



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UnB**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – IBD**  
**DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA**

Etiologia, Epidemiologia e Fisiologia da Murcha de  
*Curtobacterium*

Reinaldo José de Miranda Filho

**BRASILIA, MARÇO DE 2010**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UnB**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – IBDB**  
**DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA**

**Etiologia, Epidemiologia e Fisiologia da Murcha de**  
***Curtobacterium***

**Reinaldo José de Miranda Filho**

**Tese apresentada ao Departamento de**  
**Fitopatologia como requisito para a**  
**obtenção do título de Doutor**

**BRASÍLIA, MARÇO DE 2010**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UnB  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – IBD  
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA**

Etiologia, Epidemiologia e Fisiologia da Murcha de *Curtobacterium*

**Aluno: Reinaldo José de Miranda Filho  
Matrícula: 06/66599**

Trabalho desenvolvido junto ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob a orientação do **Professor Carlos Hidemi Uesugi**. Com apoio institucional CAPES, CNPq.

**Aprovado por:**

-----  
**Prof. Dr. Carlos Hidemi Uesugi (Orientador)**  
**Universidade de Brasília – UnB.**

-----  
**Prof. Dr. Adalberto Corrêa Café Filho**  
**Universidade de Brasília – UnB.**

-----  
**Dr. Carlos Alberto Lopes**  
**CNPH - EMBRAPA**

-----  
**Prof. Dr. Claudio Lúcio Costa**  
**Universidade de Brasília – UnB.**

-----  
**Prof. Dr. Jean Kleber de Abreu Mattos**  
**Universidade de Brasília – UnB.**

“A mente que se abre a  
uma nova idéia jamais volta ao seu  
tamanho original.”

(Albert Einstein)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por minha vida e por todas as graças recebidas de suas mãos, pela proteção de Nossa Senhora de Aparecida em todos os momentos de minha vida.

Agradeço, aos meus pais Reinaldo e Yonilce por minha educação, amizade, companheirismo em momentos difíceis, pelos esforços realizados para que eu pudesse ter acesso a educação profissional e por todos os ensinamentos de honestidade e determinação.

Agradeço aos meus irmãos Glauco e Breno, pela amizade, apoio, incentivo e ajuda em muitos momentos da construção deste trabalho e que cada vez mais possamos crescer juntos em todos os aspectos de nossas vidas.

Agradeço a minha esposa Kamilla pela atenção, carinho, apoio e paciência em todos os momentos de mais uma etapa da minha caminhada acadêmica.

Agradeço a toda minha família, em especial aos meus avós paternos José (*in memorian*) e Hilda e maternos Nilson (*in memorian*) e Yanie (*in memorian*).

Agradeço a todos os meus amigos de universidade, pela colaboração e ajuda em muitos momentos dentro do curso de pós graduação.

Agradeço a todos os professores da Universidade de Brasília que contribuíram para minha formação, em especial aos professores do Departamento de Fitopatologia: Claudia Renata (*in memorian*), Denise Vilela, Marisa Ferreira, Adalberto Café Filho, Carlos A. Inácio, Cláudio L. Costa, José C. Dianese, Juvenil E. Cares, Luis E. B. Blum, Shiou P. Huang (*in memorian*).

Agradeço a todos os funcionários e técnicos do laboratório de fitopatologia: Arlindo, Arenildo, Carlos Pietrani, Cezar, Fábio, Francisca, Francisco, Kamila, Marivaldo, Olinda, Silene e Ribamar. Ao Márcio pela ajuda e análises realizadas no laboratório de tecnologia de produtos agropecuários da UnB.

Agradeço aos membros da banca examinadora pelo aceite em participar e contribuir na avaliação deste trabalho.

Agradeço em especial ao professor Carlos Hidemi Uesugi pela amizade paciência, ensinamentos e orientação desde o início de minha formação em graduação bem como todo apoio e orientação para o desenvolvimento deste trabalho.

# SUMÁRIO

Introdução Geral	1
Resumo Geral	4
General Abstract	6
Capítulo 1: Ocorrência da Murcha de <i>Curtobacterium</i> em feijoeiro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) na Região do DF e Entorno.	
Resumo	8
Abstract	9
Introdução	10
Material e Métodos	12
Resultados e Discussão	13
Referências Bibliográficas	19
Capítulo 2: Caracterização de Sintomas da Murcha de <i>Curtobacterium</i> ( <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> ) em Feijoeiro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ).	
Resumo	22
Abstract	23
Introdução	24
Material e Métodos	26
Resultados e Discussão	28
Referências Bibliográficas	34
Capítulo 3: Persistência de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> em Solo de Cerrado.	
Resumo	37
Abstract	38
Introdução	39
Material e Métodos	40
Resultados e Discussão	42
Referências Bibliográficas	46
Capítulo 4: Transmissibilidade de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> entre plantas de feijoeiro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ).	
Resumo	49
Abstract	50
Introdução	51
Material e Métodos	52
Transmissibilidade na linha de plantio via parte aérea	53
Transmissibilidade entre linhas de plantio via parte aérea	53
Transmissibilidade na linha de plantio via sistema radicular	54
Transmissibilidade entre linhas de plantio via sistema radicular	55
Resultados e Discussão	56
Transmissibilidade na linha de plantio via parte aérea	56
Transmissibilidade entre linhas de plantio via parte aérea	57
Transmissibilidade na linha de plantio via sistema radicular	57
Transmissibilidade entre linhas de plantio via sistema radicular	58

