnica de MLSA.



Fonte: Autor, 2026.

**Figura 5.** Prevalência de *Pectobacterium* spp. causadoras de podridão mole em hortaliças no Estado de Alagoas.



Nota: Foram incluídos na análise os 50 isolados patogênicos determinados a partir do teste de patogenicidade realizados com 66 isolados obtidos.

Fonte: Autor, 2026.

## 5. DISCUSSÃO

A podridão mole é uma doença destrutiva, responsável por significativas perdas econômicas na produção de hortaliças, além de ser difundida globalmente (Opara; Asuquo, 2016). A doença é ocasionada por espécies pertencentes aos gêneros de *Pectobacterium* e *Dickeya*, esses agentes possuem fácil propagação e ampla gama de hospedeiros, especialmente na ausência de manejo adequado (Raid, 1997). Os isolados obtidos de hortaliças coletadas dos municípios do Agreste alagoano, foram submetidos ao teste de patogenicidade nos hospedeiros: alface, couve e pimentão. O teste de patogenicidade demonstrou que, dos 66 isolados de *Pectobacterium*, 50 isolados possuíram a capacidade de causar sintomas típicos de podridão mole. Observando-se, ainda, características morfológicas de colônias típicas de bactérias pectinolíticas. O teste de patogenicidade é uma técnica simples, porém amplamente utilizada para avaliar a ampla gama de hospedeiros vegetais que os isolados patogênicos acometem (Moraes, 2018).

A partir da análise filogenética da região 16S ribossomal, foi possível observar que *Pectobacterium* é gênero bacteriano que está causando podridão mole em hortaliças no Agreste alagoano. O avanço tecnológico e estudos genômicos, possibilitaram o conhecimento amplo da região 16S rDNA, uma região conservada, possibilitando comparações dos genomas para identificação precisa de bactérias desconhecidas (Zuo; Xu; Hao, 2015; Demongeot; Seligmann; 2019). A utilização da região 16S rDNA em análises via BLASTn permite identificar, organizar e reclassificar bactérias em distintos táxons (Mashavha, 2013). Com base nessas abordagens genômicas, foi proposta a ordem Enterobacteriales, a qual compreende grandes famílias como Enterobacteriaceae e Pectobacteriaceae, esta última englobando *Pectobacterium*, um dos principais agentes causadores da podridão mole em hortaliças no mundo (Adeolu *et al.*, 2016).

Após a identificação do gênero, oito isolados foram selecionados aleatoriamente entre os 26 representados na rede de haplótipos. Esses isolados foram então submetidos ao sequenciamento e à análise filogenética dos genes *icdA*, *gapA*, *mdh*, *proA* e *recA* para identificação das espécies de *Pectobacterium* associadas à podridão mole em hortaliças no estado de Alagoas. Os resultados demonstraram que os 17 isolados agrupados no primeiro clado da rede de haplótipos pertencem à espécie *Pectobacterium brasiliense*, sendo 16 isolados obtidos da cultura da alface e 1 de couve. Os isolados agrupados no segundo clado foram identificados como *Pectobacterium aroidearum*, dos quais seis foram associados à alface e um ao pimentão. Por fim, os dois isolados presentes no clado três não se agruparam com nenhuma espécie conhecida do gênero *Pectobacterium*, sendo então denominados de *Pectobacterium* sp.

Ao analisar os relatos de infecções causadas pelas mesmas espécies encontradas no presente estudo, observa-se que a ocorrência de *Pectobacterium brasiliense* em hortaliças folhosas é amplamente relatada em diversos países, sendo que alguns estudos se refere a essa espécie por sua nomenclatura antiga de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* (Nabhan *et al.*, 2012). No Havaí, cepas de *P. brasiliense* (PL131 e PL133) foram identificadas em plantações de couve-folha (*Brassica oleracea* var. *sabellica* L.) (Boluk *et al.*, 2020). Na China, foi relatada a ocorrência de *Pectobacterium brasiliense* IBSBF1692 em plantas de mostarda-folha, uma hortaliça amplamente cultivada nas províncias do sul do país (Li *et al.*, 2024).

Ainda na China, sintomas de podridão mole foram observados em couve-flor chinesa (*Brassica parachinensis*), conhecida como Choi-Sum, sendo confirmada a identificação de *P. brasiliense* em 63 isolados associados à cultura (Ding *et al.*, 2026). Em Trinidad, no sul do Caribe, amostras de alface apresentaram sintomas típicos de podridão mole, como descoloração de nervuras, murchamento e odor fétido. A partir das análises moleculares, confirmou-se a presença da *Pectobacterium brasiliense* associada à cultura (Thomas; Narine; Saravanakumar, 2024).

