



Universidade de Brasília – UnB

Instituto de Ciências Biológicas - IB

Departamento de Fitopatologia - FIT

Mestrado em Fitopatologia

Comportamento de Linhagens e Variedades de Soja

(*Glycine max* (L.) Merrill) a uma Estirpe de

*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

Carolina da Silva Pinto

Brasília – DF.

Julho 2005

Comportamento de Linhagens e Variedades de Soja  
(*Glycine max* (L.) Merrill) a uma Estirpe de  
*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

Dissertação apresentada ao Departamento de Fitopatologia, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

Aluna: Carolina da Silva Pinto

Orientador: Dr. Carlos Hidemi Uesugi

Brasília – DF.

Julho 2005

# Termo de Aprovação

**Carolina da Silva Pinto**

**Comportamento de Linhagens e Variedades de Soja (*Glycine max* (L.) Merrill) a uma Estirpe de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.**

Dissertação aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Fitopatologia, Departamento de Fitopatologia, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.

Membros da Banca Examinadora:

---

Dr. Carlos Hidemi Uesugi  
Departamento de Fitopatologia, UnB.  
(Orientador)

---

Dr<sup>a</sup>. Olinda Maria Martins  
Pesquisadora da Embrapa Recursos  
Genéticos e Biotecnologia.  
(Membro externo)

---

Dr<sup>a</sup>. Marisa A. S. V. Ferreira  
Departamento de Fitopatologia, UnB.  
(Membro interno)

**Brasília – DF, 11 de julho de 2005**

Dedico especialmente aos meus avós paternos **Tabajara** e **Nair**, que um dia estiveram ao meu lado e que hoje a saudade é mais forte, e maternos **Divino** e **Abadia**. Estes me ensinaram a seguir pelo bom caminho, com a sabedoria conquistada pelos anos vividos. Este trabalho é fruto de seus ensinamentos.

**"É melhor tentar e falhar,  
que preocupar-se e ver a vida passar;  
é melhor tentar, ainda que em vão,  
que sentar-se fazendo nada até o final.  
Eu prefiro na chuva caminhar,  
que em dias tristes em casa me esconder.  
Prefiro ser feliz, embora louco,  
que em conformidade viver ..."  
Martin Luther King**

## **Agradecimentos**

A **Deus**, pela oportunidade de ter realizado este trabalho.

A todos os professores, que transmitiram seus conhecimentos e experiências, obrigada por fazer do aprendizado não um trabalho, mas um contentamento. Ao professor **Carlos Hidemi Uesugi** e a professora **Marisa A. S. V. Ferreira** por me abrirem portas e me ajudarem a descobrir o que fazer de melhor e, assim, fazê-lo cada vez melhor. Ao professor **José Ricardo Peixoto**, por resolver o que eu achava complicado e a quem recorri nos momentos difíceis.

Agradeço aos funcionários do laboratório, **Arenildo, Cézar, Marivaldo** e a **Dona Francisca**, e da Estação Experimental de Biologia, que no desempenho de suas obrigações, contribuíram de uma forma ou de outra para o meu mestrado e souberam cultivar uma amizade singela e respeito mútuo durante este tempo de convívio.

Aos grandes amigos da graduação, especilamente: **Carlos, Angela e Edmar, Luiz Guilherme, Rafael, Fernanda, Adriana, entre outros.**

Aos amigos da Pós, **Sérgio, Andreza, Marlos, Fernanda, Genildo, Renata, Michelle, Gesimária, Vânia**, com quem pude compartilhar as dificuldades, inseguranças, erros, acertos, vitórias e alegrias. Especialmente a **Loise, Giovana, Mariana, Denise** e o **João**, pela convivência fraterna em que dividimos lágrimas e risos, que nos fizeram pessoas diferentes, e a certeza de que ao nos separarmos levamos um pouco um do outro e deixamos um pouco de nós.

Aos meus **Pais**, Ubyrajara e Celi, de quem recebi o dom mais precioso, a vida. Que nos momentos mais difíceis me apoiaram com cumplicidade do olhar, palavras de incentivo e de gestos de compreensão. Foram com vocês tantas as vezes que compartilhei por meu cansaço e preocupações. À minha **Irmã**, Gabriela, pelo amor e carinho.

Ao **Paulo**, pelo companheirismo, complacência e atenção que foi o sustentáculo que me deu forças para seguir em frente.

**Amo Todos.**

## Sumário

<b>RESUMO</b> .....	<b>xiii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xv</b>
<b>1 – INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1 – A cultura da soja .....	1
1.2 – Importância da soja .....	2
1.3 – Doenças da Soja .....	3
1.4 – A Murcha-de-Curtobacterium.....	5
1.4.1 – Distribuição geográfica.....	5
1.4.2 – Etiologia.....	6
1.4.3 – Sintomatologia .....	7
1.4.4 – Epidemiologia e Controle .....	8
<b>2 – OBJETIVO</b> .....	<b>10</b>
<b>3 - MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>11</b>
3.1 – Isolado bacteriano .....	11
3.2 – Cultivo e preservação do isolado .....	11
3.3 – Determinação da concentração de células bacterianas para inoculação .....	12
3.4 – Preparo de vasos para plantio .....	12
3.5 – Delineamento experimental .....	12
3.6 – Resistência da soja à murcha-de-Curtobacterium causada por <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> .....	13
3.6.1 – Linhagens e variedades utilizadas.....	13
3.6.2 – Inoculação.....	14
3.6.3 – Isolamento.....	15
3.6.3.1 – Hastes.....	15
3.6.3.2 – Sementes .....	15
3.6.4 – Avaliação .....	16
3.7 – Observação semanal do desenvolvimento da <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> em diferentes idades da planta com a inoculação aos dez dias após a semeadura. ....	16
3.7.1 – Linhagens e variedades utilizadas.....	16
3.7.2 – Inoculação.....	17

3.7.3 – Isolamento.....	18
3.7.4 – Avaliação .....	18
3.8 – Efeito da idade da planta na reação da soja a <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> aos 10, 20 e 30 dias do plantio.....	18
3.8.1 – Linhagens e variedades utilizadas.....	18
3.8.2 – Inoculação.....	18
3.8.3 – Isolamento.....	19
3.8.4 – Avaliação .....	19
3.9 – Análise das vias de penetração. ....	20
3.9.1 – Linhagens utilizadas .....	20
3.9.2 – Inoculação.....	20
3.9.3 – Isolamento.....	21
3.9.4 – Avaliação .....	21
<b>4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>22</b>
4.1 – Resistência da soja à murcha-de- <i>Curtobacterium</i> causada por <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> .....	22
4.2 – Observação semanal do desenvolvimento de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> em diferentes idades da planta com a inoculação aos dez dias após a semeadura. ....	32
4.3 – Efeito da idade da planta na reação da soja a <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> aos 10, 20 e 30 dias do plantio.....	42
4.4 – Análise das vias de penetração. ....	51
<b>5 – CONCLUSÕES.....</b>	<b>53</b>
<b>6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>54</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>59</b>

## Lista de figuras

Figura 1. Colônias de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> em meio 523 modificado de Kado & Heskett, após 48 horas.....	6
Figura 2. Murcha-de-Curtobacterium , causada por <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> , em soja. A - Pequenas lesões ao longo da margem da folha; B - clorose oval ou alongada, ao longo da margem da folha progredindo na direção da nervura. ....	8
Figura 3. Inoculação de uma estirpe de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> logo acima da inserção da folha cotiledonar em soja, pelo método da picada com agulha histológica. ....	15
Figura 4. Comportamento de linhagens e variedades de soja segundo o grupo de suscetibilidade a <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> . ....	28
Figura 5. Comportamento de linhagens e variedades de soja segundo o grupo de suscetibilidade a <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> . ....	29
Figura 6. Comportamento de linhagens e variedades de soja segundo o grupo de suscetibilidade a <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> . ....	30
Figura 7. Evolução de UFC de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> na linhagem 979, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	34
Figura 8. Evolução de UFC de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> na variedade 1042 (Msoy 9001), em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	34
Figura 9. Evolução de UFC de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> na variedade 1218 (Msoy 8001), em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	35
Figura 10. Evolução de UFC de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> na linhagem 1126, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	36
Figura 11. Evolução de UFC de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> na linhagem 1127, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	36
Figura 12. Evolução de UFC de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> na linhagem 975, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	37
Figura 13. Evolução de UFC de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> na linhagem 963, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	37

Figura 14. Evolução de UFC de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> na linhagem 887, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	37
Figura 15. Evolução de UFC de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> na linhagem 1204, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	38
Figura 16. Evolução de UFC de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> na linhagem 1137, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	39
Figura 17. Evolução de UFC de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> na linhagem 890, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	39
Figura 18. Evolução de UFC de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> na linhagem 974, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	40
Figura 19. Evolução de UFC de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> na linhagem 1205, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	40
Figura 20. Evolução de UFC de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> na linhagem 1046, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	41
Figura 21. Evolução de UFC de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> na linhagem 1136, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	41
Figura 22. Evolução de UFC de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> na linhagem 1203, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	41
Figura 23. Evolução das médias de UFC, na linhagem 1694 (GT01-143), em três épocas diferentes de inoculação, de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> , avaliadas por três semanas, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	46
Figura 24. Evolução das médias de UFC, na variedade 1698 (M-Soy 8001), em três épocas diferentes de inoculação, de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> , avaliadas por três semanas, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	47
Figura 25. Evolução das médias de UFC, na variedade 7114 (M-Soy 8329), em três épocas diferentes de inoculação, de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> , avaliadas por três semanas, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	47
Figura 26. Evolução das médias de UFC, na variedade 1522 (M-Soy 9001), em três épocas diferentes de inoculação, de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> , avaliadas por três semanas, de acordo com a linha de tendência linear traçada.....	48

- Figura 27. Evolução das médias de UFC, na variedade 1540 (Conquista), em três épocas diferentes de inoculação, de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, avaliadas por três semanas, de acordo com a linha de tendência linear traçada. ....48
- Figura 28. Evolução das médias de UFC, na variedade (CAMPEÃ/RAIZ), em três épocas diferentes de inoculação, de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, avaliadas por três semanas, de acordo com a linha de tendência linear traçada. ....49
- Figura 29. Evolução das médias de UFC, na linhagem 1529 (GT01-Campeã), em três épocas diferentes de inoculação, de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, avaliadas por três semanas, de acordo com a linha de tendência linear traçada. ....49
- Figura 30. Evolução das médias de UFC, na linhagem 1697 (GT01-343), em três épocas diferentes de inoculação, de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, avaliadas por três semanas, de acordo com a linha de tendência linear traçada. ....50
- Figura 31. Evolução das médias de UFC, na linhagem 1683 (GT01-368), em três épocas diferentes de inoculação, de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, avaliadas por três semanas, de acordo com a linha de tendência linear traçada. ....50
- Figura 32. Murcha-de-Curtobacterium causada por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em soja, inoculada em diferentes estádios da planta. A – Inoculação realizada aos 10 dias do plantio; B – Inoculação realizada aos 20 dias do plantio; C – Inoculação realizada aos *flaccumfaciens* 30 dias do plantio.....51
- Figura 33. Murcha-de-Curtobacterium causada por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em soja, utilizando diferentes métodos de inoculação aos 10 dias do plantio. A – Inoculação realizada nas folhas; B – Inoculação realizada no solo; C – Inoculação realizada do solo com fermentos nas raízes. ....52

## Lista de tabelas

Tabela 1. Níveis de suscetibilidade de linhagens e variedades de soja a uma estirpe de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> (Alves, 2003). .....	17
Tabela 2. Número de células de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> (expressas em UFCs) inoculadas aos 10, 20 e 30 dias após o plantio em diferentes linhagens e variedades de soja. ....	19
Tabela 3. Níveis de resistência de 139 linhagens e variedades de soja a uma estirpe de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> , após 20 dias da inoculação. ....	23
Tabela 4. Linhagens e variedades de soja onde foi detectada a translocação na parte superior da haste e/ou contaminação das sementes pela <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> . ....	31
Tabela 5. Médias da altura das hastes (cm) nas diferentes linhagens e variedades de soja, medidas em diferentes épocas após a inoculação com <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> . ....	32
Tabela 6. Concentração bacteriana (UFC/ml) em diferentes linhagens e variedades de soja, avaliadas em diferentes épocas após a inoculação com <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> . ....	33
Tabela 7. Valores médios de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/ml), de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> , com a inoculação realizada aos 10, 20 e 30 dias após o plantio e avaliação aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação para cada linhagem e variedade. ....	43
Tabela 8. Valores médios de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/ml), de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> , com a inoculação realizada aos 10, 20 e 30 dias após o plantio e avaliação aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação para cada linhagem e variedade. ....	44
Tabela 9. Valores médios de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/ml), de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> , com a inoculação realizada aos 10, 20 e 30 dias após o plantio e avaliação aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação para cada linhagem e variedade. ....	45
Tabela 10. Linhagens e variedades de soja onde foi ou não detectada a presença de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> quando realizada a inoculação com diferentes métodos (folha, solo e solo com fermentos na raiz). ....	52

## RESUMO

Devido à sua recente detecção no Brasil, pouco se conhece da reação das linhagens e variedades de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) à murcha-de-Curtobacterium causada por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* provenientes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). A soja é uma planta usada na rotação de cultura com o feijão onde foi primeiramente detectada a bactéria. O presente trabalho teve como objetivo principal avaliar a reação das linhagens e variedades de soja, fornecidas pela empresa Genética Tropical, a um isolado de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, proveniente de feijão em casa de vegetação. Foi realizada também a observação semanal do comportamento da bactéria após a inoculação desta em diferentes estádios de desenvolvimento da planta e, por último, a observação e determinação das vias de penetração.

Os resultados foram analisados conforme as percentagens (%) de folhas com sintomas visíveis de murcha-de-Curtobacterium, em relação ao total de folhas na planta (avaliação aos 10 e 20 dias após inoculação), obtendo-se um percentual médio. De acordo com os dados coletados nas duas avaliações, pode-se constatar que todas as variedades testadas foram suscetíveis, apresentando-se no nível de baixa suscetibilidade. A variedade Msoy 9001 (9,42 a 18,43% das folhas afetadas), proporcionalmente foi a que maior susceptibilidade apresentou, seguidas pelas variedades Msoy 8001 (1,69 a 15,6% das folhas afetadas), Conquista (1,22% a 6,33% das folhas afetadas) e Msoy 8329 (0,69% das folhas afetadas). As linhagens apresentaram diferentes níveis de suscetibilidade, sendo classificadas em: alta (41,30 a 59,02% das folhas afetadas), média (20,15 a 39,00 das folhas afetadas) e baixa (0,69 a 19,91 das folhas afetadas). Sendo que 23,73% das linhagens foram alocadas no grupo de média suscetibilidade (SS) e 74,82% das linhagens e variedades foram alocadas no grupo de baixa susceptibilidade (S). As linhagens 1696 (GT01-366), 1697 (GT01-343) e 1683 (GT01-368) foram resistentes à estirpe de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, com 0% das folhas afetadas.

Os dados da observação semanal do comportamento da bactéria após a inoculação desta aos 10 dias após o plantio mostraram que em todas as variedades e linhagens avaliadas houve um aumento da quantidade de células (expressas em UFC) inoculada, que foi de  $1,613 \times 10^6$ , já em relação à primeira semana de avaliação. Nas variedades 1042 (M-

SOY 9001) e 1218 (M-SOY 8001), que pertencem ao grupo de baixa suscetibilidade, e na linhagem 979 (GT01- 354), que pertence ao de média suscetibilidade, ocorreu uma acentuada queda na quantidade de UFC, no decorrer de seis semanas. Já nas linhagens 963 (GT01- 450), 1126 (GT01- 290), 975 (GT01- 28), 1127 (GT01- 414) e 887 (GT01- 287) ocorreu uma leve diminuição da média de UFC, e o mesmo não ocorreu com a percentagem de folhas com sintomas, sendo que as linhagens 963, 1126 e 975 foram classificadas no grupo de alta suscetibilidade. Nas linhagens 1137 (GT01- 304), 1204 (GT01- 304) e 890 (GT01- 452), não foi observada nenhuma variação da média de UFC no decorrer das semanas avaliadas, permanecendo esta constante. As últimas linhagens avaliadas neste experimento foram as 974 (GT01-372), 1205 (GT01-249), 1046 (GT01-87), 1136 (GT01-456) e a 1203 (GT01-327). Estas apresentaram um aumento da média de UFC no transcorrer das semanas avaliadas.

Na análise semanal do comportamento da bactéria após a inoculação desta em diferentes estádios de desenvolvimento da planta, foi observado que na época 10 (inoculação aos 10 dias após o plantio), em todas as linhagens e variedades, ocorreu uma queda da quantidade de UFC, se compararmos à primeira semana com a última semana de avaliação, mas mesmo com esta diminuição da quantidade de UFC, as plantas das linhagens e variedades avaliadas não conseguiram se recuperar. Já nas épocas 20 (inoculação aos 20 dias após o plantio) e 30 (inoculação aos 30 dias após o plantio), não ocorreu um aumento do número de células UFC inoculada. Nestas duas épocas (20 e 30), ocorreu uma variação entre as variedades e linhagens no decorrer das avaliações, pois em algumas ocorreu um aumento e em outras uma diminuição da quantidade de UFC. Contudo este aumento não chegou a ser tão alto e a causar sintomas tão severos quanto aqueles causados na época 10.

No experimento de análise das vias de penetração nas linhagens e variedades inoculadas na folha, a bactéria foi detectada somente nas variedades 7114 e 1522, e nas linhagens 1694 e 1529. Na inoculação no solo sem ferimentos prévios na raiz, foi verificada a presença da bactéria na linhagem 1683 e nas variedades 1698 e 1522, já na inoculação no solo com ferimentos nas raízes, a bactéria foi observada na variedade 1540 e na linhagem 1694.

## ABSTRACT

Due to the recent detection in Brazil, little is known about the reaction of the lineages and cultivars of soybean to *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, from kidney bean. The soybean plant is used as a succession culture after the kidney beans culture, where this bacterium was first detected. The objective of this research was to evaluate the reaction of cultivars and lineages of soybean (*Glycine max* L.), that were supplied by the company “Genética Tropical”, to one strain of *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* from kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) in the greenhouse. A weekly observation of the quantity and intensity of bacterial infection was also carried out, using inoculation on different stages of the plants development, and also the analysis of the infection ways.

The results were analyzed based on the percentages (%) of leaves with visible bacterial wilt symptoms, in relation to the total plant leaves (evaluated at 10 and 20 days after the inoculation), having as a result a average percentage. With the results obtained in both evaluations, it was possible to affirm that all cultivars tested were susceptible, presenting medium and low levels of susceptibility. The cultivar Msoy 9001 (18,43 to 9,42% of affected leaves), proportionally was the cultivar that presented the higher susceptibility, followed by the Msoy 8001 (15,6 a 1,69% of affected leaves), Conquista (6,33 a 1,22% of affected leaves) and Msoy 8329 (0,69% of leaves were affected), while the lineages presented different levels of susceptibility: high (from 41,30 to 59,02% of affected leaves), medium (from 20,15 to 39,00% of affected leaves) and low (from 0,69 to 19,91% of affected leaves). The majority of the lineages were between the levels of medium (SS) and low (S) susceptibility. The lineages 1696 (GT01-366), 1697 (GT01-343) and 1683 (GT01-368) were resistant to the strain of *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

The results of the weekly observation of the quantity and intensity of bacterial infection with the inoculation occurring ten days after the planting, showed that all cultivars and lineages evaluated had an increase in the average of inoculated UFC, which was  $1,613 \times 10^6$ , in relation to the first week evaluation. In the cultivars 1042 (M-SOY 9001) and 1218 (M-SOY 8001), that belongs to the group of low susceptibility, and in the lineage 979 (GT01- 354) that belongs to the group of medium susceptibility, a strong down in the UFC

quantity along to the six weeks were observed. In the lineages 963 (GT01- 450), 1126 (GT01- 290), 975 (GT01- 28), 1127 (GT01- 414) and 887 (GT01- 287) a slight down in the average of UFC occurred. The same pattern was not observed with the percentages of symptoms on leaves. The lineages 963, 1126 e 975 were classified in the high susceptibility. In the lineages 1137 (GT01- 304), 1204 (GT01- 304) and the 890 (GT01- 452), it was not observed any variation in the UFC average along the evaluated weeks. The last lineages evaluated in this research were the 974 (GT01-372), 1205 (GT01-249), 1046 (GT01-87), 1136 (GT01-456) and the 1203 (GT01-327). They presented an increase in the UFC average along the evaluated weeks, but the lineage 1203 presented an even higher increment.

In the weekly analysis of the quantity and intensity of bacterial infection in different stages of the plant development, was observed that in the time 10 (inoculation after 10 days of planting), in all the lineages and cultivars tested, occurred a decrease in the quantity of UFC, in comparison with the first and the last week of evaluation, but also with this decrease in the quantity of UFC, the lineages and cultivars were not able to recover. In the inoculation after 20 and 30 days of planting, the multiplication of inoculated UFC does not occurred but a decrease in those levels, if compared with the weeks of evaluation. In these two periods (20 and 30 days after planting) a variation between the lineages and the cultivars occurred during the evaluations, because in some of them an increase in the quantity of UFC occurred and in others a decrease, but this increase was not so high and the symptoms were not so severe as the 10 days of inoculation.

The research of the analysis of the infection ways showed that the lineages and the cultivars that were inoculated in the leaf are mostly resistant, only in the cultivars 7114 and 152, and the lineages 1694 and 1529, bacteria was detected when the isolation was realized. In the soil inoculation without previous root injuries, the presence of bacteria was observed in the lineage 1683, and in the cultivars 1698 and 1522. In the soil inoculation with root injuries the presence of bacteria was observed in the cultivar 1540 and in the lineage 1694.

# 1 – INTRODUÇÃO

## 1.1 – A cultura da soja

A soja cultivada é classificada como *Glycine max* (L.) Merrill e, de acordo com Joly (1975), pertence ao grupo das Fanerogamas, divisão Angiospermae, classe Dicotyledoneae, ordem *Rosales*, família *Leguminosae*, subfamília *Faboideae*, cuja denominação antiga era *Papilionoideae* e ao gênero *Glycine* L.