Referências Bibliográficas	59
Capítulo 5: Efeitos da Murcha de <i>Curtobacterium</i> no Desenvolvimento, Produção Final e Qualidade dos Grãos em Plantas de Feijoeiro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ).	
Resumo	61
Abstract	62
Introdução	63
Material e Métodos	64
Efeito da Murcha de <i>Curtobacterium</i> no feijoeiro em cultivo das águas	64
Efeito da Murcha de <i>Curtobacterium</i> no feijoeiro em cultivo de inverno (irrigado)	67
Efeito da Murcha de <i>Curtobacterium</i> no feijoeiro em cultivo das águas em sucessão	68
Resultados e Discussão	70
Efeito da Murcha de <i>Curtobacterium</i> no feijoeiro em cultivo das águas	70
Efeito da Murcha de <i>Curtobacterium</i> no feijoeiro em cultivo de inverno (irrigado)	76
Efeito da Murcha de <i>Curtobacterium</i> no feijoeiro em cultivo das águas em sucessão	83
Referências Bibliográficas	85
Capítulo 6: Efeito do tratamento de sementes de feijoeiro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) para eliminação de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> .	
Resumo	89
Abstract	90
Introdução	91
Material e Métodos	93
Produtos Utilizados	93
Efeitos do tratamento de sementes e pulverizações foliares	93
Resultados e Discussão	95
Efeitos do tratamento de sementes e pulverizações foliares	95
Referências Bibliográficas	98

## ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo 1:		
	<b>Figura 1:</b> Região compreendida em torno de 300 Km de raio da cidade de Brasília – DF.	12
	<b>Figura 2:</b> Campo de produção de feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) com incidência de Murcha de <i>Curtobacterium</i> .	16
	<b>Figura 3:</b> Detalhe de planta de feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) com incidência de Murcha de <i>Curtobacterium</i> .	17
Capítulo 2:		
	<b>Figura 1:</b> Sintomas iniciais de amarelecimento da Murcha de <i>Curtobacterium</i> com formação de manchas cloróticas nas folhas.	28
	<b>Figura 2:</b> Sintomas iniciais de Queima de bordas das folhas em plantas de feijoeiro comum apresentando a Murcha de <i>Curtobacterium</i> .	29
	<b>Figura 3:</b> Sintomas da Murcha de <i>Curtobacterium</i> descritos como flacidez de folíolos.	30
	<b>Figura 4:</b> Sintomas de murcha típicos da doença denominada Murcha de <i>Curtobacterium</i> .	31
	<b>Figura 5:</b> Sintomas de Queima das bordas das folhas, devido ao calor intenso e/ou irrigação em horário não recomendado.	32
Capítulo 3:		
	<b>Figura 1:</b> Distribuição dos vasos contendo solo, com incidência severa da Murcha de <i>Curtobacterium</i> .	40
	<b>Figura 2:</b> Plantas de feijoeiro comum aos 60 DAE, com sintomas da Murcha de <i>Curtobacterium</i> .	42
Capítulo 4:		
	<b>Figura 1:</b> Detalhe das plantas de feijoeiro comum, com sintomas da Murcha de <i>Curtobacterium</i> lado a lado com plantas Indicadoras.	54
	<b>Figura 2:</b> Detalhe das plantas de feijoeiro comum, inoculadas com a bactéria lado a lado com plantas Indicadoras.	55

## ÍNDICE DE TABELAS

Capítulo 3:		
	<b>Tabela 1:-</b> Persistência de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> em solo de cerrado.	43
Capítulo 4:		
	<b>Tabela 1:</b> Transmissibilidade de <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> entre plantas de feijoeiro comum.	56
Capítulo 5:		
	<b>Tabela 1:</b> Influência da Murcha de <i>Curtobacterium</i> na fisiologia do feijoeiro cultivar Pérola em cultivo das águas.	74
	<b>Tabela 2:</b> Teores finais de Cinzas, Gorduras, Proteínas, Matéria Seca e Umidade nos grãos dos tratamentos Sadio e Doente.	75
	<b>Tabela 3:</b> Efeito da Murcha de <i>Curtobacterium</i> nas características fisiológicas do feijoeiro em cultivo de inverno (irrigado).	79
	<b>Tabela 4:</b> Aproveitamento, em análise visual, para consumo de grãos de feijão.	83
	<b>Tabela 5:</b> Pesos médios finais da matéria seca e peso final dos grãos de feijoeiro comum ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).	84



Capítulo 6:

**Tabela 1:** Efeitos dos tratamentos químicos de semente de feijão na germinação, emergência, produtividade e peso de 100 grãos

96

## Introdução Geral

A cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) é explorada em três épocas: 1) Feijão das águas – aquele em que o plantio se faz nos meses de outubro, novembro e dezembro, acompanhando o início da estação chuvosa; 2) Feijão da seca – efetuado nos meses de janeiro e fevereiro, sob condições normais, quando se pode contar com o índice de chuva para o desenvolvimento inicial das plantas. Havendo oscilações climáticas o plantio poderá se estender até meados do mês de março. A cultura desta época está menos sujeita às doenças e a colheita geralmente se dá com tempo seco, tendo-se assim um produto de alta qualidade. 3) Cultivo de inverno ou também chamado de terceira época – aquele cultivado nos meses de abril, maio e junho, é o que detém os maiores aportes de tecnologia e é conduzido sob irrigação garantindo elevadas produtividades (EMBRAPA; CNPAF, 1985).

Pesquisas realizadas nos últimos anos, em especial sobre manejo da cultura e melhoramento, projetaram o feijão como uma cultura economicamente viável, cultivada em extensas áreas na época da seca, em especial quando se aplica alta tecnologia com a utilização de cultivares melhoradas, preparo adequado do solo, controle efetivo de plantas daninhas, doenças, pragas e utilização de técnicas avançadas de irrigação.