A *Pectobacterium aroidearum* já foi relatada no Brasil. Associada à podridão mole em alface (*Lactuca sativa* L.) e couve-chinesa (*Brassica pekinensis* Rupr.), em cultivos localizados nos municípios de Juazeiro e Petrolina (Barroso *et al.*, 2019). No sul da Geórgia, Estados Unidos, sintomas de podridão mole foram associados à pimentões. Confirmou-se que um dos agentes etiológicos da podridão mole nesse fruto, era a espécie *P. aroidearum* (Hua; Ali; Ji, 2020). Na China, *Pectobacterium aroidearum* foi associada a severos danos em mostarda-folha, um tipo de couve muito cultivado na região Yunnan (Chu *et al.*, 2024).

Os resultados aqui obtidos, contribuem para uma melhor compreensão do patossistema da podridão mole em hortaliças no estado de Alagoas, fornecendo bases científicas para pesquisas futuras. Essas informações poderão, ainda, subsidiar o desenvolvimento de estratégias potenciais de controle e de manejo da doença, bem como contribuir para a mitigação dos danos causados às plantas hospedeiras.

## 6. CONCLUSÃO

- *Pectobacterium brasiliensis*, *Pectobacterium aroidearum* e uma espécie não conhecida do gênero *Pectobacterium* são as bactérias pectinolíticas causadoras de podridão mole em hortaliças no estado de Alagoas.
- A bactéria pectinolítica prevalente em hortaliças no estado de alagoas é *Pectobacterium brasiliensis*.

## 7. REFERÊNCIAS

- ADEOLU, M. *et al.* Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘Enterobacteriales’: Proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** v. 66, p. 5575–5599, 2016. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001485>
- ALTSCHUL, S. F. *et al.* Basic local alignment Search tool. **Journal of Molecular Biology.** v. 215, n. 3, p. 403 – 410, 1990. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- APPY, M. P. *et al.* First Report of *Pectobacterium brasiliense* Causing Soft Rot on Chicory (*Cichorium intybus* subsp. *intybus*) in Brazil. **Plant Disease**, v. 107, n. 7, p. 2214, 2023. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-22-1988-PDN>
- ARBEFEVILLE, S. S.; TIMBROOK, T. T.; GARNER, C. D. Evolving strategies in microbe identification—A comprehensive review of biochemical, MALDI-TOF MS and molecular testing methods. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 79, n. Supplement\_1, p. i2-i8, 2024. <https://doi.org/10.1093/jac/dkae275>
- ATLAS, M.; BARTHA, R. Microorganisms in their natural habitats: air, water, and soil microbiology. **Microbial Ecology: Fundamentals and Applications**. p. 333-373, 1998. Disponível em: <https://www.sciepub.com/reference/171696> Acesso em: 28 de janeiro de 2026.
- AUSUBEL, F. M. *et al.* Current protocols in molecular biology. **New York: John Wiley e Sons**, p. 4648, 2003. Disponível em: <https://hoclai.wordpress.com/wp-content/uploads/2015/09/current-protocols-in-molecular-biology.pdf> Acessado em: 20 de junho de 2024.
- BARBOZA, M. L. do N. *et al.* **Agricultura orgânica e horticultura doméstica em Água Branca**. Trabalho de conclusão de curso (Licenciatura em Geografia), Universidade Federal de Alagoas, Delmiro Gouveia, 2022. Disponível em: <https://www.repositorio.ufal.br/bitstream/123456789/9471/1/Agricultura%20org%C3%A2nica%20e%20horticultura%20dom%C3%A9stica%20em%20%C3%81gua%20Branca.pdf> Acessado em: 20 de junho de 2024.



BARIS, O. Erzurum İlindeki Mağaralarda Damlatışı Oluşumunda Etkili Bakterilerin İzolasyonu Karakterizasyonu Ve Tanısı. **Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Erzurum**, v. 135, 2009.

BARROSO, K. A. *et al.* First report of *Pectobacterium aroidearum* causing soft rot in lettuce and Chinese cabbage in Brazil. **Plant Disease**, v. 103, n. 12, p. 3274, 2019. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-18-2237-PDN>

BERGAMIN F. A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 3. ed. São Paulo: **Agronômica Ceres**, v.1, 1995. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/000886466> Acesso em: 28 de janeiro de 2026.

BERIAM, L. O. S.; DESTÉFANO, S. A. L.; OCCHIENA, E. M. **Doenças bacterianas na cultura da batata. Livro – Batata: Desafios fitossanitários e manejo sustentável.** Editora CRIAR, 2020. Disponível em: <https://boletimtecnico.uplbrasil.com.br/wp-content/uploads/2021/05/Batata-Desafios-fitossanitarios-e-manejo-sustentavel-final.pdf#page=89> Acessado em: 20 de junho de 2024.