É difícil estabelecer com clareza o centro de origem da soja, por ser esta uma planta milenar, sendo que o seu primeiro registro se encontra na obra médica de Sheng-Nung, datada entre os anos 2838 a 2383 a.C., onde foram descritas as plantas da China (Probst & Judd, 1973). De acordo com Hymowitz (1970), citado por Probst & Judd (1973) a *Glycine ussuriensis*, existe na forma selvagem, na Coreia, Formosa, Japão, por todo o vale do Yangtsé, pelas províncias do Nordeste da China e em áreas adjacentes da Rússia. Por evidências citogenéticas, concluiu-se que *Glycine ussuriensis* e *Glycine max* são a mesma espécie e que devido às evidências históricas e geográficas é possível deduzir que na metade leste do Norte da China, a soja foi pela primeira vez domesticada, ao redor do século XI a.C.

Da China antiga, a soja foi propagada para uma parte considerável do mundo. A primeira rota de disseminação, possivelmente, entre o ano de 200 a.C. e o século III d.C., foi da China à Coreia. A forma cultivável foi introduzida na Coreia, a partir do Norte da China, e de lá para o Japão; uma segunda rota pode ter sido da região Central da China ao Sul do Japão. No final do século XV e início do século XVII, a soja chegou ao Ocidente, porém nos quatro séculos que se seguiram permaneceu apenas como curiosidade botânica (Moraes *et al.*, 1996). Na Europa, essa leguminosa foi plantada pela primeira vez em 1739, no Jardim Botânico de Paris e em 1770 em Kew, na Inglaterra. Nos Estados Unidos, o primeiro registro foi na Região da Pensilvânia, em 1804. No Canadá, Filipinas, Argentina, Egito e Cuba, ela se tornou conhecida somente no século XIX (Probst & Judd, 1973).

No Brasil, a mais antiga referência parece ser na Bahia em 1882, por intermédio de Gustavo D'Utra. Em São Paulo, os primeiros estudos foram realizados no Instituto Agrônomo de Campinas. Em 1914 a soja foi introduzida no Rio Grande do Sul, por F.C.

Craig, da Escola Superior de Agronomia e Veterinária. Em 1945 pela primeira vez, no Estado de São Paulo, as estatísticas oficiais foram registradas e em 1949 o Brasil começou a aparecer como produtor de soja nas estatísticas internacionais, mas o verdadeiro impulso na produção nacional de soja ocorreu na década de 60, quando se iniciou o cultivo sucessivo trigo-soja no Rio Grande do Sul. Nos últimos anos, a área cultivada está se expandindo para a região do Cerrado e a produtividade média melhorando, sendo hoje superior à dos estados onde o cultivo é tradicional (Moraes & Silva, 1996; Sediya *et al.*, 1996).

## **1.2 – Importância da soja**

Desde o descobrimento do Brasil, em 1500, a economia passou por diversos ciclos. Durante o período pré-colonial, tudo girava em torno da extração do pau-brasil. No Brasil Colônia, foi introduzido o cultivo da cana-de-açúcar, que sofreu seu apogeu entre 1570 e 1650. No século XVIII, o país viveu o “ciclo do ouro” e no século XIX foi à vez do café. Já a partir de 1960, a laranja e a soja, foram responsáveis pelo cenário agrícola brasileiro, mas foi somente nos anos 70, com a crescente demanda no mercado interno e externo, que a soja adquiriu “status” de primeira grandeza no mercado mundial e em nosso país. Em 1970 a produção estava em torno de 1 milhão de toneladas, e em 1980 a produção já era de 15 milhões de toneladas. Os recordes foram se quebrando ano após ano e hoje a soja constitui um dos produtos agrícolas de maior importância na economia brasileira, com a produção de 50 milhões de toneladas, na safra de 2003/2004 (CONAB, 2004).

A produção mundial de soja na safra de 2004, foi de 189,12 milhões de toneladas e a área plantada foi de 87,81 milhões de hectares. O Brasil foi o segundo maior produtor mundial, com produção de 50 milhões de toneladas ou 25% da safra mundial e a área plantada foi de 21,24 milhões de hectares. Esse montante foi menor que a produção de 2003, quando o País produziu 52 milhões de toneladas e participou com quase 27% da safra mundial. O centro-oeste e o sul são as duas principais regiões produtoras, com a produção de 24,61 e 16,25 milhões de toneladas, respectivamente, na safra de 2004 (EMBRAPA/CNPQ, 2003).

O potencial da soja, para uso na alimentação animal e humana, vem sendo estudado após a Segunda Guerra Mundial, pois possui composição quase completa, incluindo proteínas de boa qualidade, ácidos graxos poliinsaturados, compostos fitoquímicos (isoflavonas, saponinas, fitatos, dentre outros), excelente fonte de minerais (cobre, ferro, fósforo, potássio, magnésio, manganês) e vitaminas do complexo B; seu valor calórico é alto, com vantagem de não resultar de grande quantidade de amido (Moraes *et al.*, 1996). O grão de soja, em média, possui 40% de proteínas, 20% de lipídios (óleo), 5% de minerais e 34% de carboidratos (açúcares como glicose, frutose e sacarose, fibras e os oligossacarídeos como rafinose e estaquiase). Cada 100 gramas de grãos contêm 230 miligramas de cálcio, 580 mg de fósforo, 9,4 mg de ferro, 1 mg de sódio, 1900 mg de potássio, 220 mg de magnésio e 0,1 mg de cobre, dentre outros compostos (EMBRAPA/CNPSO, 2003).

A soja, pelas suas qualidades nutricionais, facilidade de adaptação a quase todas as regiões do globo, alta produção e facilidade de cultivo, pode ser considerada como um dos alimentos para a população do futuro (Bellaver & Snizer, 1999). A expansão do setor de soja está relacionado principalmente a fatores associados ao comércio internacional e ao comportamento de grandes mercados de exportação. No Brasil, o consumo de soja e de seus derivados vem crescendo desde a década de 90, mas a maior parte da produção é exportada na forma de grãos ou, em menor escala, dos subprodutos do processamento primário, farelo e o óleo de soja. O aumento da produção está ligado ao consumo mundial por proteína animal, entre estes, aves, suínos e bovinos que são alimentados com uma dieta contendo altos teores de farelo de soja. No mercado europeu a demanda por soja aumentou devido à proibição do uso de proteínas de carne e osso na alimentação de animais, como consequência dos casos recentes de Encefalopatia Espongiforme Bovina, devido a estes fatos, a pressão para expansão do setor vem aumentando.

### **1.3 – Doenças da Soja**

A soja é atacada por um grande número de patógenos. Levantamentos bibliográficos indicam que ela é afetada por mais de 100 tipos de doenças em todo mundo, sendo que

destas, 35 são consideradas economicamente importantes por provocarem perdas na produção (Hartman & Sinclair, 1999).

Os problemas mais freqüentes são: a mancha “olho-de-rã” (*Cercospora sojina* Hara.), o cancro da haste, causado pelo fungo *Diaporthe phaseolorum* (Cke. & Ell) Sacc. f.sp. *meridionalis* Morgan-Jones e a podridão parda da haste (*Phialophora gregata* (Allington & Chamberlain) W. Gams), cujos danos foram minimizados com o desenvolvimento de cultivares resistentes. O nematóide ds cistos (*Heterodera glycines* Ichinohe) e a podridão vermelha da raiz (*Fusarium solani* f.sp. *glycines* (App. & Wollenw.) Snyd. & Hans.), estão aumentando em incidência a cada ano, afetando grande número de lavouras no Brasil. O oídio (*Microsphaera diffusa* Cke. & Pk.) e o complexo de doenças foliares de final de ciclo (*Septoria glycines* Hemmi, *Cercospora kikuchii* (Matsu. & Tomoyasu) Gardner e ferrugem causada por *Phakopsora pachyrhizi* Sdy. & P. Sdy.), afetam as folhas e podem ocorrer a partir do enchimento de grãos, causando desfolha acentuada, acarretando deficiência no enchimento de grãos, além de reduzir a qualidade e a germinação de sementes (Almeida *et al.*,1997; Athow, 1973). Os nematóides de galhas (*Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood e *Meloidogyne incógnita* (Kofoid e White) Chitwood), são problemas crescentes, pois existem poucas cultivares resistentes (Almeida *et al.*,1997).

As doenças bacterianas de maior importância na cultura de soja são: crestamento bacteriano (*Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* (Coerper) Yound, Dyl e Wilkie.), onde surgem pequenas lesões circulares de coloração verde-amarelada e com centro pardo claro; o fogo selvagem (*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* (Wolf e Foster) Stevens), que caracteriza-se por lesões necróticas, castanhas, circulares e circundadas por um longo halo amarelo, nas folhas; a pústula bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* (Nakano) Dye), onde os sintomas nas folhas, iniciam-se por pequenas manchas de coloração verde-amarelada, dispostas irregularmente na superfície da folha, e com centro elevado de cor amarelo-palha, que se tornam necróticas em pouco tempo e mais recentemente, a murcha-de-Cutobacterium causada por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Hedges) Collins & Jones. O principal controle dessas doenças bacterianas citadas é o uso

de variedades resistentes, além do uso de sementes sadias e o bom preparo do solo (Kennedy & Tachibana, 1973; Sediyaama *et al.*, 1996; Almeida *et al.*, 1997).

## **1.4 – A Murcha-de-Curtobacterium**

### **1.4.1 – Distribuição geográfica**

*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* foi primeiramente relatada no feijoeiro em 1920, no estado americano de Dakota do Sul nos Estados Unidos da América (Hedges, 1922). Posteriormente, em 1926, o patógeno foi isolado neste mesmo estado americano. Em seguida foi detectado nos estados de Michigan, Virginia, Maryland e Montana e também na Colômbia, França e Alemanha (Hedges, 1926). Em 1995, Venette *et al.* relatou a bactéria em outras localidades americanas. Além desses países, *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* também foi descrita na, Bélgica, Hungria, Grécia, Romênia, Tunísia, Turquia, Iugoslávia e Sul da Austrália (COSAVE, 2003).

No Brasil a doença foi primeiramente relatada no feijoeiro, no estado de São Paulo, em 1995 (Maringoni & Rosa, 1997). Hoje se encontra distribuída em várias regiões produtoras de feijão, principalmente nas regiões Sul e Sudeste. Em relatos mais recentes, a doença foi identificada no estado de Goiás e no Distrito Federal, também no feijoeiro (Uesugi *et al.* 2003).

Desde o primeiro relato de sua ocorrência em 1920, *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* se tornou uma das mais importantes doenças bacterianas que ocorrem no feijão nos EUA, chegando a causar a perda total em algumas lavouras, em determinados anos (EPPO/CABI. 1992). Mais recentemente, contudo, ela se tornou muito menos importante, inclusive não sendo relatada até o início da década de 1970 (Hall, 1991).

Em 1975 foi relatada a presença da *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em folhas de soja, no estado do Iowa nos EUA (Dunleavy, 1983). A doença “tan spot”, causada pela *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, ocorreu em 51,1% dos 818 campos examinados em Iowa em 1982. O maior predomínio de “tan spot” ocorreu na parte sudoeste do estado em

uma área contínua de nove municípios, onde 84,3% das lavouras foram afetadas pela doença (Dunleavy *et al.* 1983).

#### 1.4.2 – Etiologia

A murcha-de-Curtobacterium é causada por *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (*Corynebacterium flaccumfaciens* subsp. *flaccumfaciens*; *Corynebacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*; *Corynebacterium flaccumfaciens*). A bactéria é classificada dentro do Domínio *Bacteria*, Classe *Actinobacteria*, Ordem *Actinomycetales* e a Família *Microbacteriaceae* e Gênero *Curtobacterium* (Bradbury, 1986).

*C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* forma colônias com pigmentação amarela (Figura 1), laranja e rosa. Apresenta células em forma de bastonete e usualmente móvel com flagelos laterais. Caracteriza-se por ser Gram-positiva e quimioheterotrófica. Não apresenta ácidos graxos e esporos. O principal aminoácido da parede celular é a ornitina (Bradbury, 1986). A temperatura ótima de crescimento está entre 24-27° C e a máxima está na faixa de 35-37° C (Sinclair, 1999). As colônias crescem em média de 3-4 dias em ágar com extrato de glicose e levedura, com 2-4 mm de diâmetro (Guimarães, 1997).



**Figura 1.** Colônias de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em meio 523 modificado de Kado & Heskett, após 48 horas.

### 1.4.3 – Sintomatologia

No feijão (*Phaseolus vulgaris*), a doença ataca todas as partes da planta. As folhas tornam-se murchas (flácidas), devido à falha no transporte de seiva provocada pela degradação das paredes dos vasos de xilema, adquirem coloração castanha. Durante as horas mais quentes do dia as folhas ficam murchas, mas podem voltar à turgescência normal durante os períodos de alta umidade e baixa temperatura. Em alguns casos, o sintoma de murcha pode estar ausente e ocorrerem lesões necróticas amarelas nas folhas, muito parecidas com crestamento comum, causado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Smith) Dye . Porém, a margem das lesões é mais irregular nas infecções de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* e não há umedecimento de talos e folhas, como ocorre no crestamento comum. As nervuras podem apresentar-se de cor mais escura e este escurecimento pode estender-se lateralmente (Smith *et al.*, 1996). Os principais sintomas da doença em feijoeiro são murcha, escurecimento vascular e morte da parte aérea (Hedges, 1926). Estes sintomas ocorrem porque a *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, move-se e se espalha exclusivamente no xilema e devido à formação de fenóis, ocorre o enegrecimento vascular. As células bacterianas obstruem os feixes vasculares causando a interrupção do fluxo de água para a parte aérea, e com isto ocasiona a murcha das folhas e a morte da parte aérea (Agrios, 1997; Guimarães, 1997).

Nas vagens, a doença é pouco visível, mas nas jovens, quando acidentalmente são umedecidas, tornam-se verde-amarelas, ou mais escuras que o resto da vagem. Já nas vagens maduras, as lesões são mais aparentes, tornando-se de cor verde-oliva. Quanto às sementes de coloração branca, se infectadas de maneira sistêmica, apresentam coloração amarelo brilhante; já em variedades que possuem sementes coloridas, esta coloração se torna menos visível. No hilo, pode ocorrer uma mucosidade de coloração amarela e as sementes podem apresentar-se irregularmente enrugadas (COSAVE, 2003).

Na soja, a doença é chamada de “tan spot”. O sintoma causado por *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, começa com pequenas lesões, clorose oval ou alongada, ao longo da margem da folha e progride na direção da nervura, envolvendo por inteiro o folíolo (Figura 2. A e B). Quando sementes contaminadas são semeadas, as plântulas podem ser raquíticas, os folíolos fundidos e posteriormente vagens ocas. As folhas podem

desenvolver necrose marginal e causa declínio no desenvolvimento da flor (Sinclair, 1999; Sweets, 2002).



**Figura 2.** Murcha-de-Curtobacterium , causada por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, em soja. **A** - Pequenas lesões ao longo da margem da folha; **B** - clorose oval ou alongada, ao longo da margem da folha progredindo na direção da nervura.

#### 1.4.4 – Epidemiologia e Controle

Conforme Hedges (1926) a *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* pode ser transmitida via sementes contaminadas e disseminada por propágulos vegetativos infectados, mas de acordo com Zaumayer (1932), citado por Guimarães (1997), a penetração da bactéria pode ser também por hidatódios e estômatos, e por injúrias causadas pelo nematóide *Meloidogyne incognita* (COSAVE, 2003). Sua disseminação a curtas distâncias é causada pela irrigação, chuva e granizo, e em distâncias maiores, por sementes, que pode ser infectadas interna ou externamente. A bactéria é muito resistente ao dessecação e pode permanecer viável por mais de 24 anos quando armazenada em laboratório. Dentre os fatores ambientais que favorecem a doença encontram-se as temperaturas altas (32°C), o estresse de umidade e as chuvas de granizo (COSAVE, 2003).

De acordo com o trabalho realizado por Miranda & Uesugi (2004), constatou-se, por inoculações artificiais, a suscetibilidade do feijão fradinho (*Vigna unguiculata*), feijão de corda (*Vigna unguiculata*), fava (*Phaseolus lunatus*), grão de bico (*Cicer arietinum*) e

tomate (*Lycopersicon esculentum*) à bactéria *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, por inoculação e também milho (*Zea mays*), conforme relato de Bradbury (1986).

Por ser um patógeno que coloniza os feixes vasculares, o controle preventivo mais efetivo é o plantio de semente livre do patógeno, rotação de cultura e o uso de cultivares resistentes. A utilização de cultivares resistentes é o método mais econômico e eficaz para o controle de doenças. Entretanto o controle químico se torna a forma mais viável de redução de perdas (Nomura *et al.*, 1996; Utimada *et al.*, 1997).

Resistência é a capacidade da planta para excluir ou superar, completamente ou em certo grau, o efeito de um patógeno (Agrios, 1997). A resistência genética da planta está associada à reação de incompatibilidade entre a planta e o patógeno, pois é o próprio código genético da planta que oferece resistência. No trabalho realizado por Maringoni (2002) foi avaliado a resistência de 40 cultivares de feijão à murcha de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, as reações apresentadas pelas cultivares permitiram verificar que 'IAC Carioca Aruã', 'IAC Carioca Akytã' e 'IAC Carioca Pyatã' foram resistentes e que as outras cultivares avaliadas foram suscetíveis à murcha-de-Curtobacterium. Em outro trabalho realizado por Maringoni (2002), verificou-se que o acibenzolar-S-methyl não apresentou eficácia na indução de resistência à murcha-de-Curtobacterium em feijão, quando aplicado em tratamento de sementes ou em pulverização. Em estudos preliminares, Dunleavy (1984) verificou, em uma cultivar suscetível de soja, o efeito protetor do hidróxido de cobre em plantas que ainda não haviam sido contaminadas, porém nas plantas inoculadas o hidróxido de cobre foi ineficaz na erradicação da bactéria.

O método de tratamento de sementes, contaminadas interna ou externamente, mais utilizado é a termoterapia para erradicação de fitobactérias (Kimura, 1991; Zambolim, *et al.*, 1997). Porém, este método pode causar retardamento ou redução da germinação e do vigor da semente e a sua eficiência depende da localização do patógeno, do vigor e da sensibilidade da semente a temperaturas elevadas (Menten, 1995).

## 2 – OBJETIVO

De acordo com a Instrução Normativa SDA nº 38, de 23 de NOVEMBRO de 1998 (em anexo), *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, é regulamentada como uma praga quarentenária do tipo A1 (aquelas não presentes no País, porém com características de serem potenciais causadoras de importantes danos econômicos, se introduzidas), mas de acordo com Marigoni & Rosa (1997), a doença foi relatada no estado de São Paulo em 1995 e hoje, já se encontra distribuída em várias regiões produtoras de feijão. Relatos mais recentes indicam a presença da doença no estado de Goiás e no Distrito Federal (Uesugi *et al.* 2003).

Devido a sua recente detecção no Brasil pouco se conhece sobre a reação da soja a *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. Shuste & Sayre (1967), Hedges (1926) e Maringoni & Souza (2003) observaram, por inoculação artificial, a suscetibilidade da soja a isolados bacterianos de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* procedentes de feijoeiro. Sabendo que a soja é uma hospedeira de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* e, mesmo esta ainda não tendo sido detectada nesta planta, pode ser apenas uma questão de tempo para que a *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* possa causar problemas na soja, visto que ela é rotacionada com o feijão, na qual já foi detectada. Sendo assim esta pesquisa possui um papel fundamental na realização antecipada de estudos sobre a murcha-de-Curtobacterium que pode vir a se constituir em um problema futuro, causador de elevados danos econômicos. Considerando estes aspectos, o presente trabalho teve como objetivo avaliar, em casa de vegetação, a reação das linhagens e variedades de soja, fornecidas pela empresa Genética Tropical, a um isolado de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* proveniente de feijão.

### **3 - MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram realizados na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília (UnB), em casa de vegetação, e no Laboratório de Fitopatologia, situado no Campus Universitário Darcy Ribeiro - UnB.

#### **3.1 – Isolado bacteriano**

O isolado de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* foi obtido através de amostras de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), coletadas na região de Cristalina – GO e depositado na Coleção de Bactérias Fitopatogênicas do Departamento de Fitopatologia da Universidade de Brasília, sob o número UnB 1253.

#### **3.2 – Cultivo e preservação do isolado**

*C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* foi cultivada em meio de cultura 523 (Kado & Heskett 1970) modificado e mantido a uma temperatura de 28°C. Para manutenção de sua viabilidade foram realizadas repicagens periódicas durante o desenvolvimento do trabalho. A cultura utilizada para a inoculação foi de 48 horas após a repicagem.

Para a preservação, a bactéria foi cultivada em meio sólido, 523 de Kado & Heskett (1970) modificado, por 48 horas e utilizou-se o método de dessecação (Takatsu, 1978; Takatsu, 1985). Células bacterianas (mais concentradas) foram adicionadas em um tubo de ensaio com 5 ml de água destilada e autoclavada. Foram adicionados nesta solução bacteriana concentrada, 5 ml de solução preservante autoclavada, contendo (50 g) de gelatina e (80 g) de peptona, em (1.000 ml) água destilada. O conteúdo foi vertido em uma placa de Petri e estéril e, com auxílio de uma pinça flambada, tiras estéreis de papel-filtro foram embebidas nesta solução, e em seguida, foram colocadas em um dessecador contendo sílica gel. Quando secas, foram armazenadas em tubos com rosca esterilizados.

### **3.3 – Determinação da concentração de células bacterianas para inoculação**

A concentração da suspensão foi determinada pelo método de diluição e plaqueamento, com aproximadamente  $10^9$  UFC/ml, baseada na curva de calibração obtida para a bactéria (Miranda *et al.* 2004). Para diluição, uma agulha histológica esterilizada foi previamente molhada nesta suspensão e posteriormente foi mergulhada em um tubo de ensaio contendo 10 ml de água destilada esterilizada. O tubo de ensaio foi agitado para homogeneização da suspensão e, em seguida, uma alíquota de 50  $\mu$ l foi plaqueada em meio 523 modificado, em três repetições. Após 48 horas foram contadas as unidades formadoras de colônias (UFCs).