Com as tecnologias recomendadas têm-se alcançado rendimentos superiores a 3.000 kg/ha (Araújo *et al.*, 1996), o que representa um avanço extraordinário comparando-se com as produtividades máximas de 1.000 kg/ha durante a década de 80.

Segundo dados da FAO, entre 1975 e 2002, o consumo *per capita* de feijão no Brasil caiu de 18,5 para 16,3 kg/hab./ano (Wander, 2007). Além do papel relevante na alimentação do brasileiro, o feijão é um dos produtos agrícolas de maior importância econômico-social, devido principalmente à mão-de-obra empregada durante o ciclo da cultura.

Pode-se perceber esta importância em estimativas para o Estado de Minas Gerais, onde na cultura do feijão, são utilizados cerca de 7 milhões de homens-dia por ciclo de produção, envolvendo aproximadamente 295 mil produtores. O Brasil é o maior produtor mundial de feijão, com um volume de produção em torno de 3,5 milhões de toneladas (Safrá 2007/08) e Minas Gerais o maior produtor entre os estados, respondendo por, aproximadamente, 15% da produção nacional.

Entre as principais doenças fúngicas da cultura encontra-se a mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferraris), a antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum* Sacc & Magn), a ferrugem (*Uromyces appendiculatus* (Pers.) Unger), a mancha de alternaria (*Alternaria* sp), o oídio (*Erysiphe polygoni* DC), o mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary), a podridão de Rhizoctonia (*Rhizoctonia solani* Kuhn), a podridão radicular seca (*Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* JB Kendr. & WC Snyder), a podridão cinzenta do caule (*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich), a mela ou murcha da teia micélica (*Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk) e a murcha de fusário (*Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*).

Recentemente, duas novas doenças fúngicas foram identificadas: a sarna (*Colletotrichum dematium* f. sp. *truncata* (Schw) Von Arx) e o carvão (*Microbotryum phaseoli*). Com relação às doenças bacterianas, as principais são o crestamento bacteriano comum (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Smith) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings) e a murcha de *Curtobacterium* (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Hedges 1922) Dowson 1942).

Considerando o conjunto de sintomas causados por *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro, a doença é relatada com sintomas de murcha e/ou flacidez de folíolos, em que estes se tornam mais flácidos durante o dia e permanecem mais túrgidos durante a noite. Em algumas situações, esses sintomas típicos de murcha não são observados, podendo ocorrer manchas amareladas e necróticas semelhantes ao crestamento bacteriano comum (Sherf, 1986).

Embora o feijoeiro comum seja hospedeiro de diversas doenças causadas por vírus, a principal doença virótica que ocasiona perdas significativas é o vírus do mosaico dourado (BGMV) (Sartorato & Rava, 2002).

A cultivar de feijão Pérola é o material mais plantado na região Centro Oeste na exploração da cultura, sendo oriunda da linhagem LR 720982 CPL53 e é proveniente de trabalho de seleção de linhas puras da cultivar Aporé, realizado pela Embrapa Arroz e Feijão. Esta linhagem foi avaliada em 57 ambientes, nos Ensaios Regionais de Feijão realizados nos Estados da Bahia (Região do Além São Francisco), Goiás (incluindo o Distrito Federal), Mato Grosso e Minas Gerais. Foi lançada com o nome Pérola em outubro de 1996, com recomendação estendida para Mato Grosso do Sul, em 1996, Paraná, em 1997, e Rio Grande do Norte, Acre, Rondônia e Espírito Santo, em 1998 (Yokoyama *et al.*, 1999).

Sabendo da importância da cultura do feijoeiro em aspectos econômicos, sociais e também na alimentação dos brasileiros, surge a necessidade de pesquisas direcionadas para a manutenção e aumento dos índices de produtividade e sustentabilidade da cultura. A Murcha de *Curtobacterium* está disseminada na maioria das áreas produtoras de feijão no Brasil, mas por ser uma doença recentemente identificada na Região Centro Oeste, há uma necessidade de maiores estudos referentes à sua etiologia, epidemiologia e suas interferências no desenvolvimento do feijoeiro.

O presente trabalho visa: verificar a ocorrência da doença na região do DF e Entorno, caracterizar os sintomas da doença, avaliar sua persistência no solo, verificar a transmissibilidade entre plantas e distribuição no campo bem como verificar as alterações na fisiologia e no desenvolvimento das plantas infectadas em ensaios de campo.

## **Referências Bibliográficas**

Araújo, R. S.; Rava, C. A.; Stone, L. F.; Zimmermann, M. J. O, **Cultura do Feijoeiro Comum no Brasil**. Piracicaba: POTAFOS, 1996. 696 p.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão. **Recomendações Técnicas para o Cultivo do Feijoeiro**. 2. ed. Goiânia, 1985. 40 p. (Embrapa-CNPAF. Circular Técnica, 13).

Sherf, A. F.; Macnab, A. A. **Vegetable Diseases and their Control**. 2 Ed. New York: John Wiley & Sons, 1986. p. 29-32.

Sartorato, A.; Rava, C. A. **Principais Doenças do Feijoeiro Comum e seu controle**. ISBN 85-7437-009-6. CD, 2002.

Yokoyama, L. P.; Del Peloso, M. J.; Di Stefano, J. G.; Yokoyama, M. **Nível de Aceitabilidade da Cultivar de Feijão “Pérola”:** Avaliação Preliminar. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. 20p.

Wander, A. E. **Produção e consumo de feijão no Brasil 1975-2005**. Informações Econômicas, v. 37, n. 2, p. 7-21, 2007.