BOLUK, G. *et al.* First report of *Pectobacterium brasiliense* causing soft rot on Brassica oleracea var. sabellica in Hawaii, United States. **Plant Dis**, v. 104, n. 2721, p. 10.1094, 2020. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-20-0701-PDN>

BRAINER, M. S. de C. P. Informe setorial de hortaliças. **Caderno setorial – ETENE**, 2019. Disponível em: [https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/214/1/2019\\_CDS\\_105.pdf](https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/214/1/2019_CDS_105.pdf) Acesso em 22 de junho de 2024.

BRAINER, M. S. de C. P. Produção de hortaliças na área de atuação do BNB. **Caderno Setorial – ETENE**, 2021. Disponível em: [https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/902/1/2021\\_CDS\\_180.pdf](https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/902/1/2021_CDS_180.pdf) Acessado em: 20 de junho de 2024.

CANKAR, K. *et al.* Critical points of DNA quantification by real-time PCR effects of DNA extraction method and sample matrix on quantification of genetically modified organisms. **BMC biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 37, 2006. [10.1186/1472-6750-6-37](https://doi.org/10.1186/1472-6750-6-37)

CARDOSO, S. V. D. *et al.* Identificação de bactérias causadoras de podridões moles de ocorrência nos estados do Pará e Minas Gerais. 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufla.br/handle/1/34168> Acesso em: 28 de janeiro de 2026.

CHAVES, A. L. R.; TÖFOLI, J. G. Doenças causadas por bactérias. **Livro Brássicas: doenças, plantas daninhas e manejo**. Instituto Biológico, São Paulo, 2024.

[10.31368/9786-5995322212024](https://doi.org/10.31368/9786-5995322212024)

CHU, H. *et al.* First Report of *Pectobacterium aroidearum* Causing Soft Rot on Leaf Mustard in China. **Plant Disease**, v. 108, n. 2, p. 514, 2024.

<https://doi.org/10.1094/PDIS-08-23-1582-PDN>

CLEMENTE, F. M. V. T. **Produção de hortaliças para agricultura familiar**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1020866/producao-de-hortalicas-para-agricultura-familiar>  
Acesso em: 28 de janeiro de 2026.

CONAB – **Boletim hortigranjeiro**. Companhia Nacional de Abastecimento, v. 11, n. 8, 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/conab/pt-br/atuacao/informacoes-agropecuarias/hortigranjeiros-prohort/boletim-hortigranjeiro/boletins-hortigranjeiros-2025/boletim-hortigranjeiro-agosto-2025.pdf> Acesso em: 28 de janeiro de 2026.

CZAJKOWSKI, R. *et al.* Control of blackleg and tuber soft rot of potato caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species: a review. **Plant pathology**, v. 60, n. 6, p. 999-1013, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02470.x>

CZECHOWSKI, T. *et al.* Realtime RT-PCR profiling of over 1400 Arabidopsis transcription factors: Unprecedented sensitivity reveals novel root- and shoot-specific genes. *The Plant Journal*, Hoboken, v. 38, p. 366-379, 2004.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02051.x>

DE BOER, S. H.; COPEMAN, R. J.; VRUGGINK, H. Serogroups of *Erwinia carotovora* potato strains determined with diffusible somatic antigens. **Phytopathology**, v. 69, n. 4, p. 316-319, 1979. Disponível em:  
[https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1979Articles/Phyto69n04\\_316.PDF](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1979Articles/Phyto69n04_316.PDF) Acesso em: 28 de janeiro de 2026.

DE JESÚS, G. Á. J. *et al.* Perspectivas actuales en métodos de tipificación bacteriana: explorando variantes del MLST para estudios epidemiológicos y taxonómicos.  
[10.70632/jbbr.8.1.2024.40-59](https://doi.org/10.70632/jbbr.8.1.2024.40-59)

DEMONGEOT, J.; SELIGMANN, H. Evolution of tRNA into rRNA secondary structures. **Gene Rep**, v. 17, p. 100483, 2019.  
<https://doi.org/10.1016/J.GENREP.2019.100483>

DICKEY, R. S.; ZUMOFF, C. H.; UYEMOTO, J. K. *Erwinia chrysanthemi*: serological relationships among strains from several hosts. **Phytopathology**, v. 74, n. 11, p. 1388–1394, 1984. Disponível em:

[https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1984Article/s/Phyto74n11\\_1388.pdf](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1984Article/s/Phyto74n11_1388.pdf) Acesso em: 28 de janeiro de 2026.