### **3.4 – Preparo de vasos para plantio**

No preparo de vasos foi utilizado solo esterilizado com brometo de metila. Não foi utilizada qualquer forma de adubação complementar, já que as plantas foram avaliadas no início de seu desenvolvimento vegetativo. Os níveis de nutrientes do solo foram suficientes para que não ocorresse qualquer estresse nas plantas gerado por deficiência nutricional. As plantas foram irrigadas diariamente, suprimindo assim suas necessidades hídricas.

### **3.5 – Delineamento experimental**

Em todos os ensaios as plantas foram mantidas em casa de vegetação com temperaturas oscilando entre 23°C e 35°C. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Foram realizadas três repetições, cada uma representada por um vaso (vasos 1 e 2, com três plantas cada e o vaso 3, com quatro plantas).

As análises estatísticas foram feitas com o auxílio do software SANEST, de autoria de Zonta & Machado (1995). Foi empregada a análise de variância pelo Teste F e as médias foram comparadas através do Teste de Tukey ao nível de probabilidade de erro de 5%.

### **3.6 – Resistência da soja à murcha-de-*Curtobacterium* causada por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.**

#### **3.6.1 – Linhagens e variedades utilizadas**

Para a realização deste experimento foram utilizadas as seguintes linhagens e variedades de soja, fornecidas pela empresa Genética Tropical, localizada na região de Cristalina (GO). Para análise de níveis de resistência à murcha-de-*Curtobacterium* utilizou-se 139 linhagens e variedades, sendo que as linhagens foram: 881 (GT01- 134), 886 (GT01- 465), 889 (GT01- 121), 1041 (GT01- 315), 1052 (GT01- 220), 1215 (GT01- 463), 1283 (GT01- 313), 1284 (GT01- 406), 1285 (GT01- 301), 1286 (GT01- 403), 1287 (GT01- 312), 1288 (GT01- 359), 1289 (GT01- 405), 1290 (GT01- 460), 1291 (GT01- 250), 1292 (GT01- 455), 1293 (GT01- 344), 1294 (GT01- 320), 1295 (GT01-145), 1296 (GT01- 253), 1297 (GT01- 418), 1299 (GT01- 346), 1361 (GT01- 132), 1363 (GT01- 340), 1364 (GT01- 251), 1365 (GT01- 112), 1366 (GT01- 383), 1367 (GT01- 68), 1368 (GT01- 142), 1369 (GT01- 269), 1370 (GT01- 466), 1371 (GT01- 248), 1372 (GT01- 125), 1373 (GT01- 201), 1374 (GT01- 437), 1375 (GT01- 177), 1376 (GT01- 79), 1377 (GT01- 158), 1379 (GT01- 196), 1441 (GT01- 343), 1443 (GT01- 342), 1444 (GT01- 81), 1445 (GT01- 166), 1446 (GT01- 97), 1447 (GT01- 71), 1448 (GT01- 382), 1449 (GT01- 164), 1450 (GT01- 331), 1451 (GT01- 348), 1452 (GT01- 234), 1453 (GT01- 255), 1454 (GT01- 283), 1455 (GT01- 419), 1456 (GT01- 65), 1457 (GT01-113), 1459 (GT01- 200), 1521 (GT01- 218), 1523 (GT01- 187), 1524 (GT01- 211), 1525 (GT01- 423), 1526 (GT01- 334), 1527 (GT01- 324), 1528 (GT01- 450), 1529 (GT01- CAMPEÃ), 1530 (GT01- 53), 1531 (GT01- 459), 1532 (GT01- 263), 1533 (GT01- 452), 1534 (GT01- 272), 1535 (GT01- 212), 1536 (GT01- 180), 1537 (GT01- 424), 1539 (GT01- 264), 1578 (GT01- 334), 1601 (GT01- 226), 1603 (GT01- 256), 1604 (GT01- 363), 1605 (GT01- 135), 1606 (GT01- 441), 1607 (GT01- 126), 1608 (GT01- 131), 1609 (GT01- 130), 1610 (GT01- 178), 1611 (GT01- 119), 1612 (GT01- 374), 1613 (GT01-89), 1614 (GT01- 308), 1615 (GT01- 377), 1616 (GT01- 199), 1617 (GT01- 195), 1619 (GT01- 190), 1681 (GT01- 395), 1683 (GT01- 368), 1684 (GT01- 249), 1685 (GT01- 293), 1686 (GT01- 104 PURA), 1687 (GT01- 296), 1688 (GT01- 22), 1689 (GT01-151), 1690 (GT01- 335), 1691 (GT01-215), 1692 (GT01- 275), 1693 (GT01- 212), 1694 (GT01-

143), 1695 (GT01- 259), 1696 (GT01- 366), 1697 (GT01- 343), 1699 (GT01-124), 7112 (GT01- 381), 7115 (GT01-207) 7116 (GT01-104), 7117 (GT01-43), 7118 (GT01-461), 7119 (GT01-297), 7120 (GT01-170), 7121 (GT01-170), 7123 (GT01-172), 7125 (GT01-456) e as variedades foram: 7122 (M-SOY 8001), 7114 (M-SOY 8329), 7113 (CONQUISTA), 1700 (CONQUISTA), 7111 (M-SOY 9001), 1698 (M-SOY 8001), 1618 (M-SOY 8001), 1620 (CONQUISTA), 1602 (M-SOY 9001), 1540 (CONQUISTA), 1538 (M-SOY 8001), 1522 (M-SOY 9001), 1460 (CONQUISTA), 1458 (M-SOY 8001), 1298 (M-SOY 8001), 1300 (CONQUISTA), 1362 (M-SOY 9001), 1378 (M-SOY 8001), 1380 (CONQUISTA), 1442 (M-SOY 9001) e 7124 (CAMPEÃ fRAIZ).

### **3.6.2 – Inoculação**

Depois de determinada a concentração da suspensão (mencionada no item 3.3), as plantas foram inoculadas, nas hastes, com uma picada de agulha histológica mergulhada na suspensão contendo aproximadamente  $1 \times 10^9$  UFC/ml. Cada picada continha aproximadamente  $2 \times 10^5$  UFC.

A inoculação foi realizada 10 dias após o plantio, logo acima da inserção da folha cotiledonar de cada planta (inoculação via haste), no estágio fenológico V1, quando as plantas já se encontravam com a primeira folha trifoliolada (Figura 3). Esta fase fenológica foi escolhida com o objetivo de aproximar as condições experimentais às condições de infecção no campo, aumentando assim, a confiabilidade dos resultados encontrados. O controle foi inoculado com água destilada esterilizada.



**Figura 3.** Inoculação de uma estirpe de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* logo acima da inserção da folha cotiledonar em soja, pelo método da picada com agulha histológica.

### 3.6.3 – Isolamento

#### 3.6.3.1 – Hastes

Para observar a translocação da bactéria, realizou-se o isolamento da parte superior da haste. Para o isolamento, 0,5 g das hastes das variedades e das linhagens foram pesadas aos 10 dias após a inoculação e submetidas ao processo de desinfecção superficial, que consiste em imersão em etanol a 70% por 10 segundos, seguidos de tratamento com hipoclorito de sódio a 1% por um minuto e lavagem em água destilada. Após o processo de desinfecção superficial, as hastes foram maceradas em 1 ml de água destilada e autoclavada, e desta pegou-se uma alíquota de 50  $\mu$ l, que foi plaqueada em meio 523, mantido a 28° C por 48 h. Para cada variedade e linhagem foram realizadas três repetições.

#### 3.6.3.2 – Sementes

Para o isolamento das sementes, foram coletadas 10 sementes das plantas onde ocorreu a translocação da bactéria e estas foram submetidas ao processo de desinfecção superficial, que consiste em imersão em hipoclorito de sódio a 1% por um minuto e em seguida realizou-se a lavagem em água destilada. Após o processo de desinfecção superficial, as sementes foram maceradas em 1 ml de água destilada e autoclavada, e desta

pegou-se uma alíquota de 50 µl, que foi plaqueada em meio 523, mantido a 28° C por 48 h. Para cada variedade e linhagem foram realizadas três repetições.

#### **3.6.4 – Avaliação**

As avaliações foram realizadas de acordo com a proporção de plantas infectadas e com sintomas visíveis de clorose/necrose ou de murcha. A primeira avaliação foi realizada 10 dias após a inoculação, com média de 8 a 11 folhas por planta, sendo que estas encontravam-se entre os estádios vegetativos V3 e V4, período necessário para o aparecimento visível dos sintomas. A segunda avaliação foi realizada 20 dias após a inoculação, entre os estádios vegetativos V5 e V6, quando as plantas possuíam em média 14 a 17 folhas. O grau de suscetibilidade foi avaliado pela contagem de folhas infectadas e o seu número total, para cada planta. Através dos dados obtidos, pôde ser calculada a percentagem de folhas infectadas, aos 10 e aos 20 dias após a inoculação e compará-las ao controle e entre si, duas a duas. Posteriormente foi atribuída uma escala de notas de acordo com o percentual de folhas contaminadas em relação às folhas sem sintomas: resistente (“R”), baixa (“S”), média (“SS”) e alta suscetibilidade (“SSS”). Foi realizada também a verificação da presença da bactéria nas sementes das variedades e linhagens de soja inoculadas.

### **3.7 – Observação semanal do desenvolvimento da *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em diferentes idades da planta com a inoculação aos dez dias após a semeadura.**

#### **3.7.1 – Linhagens e variedades utilizadas**

Para este trabalho foram utilizadas 16 linhagens e variedades de soja, fornecidas pela empresa Genética Tropical, que foram anteriormente testadas quanto aos níveis de suscetibilidade por Alves (2003). Conforme as médias, as variedades e linhagens foram agrupadas em “Resistentes” (folhas sem sintomas de murcha-de-*Curtobacterium*), “Baixa Suscetibilidade” (0,1% a 20% das folhas com murcha-de-*Curtobacterium*), “Média

Suscetibilidade” (20,1% a 40% das folhas com murcha-de-Curtobacterium ) e “Alta Suscetibilidade” (mais de 40,1% das folhas com murcha-de-Curtobacterium ) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Níveis de suscetibilidade de linhagens e variedades de soja a uma estirpe de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Alves, 2003).

Linhas e variedades	Médias Originais	Resist./Suscet.
963 (GT01- 450)	45,511	SSS*
1126 (GT01- 290)	41,919	SSS
1137 (GT01- 114)	41,705	SSS
975 (GT01- 28)	40,909	SSS
1046 (GT01- 87)	29,886	SS
1205 (GT01- 249)	27,525	SS
979 (GT01- 354)	27,045	SS
1204 (GT01- 304)	26,989	SS
1127 (GT01- 414)	14,886	S
1203 (GT01- 327)	12,500	S
1136 (GT01- 456)	10,227	S
887 (GT01- 287)	8,864	S
1218 (M-SOY 8001)	8,381	S
890 (GT01- 452 A)	8,182	S
1042 (M-SOY 9001)	6,364	S
974 (GT01- 372)	3,636	S

\* (R) resistente – ausência de sintomas; (S) baixa suscetibilidade – 0,1% a 20% das folhas com murcha; (SS) média suscetibilidade – de 20,1% a 40% das folhas com murcha; (SSS) alta suscetibilidade – mais de 40,1% das folhas com murcha.

### 3.7.2 – Inoculação

Depois de determinada a concentração da suspensão (item 3.3), as plantas foram inoculadas conforme descrição no item 3.6.2, e após 10 dias a inoculação realizou-se o isolamento, para a observação semanal do desenvolvimento da bactéria.

### **3.7.3 – Isolamento**

Para o isolamento, pesou-se 0,5 g das hastes, sendo que essas foram retiradas acima de onde foi realizada a inoculação. As hastes foram submetidas ao processo de desinfecção superficial, que foi relatado no item 3.6.3.1. Este processo foi realizado semanalmente, durante quarenta e dois dias (seis semanas). Para cada variedade e linhagem foram realizadas três repetições.

### **3.7.4 – Avaliação**

Para a avaliação, foram feitas contagens de colônias, expressas em UFCs (unidades formadoras de colônias) de cada placa após dois dias de incubação a 28°C, semanalmente, durante quarenta e dois dias. Paralelamente, foi medida a altura da planta em centímetros.

## **3.8 – Efeito da idade da planta na reação da soja a *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* aos 10, 20 e 30 dias do plantio.**

### **3.8.1 – Linhagens e variedades utilizadas**

Para a realização deste experimento foram utilizadas oito linhagens e variedades de soja, que foram testadas quanto aos níveis de resistência à murcha-de-Curtobacterium . As linhagens e variedades avaliadas foram: 1697 (GT01- 343), 1683 (GT01- 368), que foram consideradas resistentes; 1540 (CONQUISTA), 1698 (M-SOY 8001), 7124 (CAMPEÃ *f* RAIZ), 7114 (M-SOY 8329), 1529 (GT01- CAMPEÃ), que foram consideradas com baixa suscetibilidade e a linhagem 1694 (GT01- 143) que possui alta suscetibilidade.

### **3.8.2 – Inoculação**

Depois de determinada a concentração da suspensão (mencionada no item 3.3), as plantas foram inoculadas (item 3.6.2). A inoculação foi realizada 10, 20 e 30 dias após o plantio, em plantas diferentes, logo acima da inserção da folha cotiledonar de cada planta (inoculação via haste) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Número de células de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (expressas em UFCs) inoculadas aos 10, 20 e 30 dias após o plantio em diferentes linhagens e variedades de soja.

Linhagens e variedades	Época 10	Época 20	Época 30
1698	6,62x10 <sup>5</sup>	3,144x10 <sup>5</sup>	6,192x10 <sup>5</sup>
1540	6,62x10 <sup>5</sup>	3,144x10 <sup>5</sup>	6,192x10 <sup>5</sup>
7124	6,62x10 <sup>5</sup>	3,144x10 <sup>5</sup>	6,192x10 <sup>5</sup>
1522	6,62x10 <sup>5</sup>	3,144x10 <sup>5</sup>	6,192x10 <sup>5</sup>
1697	6,62x10 <sup>5</sup>	3,144x10 <sup>5</sup>	6,192x10 <sup>5</sup>
1683	4,048x10 <sup>5</sup>	3,424x10 <sup>5</sup>	6,192x10 <sup>5</sup>
1529	4,048x10 <sup>5</sup>	3,424x10 <sup>5</sup>	6,192x10 <sup>5</sup>
7114	4,048x10 <sup>5</sup>	3,424x10 <sup>5</sup>	6,192x10 <sup>5</sup>
1694	4,048x10 <sup>5</sup>	3,424x10 <sup>5</sup>	6,192x10 <sup>5</sup>

### 3.8.3 – Isolamento

O isolamento foi realizado aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação. Duas plantas com sintomas foram coletadas e dessas 0,5 g das hastes das variedades e linhagens foram pesadas, essas foram retiradas acima do local onde foi realizada a inoculação, e submetidas ao processo de desinfecção superficial (item 3.6.3.1).

Após o processo de desinfecção superficial, as hastes foram maceradas em 1 ml de água destilada e autoclavada, e desta transferiu-se uma alíquota de 50 µl para um tubo de ensaio contendo 10 ml de água destilada e autoclavada para ser diluído. Este processo foi feito mais duas vezes, e desta suspensão foi retirada uma alíquota de 50 µl que foi plaqueada em meio 523. Para cada variedade e linhagem foram realizadas três repetições. Este processo foi realizado semanalmente, durante três semanas, para cada época de inoculação.

### 3.8.4 – Avaliação

Para a avaliação, foram realizadas contagens das colônias de cada placa, após dois dias de incubação a 28° C, semanalmente, durante três semanas, para cada época de inoculação.

### **3.9 – Análise das vias de penetração.**

#### **3.9.1 – Linhagens utilizadas**

Para a realização deste experimento foram utilizadas nove linhagens e variedades de soja, que foram testadas no experimento de análise de níveis de resistência à *murcha-de-Curtobacterium* (item 3.6). As linhagens e variedades analisadas foram: 1697 (GT01- 343), 1683 (GT01- 368), que foram consideradas resistentes; 1540 (CONQUISTA), 1698 (M-SOY 8001), 7124 (CAMPEÃ *f* RAIZ), 7114 (M-SOY 8329), 1529 (GT01- CAMPEÃ), 1522 (M-SOY 9001) que foram consideradas com baixa suscetibilidade e a linhagem 1694 (GT01- 143), de alta suscetibilidade.

#### **3.9.2 – Inoculação**

Depois de determinada a concentração da suspensão (mencionada no item 3.3), as plantas testadas foram inoculadas aos 10 dias após o plantio. Foram realizadas três repetições, cada uma representada por um vaso, com três plantas cada, para cada método de inoculação.

O primeiro método de inoculação foi realizado na parte abaxial das primeiras folhas com auxílio de um pincel, este pincel foi molhado na suspensão bacteriana com concentração aproximada de  $1 \times 10^8$  UFC/ml, posteriormente este foi passado na parte abaxial das folhas. Para manter a umidade, as plantas foram cobertas por vinte e quatro horas com um saco plástico para facilitar a penetração da bactéria via estômatos. Os dois outros métodos utilizados foram via raiz, sendo que em um método foram realizados anteriormente ferimentos nas raízes com o objetivo de favorecer a penetração da bactéria e no outro não foi realizada a indução de ferimentos na raiz. Nestes dois últimos métodos, foram colocados 100 ml da suspensão bacteriana com concentração aproximada de  $1 \times 10^8$  UFC/ml em cada vaso.

### **3.9.3 – Isolamento**

Para o isolamento, 0,5 g das hastes das variedades e linhagens foram pesadas, essas foram retiradas acima da inserção da folha cotiledonar de cada planta, 10 dias após a inoculação e submetidas ao processo de desinfecção superficial (item 3.6.3.1). Após o processo de desinfecção superficial, as hastes foram maceradas com 1 ml de água destilada e autoclavada, e desta transferiu-se uma alíquota de 50 µl, que foi plaqueada em meio 523. Para cada variedade e linhagem foram realizadas três repetições.

### **3.9.4 – Avaliação**

Para a avaliação de cada método de inoculação, foi observada a presença ou não da bactéria em cada placa após 48 h de incubação a 28°C.

## 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 – Resistência da soja à murcha-de-Curtobacterium causada por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

Os resultados foram analisados conforme as percentagens (%) de folhas com sintomas visíveis de murcha-de-Curtobacterium , em relação ao total de folhas na planta (avaliação 10 e 20 dias após inoculação), obtendo-se um percentual médio. Não foi observada uma progressão do percentual de folha com sintoma de murcha-de-Curtobacterium nas épocas de avaliação, este resultado foi confirmado na realização do teste de Tukey ao nível de 5%, no qual ficou comprovado que não houve efeito significativo para os dois parâmetros avaliados (Tabela 3).

De acordo com os dados coletados nas duas avaliações (10 e 20 dias), pode-se constatar que todas as variedades testadas foram suscetíveis, situando-se no nível de baixa suscetibilidade. A variedade Msoy 9001 (9,42 a 18,43% das folhas afetadas), foi a que maior suscetibilidade apresentou, seguidas pelas variedades Msoy 8001 (1,69 a 15,6% das folhas afetadas), Conquista (1,22 a 6,33% das folhas afetadas) e Msoy 8329 (0,69% das folhas afetadas) enquanto que as linhagens apresentaram diferentes níveis de suscetibilidade: alta (entre 41,30 a 59,02% das folhas afetadas), média (entre 20,15 a 39,00% das folhas afetadas) e baixa (0,69 a 19,91% das folhas afetadas) sendo que 23,73% situou-se no grupo de média (SS) e 70,34% no de baixa (S) suscetibilidade. As linhagens 1696 (GT01-366), 1697 (GT01-343) e 1683 (GT01-368) foram resistentes à estirpe de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Tabela 3).

Segundo os resultados obtidos aos 20 dias após a inoculação, com o auxílio do teste de Tukey ao nível de 5% (Tabela 3) foram considerados, quatro grupos, de acordo com a percentagem (%) de folhas com sintomas visíveis de murcha-de-Curtobacterium , em relação ao total de folhas na planta:

- Resistente (R): folhas sem sintomas de murcha-de-Curtobacterium ;
- Baixa suscetibilidade (S): 0,1% a 20% das folhas com murcha-de-Curtobacterium ;

- Média suscetibilidade (SS): 20,1% a 40% das folhas com murcha-de-Curtobacterium ;
- Alta suscetibilidade (SSS): mais de 40,1% das folhas com murcha-de-Curtobacterium .

**Tabela 3.** Níveis de resistência de 139 linhagens e variedades de soja a uma estirpe de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, após 20 dias da inoculação.