## RESUMO GERAL

O feijão tem uma ampla adaptação edafoclimática, o que permite seu cultivo, durante praticamente todo o ano, em quase todos os estados da federação. Outra característica desta leguminosa é possibilitar a sua produção em diversos ecossistemas tropicais e temperados, em monocultivo ou consorciados nos mais variados arranjos de plantas inter e intra-específicos. A cultura do feijoeiro está sujeita a inúmeras doenças de origens fúngica, viral, bacteriana, entre outras, que causam perdas significativas na produção. Dentre as doenças bacterianas, a Murcha de *Curtobacterium*, causada por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* é uma que vem aumentando nos anos recentes. No presente trabalho, foram analisadas características relacionadas à Murcha de *Curtobacterium*, foram realizados levantamentos da ocorrência da doença na região do Distrito Federal e Entorno e ensaios experimentais visando um detalhamento na caracterização de sintomas, transmissão a curta distância, período de persistência da bactéria no solo, efeitos fisiológicos da doença nas plantas infectadas e efeito do tratamento de sementes com imersão em produtos químicos visando ao controle desta bacteriose. Foi constatada a presença da bactéria em propriedades dos municípios de Água Fria de Goiás, Serra Bonita, Formosa, Cidade Ocidental, Cabeceiras e Cristalina todos no estado de Goiás. Quanto aos sintomas observados, foram amarelecimentos com formação de manchas cloróticas nas folhas e uma “queima” das bordas e ponta das folhas, a observação de um estado flácido das folhas com um aspecto de folhas curvadas e posicionadas para baixo em diferentes níveis e a murcha nos estádios reprodutivos R7/R8. A bactéria possui grande adaptabilidade para sobrevivência em solo, permanecendo viável durante 22 meses. Foi possível constatar a transmissão da doença de planta para planta via sistema radicular e via parte aérea ficando na ordem de 10% a 20 % de transmissibilidade entre as plantas, respectivamente. A transmissão foi influenciada pela distância entre as plantas. A doença influenciou negativamente a fisiologia das plantas que apresentaram perdas estatisticamente significativas, na quantidade de folhas trifolioladas aos 30 dias após a inoculação das plantas, na quantidade final de vagens, na produção final, no peso de 100 grãos e também nas dimensões dos grãos. Tratamentos com Agrimaicin 500 (Oxitetraciclina + Sulfato de Cobre), Agrimicina (Oxitetraciclina + estreptomicina), Mycoshield (Oxitetraciclina) e Fegatex (Cloretos de Benzalcônio) não foram efetivos no controle da doença.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, distribuição, perda de produtividade.

## GENERAL ABSTRACT

The common bean (*Phaseolus vulgaris*) is adapted to a wide range of climate and soil, and this allows it to be cultivated year-round in almost all Brazilian states. Another feature of this legume is that it can be produced in many tropical and temperate ecosystems, in monoculture or intercropped in various arrangements of plants. The bean crop is subject to numerous viral, fungal and bacterial diseases, which cause significant losses. Among the bacterial diseases, *Curtobacterium* Wilt, caused by *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, has increased greatly in recent years. In this study the characteristics of *Curtobacterium* Wilt were analyzed, a survey was carried out of the occurrence of the disease in the Federal District and surrounding areas, and experimental studies were done to detail the characterization of symptoms, the short transmission distance, period of persistence of bacteria in the soil, physiological effects of the disease in infected plants and effect of treatment with immersion in chemicals for the control of the disease. The disease was detected in the municipalities of Agua Fria de Goiás, Serra Bonita, Formosa, Cidade Ocidental, Cabeceiras and Cristalina in Goiás state. The symptoms observed were yellowing with formation of chlorotic spots on leaves and a blight of the edges and tips of leaves; it was also possible to observe flaccidity of the leaves with leaf looks bent down at various levels, with wilt in the reproductive R7/R8 stages. The bacterium has a wide adaptability to survive in soil, remaining viable for 22 months. Disease transmission was found from plant to plant through the root and shoot systems, at rates of 10% to 20% of transmission between plants. Transmission was influenced by the distance between plants. The disease had a negative influence on plant physiology and caused statistically significant losses, such as fewer trifoliolate leaves at 30 days after inoculation of plants, fewer pods, lower final production, lower grain weight and dimensions. Treatments with Agrimaicin 500, Agrimicina, Mycoshield and Fegatex were not effective in the control of the disease.

**Keywords:** *Phaseolus vulgaris*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, distribution, productivity losses.

## **Capítulo 1**

# **Ocorrência de Murcha de *Curtobacterium* em Feijoeiro na Região do DF e Entorno**



## Resumo

A Murcha de *Curtobacterium* causada por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* foi primeiramente relatada nos Estados Unidos da América, no estado americano de Dakota do Sul. Posteriormente, em alguns países da Europa bem como na Austrália, Canadá, Colômbia e México. No Brasil, a doença foi inicialmente relatada no Estado de São Paulo, em 1997, mas hoje se encontra distribuída em várias regiões produtoras de feijão, principalmente nas Regiões Sul e Sudeste. Em comunicações relacionadas à Região Centro Oeste, a doença foi identificada por Uesugi *et al.* no ano de 2002, primeiramente no município de Cristalina no estado de Goiás e no Distrito Federal. No intuito de melhor avaliar a ocorrência e distribuição da doença, foi feita uma pesquisa seguindo um padrão de perguntas que foram direcionadas aos técnicos e produtores que sabidamente trabalham com a cultura do feijão. A região de atuação foi de aproximadamente 300 km de raio da cidade de Brasília – DF. Com o levantamento da ocorrência da doença foi possível observar, também, os problemas fitossanitários nos municípios avaliados. Os problemas de natureza patogênica variaram em relação ao local de exploração da cultura e tais variações podem ser atribuídas aos distintos sistemas de exploração das lavouras, origem das sementes, variáveis climáticas, entre outros. Foi possível a constatação de plantas apresentando sintomas da doença em propriedades nos municípios de Água Fria de Goiás, Serra Bonita, Formosa, Cidade Ocidental, Cabeceiras e Cristalina em Goiás. Não foi identificada a presença da doença no município de Vianópolis - GO. Com os resultados obtidos, pode-se reforçar a ocorrência da doença em regiões produtoras de feijão no Brasil, em particular no Distrito Federal e Entorno.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, pesquisa, distribuição.