DING, S. *et al.* Unexpected diversity of *Pectobacterium* species responsible for causing bacterial soft rot on Chinese flowering cabbage in Guangdong province, China. **Plant Disease**, 2025. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-24-2601-SR>

DOS SANTOS *et al.* A 16S rDNA PCR-based theoretical to actual delta approach on culturable mock communities revealed severe losses of diversity information. **BMC Microbiology**, v. 19, n. 1, 8 abr. 2019. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1446-2>

DOS SANTOS, R. **Comida de casa, comida da escola: As atribuições do PNAE na preservação dos hábitos alimentares em Coruripe, Alagoas**. Dissertação (Mestrado em Geografia), Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão – SE, 2019. Disponível em: [https://ri.ufs.br/bitstream/riufs/11195/2/RAFAELA\\_SANTOS.pdf](https://ri.ufs.br/bitstream/riufs/11195/2/RAFAELA_SANTOS.pdf) Acessado em: 20 de junho de 2024.

DYE, W. A taxonomic study of the genus *Erwinia*. II. The “carotovora” group. **New Zealand Journal of Science** 12:81-97. 1969. Disponível em: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19691104274> Acesso em 28 de janeiro de 2026.

FAO, *et al.* The State of Food Security and Nutrition in the World 2020: Transforming food systems for affordable healthy diets. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. P. 320, 2020. <https://doi.org/10.4060/ca9692en>

FILHO, A. A. P. ELISA: Definição, variações e protocolos práticos. Editora Amplla, Campina Grande – PB, 2023. [10.51859/amplla.edv539.1123-0](https://doi.org/10.51859/amplla.edv539.1123-0)

FILHO, J. U. T. B. *et al.* comps. Hortaliças-fruto. **Maringá: EDUEM**, P. 535, 2018. <https://doi.org/10.7476/9786586383010>

FUJIMOTO, T. *et al.* First Report of Soft Rot of Cabbage Caused by *Pectobacterium wasabiae* in Japan. **Plant Disease**, v. 105, n. 8, p. 2236, 2021a. [10.1094/PDIS-09-10-0683](https://doi.org/10.1094/PDIS-09-10-0683)

- FUJIMOTO, T. *et al.* First report of soft rot of onion caused by *Pectobacterium wasabiae* in Japan. **Plant Disease**, v. 105, n. 8, p. 2238, 2021b. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-21-0082-PDN>
- GEVERS, D. *et al.* Re-evaluating prokaryotic species. **Nat. Rev. Microbiol.** v. 3, p. 733–739, 2005. [10.1038/nrmicro1236](https://doi.org/10.1038/nrmicro1236)
- GLAESER, S. P.; KÄMPFER, P. Multilocus sequence analysis (MLSA) in prokaryotic taxonomy. *Systematic and Applied Microbiology*, v. 38, n. 4, p. 237–245, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2015.03.007>
- GOLKHANDAN, E. *et al.* Characterization of Malaysian *Pectobacterium* spp. from vegetables using biochemical, molecular and phylogenetic methods. **European Journal of Plant Pathology**, v. 137, n. 3, p. 431–443, 2013. <https://doi.org/10.1007/s10658-013-0270-z>
- GORRIS, M. T. *et al.* Characterization of monoclonal antibodies specific for *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and comparison of serological methods for its detection in potato tubers. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 60, n. 7, p. 2076–2085, 1994. [10.1128/aem.60.6.2076-2085.1994](https://doi.org/10.1128/aem.60.6.2076-2085.1994)
- GRAHAM, D. C. Serological diagnosis of Potato blackleg and tuber soft rot. **Plant Pathology**, v. 12, n. 4, 1963. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1963.tb00236.x>
- GRIMAULT, V. *et al.* Degradation patterns of pectic substrates related to the localization of bacterial pectate-lyases in the model *Erwinia chrysanthemi*/*Saintpaulia ionantha*. **Physiological and molecular plant pathology**, v. 51, n. 1, p. 45–62, 1997. <https://doi.org/10.1006/pmpp.1997.0102>
- HARSHITHA, R.; ARUNRAJ, D. R. Real-time quantitative PCR: A tool for absolute and relative quantification. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v. 49, n. 5, p. 800–812, 2021. [10.1002/bmb.21552](https://doi.org/10.1002/bmb.21552)
- HAVENGA, B. *et al.* Genotypic and phenotypic comparison of clinical and environmental *Acinetobacter baumannii* strains. **Microb Pathog.** v. 172: p. 105749. 2022. [10.1016/j.micpath.2022.105749](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105749).
- HE, W. *et al.* *Pectobacterium carotovorum* Subsp. *brasiliense* Causing Soft Rot in Eggplant in Xinjiang, China. **Microorganisms**, v. 11, n. 11, p. 2662, 2023. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11112662>

HÉLIAS, V. *et al.* Two new effective semiselective crystal violet pectate media for isolation of *Pectobacterium* and *Dickeya*. **Plant pathology**, v. 61, n. 2, p. 339-345, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02508.x>