Linhagens e variedades	Médias**	Médias originais	Grupos Teste de Tukey*	Resist./Suscet.***
1694(GT01-143)	20,29	59,02	A	SSS
1291(GT01-250)	18,86	45,94	AB	SSS
1532(GT01-187)	18,5	42,87	ABC	SSS
1363(GT01-340)	18,31	41,3	ABCD	SSS
1361(GT01-132)	18,03	39	ABCDE	SS
1457(GT01-113)	17,98	38,56	ABCDE	SS
1521(GT01-218)	17,69	36,19	ABCDEF	SS
1443(GT01-342)	17,47	34,49	ABCDEFG	SS
1605(GT01-135)	17,22	32,59	ABCDEFGH	SS
7117(GT01-43)	17,12	31,84	ABCDEFGHI	SS
1295(GT01-145)	17,08	31,48	ABCDEFGHIJ	SS
1365(GT01-112)	16,83	29,66	ABCDEFGHIJK	SS
1530(GT01-53)	16,79	29,37	ABCDEFGHIJKL	SS
1609(GT01-130)	16,77	29,21	ABCDEFGHIJKLM	SS
1296(GT01-253)	16,68	28,56	ABCDEFGHIJKLM	SS
1446(GT01-97)	16,68	28,49	ABCDEFGHIJKLM	SS
1537(GT01-424)	16,65	28,32	ABCDEFGHIJKLM	SS
1691(GT01-215)	16,6	27,97	ABCDEFGHIJKLM	SS
1372(GT01-125)	16,57	27,75	ABCDEFGHIJKLM	SS
7123(GT01-172)	16,39	26,43	ABCDEFGHIJKLMN	SS
1376(GT01-79)	16,34	26,13	ABCDEFGHIJKLMN	SS
881(GT01-134)	16,29	25,77	ABCDEFGHIJKLMN	SS
1539(GT01-264)	16,06	24,21	ABCDEFGHIJKLMNO	SS
1368(GT01-142)	16,01	23,84	ABCDEFGHIJKLMNO	SS
1447(GT01-71)	16	23,79	ABCDEFGHIJKLMNO	SS
1287(GT01-132)	15,86	22,08	ABCDEFGHIJKLMNO	SS

---

1610(GT01-178)	15,77	22,01	ABCDEFGHIJKLMNO	SS
1453(GT01-225)	15,73	21,97	ABCDEFGHIJKLMNO	SS
1699(GT01-124)	15,63	21,3	ABCDEFGHIJKLMNO	SS
1693(GT01-212)	15,62	21,27	ABCDEFGHIJKLMNO	SS
1373(GT01-201)	15,49	20,43	ABCDEFGHIJKLMNO	SS
1608(GT01-131)	15,45	20,15	ABCDEFGHIJKLMNO	SS
1526(GT01-334)	15,41	19,91	ABCDEFGHIJKLMNO	S
1619(GT01-190)	15,19	18,5	ABCDEFGHIJKLMNOP	S
1522(M-SOY 9001)	15,18	18,43	ABCDEFGHIJKLMNOP	S
1215(GT01-463)	15,1	17,97	ABCDEFGHIJKLMNOP	S
1459(GT01-200)	15,09	17,89	ABCDEFGHIJKLMNOP	S
1611(GT01-119)	15,07	17,81	ABCDEFGHIJKLMNOP	S
1362(M-SOY 9001)	14,93	16,92	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1689(GT01-151)	14,89	16,72	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1444(GT01-81)	14,86	16,55	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1613(GT01-89)	14,85	16,49	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1370(GT01-446)	14,74	15,84	BCDEFGHIJKLMNOP	S
7122(M-SOY 8001)	14,7	15,6	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1536(GT01-180)	14,67	15,43	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1578(GT01-334)	14,64	15,24	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1534(GT01-272)	14,63	15,21	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1369(GT01-269)	14,61	15,09	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1528(GT01-450)	14,59	14,93	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1451(GT01-348)	14,52	14,53	BCDEFGHIJKLMNOP	S
7115(GT01-207)	14,51	14,52	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1527(GT01-324)	14,5	14,46	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1617(GT01-195)	14,49	14,38	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1449(GT01-164)	14,48	14,34	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1445(GT01-166)	14,43	14,06	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1535(GT01-212)	14,41	13,97	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1616(GT01-199)	14,4	13,92	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1604(GT01-363)	14,37	13,72	BCDEFGHIJKLMNOP	S
889(GT01-121)	14,33	13,49	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1367(GT01-68)	14,33	13,49	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1614(GT01-308)	14,3	13,34	BCDEFGHIJKLMNOP	S

---

---

1298(M-SOY 8001)	14,25	13,08	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1288(GT01-359)	14,23	13	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1612(GT01-374)	14,18	12,68	BCDEFGHIJKLMNOP	S
7111(M-SOY 9001)	14,11	12,31	BCDEFGHIJKLMNOP	S
886(GT01-465)	14,09	12,25	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1377(GT01-158)	14,06	12,05	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1606(GT01-441)	14,01	11,83	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1375(GT01-177)	13,9	11,23	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1441(GT01-343)	13,88	11,15	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1285(GT01-301)	13,85	10,96	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1448(GT01-382)	13,83	10,9	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1615(GT01-377)	13,81	10,8	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1371(GT01-248)	13,72	10,36	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1284(GT01-406)	13,65	9,99	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1299(GT01-346)	13,65	9,99	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1366(GT01-383)	13,64	9,93	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1523(GT01-187)	13,62	9,83	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1602(M-SOY 9001)	13,59	9,7	BCDEFGHIJKLMNOP	S
7125(GT01-456)	13,54	9,47	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1442(M-SOY 9001)	13,53	9,42	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1603(GT01-256)	13,52	9,36	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1531(GT01-459)	13,51	9,32	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1379(GT01-196)	13,48	9,16	BCDEFGHIJKLMNOP	S
1525(GT01-423)	13,25	8,12	CDEFGHIJKLMNOP	S
1041(GT01-315)	13,11	7,53	CDEFGHIJKLMNOP	S
1533(GT01-452)	13,06	7,28	DEFGHIJKLMNOP	S
1289(GT01-405)	13,02	7,12	DEFGHIJKLMNOP	S
7119(GT01-297)	12,91	6,68	EFGHIJKLMNOP	S
1300(CONQUISTA)	12,83	6,35	EFGHIJKLMNOP	S
1380(CONQUISTA)	12,81	6,26	EFGHIJKLMNOP	S
1450(GT01-331)	12,81	6,26	EFGHIJKLMNOP	S
1456(GT01-65)	12,81	6,25	EFGHIJKLMNOP	S
1601(GT01-226)	12,77	6,1	EFGHIJKLMNOP	S
1374(GT01-437)	12,71	5,88	EFGHIJKLMNOP	S
7116(GT01-104)	12,69	5,78	EFGHIJKLMNOP	S

---

---

7120(GT01-170)	12,53	5,16	FGHIJKLMNOP	S
1292(GT01-455)	12,5	5,06	FGHIJKLMNOP	S
1688(GT01-22)	12,47	4,97	FGHIJKLMNOP	S
1538(M-SOY 8001)	12,44	4,84	FGHIJKLMNOP	S
1524(GT01-211)	12,43	4,81	FGHIJKLMNOP	S
1452(GT01-234)	12,42	4,78	FGHIJKLMNOP	S
1698(M-SOY 8001)	12,32	4,42	FGHIJKLMNOP	S
1297(GT01-148)	12,29	4,3	GHIJKLMNOP	S
1692(GT01-275)	12,27	4,24	GHIJKLMNOP	S
1695(GT01-259)	12,26	4,23	GHIJKLMNOP	S
1607(GT01-126)	12,25	4,19	GHIJKLMNOP	S
1687(GT01-296)	12,22	4,08	GHIJKLMNOP	S
1618(M-SOY 8001)	12,21	4,04	GHIJKLMNOP	S
1454(GT01-283)	12,2	4	GHIJKLMNOP	S
1364(GT01-251)	12,18	3,96	GHIJKLMNOP	S
1458(M-SOY 8001)	12,16	3,88	GHIJKLMNOP	S
7121(GT01-51)	12,13	3,77	GHIJKLMNOP	S
1290(GT01-460)	12,12	3,74	GHIJKLMNOP	S
1286(GT01-403)	12,05	3,51	HIJKLMNOP	S
1052(GT01-220)	12,03	3,45	HIJKLMNOP	S
1455(GT01-419)	12,01	3,4	HIJKLMNOP	S
1529(GT01- CAMPEÃf)	11,89	3,03	HIJKLMNOP	S
1700(CONQUISTA)	11,73	2,57	IJKLMNOP	S
1620(CONQUISTA)	11,71	2,52	JKLMNOP	S
1294(GT01-320)	11,65	2,35	KLMNOP	S
1293(GT01-344)	11,64	2,33	KLMNOP	S
7118(GT01-461)	11,59	2,18	KLMNOP	S
7113(CONQUISTA)	11,49	1,94	KLMNOP	S
1283(GT01-313)	11,48	1,91	KLMNOP	S
1540(CONQUISTA)	11,48	1,91	KLMNOP	S
1681(GT01-395)	11,41	1,76	LMNOP	S
1378(M-SOY 8001)	11,38	1,69	MNOP	S
1460(CONQUISTA)	11,16	1,22	NOP	S
1685(GT01-293)	11,16	1,21	NOP	S
1690(GT01-335)	11,11	1,11	NOP	S

---

7124(CAMPEÃ f RAIZ)	11,11	1,11	NOP	S
1684(GT01-249)	11,11	1,11	NOP	S
1686(GT01-104 PURA)	11,07	1,05	NOP	S
7112(GT01-381)	11,04	0,97	NOP	S
7114(M-SOY 8329)	10,87	0,69	OP	S
1696(GT01-366)	10	0	P	R
1697(GT01-343)	10	0	P	R
1683(GT01-368)	10	0	P	R
CONTROLE	10	0	P	R

\*Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

\*\*Transformação Raiz (x) + Raiz (x +100) das porcentagens totais de folhas de cada planta com sintomas de murcha. C.V. = 22,16 %.

\*\*\* (R) resistente – ausência de sintomas; (S) baixa suscetibilidade – 0,1% a 20% das folhas com murcha; (SS) média suscetibilidade – 20,1% a 40% das folhas com murcha; (SSS) alta suscetibilidade – mais de 40,1% das folhas com murcha.

No grupo “S”, ocorreu baixa severidade dos sintomas de murcha-de-*Curtobacterium* nas linhagens e variedades de soja, submetidas à inoculação com o isolado de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Figura 4). Pôde-se constatar que as linhagens avaliadas apresentaram características genéticas variadas de resistência o que, de algum modo, influenciou a multiplicação e a translocação da bactéria. Nas linhagens 1379; 1450; 1293; 7120; 1692; 7119; 1695; 7125; 1528; 1698; 1527 e na variedade 1380 ocorreu a translocação da bactéria da parte inferior para a parte superior da haste, e destas, as linhagens 1450; 1379; 1527; 1528 e a variedade 1380 apresentaram sementes contaminadas (Tabela 4). Já no trabalho de Dunleavy (1986), o mesmo não ocorreu, posto que em seu trabalho não foi observado a translocação sistêmica da bactéria na planta.

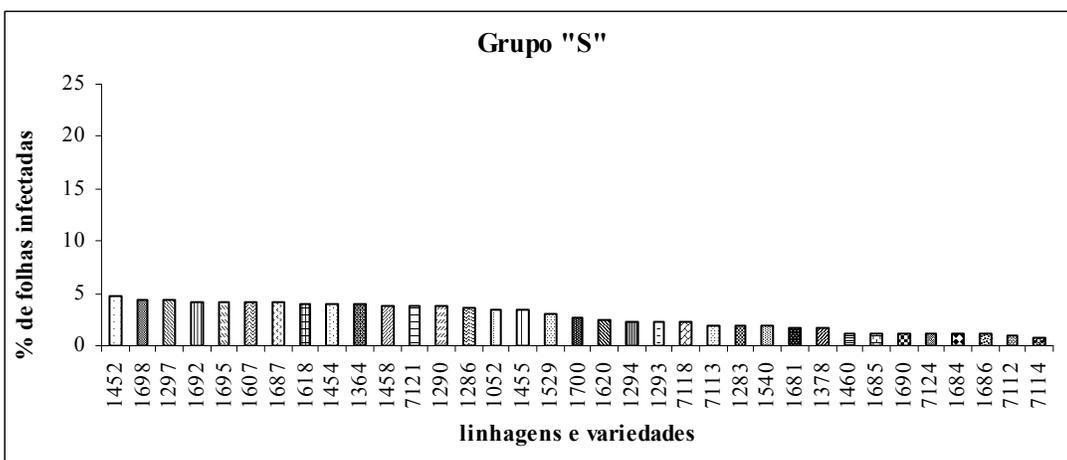
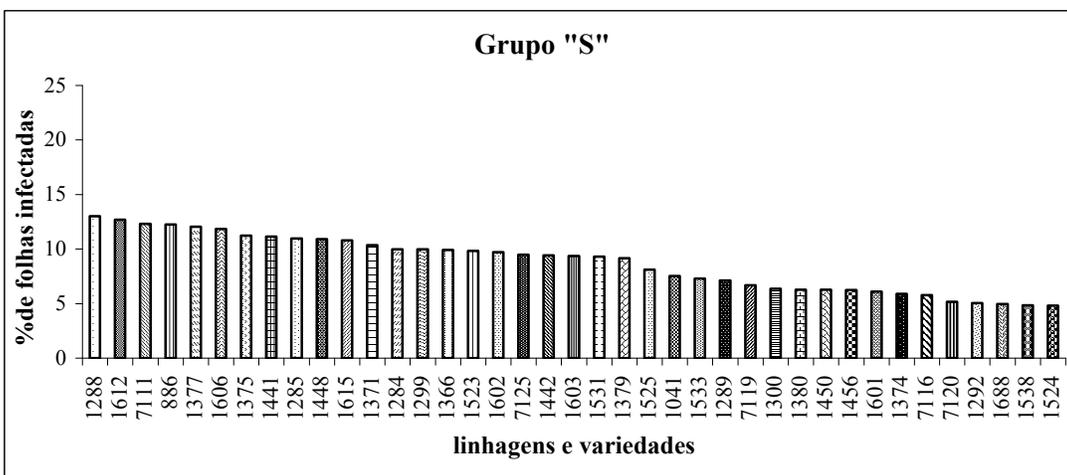
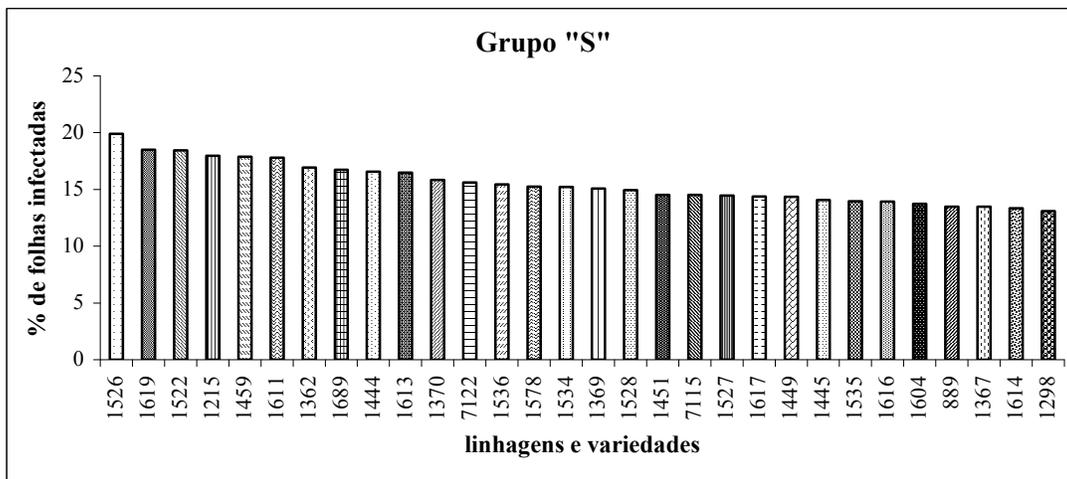
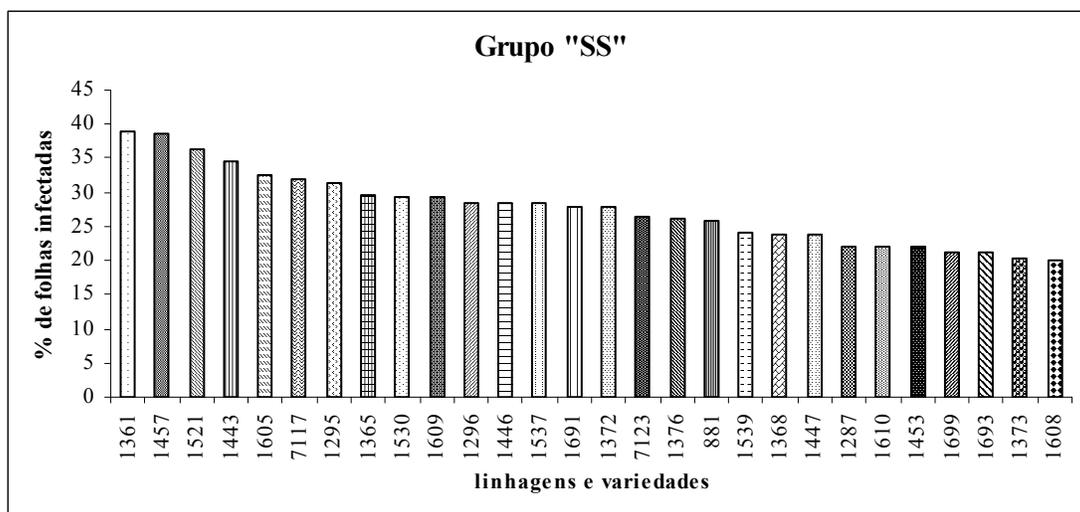


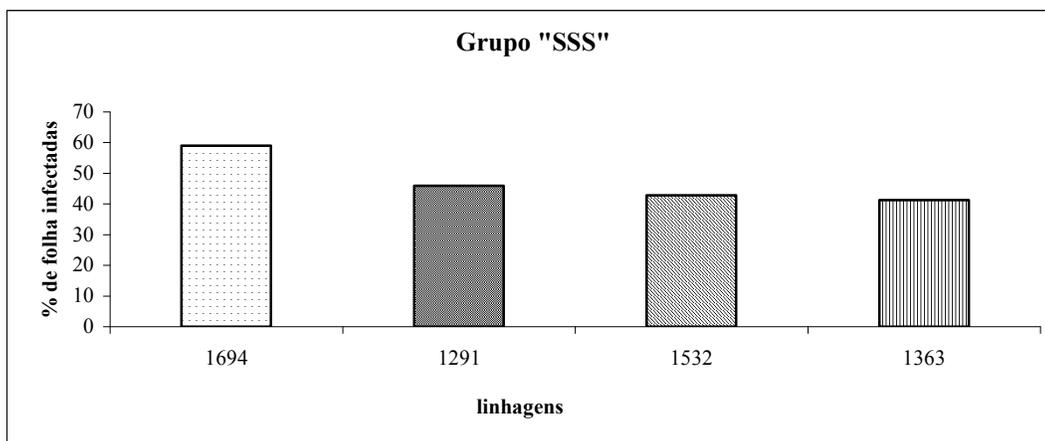
Figura 4. Comportamento de linhagens e variedades de soja segundo o grupo de suscetibilidade a *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

As linhagens e variedades do grupo “SS” apresentaram sintomas moderados de suscetibilidade à murcha-de-*Curtobacterium*. Nas linhagens 1372; 1693; 1361 e 1443 observou-se a translocação da bactéria e nas linhagens 1372 e 1443 conjuntamente ocorreu à contaminação das sementes (Figura 5) (Tabela 4).



**Figura 5.** Comportamento de linhagens e variedades de soja segundo o grupo de suscetibilidade a *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

As linhagens do grupo “SSS” apresentaram alta suscetibilidade a *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* logo nas fases iniciais, ocasionando necrose nas folhas das plantas ainda jovens. Nas linhagens 1694 e 1532 ocorreu a translocação da bactéria e a contaminação das sementes (Figura 6) (Tabela 4). Já as linhagens do grupo “R” (1696, 1697 e 1683) não apresentaram sintomas e, também, não foi observada a presença de bactéria através de isolamento da parte superior da haste, confirmando os resultados obtidos por Schuster *et al.* (1964) e Halluka *et al.* (1978), que observaram menor quantidade de bactéria nos tecidos de alguns genótipos de feijoeiro resistente a *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, sugerindo existir algum tipo de mecanismo na planta que dificulta a colonização da bactéria.



**Figura 6.** Comportamento de linhagens e variedades de soja segundo o grupo de suscetibilidade a *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

Os resultados mostraram a ocorrência de sintomas da doença nas linhagens e variedades testadas e inoculadas com *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* isolada do feijoeiro, exceto nas linhagens resistentes, divergindo dos resultados obtidos por Dunleavy (1983), que constatou que o isolado de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* de feijão não era capaz de causar doença na soja, e que somente o isolado oriundo da soja seria capaz de causar a doença. Entretanto Maringoni & Souza (2003), observaram níveis baixos de severidade da doença nas cultivares de soja, esse acontecimento poderia explicar os resultados deste experimento, onde a 74,82% das linhagens e variedades foram agrupadas no nível de baixa suscetibilidade. Nos resultados dos trabalhos de Hedges (1926) e Schuster & Sayre (1967), que inocularam isolados de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* de feijão em soja, foram observados sintomas de murcha nestas plantas. Resultado semelhante foi encontrado nas linhagens de soja aqui testadas, que se mostraram altamente suscetíveis à bactéria. Wood & Easdown (1990) constataram que isolado de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* de *Vigna radiata* e de caupi foram patogênicos ao feijoeiro e à soja.

**Tabela 4.** Linhagens e variedades de soja onde foi detectada a translocação na parte superior da haste e/ou contaminação das sementes pela *Cutobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

Linhagens e Variedades	Translocação	Contaminação das sementes
1379	+	+
1450	+	+
1293	+	-
7120	+	-
1692	+	-
7119	+	-
1695	+	-
7125	+	-
1528	+	+
1689	+	-
1527	+	+
1380	+	+
1372	+	+
1693	+	-
1361	+	-
1443	+	+
1694	+	+
1532	+	+

(+) detecção positiva da *Cutobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, (-) detecção negativa da *Cutobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

Com base nesses resultados é possível afirmar que, mesmo tendo diferença na severidade dos sintomas, 12,95% das variedades e linhagens testadas ocorreu a translocação da bactéria e destas, 6,48% atingiram as sementes, contaminando-as.

**4.2 – Observação semanal do desenvolvimento de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em diferentes idades da planta com a inoculação aos dez dias após a semeadura.**

Com a contagem de colônias em cada placa, após 48 h de incubação aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a inoculação obteve-se um valor médio de UFC/ml, para cada linhagem ou variedade (Tabela 6) e da altura (cm) (Tabela 5) a cada semana de avaliação. Observou-se uma correlação negativa entre a altura da planta e os valores de UFC/ml, quanto maior a planta, menor é o valor de UFC/ml encontrado. Com a realização do Teste de Tukey ao nível de 5%, verificou-se que houve um efeito significativo para médias entre as épocas de avaliação e entre os tratamentos (linhagens ou variedades) (Tabela 6). O valor médio de UFC utilizado por planta foi de  $1,613 \times 10^5$ .

**Tabela 5.** Médias da altura das hastes (cm) nas diferentes linhagens e variedades de soja, medidas em diferentes épocas após a inoculação com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

Linhagens e variedades**	7*	14*	21*	28*	35*	42*
963	15,5	22,0	25,5	46,3	44,5	63,3
1126	17,8	27,4	47,9	86,6	129,0	96,8
1137	12,8	16,0	28,0	41,3	47,3	60,5
975	14,0	19,6	43,5	38,5	74,8	64,0
1046	16,6	39,3	50,7	64,0	86,3	103,0
1205	18,5	28,0	43,8	55,8	58,8	117,5
979	21,8	33,1	41,7	69,7	132,2	103,5
1204	14,8	26,4	38,0	59,2	62,3	75,6
1127	16,6	29,8	48,5	66,1	101,3	113,3
1203	14,5	22,1	43,8	93,6	68,6	110,3
1136	15,8	23,4	35,0	29,0	45,9	86,2
887	17,3	26,0	41,8	69,2	79,15	87
1218	17,5	24,5	42,5	49,7	64,7	96,8
890	18,8	29,3	68,9	67,8	106,5	95,3
1042	21,7	35,5	49,4	96,15	102	93,5
974	22,5	42,5	91,5	103,5	112,5	117,7

Médias originais das hastes de soja, medidas em centímetros.