## Occurrence of Bacterial Wilt in Common Bean

### Abstract

Bacterial wilt caused by *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* was first reported in the state of South Dakota, United States of America. It was later reported in some European countries and in Australia, Canada, Colombia and Mexico. In Brazil the disease was first reported in the state of São Paulo in 1997, but actually it is distributed in various bean-producing regions, mainly in the South and Southeast. Communications from the Midwest of Brazil state that the disease was first identified by Uesugi *et al.* in 2002 in the city of Cristalina in the state of Goiás and in Brasília, Federal District. In order to better evaluate the occurrence and distribution of the disease a search was carried out, following a standard set of questions directed to technicians and producers who are known to work with the bean crop. The region of activity was about 300 km from the city of Brasília. The survey helped to observe the occurrence of the disease and study plant health problems in the municipalities. The problems of a pathogenic nature varied depending on where the crop was grown, and such variations can be attributed to the different crop systems, seed origin, and climatic variables. It was possible to observe plants showing symptoms of the disease in properties in the counties of Agua Fria de Goiás, Serra Bonita, Formosa, Cidade Ocidental, Cabeceiras and Cristalina in Goiás state. We did not identify the presence of disease in Vianópolis in the same state. These results reinforce the presence of the disease in bean-producing regions in Brazil, particularly in the Federal District and surrounding areas.

**Keywords:** *Phaseolus vulgaris*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, search, distribution.

## 1.1 – Introdução

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa predominantemente autógama, domesticada há mais de sete mil anos em dois centros de origem: na Mesoamérica (México e América Central) e na Região Andina. Acredita-se que o feijão, assim como o milho (*Zea mays*) e a abóbora (*Curcubita* spp.), tenha se manifestado inicialmente como planta daninha em cultivos de mandioca (*Manihot esculenta*) e batata-doce (*Ipomea batatas*), na América Central. Durante milênios, os agricultores cultivaram misturas complexas de tipos de feijão como cerca viva contra seca, doenças e ataques de pragas. Este processo produziu uma variabilidade genética muito grande, com uma variedade grande de cores, textura e tamanho de grãos, vindo ao encontro das condições de plantio e preferências de sabor, em diferentes regiões (CIAT, 2002).

No Brasil, os patógenos bacterianos relatados na cultura do feijoeiro são: *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp, *P. syringae* pv. *tabaci* (Wolf & Foster) Young *et al.*, *P. syringae* pv. *phaseolicola* (Burkholder) Young, Dye & Wilkie, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Smith) Vauterin, Hoste, Kersters & Swinger), *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* e *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Hedges) Collins & Jones.

A doença causada por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Cff) foi primeiramente relatada nos Estados Unidos da América, no estado americano de Dakota do Sul, por Hedges (1922) e em alguns países da Europa, como também na Austrália, Canadá, Colômbia e México (Bradbury, 1986). Posteriormente foi descrita em outras localidades americanas (Venette *et al.*, 1995). A distribuição geográfica da Cff inclui países como: Bélgica, Hungria, Grécia, Romênia, Tunísia, Turquia, Iugoslávia e na Região sul da Austrália (COSAVE, 2003).

No Brasil, a doença foi inicialmente relatada no Estado de São Paulo, em 1997 (Maringoni & Rosa, 1997), e hoje se encontra distribuída em várias regiões produtoras de feijão, principalmente nas Regiões Sul e Sudeste (Herbes, 2008). Em comunicações relacionadas com a Região Centro Oeste, a doença foi identificada primeiramente no município de Cristalina no estado de Goiás e no Distrito Federal (Uesugi *et al.*, 2002).

*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* é uma parasita do sistema vascular, sobrevive e é eficientemente disseminada por sementes contaminadas, podendo infectar a planta via ferimentos ou mesmo por aberturas naturais. A bactéria pode causar um escurecimento no sistema vascular da planta doente, sendo que a murcha é o resultado da obstrução dos feixes vasculares da planta, os quais ficam repletos de células da bactéria (Saettler, 1991).

A bactéria é Gram positiva, possui flagelos, pertence ao Filo Actinobacteria Classe; Actinobacteria; Ordem, Actinomycetales e Família Microbacteriaceae. Na ocasião da descrição em 1922 (Hedges), foi denominada *Bacterium flaccumfaciens* tendo recebido posteriormente as seguintes denominações: *Phytomonas flaccumfaciens* (Hedges, 1922) Bergey *et al.*, 1923; *Pseudomonas flaccumfaciens* (Hedges, 1922) Stevens 1925; *Corynebacterium flaccumfaciens* (Hedges, 1922) Dowson 1942; e, finalmente, baseado em perfil de proteínas celulares através de eletroforese em gel de poliacrilamida, foi reclassificada como *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Hedges, 1922) Collins e Jones, 1983 (Carlson e Vidaver, 1982; Collins e Jones, 1983; Young *et al.*, 1966) (Sneath *et al.*, 1984).

O presente trabalho teve por objetivo verificar a ocorrência da Murcha de *Curtobacterium* nas principais regiões de produção de feijão do Distrito Federal e Entorno.