HUA, G. K. H.; ALI, E.; JI, P. Characterization of bacterial pathogens causing fruit soft rot and stem blight of bell pepper in Georgia, USA. **J Plant Pathol**, v. 102, p. 311–318, 2020. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00456-7>

HUGOUVIEUX-COTTE-PATTAT, N.; PÉDRON, J.; VAN GIJSEGEM, F. Insight into biodiversity of the recently rearranged genus *Dickeya*. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1168480, 2023. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1168480>

IBGE – **Censo agropecuário**. 2017. Disponível em:

<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/coentro/al> Acesso em: 28 de janeiro de 2026.

JELUSIC, A. *et al.* Diversity of bacterial soft rot-causing *Pectobacterium* species affecting cabbage in Serbia. **Microorganisms**, v. 11, n. 2, p. 335, 2023.

<https://doi.org/10.3390/microorganisms11020335>

KABIR, M. N.; TAHERI, A.; DUMENYO, C. K. Development of PCR-Based Detection System for Soft Rot Pectobacteriaceae Pathogens Using Molecular Signatures. **Microorganisms**, v. 8, n. 3, p. 358, 2020. [10.3390/microorganisms8030358](https://doi.org/10.3390/microorganisms8030358)

KANG, H. K.; KWON, S. W.; GO, S. J. PCR-Based Specific and Sensitive Detection of *Pectobacterium carotovorum* ssp. *Carotovorum* by Primers Generated from URP-PCR Finger Printing-Derived Polymorphic Band. *Plant Pathology*, 52, 127-133, 2003.

<https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2003.00822.x>

KELMAN, A.; DICKEY, R. S. Detection of *Erwinia carotovora* and *E. chrysanthemi*. In: Saettler A.W., Schaad N.W., Roth, D.A. (eds). *Detection of Bacteria on Seed and Other Planting Material*, **APS Press**, Saint Paul, USA, 1995, p. 76-91. Disponível em: <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1417844> Acesso em: 28 de janeiro de 2026.

KHEHRA, N.; PADDA, I. S.; SWIFT, C. J. Polymerase chain reaction (PCR). **StatPearls Publishing**, 2023. Disponível em:

<https://europepmc.org/article/NBK/nbk589663#free-full-text> Acesso em: 07 de setembro de 2025.

KIST, B. B. *et al.* Anuário brasileiro de horti&fruti 2019. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2019. Disponível em: <https://www.editoragazeta.com.br/produto/anuario-brasileiro-de-horti-fruti-2019> Acesso em 28 de janeiro de 2026.

KLAIR, D. *et al.* First Report of *Pectobacterium brasiliense* causing soft rot on mizuna (*Brassica rapa* var. *japonica*) in the United States. **Plant disease**, v. 105, n. 12, p. 4149, 2021. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-21-0644-PDN>

LANA, M. M. MOITA, A. W. Qualidade visual e perdas pós-colheita de hortaliças folhosas no varejo. **Embrapa hortaliças**, Brasília – DF, 2020. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/219361/1/DOCUMENTOS-Qualidade-visual-e-perda-pos-colheita-de-hortalicas-folhosas-no-varejo-ed-01-12-17-2020.pdf> Acessado em: 22 de junho de 2024.

LI, X. *et al.* First report of *Pectobacterium brasiliense* causing soft rot on leaf mustard in China. **Plant Disease**, v. 108, n. 8, p. 2559, 2024. [10.1094/PDIS-04-24-0782-PDN](https://doi.org/10.1094/PDIS-04-24-0782-PDN)

LÓPEZ, L. F. *et al.* Standardization and validation of real time PCR assays for the diagnosis of histoplasmosis using three molecular targets in an animal model PLoS One, v. 12, n. 12, p. e0190311, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190311>

MA, B. *et al.* Host range and molecular 460 phylogenies of the soft rot enterobacterial genera *Pectobacterium* and *Dickeya*. **Phytopathology**, v. 97, n. 9, p. 1150–1163, 2007. [10.1094/PHTO-97-9-1150](https://doi.org/10.1094/PHTO-97-9-1150)

MANSFIELD, J. *et al.* Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. **Mol. Plant Pathol.** v. 13, p. 614–629, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x>

MARIANO, R. L. R. *et al.* **Manual de práticas em fitobacteriologia**. EDUFRPE, p. 234, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2016. Disponível em: <https://nematologia.com.br/files/uploads/2017/01/manufito3.pdf> Acessado em: 20 de junho de 2024.