\*Épocas de avaliação.

\*\*Linhagens e variedades de soja.

**Tabela 6.** Concentração bacteriana (UFC/ml) em diferentes linhagens e variedades de soja, avaliadas em diferentes épocas após a inoculação com *Curtobacterium flaccumfaciens pv. flaccumfaciens*.

Trat*	ÉPOCAS																	
	7**			14**			21**			28**			35**			42**		
1126	784,5	BFG	1932,43	aABC	115,79	cG	1900,65	aABC	959,81	BEF	617,99	bCD						
974	1351,34	CCDEF	0	eG	2288,81	abBC	2594,8	aAB	248,17	DGH	1466,49	bcABC						
1136	1075,83	CDEF	1676,06	bcABCD	2552,62	abAB	1619,56	bcBCD	2780,5	AAB	1221,43	cABC						
1137	2265,78	AbABC	1462,42	bcBCDE	0	dG	1308	cCDEF	3291	AA	1046,54	cABC						
1204	1790,78	bABCDE	7,97	dG	3771,97	aA	628,5	cFG	1039,98	BcDEF	1606,2	bAB						
887	1959,93	aABCD	715,27	bEF	1359,24	abCDEF	765,1	bDEFG	2161,5	AABC	924	bBC						
1046	615,25	DeFG	1098,53	cdCDEF	1323,65	bcCDEF	3202,54	aA	1980,82	BABCD	241,67	eDE						
979	2540,44	AA	440,1	cF	2073,96	abBCD	1843,03	abBC	718,3	CFG	1534,82	bAB						
963	801,54	CFG	1744	abABCD	2634,07	aAB	84,94	dH	1211,05	BcCDEF	1379,21	bcABC						
1127	1288,35	bcDEF	1155,67	bcDEF	1095,83	bDEF	1820,97	abBC	2426,51	AAB	76,75	cE						
1203	1157,92	BcDEF	20,84	eG	700,37	cdF	276,47	deGH	1711,67	AbBCDE	2062,17	aA						
1205	866,76	CEF	1774	abABCD	2265,35	aABC	700	cEFG	1103	BcCDEF	1915,97	abAB						
975	2098,79	aABCD	1553,89	abBCDE	825,94	bEF	1572,45	aBCDE	1752	ABCDE	1475	abABC						
1042	1889,95	aABCD	866,73	bDEF	1679,77	aBCDE	1526,34	abBCDE	0	CH	1258,96	abABC						
890	238,39	CG	2934,98	aA	1509,81	bBCDEF	101,42	cH	1063	BDEF	1857,71	bAB						
1218	2475,77	AAB	2459,96	aAB	1671,92	abBCDE	806,8	cDEFG	1871,9	AbBCDE	1122,75	bcABC						

Médias originais seguidas por letras distintas minúsculas nas colunas, diferem entre tratamentos, e letras distintas maiúsculas nas linhas, diferem entre épocas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

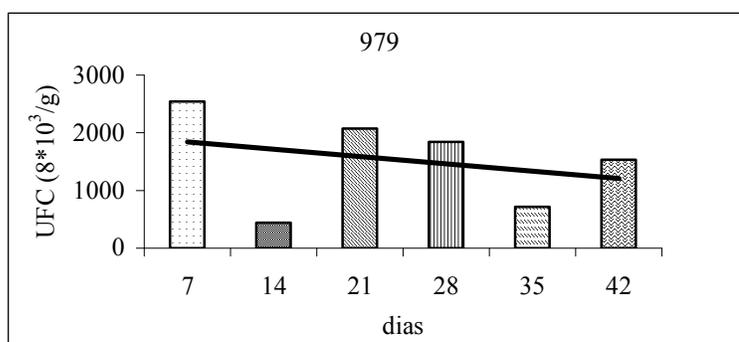
\*Linhagens e variedades de soja.

\*\*Épocas de avaliação.

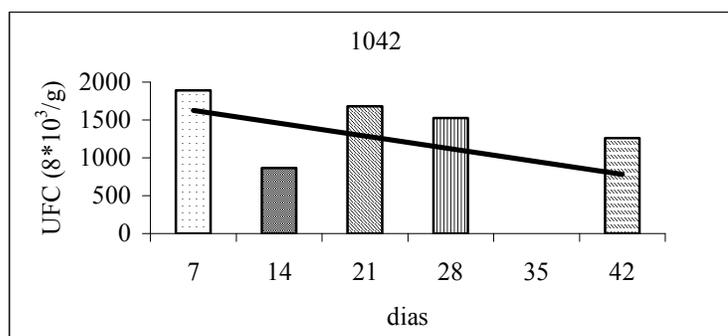
Em todas as variedades e linhagens avaliadas neste experimento ocorreu um aumento nos valores de UFC, que foi de  $1,613 \times 10^6$ , já na primeira semana de avaliação, como pode ser observado nas Figuras 7 a 22.

Nas variedades 1042 (M-SOY 9001) (Figura 8) e 1218 (M-SOY 8001) (Figura 9), que pertencem ao grupo de baixa suscetibilidade, e na linhagem 979 (GT01- 354) (Figura 7), que pertence ao de média suscetibilidade, ocorreu uma acentuada queda na população bacteriana no decorrer de seis semanas. As variedades que pertencem ao primeiro grupo foram assim alocadas de acordo com a percentagem de folhas com sintomas. Estes dados

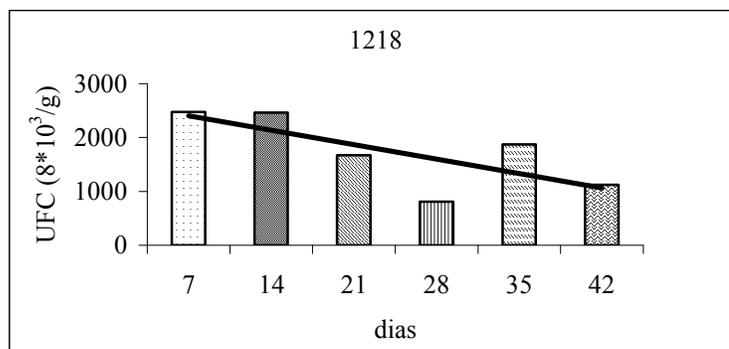
condizem com a análise do experimento de níveis de resistência à murcha-de-*Curtobacterium*, pois neste caso ocorreu uma diminuição maior da população bacteriana. Já na linhagem 979 que mesmo pertencendo ao segundo grupo, de média suscetibilidade, houve uma queda do número de UFC, mas não houve diminuição da percentagem de folhas com o sintoma no transcorrer das seis semanas. Estas variedades e a linhagem devem possuir algum mecanismo, no vaso do xilema onde exclusivamente a bactéria se move, que impede a translocação da bactéria a partir da terceira semana de avaliação, quando a altura média das plantas avaliadas foi de cerca de 46 cm.



**Figura 7.** Evolução de UFC de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na linhagem 979, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



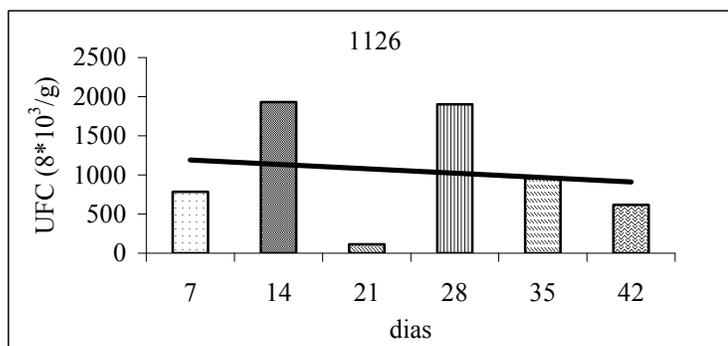
**Figura 8.** Evolução de UFC de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na variedade 1042 (Msoy 9001), em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



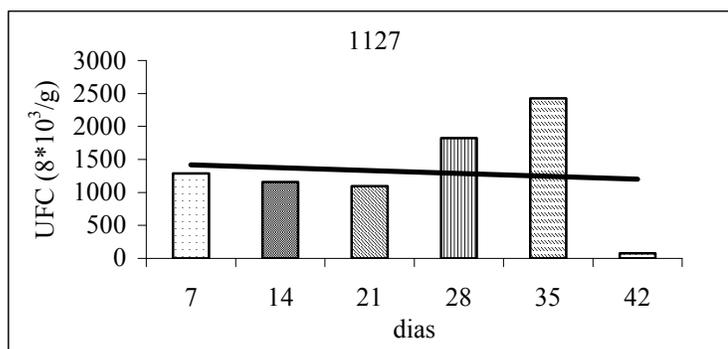
**Figura 9.** Evolução de UFC de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na variedade 1218 (Msoy 8001), em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.

No estudo da variação da média de UFC no transcorrer das semanas observou-se que nas linhagens 963 (GT01- 450) (Figura 13), 1126 (GT01- 290) (Figura 10), 975 (GT01- 28) (Figura 12), 1127 (GT01- 414) (Figura 11) e na 887 (GT01- 287) (Figura 14) ocorreu uma leve diminuição da população bacteriana, como pode ser verificado pela linha de tendência linear traçada. As linhagens 963, 1126 e 975 foram classificadas como de alta suscetibilidade no experimento de análise de níveis de resistência à murcha-de-Curtobacterium, contudo esta classificação não condiz com a análise deste experimento, pois houve uma diminuição da média de UFC, mas o mesmo não ocorreu com a porcentagem de folhas com sintomas. Destas linhagens somente na linhagem 963 não foi observada translocação da bactéria a partir da terceira semana de avaliação. Na linhagem 1126 a translocação ocorreu até a sexta semana, enquanto que na linhagem 975 a translocação ocorreu até a quinta semana. Nestas duas linhagens houve uma interrupção na translocação da bactéria na terceira semana, pois estas podem ser linhagens puras, mas provavelmente não são geneticamente iguais. Já as linhagens 1127 e 887 confirmaram os resultados obtidos no experimento de níveis de resistência à murcha-de-Curtobacterium, pois ocorreu uma leve queda da média de UFC colocando-os no grupo de baixa suscetibilidade. As duas linhagens avaliadas apresentaram uma diminuição da média de UFC. Na linhagem 1127 ocorreu a translocação da bactéria até a segunda semana, mas na linhagem 887 esta translocação ocorreu até a quinta semana. Aparentemente estas duas linhagens possuem mecanismos diferentes de resistência, na primeira linhagem não há a

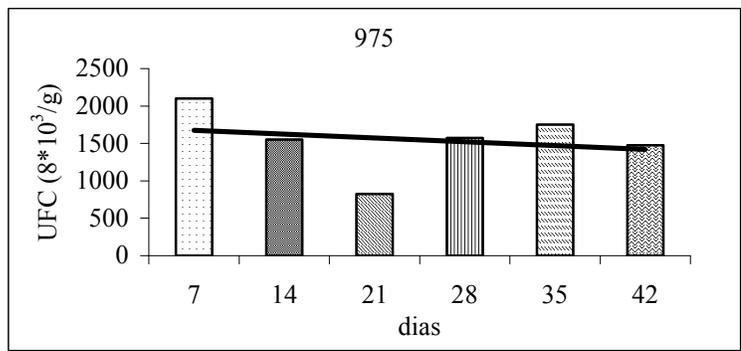
translocação da bactéria e na segunda, mesmo que esta translocação ocorra, a percentagem de folhas com sintoma é pequena se comparada com as outras linhagens.



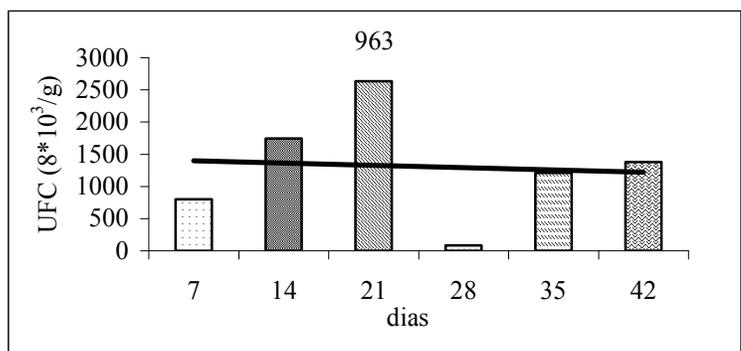
**Figura 10.** Evolução de UFC de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na linhagem 1126, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



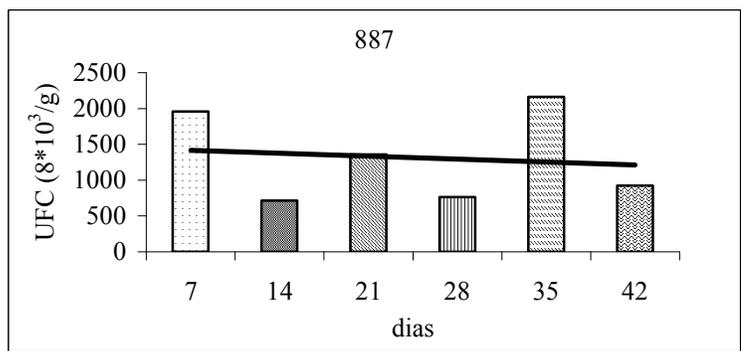
**Figura 11.** Evolução de UFC de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na linhagem 1127, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



**Figura 12.** Evolução de UFC de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na linhagem 975, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.

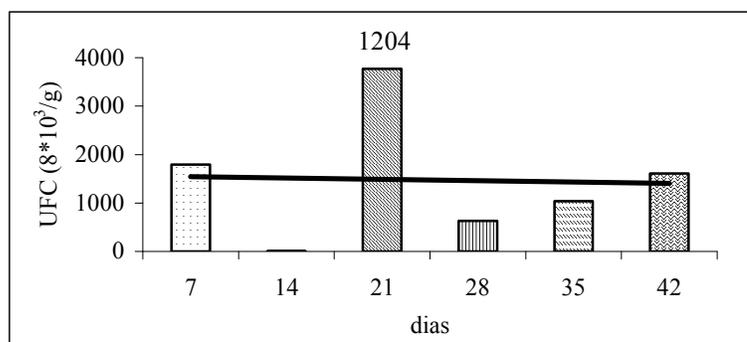


**Figura 13.** Evolução de UFC de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na linhagem 963, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.

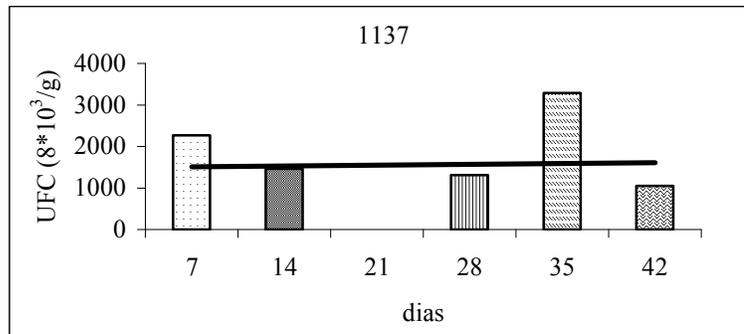


**Figura 14.** Evolução de UFC de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na linhagem 887, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.

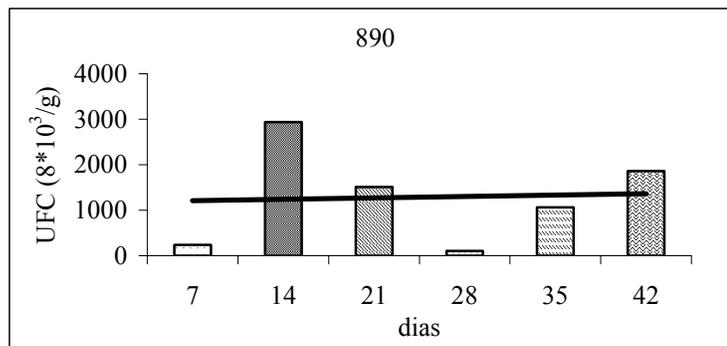
Nas linhagens 1137 (GT01- 304) (Figura 16), 1204 (GT01- 304) (Figura 15) e a 890 (GT01- 452) (Figura 17), não foi observada uma variação da média de UFC no decorrer das semanas avaliadas. Esta média permaneceu constante, o que pode ser observado pela linha de tendência linear traçada. No experimento de análise de níveis de resistência à murcha-de-Curtobacterium , a linhagem 1137 foi alocada no grupo de alta suscetibilidade, mesmo que a sua média de UFC tenha permanecido constante, pois a porcentagem de folhas com sintoma foi acima de 40,1% e a planta não reagiu conforme a média de UFC avaliada. A linhagem 1204 foi alocada no grupo de média suscetibilidade. A linhagem 890 mesmo mantendo a média de UFC constante durante as seis semanas foi alocada no grupo de baixa suscetibilidade. Nas três linhagens não foi observada a translocação da bactéria a partir da terceira semana de avaliação.



**Figura 15.** Evolução de UFC de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na linhagem 1204, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



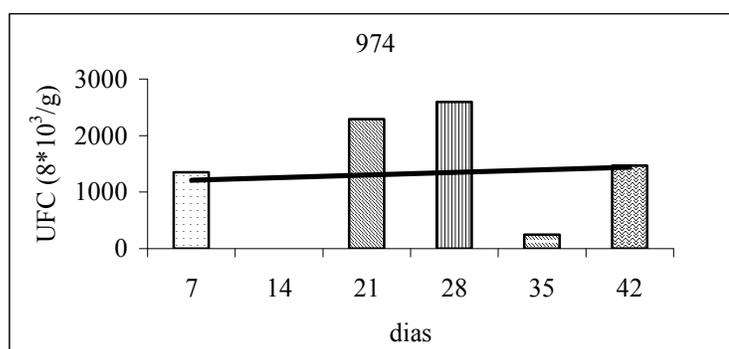
**Figura 16.** Evolução de UFC de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na linhagem 1137, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



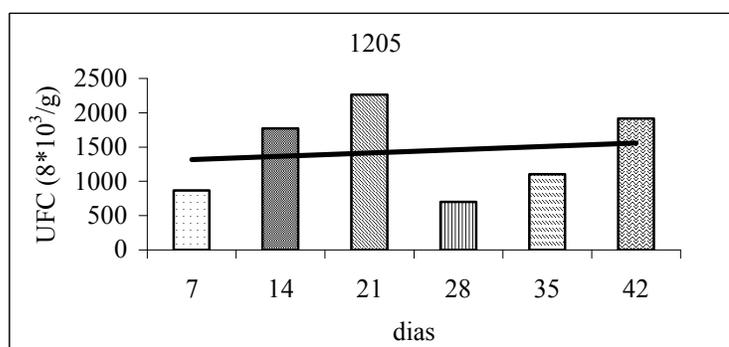
**Figura 17.** Evolução de UFC de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na linhagem 890, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.

Nas linhagens 974 (GT01-372), 1205 (GT01-249), 1046 (GT01-87), 1136 (GT01-456) e a 1203 (GT01-327), (Figuras 18, 19, 20, 21 e 22), respectivamente, apresentaram um aumento da média de UFC no transcorrer das semanas avaliadas. A linhagem 1203 apresentou um aumento superior na média de UFC se comparada com as outras linhagens. Ocorreu a translocação da bactéria até a quarta semana avaliada, sendo que esta linhagem no experimento de análise de níveis de resistência à murcha-de-*Curtobacterium* realizado por Alves (2003) foi considerada como linhagem de baixa suscetibilidade. A linhagem 1203 deve possuir algum mecanismo de resistência à bactéria porque mesmo ocorrendo a translocação desta e um aumento superior da média de UFC, esta apresentou uma percentagem inferior a 20% de folhas com sintoma. As linhagens 974 e 1136 também

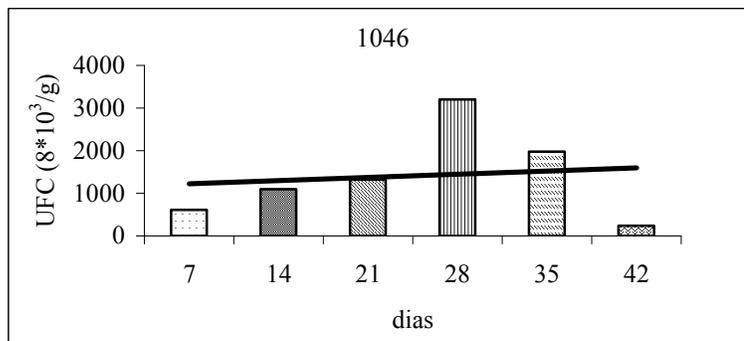
consideradas como de baixa suscetibilidade na avaliação de resistência à murcha-de-*Curtobacterium*, foram similares no comportamento, pois apresentaram uma percentagem de folhas com sintoma inferior a 20% e a média de UFC aumentou, porém não da mesma forma que a anterior. Na linhagem 974 não ocorreu translocação da bactéria a partir da segunda semana e na 1136 ocorreu a translocação até a quinta semana. As linhagens 1046 e a 1205 foram alocadas no grupo de média suscetibilidade no experimento de análise de níveis de resistência à murcha-de-*Curtobacterium*. A translocação da bactéria na linhagem 1046 ocorreu até a quarta semana, enquanto na 1205 ocorreu até a quinta semana. Ocorreu um aumento da média de UFC no transcorrer das semanas avaliadas, mas a percentagem de folhas com sintoma não foi superior a 30%.