Após a identificação de plantas com sintomas suspeitos de murcha do feijoeiro, amostras foram coletadas e levadas ao Laboratório de Fitopatologia da Universidade de Brasília, para o isolamento da bactéria em meio nutritivo 523 (Kado & Heskett, 1970), e incubadas a 28 °C/ 48 h.

A avaliação para a confirmação da presença da bactéria no material vegetal foi feita aproximadamente 48 h após o isolamento, analisando as características da colônia presente na placa de Petri. Foram realizados testes de coloração de Gram. A partir da cultura pura obtida destas plantas com alterações morfológicas vindas dos campos, foi preparada suspensão bacteriana de  $\pm 1 \times 10^8$  ufc/ ml para inoculação, com agulha de injeção realizada logo acima da região cotiledonar, em plantas de feijoeiro cv. Pérola com 10 dias após a emergência a fim de reproduzir os sintomas da murcha. As avaliações dos sintomas foram feitas geralmente de 5 a 10 dias após a inoculação.

### **1.3 – Resultados e Discussão**

Com o levantamento da ocorrência da Murcha de *Curtobacterium* foi possível observar, entre outros, os problemas fitossanitários nos municípios avaliados. Os problemas de natureza patogênica variaram em relação ao local de exploração da cultura. Tais variações podem ser atribuídas aos distintos sistemas de exploração das lavouras, origem das sementes, variáveis climáticas entre outros.

No município de Água Fria de Goiás foram constatadas plantas apresentando sintomas da doença em duas propriedades de um total de três visitadas. Após a confirmação da ocorrência da doença, a propriedade que apresentou a maior incidência foi acompanhada mais detalhadamente até o final do ciclo da cultura. O pico da visualização de sintomas foi na fase reprodutiva R7/R8. A produtividade final foi influenciada negativamente por ataques de lagarta elasma (*Elasmopalpus lignosellus*) e

mosca branca (*Bemisia tabaci*) no início do ciclo da cultura. Tais problemas juntamente com a ocorrência da doença ocasionou um baixo rendimento final da ordem de 18 sacas de 60 kg/ ha.

No município de Serra Bonita, devido a problemas no sistema de irrigação no início do desenvolvimento da cultura, as plantas sofreram ataque da lagarta elasmó (*E. lignosellus*) e do fungo *Macrophomina phaseolina* que causou a morte de plântulas e ocasionou perda do estande inicial de aproximadamente 10 % que não foi significativa, mesmo assim, foi realizado o replantio com a finalidade de repor esta diminuição na população de plantas. A maior perda, portanto, foi devido à presença da bactéria em aproximadamente 60% das plantas dentro do campo o que ocasionou uma produtividade de apenas 20 sacas de 60 kg/ ha.

No município de Formosa foi detectada a presença da bactéria em campo de produção destinado a sementes, a incidência da doença foi de, aproximadamente, 15% das plantas apresentando sintomas na fase R8 (enchimento de vagens). Foi possível isolar a bactéria de plantas que não apresentavam sintomas visíveis. Nesta situação, as plantas que apresentaram sintomas de murcha haviam sido diagnosticadas, erroneamente, por técnicos responsáveis pela propriedade como sendo de origem fúngica, descrita como Murcha de Fusário (*Fusarium oxysporum*). A produtividade final foi de 42 sacas de 60 kg/ ha, produtividade aquém do esperado que foi relacionada, com a ocorrência do fungo e problemas de baixas temperaturas, pelos técnicos responsáveis pela lavoura. Tal perda de produtividade foi considerada pequena, tendo em vista uma expectativa de produtividade em torno de 45 sacas/ ha.

De acordo com os técnicos responsáveis pela cultura, a ocorrência do “fungo” não acarretaria problemas futuros, este erro na diagnose possibilitou a disponibilização no mercado de sementes contaminadas com a bactéria, real causadora das perdas em

nosso entendimento, potencializando com isso a disseminação da bactéria a longas distâncias, bem como grandes possibilidades de ocasionarem perdas de produtividade em cultivos futuros com a adoção destes grãos.

No município de Vianópolis foram visitadas quatro propriedades, onde as culturas foram avaliadas nos estádios vegetativos V4 e R7/R8, estádios de melhor visualização dos sintomas da doença. Não foram observados sintomas em nenhuma das situações analisadas. Também não foi constatada a presença da bactéria em isolamento das plantas oriundas destas propriedades.

No município de Cidade Ocidental foi detectada a doença. No início do desenvolvimento a cultura foi atacada pela mosca branca (*Bemisia tabaci*), sendo possível a observação de plantas com sintomas de Mosaico Dourado (BGMV). Além da doença bacteriana a lavoura apresentou problemas de ordem fitossanitária de natureza fúngica como as doenças Mancha Angular (*Phaeoisariopsis griseola*) e Antracnose (*Colletotrichum lindemuntianum*). A produtividade final foi de 18 sacas de 60 kg/ ha.

No município de Cabeceiras, como já descrito anteriormente (Miranda Filho *et al.*, 2006; Miranda Filho *et al.*, 2008) foi possível a detecção da doença. Os sintomas foram observados inicialmente em estádio vegetativo V4 com queima de bordas das folhas e amarelecimento de algumas plantas, a constatação de sintomas foi favorecida devido à aplicação de herbicidas em mistura (Glifosato + 2,4 D) no momento da dessecação, que gerou um estresse e fitotoxicidade nas plantas. Após a confirmação em isolamento da presença da bactéria nesta situação, o campo foi observado com maiores detalhes durante todo o ciclo da cultura, sendo possível a observação dos sintomas típicos de murcha no momento do enchimento de grãos. A produtividade final foi de 35 sacas de 60 kg/ ha.