MASHAVHA, M. L. Characterisation of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* isolates causing blackleg and soft rot diseases of potato in South Africa. 2013, 94 f. Master Scientae (Biotechnology) - University of Pretoria, Pretoria. Disponível em:

<https://www.proquest.com/openview/7566af0339a2dd5b89836eae240da0ea/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2026366&diss=y> Acesso em: 28 de janeiro de 2026.

MATTOS, L. M. *et al.* Produção segura e rastreabilidade de hortaliças. **Horticultura brasileira**, v. 27, p. 408-413, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362009000400002>

MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. **Grid Computing Environments**, p. 1–8, 2010. [10.1109/GCE.2010.5676129](https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129)

MOLELEKI, L. N. *et al.* Characterisation of *Pectobacterium wasabiae* causing blackleg and soft rot diseases in South Africa. **European Journal of Plant Pathology**, v. 135, n. 2, p. 279-288, 2013. <https://doi.org/10.1007/s10658-012-0084-4>

MORAES, A. J. G. de. **Diversidade de bactérias causadoras de podridão mole em hortaliças no estado de Pernambuco**. Tese (Doutorado em Fitopatologia), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife – PE, 2018. Disponível em: [https://www.ppgf.ufrpe.br/sites/default/files/testes-dissertacoes/tese\\_-\\_alessandra\\_jackeline\\_guedes\\_de\\_moraes.pdf](https://www.ppgf.ufrpe.br/sites/default/files/testes-dissertacoes/tese_-_alessandra_jackeline_guedes_de_moraes.pdf) Acesso em: 20 de junho de 2024.

MOTYKA, A. *et al.* Molecular methods as tools to control plant diseases caused by *Dickeya* and *Pectobacterium* spp: a minireview. **New Biotechnology**, 2017. <https://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2017.08.010>

NABHAN S.; DE BOER, S. H.; MAISS E, W. K. Taxonomic relatedness between *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *odoriferum* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* subsp. nov. **J Appl Microbiol**, v. 113, p. 904–913, 2012. [10.1111/j.1365-2672.2012.05383.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05383.x)

NARAYANASAMY, P. Detection of Bacterial and Phytoplasmal Pathogens. **Microbial Plant Pathogens-Detection and Disease Diagnosis**. p. 5 – 169, 2011. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-90-481-9769-9> Acesso em: 28 de janeiro de 2026.

NYLANDER, J. A. A. MrModeltest v2. Program distributed by the author. **Evolutionary Biology Centre**, Uppsala University. 2004. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/285805344> Acesso em: 07 de setembro de 2025.



OPARA, E.; ASUQUO A. A. An overview of characterization and identification of soft rot bacterium *Erwinia* in some vegetable crops. **Greener J Biol Sci.** v. 6, n. 3, p. 46–55, 2016. [10.15580/GJBS.2016.3.041916078](https://doi.org/10.15580/GJBS.2016.3.041916078)

PARVIN, S. M. R.; TAGHAVI, S. M.; OSDAGHI, E. Field surveys indicate taxonomically diverse *Pectobacterium* species inducing soft rot of vegetables and annual crops in Iran. **Plant Pathology**, v. 72, n. 7, p. 1260-1271, 2023. <https://doi.org/10.1111/ppa.13735>

PASANEN, M. *et al.* Characterisation of *Pectobacterium wasabiae* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* isolates from diseased potato plants in Finland. **Annals of applied biology**, v. 163, n. 3, p. 403-419, 2013. <https://doi.org/10.1111/aab.12076>

PEREIRA, R. B.; PINHEIRO, J. B. Manejo integrado de doenças em hortaliças em cultivo orgânico. **Embrapa – circular técnica**, ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, 2012. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/941604/1/ct1111.pdf> Acesso em: 28 de janeiro de 2026.

PIERCE L.; MCCAIN A. H. Selective medium for isolation of pectolytic *Erwinia* sp. **Plant Disease**, v. 76, p. 382-384. 1992. Disponível em: [https://www.apsnet.org/publications/plantdisease/backissues/Documents/1992Articles/PlantDisease76n04\\_382.PDF](https://www.apsnet.org/publications/plantdisease/backissues/Documents/1992Articles/PlantDisease76n04_382.PDF) Acesso em: 28 de janeiro de 2026.

PITMAN, A. R.; HARROW, S. A.; VISNOVSKY, S. B. Genetic characterisation of *Pectobacterium wasabiae* causing soft rot disease of potato in New Zealand. **European Journal of Plant Pathology**, v. 126, n. 3, p. 423-435, 2010. <https://doi.org/10.1007/s10658-009-9551-y>

PREETHI, SUNDAR; UMESHA, SHARANAIAH. A Glimpse towards Advanced Molecular Diagnostics for the Detection of Phytopathogens. **J. Mycopathol. Res**, v. 63, p. 1-15, 2025. Disponível em: <https://www.imskolkata.org/article1/002-03-25.pdf> Acesso em: 06 de janeiro de 2026.