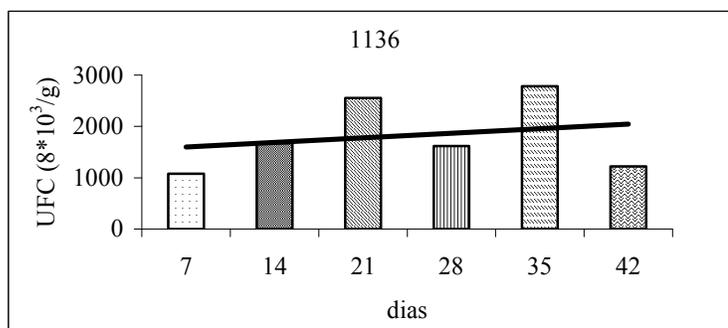
**Figura 18.** Evolução de UFC de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na linhagem 974, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



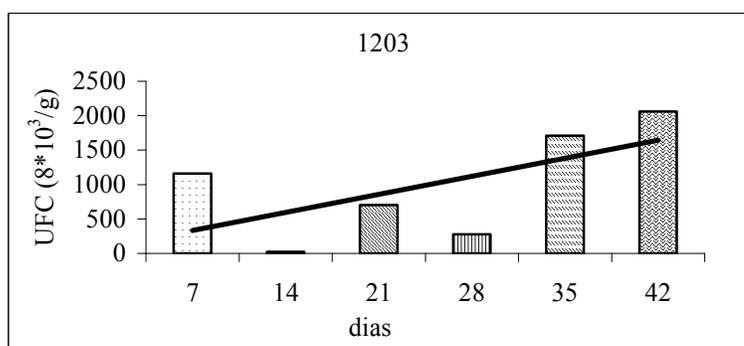
**Figura 19.** Evolução de UFC de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na linhagem 1205, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



**Figura 20.** Evolução de UFC de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na linhagem 1046, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



**Figura 21.** Evolução de UFC de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na linhagem 1136, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



**Figura 22.** Evolução de UFC de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na linhagem 1203, em função das épocas de avaliação, de acordo com a linha de tendência linear traçada.

De acordo com Maringoni (2002), as cultivares de feijão que foram consideradas suscetíveis apresentaram um grande número de células bacterianas colonizando o xilema, o mesmo resultado foi observado por Schuster *et al.* (1964). Entretanto, as linhagens de soja 963, 1126 e 975 inoculadas com a estirpe de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* isolada de feijão foram alocadas no grupo de alta suscetibilidade, mesmo que tenha ocorrido uma queda da média de UFC no decorrer das semanas avaliadas. Na linhagem 1137 esta média manteve-se constante.

#### **4.3 – Efeito da idade da planta na reação da soja a *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* aos 10, 20 e 30 dias do plantio.**

Houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade na análise de variância das médias de UFC entre os tratamentos (linhagens e variedades), entre as épocas de inoculação e entre as épocas de avaliação (Tabelas 7, 8 e 9). Na avaliação da média de UFC entre tratamentos e épocas de inoculação (Tabela 7) foi observada diferença significativa ao nível de 5% no teste de Tukey entre os tratamentos na época de 10 dias de inoculação após o plantio. No entanto, não houve diferença significativa das médias de UFC entre os tratamentos quando foi realizada a inoculação aos 20 e 30 dias após o plantio. Ao analisar as épocas de inoculação, verificou-se que ocorreu diferença significativa na época 10 em relação às épocas 20 e 30.

Comparando os tratamentos com as médias de UFCs das épocas de avaliação (7, 14 e 21 dias) verificou-se que ocorreu diferença significativa ao nível de 5% pelo teste de Tukey, para as três épocas de avaliação. O mesmo ocorreu nas três épocas de avaliação em relação aos tratamentos (Tabela 8).

**Tabela 7.** Valores médios de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/ml), de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, com a inoculação realizada aos 10, 20 e 30 dias após o plantio e avaliação aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação para cada linhagem e variedade.

Linhagens e variedades	Época					
	10		20		30	
1698	7012,43	aA	17,41	aB	5,17	aB
1540	6394,74	aA	10,97	aB	2,05	aB
7124	5051,12	bA	70,22	aB	62,88	aB
1522	3639,49	cA	123,69	aB	8,1	aB
1697	2182,76	dA	84,77	aB	26,34	aB
1683	1766,58	dA	13,06	aB	1,59	aB
1529	561,71	eA	6,75	aB	45,09	aB
7114	608,49	eA	3,07	aB	17,89	aB
1694	160,18	fA	47,07	aAB	12,59	aB

\*Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5%, sendo que as letras minúsculas diferem no tratamento (coluna) e as letras maiúsculas diferem na época (linha).

A Tabela 8 mostra o efeito das médias de UFC em diferentes épocas de inoculação e de avaliação para as linhagens e variedades. Ocorreu diferença significativa ao nível de 5% entre os tratamentos e entre as avaliações na época 10 de inoculação, em relação às épocas 20 e 30, tanto aos 7, 14 e 21 dias de avaliação. Esta diferença não ocorreu entre as épocas 20 e 30 de inoculação, aos 7, 14 e 21 dias de avaliação, no entanto em algumas variedades e linhagens ocorreu diferença significativa nas médias de UFC nas épocas 20 e/ou 30 de inoculação nas avaliações (7, 14 e 21 dias).

**Tabela 8.** Valores médios de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/ml), de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, com a inoculação realizada aos 10, 20 e 30 dias após o plantio e avaliação aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação para cada linhagem e variedade.

Linhagens e Variedades	Épocas de Avaliação					
	7		14		21	
1698	2113,95	bA*	902,5	aB*	369,26	aBC*
1540	2143,73	bA	841,66	abB	217,33	bcC
7124	3006,43	aA	116,84	eB	547,88	aC
1522	1818,78	bA	458,06	bcB	167,88	bcdC
1697	427,69	cB	988,33	aA	117,55	cdeA
1683	314,77	cdA	366,69	cdA	207,83	bcA
1529	175,67	cdeA	228,52	cdeA	38,84	cdeB
7114	114,98	deB	358,55	cdeA	5,22	eC
1694	56,6	eA	128,87	deA	19,93	deA

\*Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5%, sendo que as letras minúsculas diferem na avaliação (coluna) e as letras maiúsculas diferem no tratamento (linha).

Na variedade 7124 (Campeã *f* Raiz) (Figura 28), ocorreu diferença significativa na época 20 de inoculação, no sétimo dia de avaliação em relação ao décimo quarto e vigésimo primeiro dia de avaliação, já na época 30 de inoculação ocorreu diferença ao vigésimo primeiro dia de avaliação em relação ao sétimo e décimo quarto dias de avaliação.

Na variedade 1522 (M-SOY 9001) (Figura 26) houve diferença significativa na época 20 de inoculação no vigésimo primeiro dia de avaliação em relação ao sétimo e ao décimo quarto dias de avaliação.

Na linhagem 1697 (GT01 – 343) (Figura 30), ocorreu diferença significativa na época 20 de inoculação ao décimo quarto dia de avaliação em relação ao sétimo e décimo quarto dia de avaliação.

**Tabela 9.** Valores médios de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/ml), de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, com a inoculação realizada aos 10, 20 e 30 dias após o plantio e avaliação aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação para cada linhagem e variedade.

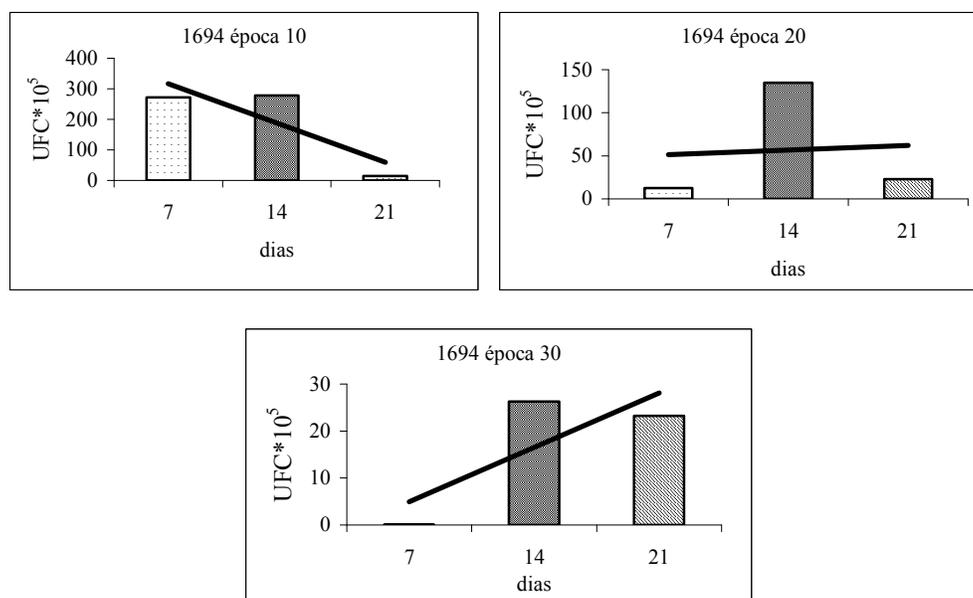
Linhagens e variedades	Inoculação	Épocas de Avaliação					
		7		14		21	
1698	10	15154,14	aA*	6682,53	aB*	2136,5	aC*
	20	80	bA	0,88	bA	2,44	bA
	30	0,014	bA	0,0007	bA	34,25	bA
1540	10	16384	aA	6175,84	aB	1087,49	aC
	20	8,32	bA	1,4	bA	30,86	bA
	30	1,55	bA	0,001	bA	8,08	bA
7124	10	19776	aA	624	aC	2208	aB
	20	350	bA	6,55	bB	1,91	bB
	30	0,02	cB	2,87	bB	353,02	cA
1522	10	13184	aA	2679,29	aB	176	aBC
	20	16	bB	32,08	bB	487,25	aA
	30	14,48	bA	9	bA	2,72	bA
1697	10	1962,62	aB	5028,58	aA	607,61	aC
	20	37,59	bB	333,13	bA	1,91	bB
	30	91,2	bA	2,47	cA	12	bA
1683	10	1767,92	aAB	2416	aA	1215,19	aB
	20	36,8	bA	6,64	bA	3,59	bA
	30	1,49	bA	0,001	bA	5,75	bA
1529	10	768	aA	1216	aA	55,78	aB
	20	3,2	bA	9,59	bA	8,25	aA
	30	60,52	bA	17,44	bA	64,12	aA
7114	10	416	aB	2336	aA	7,28	aC
	20	1,17	bA	1,6	bA	8,03	aA
	30	75,15	bA	3,41	bA	1,6	aA
1694	10	272	aA	278,4	aA	14,12	aB
	20	12,47	bA	134,88	abA	23,02	aA
	30	0,04	bA	26,28	bA	23,2	aA

\*Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5%, sendo que as letras minúsculas diferem no tratamento (linha) e as letras maiúsculas diferem na avaliação (coluna).

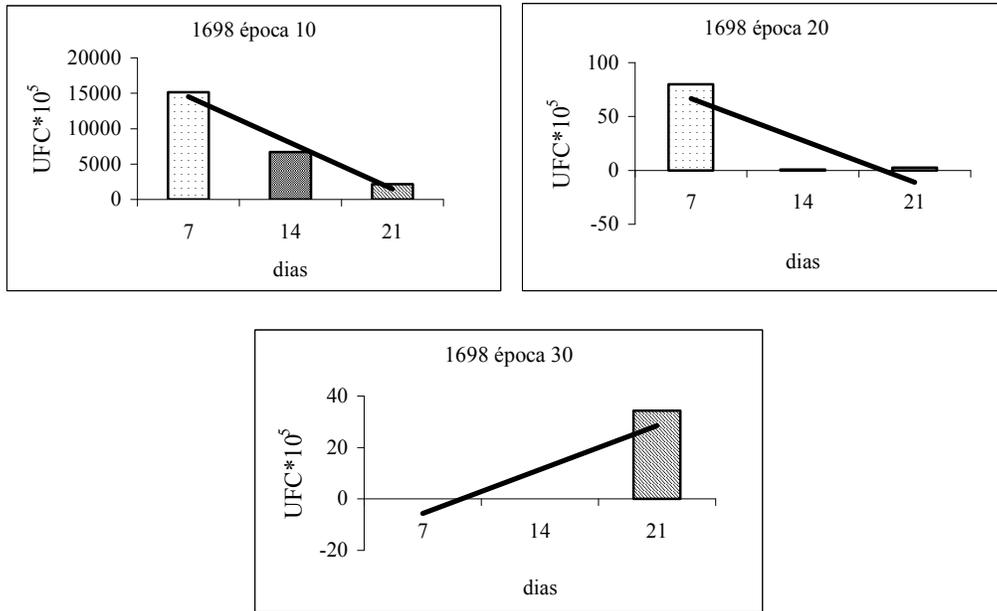
Nas plantas que foram inoculadas 10 dias após o plantio (época 10), (Figuras 23 a 31), ocorreu um maior aumento da população bacteriana, em relação às épocas 20 e 30. Na época 10 as linhagens e variedades de soja apresentaram sintomas mais severos, demonstrando ser esta a época crítica para infecção por *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

Na época 10 em todas as linhagens e variedades testadas neste experimento ocorreu uma queda da população bacteriana (Figuras 23 a 31). Mesmo com esta diminuição da população bacteriana as linhagens e variedades não conseguiram se recuperar.

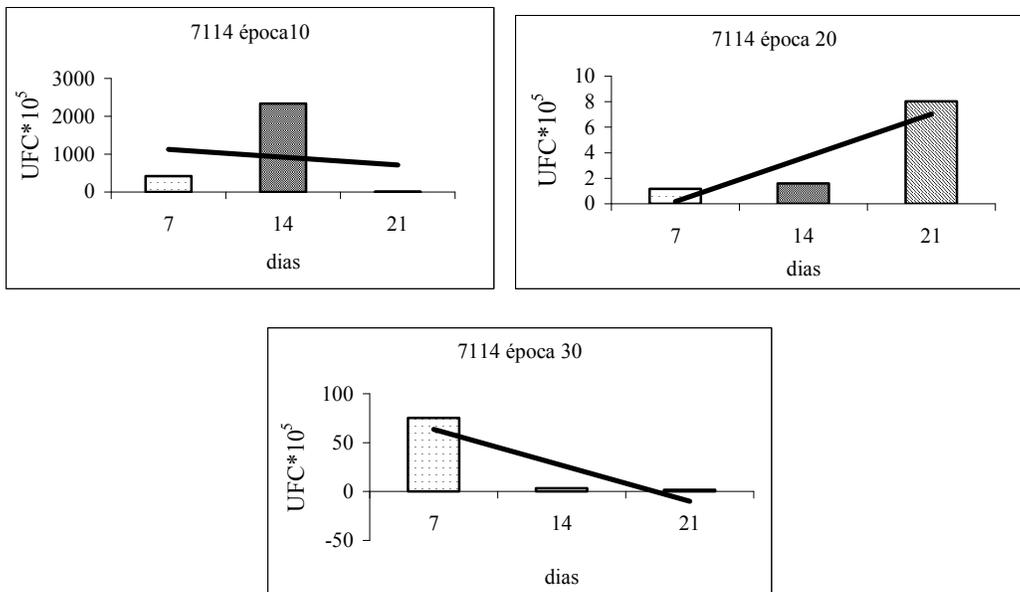
Já nas épocas 20 e 30 ocorreu uma variação do número de UFC entre as variedades e linhagens no decorrer das avaliações. Em algumas ocorreu um aumento e em outras uma diminuição do número de UFC, mas este aumento não chegou a ser tão alto como o ocorrido na época 10 de inoculação e não foi suficiente para causar sintomas tão severos quanto os causados nesta época (Figura 32).



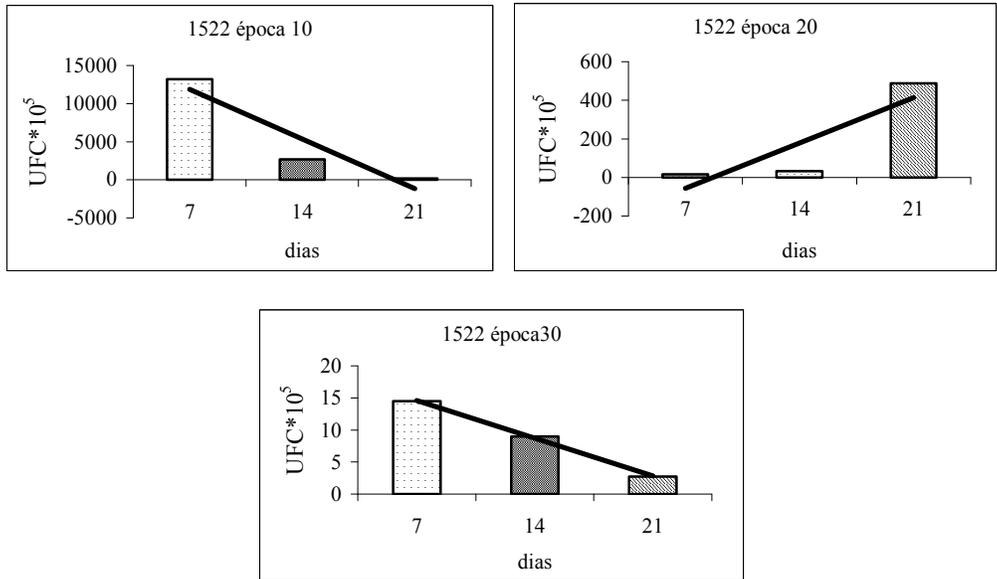
**Figura 23.** Evolução das médias de UFC, na linhagem 1694 (GT01-143), em três épocas diferentes de inoculação, de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, avaliadas por três semanas, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



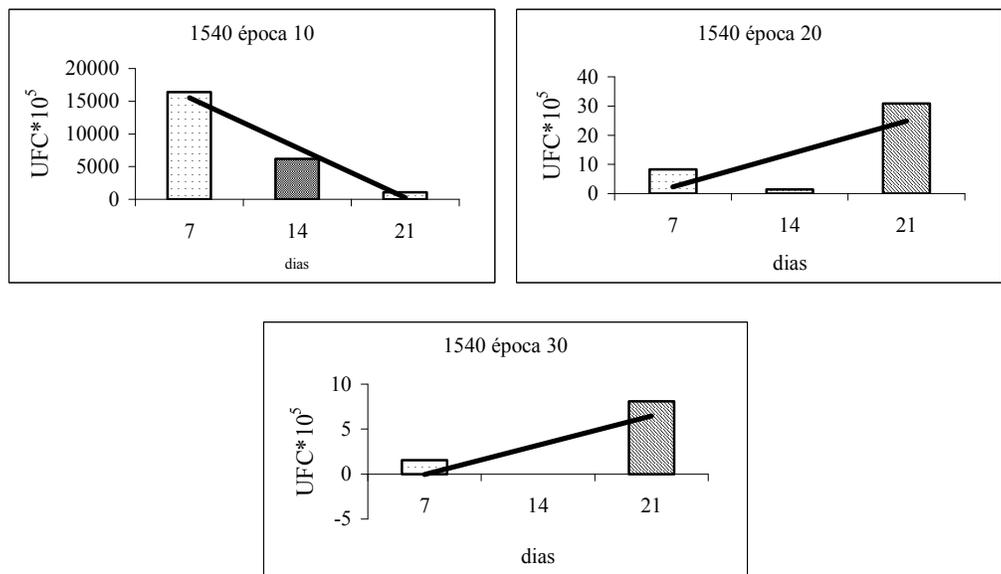
**Figura 24.** Evolução das médias de UFC, na variedade 1698 (M-Soy 8001), em três épocas diferentes de inoculação, de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, avaliadas por três semanas, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



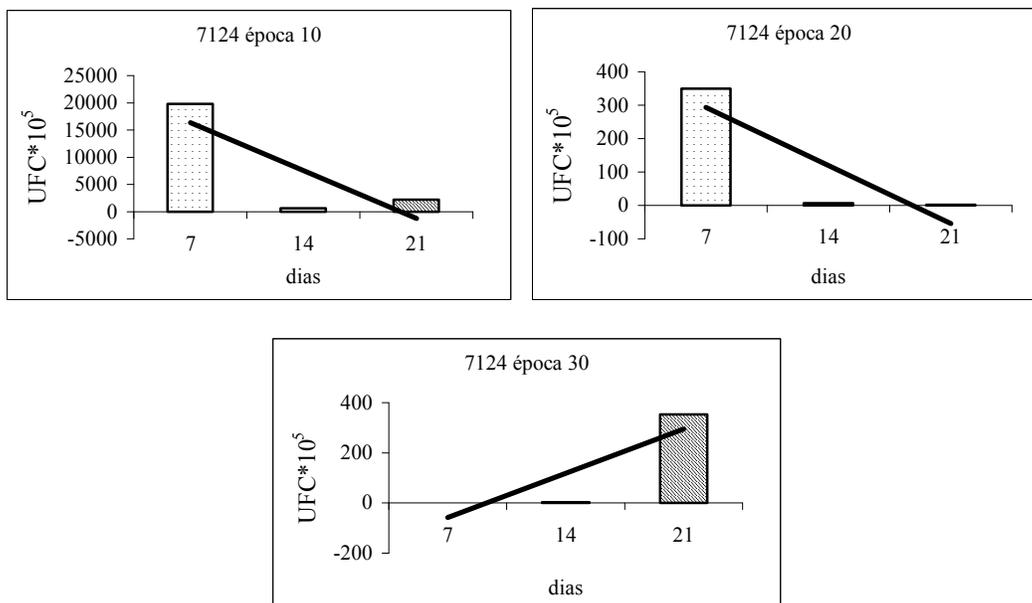
**Figura 25.** Evolução das médias de UFC, na variedade 7114 (M-Soy 8329), em três épocas diferentes de inoculação, de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, avaliadas por três semanas, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