No Distrito Federal, em propriedade situada na área da COOPADF (Cooperativa dos Produtores Agrícolas do Distrito Federal) foi observada a doença (Figura 2), concordando com dados de levantamentos anteriores que mostraram esta ocorrência na Região do DF (Miranda Filho *et al.*, 2006; Miranda Filho *et al.*, 2008).



**FIGURA 2** - Campo de produção de feijão (*Phaseolus vulgaris*) com incidência de “clareiras” causadas pela Murcha de *Curtobacterium* (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*).

Nesta situação, a doença ocorreu em cultivar distinta das localidades anteriormente citadas, cuja cultivar é a Pérola. A doença foi observada em cultivo irrigado de feijão onde na semeadura foi utilizada a cultivar Requite (Figura 3).

A exploração da cultivar Requite geralmente ocorre em cultivos irrigados com a finalidade de comercialização destas sementes produzidas para cultivos subsequentes em sequeiro. Com a diagnose da doença o produtor foi orientado a não comercializar os grãos nem mesmo proceder a semeadura em área própria.



**FIGURA 3** - Detalhe de planta de feijão (*Phaseolus vulgaris*) com incidência de Murcha de *Curtobacterium* (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*).

As produtividades relacionadas acima foram bem abaixo dos padrões considerados normais para a exploração da cultura. Em cultivos de sequeiro, as produtividades alcançadas estão em torno de 45 a 50 sacas/ ha (aproximadamente 3.000 kg). Nos cultivos de inverno, com a adoção de irrigação e maiores aportes de tecnologia, as produtividades são ainda maiores, alcançando valores de até 70 sacas/ ha (aproximadamente 4.200 kg).

Comparando-se os dados encontrados para o Distrito Federal e entorno com levantamentos realizados em municípios do Estado de Santa Catarina, foi observada à mesma tendência de distribuição da doença, tendo em vista sua identificação, também, recente e a constatação da ocorrência da doença em outras localidades em um curto espaço de tempo decorrido. Em território catarinense foi inicialmente constatada no município de Campos Novos (Leite Jr *et al.*, 2001) posteriormente foi descrita em

municípios de Faxinal dos Guedes, Guatambu, Ipuacu, Ponte Serrada e Triguinhos (Theodoro & Maringoni, 2006)

A realidade da distribuição e disseminação da doença em levantamentos mais recentes no próprio Estado de Santa Catarina mostrou novamente concordância com o levantamento realizado no Centro Oeste. Em análises de 37 amostras de sementes dos municípios de Cunhataí (duas amostras), Lajeado Grande (três amostras), Palmitos (três amostras) e Chapecó (vinte nove amostras), em 23 amostras foi detectada a bactéria representando 62,1% de prevalência da doença.

O progresso na disseminação da doença está relacionado ao cultivo de grãos de feijão em detrimento da utilização de uma semente produzida dentro dos padrões de um sistema estruturado de produção. Esta forte tendência na exploração da cultura gera uma dificuldade muito grande no momento do levantamento de ocorrência no sentido de se verificar a origem da doença. O mercado de comercialização destes grãos é basicamente representado em regiões delimitadas, podendo destacar a influência da região do município de Cristalina – GO, Unai – MG e Formosa – GO.

A Murcha de *Curtobacterium* foi primeiramente identificada na região de Cristalina, estando hoje presente em todas as regiões citadas anteriormente. Não há dados que possam confirmar com segurança o caminho percorrido no avanço da doença para estas regiões. Há uma dificuldade muito grande de se obter informações junto aos técnicos e produtores da origem das sementes.

Analisando o caminho que geralmente as sementes percorrem dentro da região observada, pode-se sugerir que a doença se espalhou a partir do município de Cristalina, chegando à região de influência do DF, que são PAD-DF, municípios de Formosa, Cabeceiras – GO e Unai – MG.

A Murcha de *Curtobacterium*, mesmo sendo identificada no Brasil por Maringoni & Rosa no ano de 1997, é uma doença que vem se disseminando rápido em importantes regiões produtoras de feijão. Com os resultados encontrados neste trabalho, mais uma vez pode-se reforçar que a doença está distribuída em regiões produtoras de feijão, incluindo no Distrito Federal e Entorno.

## Referências Bibliográficas

Sneath, P. H. A.; Mair N. S.; Sharpe M.E.; Holt, J. G. **Bergey's os Sistematic Bacteriology**. 1984 v. 2

Braddbury, J. F. **Guide to Plant Pathogenic Bacteria**. Ferry Lane C.A.B. International Mycological Institute, 1986.

Burkholder, W. H. **A new bacterial disease of the bean**. *Phytopathology*, 16 p. 915-928, 1926.

Carlson, R. R.; Vidaver, A. K. **Taxonomy of *Corynebacterium* plant pathogens, including a new pathogen of wheat, based on polyacrylamide gel eletrophoresis of cellular proteins**. *International Journal of Systematic Bacteriology*, Washington, v. 32 p. 315-326, 1982.

CIAT – Centro Internacional de Agricultura Tropical. **Common bean improvement**. Cali, 2002 <http://www.ciat.cgiar.org/beans/index.htm> (16. maio. 2009).

Collins, M. D.; Jones, D. **Reclassification of *Corynebacterium flaccumfaciens*, *Corynebacterium betae*, *Corynebacterium oorti* and *Corynebacterium poinsettiae* in the genus *Curtobacterium*, as *Curtobacterium flaccumfaciens* comb. nov.** *Journal of General Microbiology*, London, v. 129, p. 3545-3548, 1983.