QIN, S. *et al.* First Report of *Pectobacterium polaris* Causing Soft Rot on Broccoli in China. **Plant Disease**, 2024. [10.1094/PDIS-08-23-1475-PDN](https://doi.org/10.1094/PDIS-08-23-1475-PDN)



- QUEIROZ, M. F. *et al.* First report of soft rot in kale caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* in Brazil. **Plant Disease**, v. 101, n. 12, p. 2144-2144, 2017. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-17-0266-PDN>
- RAFIEL, S.; KHODAKARAMIAN, G. H; BAGHAEE-RAVARI, S. Characterization of *Pectobacterium* species isolated from vegetable crops in north-west of Iran. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 46, p. 4258-4267, 2015. [10.5897/AJAR2015.9551](https://doi.org/10.5897/AJAR2015.9551)
- RAHMAN, M. T. *et al.* Polymerase chain reaction (PCR): a short review. **Anwer Khan Modern Medical College Journal**, v. 4, n. 1, p. 30-36, 2013. [10.3329/akmmcj.v4i1.13682](https://doi.org/10.3329/akmmcj.v4i1.13682)
- RAID, R. N. Soft rot of lettuce. In: DAVIS, R. M.; SUBBARAO, K. V.; RAID, R. N.; KURTZ, E. A. (ed.). **Compendium of lettuce diseases**. St. Paul: APS Press, 1997. p. 30–31. Disponível em: [https://books.google.com.br/books/about/Compendium\\_of\\_lettuce\\_diseases.html?hl=en&id=u9InAQAAAMAJ&redir\\_esc=y](https://books.google.com.br/books/about/Compendium_of_lettuce_diseases.html?hl=en&id=u9InAQAAAMAJ&redir_esc=y) Acesso em: 28 de janeiro de 2026.
- REN, J.; PETZOLDT, R.; DICKSON, M. H. Genetics and population improvement resistance to bacterial soft rot Chinese cabbage. **Euphytica, Wageningen**, v. 117, n. 3, p. 197-207, 2001. <https://doi.org/10.1023/A:1026541724001>
- ROLNIK, A.; OLAS, B. Vegetables from the Cucurbitaceae family and their products: Positive effect on human health. **Nutrition**, v. 78, p. 110788, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.110788>
- ROMEIRO, R. S. **Bactérias fitopatogênicas**. Universidade Federal de Viçosa, 2005. Disponível em: <https://livraria.funep.org.br/product/bacterias-fitopatog-nicas/> Acesso em: 2 de janeiro de 2026.
- RONQUIST, F. *et al.* MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. **Systematic Biology**. v.61, n.3, p. 539-542, 2012. [10.1093/sysbio/sys029](https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029)
- RYSKALIYEVA, B. Z. *et al.* Development and testing of the bacteriological scheme of identification of bacteria *Pectobacterium carotovorum*. *Taurida Herald Agrar. Sci.* v. 2, p. 134–142, 2020. [10.33952/2542-0720-2020-2-22-134-142](https://doi.org/10.33952/2542-0720-2020-2-22-134-142)

SAKAMOTO, S.; PUTALUN, W.; VIMOLMANGKANG, S. *et al.* Enzyme-linked immunosorbent assay for the quantitative/qualitative analysis of plant secondary metabolites. **Journal of Natural Medicines**, v. 72, p. 32–42, 2018. [10.1007/s11418-017-1144-z](https://doi.org/10.1007/s11418-017-1144-z)

SAMSON, R. *et al.* Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder *et al.* 1953) Brenner *et al.* 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zeae* sp. nov. **Int J Syst Evol Microbiol.** v. 55, p. 1415-1427. 2005. [10.1099/ijs.0.02791-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.02791-0)

SCALA, V.; PUCCI, N.; LORETI, S. The diagnosis of plant pathogenic bacteria: A state of art. **Front. Biosci.**, v. 10, p. 449-460, 2018. [10.2741/e832](https://doi.org/10.2741/e832)

SEBRAE. **Estudo cadeia da horticultura em Alagoas**. 2023. Disponível em: [https://sebrae.com.br/Sebrae/Portal%20Sebrae/UFs/AL/Anexos/2023\\_Cadeia%20da%20Horticultura.pdf](https://sebrae.com.br/Sebrae/Portal%20Sebrae/UFs/AL/Anexos/2023_Cadeia%20da%20Horticultura.pdf) Acesso em: 20 de junho de 2024.