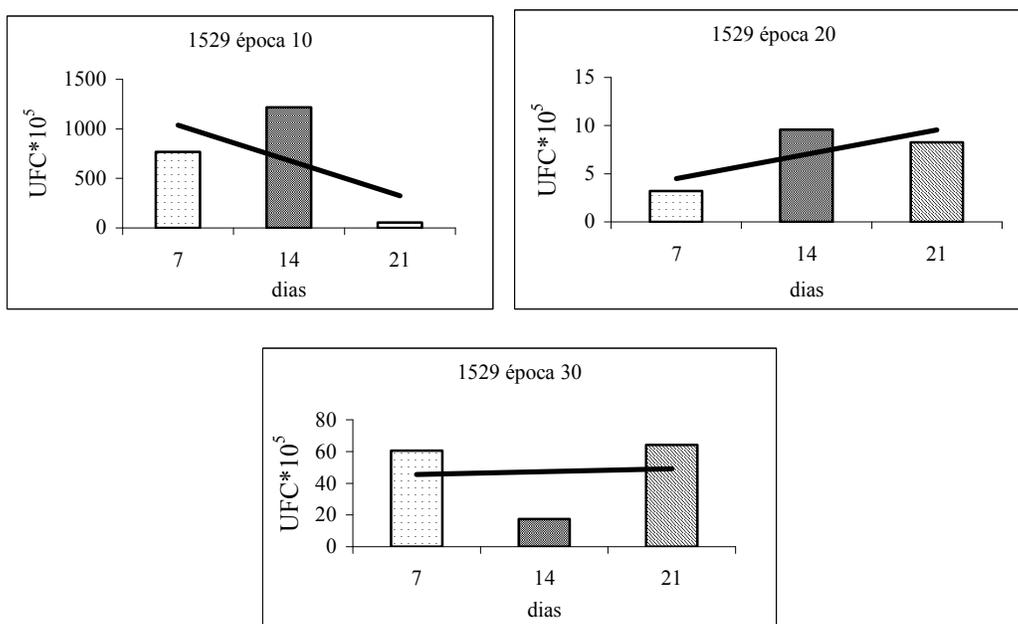
**Figura 26.** Evolução das médias de UFC, na variedade 1522 (M-Soy 9001), em três épocas diferentes de inoculação, de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, avaliadas por três semanas, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



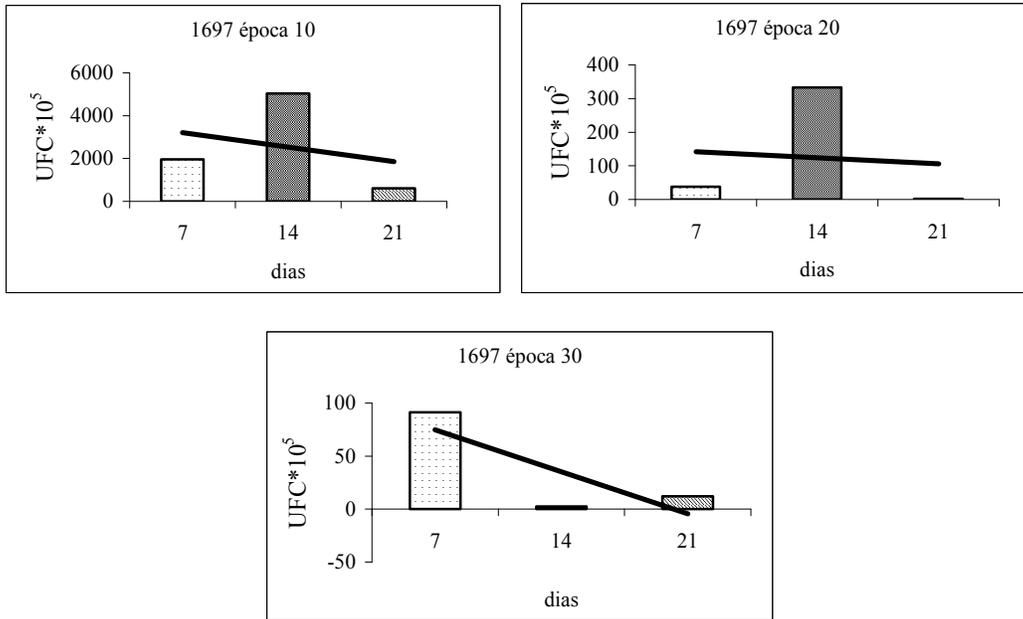
**Figura 27.** Evolução das médias de UFC, na variedade 1540 (Conquista), em três épocas diferentes de inoculação, de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, avaliadas por três semanas, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



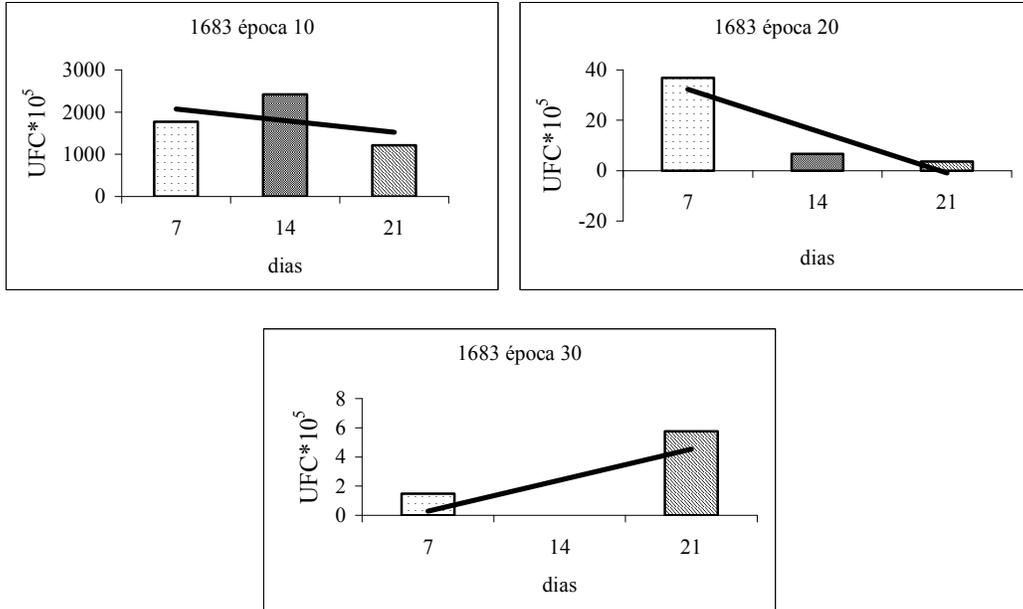
**Figura 28.** Evolução das médias de UFC, na variedade (CAMPEÃ/RAIZ), em três épocas diferentes de inoculação, de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, avaliadas por três semanas, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



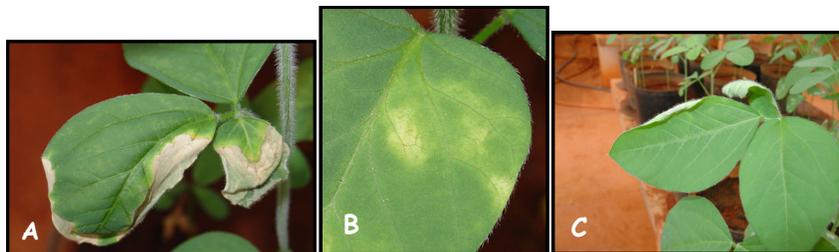
**Figura 29.** Evolução das médias de UFC, na linhagem 1529 (GT01-Campeã), em três épocas diferentes de inoculação, de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, avaliadas por três semanas, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



**Figura 30.** Evolução das médias de UFC, na linhagem 1697 (GT01-343), em três épocas diferentes de inoculação, de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, avaliadas por três semanas, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



**Figura 31.** Evolução das médias de UFC, na linhagem 1683 (GT01-368), em três épocas diferentes de inoculação, de *Cutobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, avaliadas por três semanas, de acordo com a linha de tendência linear traçada.



**Figura 32.** Murcha-de-Curtobacterium causada por *Cutobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em soja, inoculada em diferentes estádios da planta. A – Inoculação realizada aos 10 dias do plantio; B – Inoculação realizada aos 20 dias do plantio; C – Inoculação realizada aos *flaccumfaciens* 30 dias do plantio.

#### 4.4 – Análise das vias de penetração.

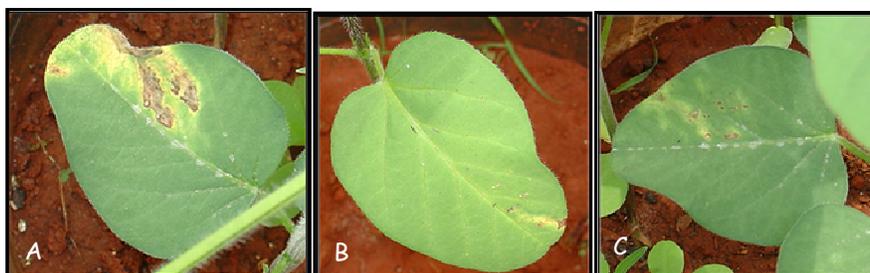
Das nove linhagens e variedades inoculadas na folha, somente nas variedades 7114 e 1522, e nas linhagens 1694 e 1529, foi detectada a bactéria através do isolamento (Tabela 10) (Figura 33). Na inoculação no solo sem indução de ferimentos na raiz, verificou-se a presença da bactéria na linhagem 1683 e nas variedades 1698 e 1522 (Tabela 10) (Figura 33). Na inoculação no solo com ferimentos nas raízes, foi observada a presença da bactéria na variedade 1540 e na linhagem 1694 (Tabela 10) (Figura 33). Estes resultados estão de acordo com o que havia sido relatado em outros trabalhos. De acordo com Zaumayer (1932), citado por Guimarães (1997), a penetração da bactéria pode ser por aberturas naturais (hidatódios e estômatos) e ou por injúrias causadas por nematóides, como *Meloidogyne incognita* (COSAVE, 2003). Neste caso, para verificar a penetração da bactéria por ferimentos, foram feitas injúrias mecânicas. Com estes resultados pode-se inferir que existe a possibilidade de que em algum momento, a estirpe originariamente do feijão possa infectar naturalmente também a soja, portanto, é fundamental o cuidado em não se plantar soja imediatamente após a colheita do feijão. Outro ponto importante para a prevenção da contaminação da soja por *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* presente no feijão é a redução de inóculo no campo, com a eliminação de restos culturais de feijão sabidamente contaminado. É importante, também, dar um intervalo de tempo entre o plantio das duas culturas, porém, dados referentes à persistência da bactéria no solo em regiões tropicais ainda são muito escassos. Sabe-se, porém, que em regiões de clima

temperado a bactéria pode permanecer no solo pelo menos por dois invernos (COSAVE, 2003).

**Tabela 10.** Linhagens e variedades de soja onde foi ou não detectada a presença de *Cutobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* quando realizada a inoculação com diferentes métodos (folha, solo e solo com ferimentos na raiz).

Linhagens e variedades	Métodos de Inoculação		
	Folha	Solo	Solo (ferimentos na raiz)
1697 (GT01-343)	-	-	-
1683 (GT01-368)	-	+	-
1540 (CONQUISTA)	-	-	+
1698 (M-SOY 8001)	-	+	-
7124 (CAMPEÃ f RAIZ)	-	-	-
7114 (M-SOY 8329)	+	-	-
1529 (GT01-CAMPEÃ)	+	-	-
1522 (M-SOY 9001)	+	+	-
1694 (GT01-143)	+	-	+

(+) detecção positiva da *Cutobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, (-) detecção negativa da *Cutobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.



**Figura 33.** Murcha-de-Curtobacterium causada por *Cutobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em soja, utilizando diferentes métodos de inoculação aos 10 dias do plantio. A – Inoculação realizada nas folhas; B – Inoculação realizada no solo; C – Inoculação realizada do solo com ferimentos nas raízes.

## 5 – CONCLUSÕES

De acordo com os dados dos experimentos realizados averiguou-se que 97,4% dos materiais testados foram suscetíveis à estirpe inoculada de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* isolada de feijão, onde 23,73% das linhagens foram alocadas no grupo de média suscetibilidade e 74,82 % das linhagens e variedades foram alocadas no grupo de baixa suscetibilidade e somente 2,54% das linhagens foram consideradas resistentes (1696, 1697 e 1683).

Com relação à observação semanal, constatou-se que a época crítica de maior suscetibilidade das variedades e linhagens de soja gira em torno dos 10 dias após o plantio. Após este período crítico os materiais testados com inoculação aos 20 e 30 dias após o plantio tornaram-se mais resistentes, ou seja, plantas com maior idade tornam-se mais resistentes, mas não o suficiente para impedir a colonização da bactéria.

Aos 20 e 30 dias do plantio ocorreu uma variação entre as variedades e linhagens no decorrer das avaliações, pois em algumas ocorreu um aumento e em outras uma diminuição do número de UFC, no entanto, este aumento não chegou a ser tão alto como as das plantas inoculadas na época 10 e não foi suficiente para causar sintomas tão severos quanto os causado nesta época.

Ocorreu a translocação da bactéria em 12,95% das variedades e linhagens avaliadas pelo sistema vascular, sendo que esta bactéria pode chegar a infectar a semente de 6,48% das linhagens e variedades testadas.

Foi observada a penetração da bactéria por aberturas naturais e por injúrias realizadas com auxílio de uma pá.

## 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G. N. Plant pathology. 4<sup>th</sup> ed. San Diego: Academic press. 423-434. 1997.
- ATHOW, K. L. Fungal diseases. In: Soybeans: improvement, production, and uses. CALDWELL, B. E. 459 – 489. 1973.
- ALMEIDA, A. M.; FERREIRA, L. P.; YORINORI, J. T.; SILVA, J. F. V.; HENNING, A. A. Doenças da soja (*Glycine Max*). In: Manual de fitopatologia Volume 2: Doenças das plantas cultivadas. KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M.(Eds.). Ceres. 642-664. 1997.
- ALVES, F .B. Níveis de resistência de linhagens de soja a uma estirpe de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. (Trabalho de monografia de conclusão do curso de Engenharia Agrônômica). Brasília. Universidade de Brasília. 2003.
- BELLAVER C. AND. SNIZER J. P. N. Soybean processing and its implications on swine and poultry feeding. Anais do Congresso Brasileiro de Soja. 183-199. 1999.
- BRADBURY, J. F. Guide to plant pathogenic bacteria. Ferry Lane: C.A.B. International Mycological Institute. 332p.1986.
- CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. <http://www.conab.gov.br/download/safra/soja>. Acesso em: 08 setembro 2004.
- COSAVE – COMITE DE SANIDADE VEGETAL DEL CONO SUR. Plagas Cuarentenarias: *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, 4p. <http://www.cosave.org.py>. 2003
- DUNLEAVY, J. M. Bacterial Tan Spot, a new foliar disease of soybeans. Crop Science, Madison 23: 473-476. 1983.
- DUNLEAVY, J. M. Yield losses in soybenas caused by Bacterial Tan Spot. Plant Disease 68: 774-776. 1984.
- DUNLEAVY, J. M. Effect of temperature on systemic spread of Tan Spot of soybean from seed to unifoliate leaves. Phytopathology 76: 1079. 1986.

DUNLEAVY, J. M.; KECK, J. W.; REDDY, S.; THOMPSON, M. M. Prevalence of *Corynebacterium flaccumfaciens* as incitant of bacterial tan spot of soybean in Iowa. *Plant Disease* 67: 1277-1279. 1983.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de soja. [www.cnpso.embrapa.br/soja](http://www.cnpso.embrapa.br/soja) - alimentação. Acesso em: 10 outubro 2004.

EPPO/ CABI. Quarantine Pest for Europe. CAB Internacional, Wallingford (GB). 711-715. 1992.

GUIMARAES, P. M. Development of a DNA probe and characterisation of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. (PhD Thesis). London. University of London. 1997.

HALL, R. J. B. (Editor). A compendium of bean diseases. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA. 1991.

HALLUKA, M., SCHUSTER, M. L., WEIHING, J. C. & COYNE, D. P. Population trends of *Corynebacterium flaccumfaciens* strain in leaves of *Phaseolus* species. *Fitopatologia Brasileira* 3:13-26. 1978.

HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B. Soybean diseases. In: Compendium of soybean diseases 4<sup>th</sup> ed. HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. 3-4. 1999.

HEDGES, F. A bacterial wilt of the bean caused by *Bacterium flaccumfaciens* nov. sp. *Science* 55: 433-434. 1922.

HEDGES, F. Bacterial wilt of beans (*Bacterium flaccumfaciens* Hedges), including comparisons with *Bacterium phaseoli*. *Phytopathology* 16: 1-22. 1926.

JOLY, A. A. Botânica, introdução à taxonomia vegetal. Companhia Editora Nacional. 352-383. 1975.

KADO, C. I. & HESKETT, M. G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology* 60: 969-976. 1970.

- KENNEDY, B. W.; TACHIBANA, H. Bacterial diseases. In: Soybeans: improvement, production, and uses. CALDWELL, B. E. 491 – 504. 1973.
- KIMURA, O. Controle de fitobactérias em hortaliças através do tratamento térmico de sementes. Fitopatologia Brasileira 16: 8.1991. (Resumo)
- MARINGONI, A. C. & ROSA, E. F. Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro no Estado de São Paulo. Summa Phytopathologica 23: 160-162, 1997.
- MARINGONI, A. C. Comportamento de cultivares de feijoeiro comum à murcha-de-Curtobacterium. Fitopatologia Brasileira, Brasília 27: 157-162. 2002.
- MARINGONI, A. C. & SOUZA, E. L. C. Reação de cultivares de soja a isolado de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, proveniente de feijoeiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 38: 777-781. 2003.
- MENTEN, J. O. M. Patógenos em sementes, detecção, danos e controle químico. São Paulo. Ciba Agro. 1995.
- MIRANDA FILHO, J. R.; UESUGI, C. H. Comportamento de diferentes espécies vegetais em relação a *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* isolada de feijoeiro. Fitopatologia Brasileira, 29 (suplemento): S92. 2004.
- MIRANDA FILHO, J. R.; SILVA, M. R.; MIRANDA, C. E. P.; UESUGI, C. H. Níveis de inoculo de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na produção de sintomas em cultivares e linhagens de feijão. Fitopatologia Brasileira, 29 (suplemento): S92. 2004.
- MORAES, A. A. C.; SILVA, A. L.; FILHO, A. C.; AMABILE, R. F. Histórico da soja. In: Soja: suas aplicações. MORAES, A. A. C.; SILVA, A. L. (Eds). MEDSI. 1-11. 1996.
- NOMURA, S. L.; YORINORI, J. T.; BROGIN, R.; KITA, M.; UTIAMADA, C. M.; SATO, L. M. Eficiência de fungicida no controle de mancha parda e crestamento foliar de cercospora em soja. Fitopatologia Brasileira 22: 411. 1996. Suplemento.
- PROBST, A. H.; JUDD, R. W. Origin, U. S. history and development, and world distribution. In: Soybeans: Improvement, production, and uses. CALDWELL, B. E. American Society of Agronomy. Madson, E.U.A. 1-15. 1973.

- SEDIYAMA, T.; PEREIRA, M. G.; SEDIYAMA, C. S.; GOMES, J. L. L. Cultura da soja. 96p. 1996.
- SCHUSTER, M. L., COYNE, D. P. & SING, K. Population trends and movement of *Corynebacterium flaccumfaciens* var. *aurantiacum* in tolerant and susceptible beans. Plant Disease Reporter 48: 823-827. 1964.
- SCHUSTER, M. L.; SAYRE, R. M. A corynebacterium induces purplecolored seed and leaf hypertrophy of *Phaseolus vulgaris* and other leguminosae. Phytopathology 57: 1064-1066. 1967.
- SMITH, I. M.; MCNAMARA, D. G.; SCOTT, P. R.; HOLDERNESS, M. EPPO/CABI *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. In: *Quarantine pests for Europe*. 2nd edition. CAB INTERNATIONAL, Wallingford, UK. 1996.
- SINCLAIR, J. B. Bacterial tan spot. In: Compendium of soybean diseases 4<sup>th</sup> ed. HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. 7. 1999.
- SWEETS, L. Soybean foliage diseases may begin to show up. Integrated pest & crop management newsletter. University of Missouri – Columbia 12, 2p. 2002. <http://ipm.missouri.edu>
- TAKATSU, A. Método de dessecação para preservação de *X. manihotis*. Fitopatologia Brasileira 31: 130. 1978.
- TAKATSU, A. Preservação de bactérias fitopatogênicas pelo método de dessecação. Brasília: UNB, Departamento de Biologia Vegetal, 5p. 1985.
- UESUGI, C. H., FREITAS, M. A. & MENEZES, J. R. Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro, em Goiás e no Distrito Federal. Fitopatologia Brasileira 28: 324. 2003.
- UTIMADA, C. M.; SATO, L. N.; DALBOSCO, M.; YORINORI, J. T. Eficiência de fungicidas no controle de doenças foliares em soja. Fitopatologia Brasileira 22: 317. 1997. Suplemento.

VENETTE, J. R., LAMPRA, R. S., GROSS, P. L. First report of bean bacterial wilt caused by *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in North Dakota. Plant Disease 79: 966. 1995.

WOOD, B. A.; EASDOWN, W. J. A new bacterial disease of mung bean and cowpea for Australia. Australasian Plant Pathology, Toowoomba 19: 16-21. 1990.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; COSTA, H. Controle integrado de doenças de hortaliças. Viçosa, Suprema Gráfica e Editora Ltda. 1997.

ZONTA, E. P. & MACHADO, A. A. Sistemas de análises estatísticas (SANEST) para microcomputadores. In: Simpósio de Estatística Aplicada à Experimentação, 1995, Piracicaba, Resumos... Campinas: Fundação Cargil, 17-18. 1995.

## ANEXOS

### **INSTRUÇÃO NORMATIVA SDA Nº 38, de 23 de NOVEMBRO de 1998.**

**O SECRETÁRIO DE DEFESA AGROPECUÁRIA, DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO**, no uso da atribuição que lhe confere o art. 83, inciso IV, do Regimento Interno da Secretaria, aprovado pela Portaria Ministerial nº 574, de 8 de dezembro de 1998, e considerando:

- a lista de pragas quarentenárias para o Brasil, constante da Portaria Ministerial nº 180, de 21 de março de 1996, publicada no Diário Oficial da União - D.O.U. de 25 de março de 1996, suplemento ao nº58, na qual constam 221 pragas de importância quarentenária para o País;
- as ocorrências fitossanitárias em países vizinhos ao Brasil e as interceptações mais frequentes de pragas nas barreiras fitossanitárias internacionais;
- as novas ocorrências de pragas em outras partes do mundo que podem ser introduzidas e estabelecidas no País, principalmente em função do crescente intercâmbio comercial.
- os princípios de Análise de Risco de Pragas – ARP, adotados pelo Brasil por meio da Portaria Ministerial nº641, de 03 de outubro de 1995, D.O.U. de 10 de outubro de 1995, propostos pelo Comitê de Sanidade Vegetal do Cone Sul – COSAVE;
- o que preceitua a Lei nº9.712, de 20 de novembro de 1998, publicada no D.O.U. de 23 de novembro de 1998;
- a importância da manutenção do patrimônio fitossanitário nacional para preservação da competitividade da agricultura brasileira e garantia dos procedimentos de certificação fitossanitária, tanto em nível interno quanto externo;
- a nova versão da Convenção Internacional de Proteção dos Vegetais, aprovada pela 29ª Conferência da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação - FAO, em Roma, no período de 7 a 18 de novembro de 1997;
- as notificações de introduções de pragas regulamentadas em áreas indenes do território nacional;
- a necessidade de implementar os procedimentos de certificação fitossanitária em relação às Pragas Quarentenárias A2 e Não Quarentenárias Regulamentadas;
- os comentários recebidos no período de audiência pública relacionados à Portaria SDA nº 181, de 5 de outubro de 1998, D.O.U. de 8 de outubro de 1998, **resolve:**

Art. 1º Estabelecer a lista de Pragas Quarentenárias A1, A2 e as Não Quarentenárias Regulamentadas, que demandam atenção especial de todos os integrantes do sistema de defesa fitossanitária do País, destacando as de alto risco potencial para as quais fica estabelecido o Alerta Máximo.

§ 1º Caracteriza-se como Alerta Máximo o conjunto ações que devem ser implementadas no sentido de prevenção, contenção ou controle destas pragas.

§ 2º Declarar em Alerta Máximo as pragas assinaladas (#) nos artigos 2º e 3º desta Instrução Normativa.

Art. 2º As Pragas Quarentenárias A1, entendidas como aquelas não presentes no País, porém com características de serem potenciais causadoras de importantes danos econômicos, se introduzidas, são:

#### ACARINA

- *Acarus siro*, grãos armazenados;
- # *Aculus schlechtendali*, maçã;
- # *Brevipalpus chilensis*, fruteiras diversas;
- *Brevipalpus lewisi*, polífaga;
- # *Eotetranychus carpini*, fruteiras diversas;
- # *Steneotarsonemus spinki*, arroz;
- # *Tetranychus mcdanieli*, fruteiras diversas;
- # *Tetranychus pacificus*, fruteiras diversas, ornamentais e algodão;
- # *Tetranychus turkestanii*, polífaga;

#### COLEOPTERA

- # *Anaplophora glabripennis*, árvores de madeira dura.
- *Anthonomus eugenii*,.; *Capsicum spp*
- *Anthonomus pyri*, pomáceas;
- # *Anthonomus pomorum*, maçã;
- # *Anthonomus vestitus*, algodão;
- *Anthores leuconotus*, café;
- *Bixadus sierricola*, café;
- *Brachycerus spp.*, alho, cebola e ervilha;
- *Bruchidius spp.*, ervilha;
- *Bruchus spp.*, ervilha;
- *Chaectonema basalis*, arroz e trigo;
- *Conotrachelus nenuphar*, drupáceas e pomáceas;
- *Dicladispa armigera*, arroz;
- *Diocalandra taitense*, coco;
- *Epicaerus cognatus*, batata;
- *Gryctis rhinocerus*, coco;
- # *Leptinotarsa decemlineata*, batata;

- *Lissorhoptus oryzophilus*, arroz e outras gramíneas;
- *Medythia quaterna*, feijão;
- *Odoiporus longicollis*, banana;
- *Oothea spp.*, feijão e soja;
- *Oryctes spp.*, coco;
- *Othiorhynchus sulcatus*, morango e videira;
- *Placaederus ferrugineus*, café e caju;
- *Premnotrypes spp.*, batata;
- # *Prostophanus truncatus*, grãos armazenados em geral;
- *Rhabdoscelus obscurus*, cana-de-açúcar;
- *Sophronica ventralis*, café;
- # *Sternochetus mangiferae*, manga;
- *Trichispa sericea*, arroz;
- # *Trogoderma granarium*, grãos armazenados em geral;
- *Xylosandrus compactus*, cacau e café;

## DIPTERA

- # *Anastrepha ludens*, frutas diversas;
- # *Anastrepha suspensa*, frutas diversas;
- *Atherigona oryzae*, arroz;
- *Atherigona soccata*, sorgo, arroz, trigo e milho;
- # *Bactrocera spp.*, (exceto *B. carambolae*), frutas diversas;
- # *Ceratitis rosa*, frutas diversas;
- *Chromatomyia horticola*, curcubitáceas e hortaliças;
- *Contarinia tritici*, trigo;
- # *Dacus spp.*, frutas diversas e cucurbitáceas;
- *Delia spp.* (exceto *Delia platura*), cereais;
- *Mayetiola destructor*, cereais;
- *Ophiomyia phaseoli*, feijão;
- *Orseolia oryzivora*, arroz;
- *Orseolia oryzae*, arroz e outras gramíneas;
- *Rhagoletis cingulata*, *Prunus spp.* ;
- # *Orseoletis pomonella*, frutas diversas;
- *Sitodiplosis mosellana*, trigo;
- # *Toxotrypana curvicauda*, mamão;

## HEMIPTERA

- # *Aleurocanthus woglumi*, citros;
- # *Aleurocanthus spiniferus*, citros, rosa, videira e pera;
- # *Bemisia spp.* (complexo de raças e espécies, exceto biótipos A e B ), polífaga;
- *Ceroplastes destructor*, citros e polífaga;
- *Cicadulina mbila*, milho, trigo, cana-de-açúcar e gramíneas
- # *Diuraphis noxia*, trigo, cevada, aveia e centeio;
- # *Eurigaster intregriceps*,trigo, triticales, centeio e aveia;

- *Helopeltis antonii*, caju;
- *Lygus spp.*, algodão;
- # *Maconellicoccus hirsutus*, polífaga ;
- *Perkinsiella saccharicida*, cana-de-açúcar;
- *Planococcoides njalensis*, cacau e café;
- *Planococcus lilacinus*, citros, café e cacau;
- *Pseudococcus comstocki*, maçã, pera, pessego e café;
- *Rastrococcus invadens*, manga;

## HYMENOPTERA

- *Cephus cinctus*, trigo, triticales, aveia e centeio;
- *Cephus pygmaeus*, trigo, triticales, aveia e centeio;

## LEPIDOPTERA

- *Agrius convolvuli*, citros;
- *Agrotis segetum*, algodão e cucurbitáceas;
- *Anarsia lineatella*, *Prunus spp.*, pêra;
- *Amyelois transitella*, amêndoas, nozes e laranja;
- *Argyrogramma signata*, crucíferas, legumes e girassol;
- *Carpocapsa niponensis*, frutas diversas;
- *Cephonodes hylas*, café;
- *Chilo partellus*, sorgo e milho;
- *Chilo suppressalis*, arroz;
- *Cryptophlebia leucotreta*, frutas diversas;
- # *Cydia spp.* (exceto *C. molesta*, *C. araucariae* e *C. pomonella*), frutas diversas;
- # *Dyspessa ulula*, alho e cebola;
- *Earias biplaga*, algodão e cacau;
- *Earias insulana*, algodão;
- *Ectomyelois ceratoniae*, nozes e sementes;
- *Eldana saccharina*, milho, sorgo, arroz e cana-de-açúcar;
- # *Erionota thrax*, banana e coco;
- *Helicoverpa armigera*, algodão;
- *Lampides boeticus*, feijão e soja;
- *Leucinodes orbonalis*, batata e tomate;
- *Leucoptera meyricki*, café;
- *Lobesia botrana*, uva, oliva e framboesa;
- *Mocis repanda*, arroz, milho, cana-de-açúcar e gramíneas forrageiras;
- *Mythimna loreyi*, arroz e milho;
- *Mythimna separata*, arroz, milho, sorgo, trigo e cana-de-açúcar;
- *Nacoleia octasema*, banana e milho;
- *Ostrinia furcanalis*, milho;
- *Ostrinia nubilalis*, milho;
- *Othreis fullonia*, citros, banana e tomate;
- *Parasa lepida*, abacaxi, café, cacau, coco e outras palmáceas;

- *Pectinophora scutigera*, algodão e outras malváceas;
- *Platynota stultana*, polífaga;
- # *Prays citri*, citros;
- *Scirpophaga incertula*, arroz;
- *Sesamia inferens*, trigo, triticales, aveia e centeio;
- *Thaumatopoea pityocampa*, Pinus spp;

## NEMATODA

- *Anguina agrostis*, Agrostis spp., Dactylis spp., Lolium spp. e Poa spp.;
- *Anguina tritici*, trigo, aveia, cevada e centeio;
- *Bursaphelenchus xylophilus*, Pinus spp., bálsamo e cedro;
- *Ditylenchus angustus*, arroz;
- *Ditylenchus destructor*, batata e bulbos florais;
- *Ditylenchus dipsaci* (todas as raças, exceto as do alho), polífaga;
- # *Globodera pallida*, batata, tomate e berinjela;
- # *Globodera rostochiensis*, batata, tomate e berinjela;
- *Heterodera schachtii*, beterraba;
- # *Heterodera punctata*, milho e trigo;
- # *Heterodera oryzae*, arroz;
- # *Heterodera oryzicola*, arroz;
- # *Heterodera sacchari*, arroz;
- # *Heterodera trifolii*, soja;
- # *Heterodera zae*, milho;
- *Meloidogyne chitwoodi*, batata;
- # *Nacobbus aberrans*, batata e tomate;
- # *Nacobbus dorsalis*, batata;
- *Pratylenchus fallax*, frutíferas, rosa, morango e crisântemo;
- *Pratylenchus scribneri*, milho, tomate, beterraba, cebola, soja, batata e orquidea;
- *Pratylenchus thornei*, trigo, maçã, rosa e ornamentais;
- *Pratylenchus vulnus*, banana, citros e tomate;
- *Punctodera chalconensis*, milho;
- *Radopholus citrophilus*, citros;
- *Rotylenchulus parvus*, cana-de-açúcar e milho ;
- *Subanguina radiculicola*, gramíneas;
- *Xiphinema italiae*, videira, frutíferas e coníferas;

## PROCARIOTES

- Citrus greening bacterium, citros;
- *Clavibacter iranicus*, trigo;
- *Clavibacter michiganensis* spp. *insidiosus*, alfafa e trevo;
- *Clavibacter michiganensis* spp. *nebraskensis*, milho;
- *Clavibacter michiganensis* spp. *sepedonicus*, batata;
- *Clavibacter tritici*, trigo;
- *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, leguminosas;

- # *Erwinia amylovora*, rosáceas;
- *Pantoea stewartii*, milho;
- *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, feijão;
- *Spiroplasma citri* (Stubborn), citros;
- *Xanthomonas campestris* pv. *cassavae*, mandioca;
- *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Biotipos B e E), citros;
- # *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, arroz;
- # *Xanthomonas oryzae* pv. *orizicola*, arroz;
- *Xylella fastidiosa* (peach phony disease), pêssego;
- *Xylophilus ampelinus*, uva;

## PHYTOPLASMA, VIRUS E VIRÓIDES

- African cassava mosaic virus, mandioca;
- Apple chat fruit MLO, maçã;
- Apple proliferation MLO, maçã;
- # Banana bunch top virus, banana;
- Barley stripe mosaic virus, trigo e cevada;
- # Cadang cadang viroid, coco;
- Fiji disease virus, cana-de-açúcar;
- # Grapevine flavescente dorée-MLO, uva;
- # Palm lethal yellowing-MLO, coco e outras palmáceas;
- Pea seed born mosaic virus, ervilha;
- Peach rosette MLO, pêssego;
- Peach yellow MLO, ameixa;
- # Pear decline, MLO, pera;
- # Plum Pox virus, ou Sharka virus-PPV, *Prunus* spp. ;
- # Potato Spindle Tuber viroide – PSTVd, batata;
- Prune dwarf virus, *Prunus* spp.;
- *Prunus* necrotic ring spot virus, *Prunus* spp.;
- Sugarcane Sereh disease virus, cana-de-açúcar;
- Swollen shoot virus, cacau;
- # Tomato ring spot virus, tomate;

## FUNGOS

- *Alternaria vitis*, uva;
- *Alternaria triticina*, trigo;
- *Thecaphora solani*, batata;
- # *Apiosporina morbosa*, *Prunus* spp.;
- # *Aureobasidium lini*; algodão;
- *Cercospora sorghi*, sorgo e milho;
- *Cladosporium alli-cepae*, cebola e cebolinha;
- *Cladosporium pisicolum*, ervilha;
- # *Colletotrichum kahawae*, café;
- *Dactylochaeta glycines* (*Pyrenochaeta glycines*), soja;

- *Entyloma oryzae*, arroz;
- # *Balansia oryzae-sativae*, arroz;
- *Fusarium oxysporium f. sp. elaidis*, palma africana;
- *Fusarium oxysporium f. sp. radialis lycopersici*, tomate;
- *Gibberella fujikuroi*, arroz;
- *Gibberella xylarioides*, café;
- *Glomerella cingulata*, café;
- *Glomerella manihotis*, mandioca;
- # *Gymnosporangium* spp., pomáceas e rosáceas ornamentais;
- # *Haplobasidium musae*, banana;
- *Heliococeras* spp., arroz;
- # *Hemileia coffeicola*, café;
- *Hendersonia oryzae*, arroz;
- *Cephalosporium gramineum*, trigo;
- # *Moniliophthora roreri*, cacau;
- *Mycosphaerella zea-maydis*, milho;
- # *Nectria galligena*, maçã e pera;
- *Oncobasidium theobromae*, cacau;
- *Oospora oryzae*, arroz;
- *Polyscytalum pustulans*, batata;
- *Gaeumannomyces graminis var. graminis*, arroz;
- *Periconia circinata*, sorgo;
- *Phoma exigua var. foveata*, batata;
- # *Phoma tracheiphila*, citros;
- *Phomopsis anacardii*, caju;
- *Phyllosticta solitaria*, maçã;
- *Phymatotrichopsis omnivora*, polífaga;
- *Physopella ampelopsidis*, uva;
- *Phytophthora boehmeriae*, citros;
- *Phytophthora cryptogea*, tomate;
- *Phytophthora erythroseptica*, batata;
- *Phytophthora megasperma f. sp. glycinea*, soja;
- *Plamospora halstedii* (exceto raça 2), girassol;
- *Polyspora lini*, algodão;
- *Puccinia erianthi*, cana-de-açúcar;
- *Puccinia kuchnii*, cana-de-açúcar;
- *Sphacelotheca sacchari*, cana-de-açúcar;
- *Stagonospora sacchari*, cana-de-açúcar;
- *Synchytrium endobioticum*, batata;
- *Tilletia controversa*, trigo e cevada;
- *Tilletia indica*, trigo;
- # *Urocystis agropyri*, trigo;

## ERVAS DANINHAS

- *Cirsium arvense*;

# *Striga* spp;  
# *Taenatherum caput-medusae*;

§ 1º O Departamento de Defesa e Inspeção Vegetal – DDIV, desta Secretaria, deverá providenciar a elaboração dos Planos Emergenciais de Prevenção e Controle para todas as pragas em Alerta Máximo definidas neste artigo.

§ 2º O DDIV deverá solicitar ao Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária, sob a coordenação da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, o apoio para a realização destes Planos.

§ 3º Os planos emergenciais elaborados, deverão ser encaminhados às Unidades da Federação para análise e adaptação objetivando sua aplicabilidade às condições locais. Caberá às Comissões de Defesa Sanitária Vegetal – CDSV a execução deste procedimento, bem como a aplicação dos planos quando da notificação da introdução de praga A1 na sua Unidade da Federação.

Art. 3º As Pragas Quarentenárias A2, entendidas aquelas de importância econômica potencial, já presentes no país, porém não se encontram amplamente distribuídas e possuem programa oficial de controle, são as abaixo relacionadas, com os respectivos estados onde já foram detectadas:

# *Bactrocera carambolae*, carambola, manga, maçaranduba, sapoti, goiaba, jambos, caju, jaca, gomuto, fruta-pão, bilimbi, pimenta picante, abiu, citros, pitanga, bacupari, tomate, amendoeira, cajá, ingá e jujuba - AP;  
# *Crinipellis perniciosus*, cacau e cupuaçu.- AC, AM, AP, BA, GO, MS, MT, PA, RO, RR e TO;  
# *Cydia pomonella*, maçã e frutas da família rosácea.- RS e SC;  
# *Guignardia citricarpa*, citros. - RJ e SP;  
# *Mycosphaerella fijiensis*, banana.- AC, AM, MT e RO;  
# *Ralstonia solanacearum* raça 2, banana e *Heliconia* spp. - AL, AM, AP, PA e SE  
# *Sirex noctilio*, *Pinus* spp.- PR, RS e SC;  
# *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, citros.- MS, PR, RS, SC e SP;  
# *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*, maracujá.- PA;  
# *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, uva.- BA, PE e PI;  
# *Xylella fastidiosa*, citros. - DF, BA, GO, MG, MS, MT, PA, RJ, RS, SC, SE e SP;

§ 1º As pragas listadas neste artigo deverão ser objeto de Planos de Controle e Planos de Ações Preventivas elaborados pelas Comissões de Defesa Sanitária Vegetal – CDSV e encaminhados ao Departamento de Defesa e Inspeção Vegetal – DDIV, desta Secretaria, para aprovação.

§ 2º As CDSV dos estados serão também responsáveis pela apresentação de Planos para o estabelecimento de Áreas Livres ou de Baixa Prevalência de Pragas, quando da existência de condicionantes que permitam, por meio de evidência científica, sua caracterização.

Art. 4º As Pragas Não Quarentenárias Regulamentadas, entendidas como aquelas não quarentenárias cuja presença em plantas, ou partes destas, para plantio, influi no seu uso proposto com impactos econômicos inaceitáveis, são:

- # PVX vírus, batata;
- # PVY vírus, batata;
- # PLRV vírus, batata;
- # PVS vírus, batata;
- # *Alternaria spp.*, batata;
- # *Erwinia spp.*, batata;
- # *Fusarium solani* (Tipo *eumartii*), batata;
- # *Fusarium spp.*, batata;
- # *Meloidogyne spp.* batata e café;
- # *Phytophthora infestans*, batata;
- # *Ralstonia solanacearum*, batata;
- # *Rhizoctonia solani*, batata;
- # *Spongopora subterrânea*, batata;
- # *Streptomyces spp.*, batata;

§ 1º Os índices de tolerância para cada praga estão estabelecidos em Portarias específicas.

§ 2º Outras Pragas Não Quarentenárias Regulamentadas deverão ser definidas por grupo específico de acordo com a Portaria MA nº71, de 22 de fevereiro de 1999, publicada no D.O.U. de 23 de fevereiro de 1999, e preparados os seus respectivos planos de controle e prevenção pelo Grupo Técnico Permanente citado no art. 3º da citada Portaria.

§ 3º As pragas citadas em outras normas e regulamentos relacionadas a material de propagação e que preencham os requisitos para sua caracterização como Não Quarentenárias Regulamentadas também deverão ser discutidas pelo grupo citado no parágrafo 1º deste artigo, quanto à proposição de seus níveis de tolerância.

Art. 5º O Departamento de Defesa e Inspeção Vegetal – DDIV deverá providenciar o encaminhamento ao COSAVE dos documentos necessários para caracterização, por aquela entidade, das pragas que ainda não estejam identificadas como Quarentenárias A2 para o Brasil e constem da art. 3º, bem como as Análises de Risco de Pragas relacionadas aos organismos que ainda não constem da lista de Quarentenárias A1, proposta para o Brasil por aquele Comitê, e estejam listados no artigo 2º desta Instrução Normativa.

Art. 6º Estabelecer a obrigatoriedade da notificação ao Departamento de Defesa e Inspeção Vegetal - DDIV, desta Secretaria, de detecção ou caracterização de qualquer praga listada nos artigos 2º e 3º desta Instrução Normativa ou qualquer outra considerada inexistente no Território Nacional, por todas as entidades que realizem pesquisas na área de fitossanidade e pelas categorias profissionais diretamente vinculadas à área de defesa sanitária vegetal de qualquer órgão ou entidade do Sistema de Defesa Agropecuária.

Parágrafo único. A divulgação da presença de nova praga no país deverá ser feita por esta Secretaria, após efetuar um levantamento de sua distribuição geográfica e de suas possibilidades de controle e erradicação, conforme estabelecido pela Portaria Interministerial nº 290, de 15 de abril de 1996.

Art. 7º Determinar ao DDIV que promova a publicação em meio eletrônico e/ou gráfico dos Alertas Quarentenários ou Alertas Fitossanitários relacionado às pragas listadas no art. 2º desta Instrução Normativa e dar publicidade aos já editados.

Parágrafo único. As Delegacias Federais de Agricultura, com o apoio das CDSV, deverão divulgar documentos informativos como os Alertas Quarentenários, além de outros, para seus fiscais agropecuários, profissionais que atuam na área de controle de trânsito de vegetais e seus produtos, como os que emitem a Permissão de Trânsito e Certificado Fitossanitário de Origem e aos meios de comunicação interessados no trabalho de prevenção de pragas regulamentadas.

Art. 8º Determinar ao DDIV que gestione junto aos órgãos públicos que regulamentam o transporte aéreo, marítimo, fluvial, ferroviário e rodoviário do País, para que informem aos seus clientes das exigências fitossanitárias para o transporte de produtos vegetais, como Certificado Fitossanitário e Permissão de Trânsito, orientando para que procurem os Serviços de Defesa Vegetal nos Estados para obtenção de maiores informações.

Art. 9º As pragas listadas nos artigos 2º e 3º desta Instrução Normativa, quando couber, deverão estar incluídas nos itens de negociação dos protocolos internacionais celebrados por esta Secretaria.

Art. 10. As indicações de produtos fitossanitários ainda não registrados para as pragas citadas nesta Portaria, deverão ter prioridade em seu registro ou extensão de uso, conforme o caso.

Parágrafo único. Deverá ser dada prioridade aos procedimentos de importação de material destinado à pesquisa científica, que objetivem apoiar as ações de prevenção e controle das pragas mencionadas nos artigos 2º e 3º desta Instrução Normativa.

Art. 11. O não cumprimento das disposições desta Portaria sujeitará os infratores ao disposto no Decreto Lei nº 24.114/34 e ao que preceitua sobre o tema o art. 259 do Código Penal.

Art. 12. Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação, ficando revogada a Portaria nº 181, de 5 de outubro de 1998, publicada no Diário Oficial da União de 8 de outubro de 1998, devendo ser republicada periodicamente para atualização de seus dados.

Luiz Carlos de Oliveira