SEPLAG – **Estudo sobre a agricultura familiar em Alagoas**. Secretaria de Planejamento, Gestão e Patrimônio, Maceió, 2016. Disponível em: [https://dados.al.gov.br/catalogo/km/dataset/nucleo-de-estudos-e-projetos-da-seplag/resource/af438d7d-066c-4362-a2cc-abf419841708?view\\_id=3e79cf2d-bd21-4dd5-8187-fb5ad9855f33](https://dados.al.gov.br/catalogo/km/dataset/nucleo-de-estudos-e-projetos-da-seplag/resource/af438d7d-066c-4362-a2cc-abf419841708?view_id=3e79cf2d-bd21-4dd5-8187-fb5ad9855f33) Acesso em: 28 de janeiro de 2026.

SHRESTHA, S. Ecology and Characterization of Pectinolytic Bacterial Pathogens in Potato. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade de Wisconsin – Madison, 2025. Disponível em: [https://minds.wisconsin.edu/bitstream/handle/1793/95349/Smita%20Shrestha\\_Masters%20Thesis\\_2025.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://minds.wisconsin.edu/bitstream/handle/1793/95349/Smita%20Shrestha_Masters%20Thesis_2025.pdf?sequence=1&isAllowed=y) Acesso em: 06 de janeiro de 2026.

SWOFFORD, D. L. PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and other methods). Version 4.0b10. **Sinauer Associates**, Sunderland, Massachusetts, 2003. Disponível em: <https://www.scirp.org/reference/ReferencesPapers?ReferenceID=1958232> Acesso em: 28 de janeiro de 2026.

THOMAS, A.; NARINE, K.; SARAVANAKUMAR, D. Molecular detection and whole genome sequencing of *Pectobacterium* and *Dickeya*, the casual agents of soft rot disease

in lettuce. **Journal of Plant Pathology**, v. 106, n. 1, p. 203-210, 2024.

<https://doi.org/10.1007/s42161-023-01541-8>

TOTH, I. K.; AVROVA, A. O.; HYMAN, L. J. Rapid identification and differentiation of the soft rot *Erwinias* by 16s-23s intergenic transcribed spacer-PCR and restriction fragment length polymorphism analyses. **Applied and Environmental Microbiology** v. 67, p. 4070-4076. 2001. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.9.4070-4076.2001>

UMESHA, S.; AVINASH, P. Multiplex PCR for simultaneous identification of *Ralstonia solanacearum* and *Xanthomonas perforans*. **3 Biotech**, v. 5, n. 3, p. 245-252, 2015. <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0223-z>

VAN GIJSEGEN, F., TOTH, I.K., VAN DER WOLF, J.M. Soft Rot *Pectobacteriaceae*: A Brief Overview. In: Van Gijsegem, F., van der Wolf, J.M., Toth, I.K. (eds) Plant Diseases Caused by *Dickeya* and *Pectobacterium* Species. **Editora Springer**, 2021. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-61459-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-61459-1_1)

VERSALOVIC, J.; KOUETH, T.; LUPSKI, J. R. 1991. Distribution of repetitive DNA sequences in 554 eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Res.* v. 19, p. 6823–6831, 1991. <https://doi.org/10.1093/nar/19.24.6823>

WALERON, M.; WALERON, K.; LOJKOWSKA, E. Occurrence of *Pectobacterium wasabiae* in potato field samples. **European Journal of Plant Pathology**, v. 137, n. 1, p. 149-158, 2013. <https://doi.org/10.1007/s10658-013-0227-2>

WILSON, M. L. Clinically relevant, cost-effective clinical microbiology: strategies to decrease unnecessary testing. **American journal of clinical pathology**, v. 107, n. 2, p. 154-167, 1997. <https://doi.org/10.1093/ajcp/107.2.154>

WINSLOW, C. E. A *et al.* The families and genera of the bacteria final report of the committee of the society of American bacteriologists on characterization and classification of bacterial types. **Journal of bacteriology**, v. 5, n. 3, p. 191-229, 1920. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/jb.5.3.191-229.1920> Acesso em: 28 de janeiro de 2026.

ZACZEK-MOCZYDŁOWSKA, M. A. *et al.* *Pectobacterium* and *Dickeya* species detected in vegetables in Northern Ireland. **Eur J Plant Pathol** v. 154, p. 635–647, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01687-1>

ZHU, M. *et al.* First Report of *Allium fistulosum* Soft Rot Caused by *Pectobacterium carotovorum* in China. **Plant Disease**, v. 107, n. 10, p. 3274, 2023.

<https://doi.org/10.1094/PDIS-03-23-0548-PDN>

ZUO, G.; XU, Z.; HAO, B. Phylogeny and taxonomy of *Archaea*: a comparison of the whole-genome-based CVTree approach with 16S rRNA sequence analysis. **Life**, v. 5, n. 1, p. 949-968, 2015. <https://doi.org/10.3390/life5010949>