COSAVE – Comite de Sanidade Vegetal Del Cono Sur. **Plagas Cuarentenarias: *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens***. 2003. 4p.

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

Herbes, D. H.; Theodoro, G. F.; Maringoni, A. C.; dal Piva, C. A. & Abreu, L. **Deteção de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em sementes de feijoeiro produzidas em Santa Catarina**. *Tropical Plant Pathology*, v.33, nº.2, p.153-156, 2008.

Kado, C. I.; Heskett, M. G. **Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, and *Xanthomonas*.** *Phytopathology*, v. 60, p. 969-976, 1970.

Leite Junior, R. P.; Meneguim, L.; Behlau, F.; Rodrigues, S.R.; Bianchini, A. **Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* subsp. *flaccumfaciens* em feijoeiro no Paraná e Santa Catarina.** *Fitopatologia Brasileira*, v. 26 S , p.300-301, 2001.

Maringoni, A. C.; Rosa, E. F. **Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro no Estado de São Paulo.** *Summa Phytopathologica*, v. 23, p.160-162, 1997.

Miranda Filho R.J.; Pereira. I.M.; Uesugi, C. H. **Levantamento da ocorrência de murcha-de-*Curtobacterium* e consequente perdas em regiões do Distrito Federal, Goiás e Minas Gerais.** In: XXXIX Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2006. *Fitopatologia Brasileira*, v. 31, p. 234-235, 2006.

Miranda Filho, R. J.; Nogueira, L. R.; Uesugi, C. H. **Distribuição da murcha de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.** In: XLI Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2008. *Tropical Plant Pathology*, v. 33, p. S91-S91, 2008.

Romeiro, R. S. **Bactérias Fitopatogênicas.** Viçosa: Imprensa Universitária, 1995. 283 p.

Saettler, A. W. **Diseases caused by bacteria.** In: Hall, R (Ed). *Compendium of bean diseases.* St. Paul: The American Phytopathological Society, p. 29-32, 1991.

Sherf, A. F.; Macnab, A. A. **Vegetable Diseases and their Control.** 2 Ed. New York: John Wiley & Sons, 1986. p. 29-32.

Uesugi, C. H.; Freitas, M. A.; Menezes, J. R.; Abadio, A. K. R.; Pinho, D. S.; Araújo, G. J. P. **Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv *flaccumfaciens* em feijoeiro na região do Distrito Federal.** *Fitopatologia Brasileira*, v. 27, p. 324, 2002.

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*, v. 79, p. 966, 1995.

## **Capítulo 2**

### **Caracterização de Sintomas da Murcha de *Curtobacterium* (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*)**

## Resumo

Durante o desenvolvimento de uma doença, diferentes sintomas sucedem-se em uma determinada sequência. A sequência completa dos sintomas de uma doença é conhecida como quadro sintomatológico. Na maioria dos casos, estuda-se a sintomatologia de uma maneira objetiva, considerando-se apenas os sintomas perceptíveis pela visão, tato, olfato e paladar, visto que a finalidade da sintomatologia se restringe à rápida diagnose da doença. Bactérias incitadoras de murcha tipicamente colonizam os feixes vasculares. Em última análise, a murcha em plantas, seja ela de causa biótica ou abiótica, nada mais é que um problema vascular, uma síndrome de transporte. A planta absorve água do solo no estado líquido e a libera na atmosfera em estado gasoso, num fluxo contínuo. A murcha perturba ou interrompe esse fluxo. O presente trabalho teve como foco principal a observação e caracterização dos sintomas da Murcha de *Curtobacterium* em feijoeiro. Com a instalação de ensaios no campo experimental da Estação Experimental de Biologia – UnB, bem como a observação da doença em campos de produção comercial na região do Distrito Federal e Entorno, foram feitas as descrições dos sintomas. Experimentos foram montados em parcelas inteiramente casualizadas com três repetições, para auxiliar na descrição dos sintomas. As avaliações foram versadas na observação das alterações visuais sofridas pelas plantas em campos de produção comercial na Região do DF e Entorno e nos tratamentos inoculados, as plantas foram fotografadas e os sintomas descritos em relação às suas características gerais, estágio fenológico de ocorrência e evolução desses sintomas. Os sintomas iniciais da doença são amarelecimentos com formação de manchas cloróticas nas folhas e uma “queima” das bordas e ponta das folhas. Foi possível a observação de um estado flácido das folhas com um aspecto de folhas curvadas e posicionadas para baixo em diferentes níveis. A murcha propriamente dita, geralmente, não ocorre nos estádios iniciais de desenvolvimento aparecendo com muita frequência nos estádios reprodutivos R7/R8.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, murcha, amarelecimento

# **Characterization of Symptoms of *Curtobacterium* Wilt (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) of Common Bean (*Phaseolus vulgaris*)**

## **Abstract**

During the development of a disease, various symptoms follow one another in a certain sequence. The complete sequence of the symptoms of a disease is known as its symptomatology. In most cases, we study the symptomatology objectively, considering only the symptoms perceived by sight, touch, smell and taste, since the purpose of following symptomatology is limited to the rapid diagnosis of the disease. Bacteria that cause wilt typically colonize the vascular bundles. Ultimately, wilt in plants, whether from biotic or abiotic causes, is nothing more than a vascular problem, a syndrome of the transport system. The plant absorbs water from the soil in liquid form and releases it into the atmosphere in a gaseous state, in a continuous flow. Wilt disturbs or interrupts the flow. This paper's main objective was to observe and characterize the symptoms of vascular wilt in common bean. Field assays were set up at the Biology Experimental Station of UnB, and the disease was observed in commercial production fields in the Federal District and surrounding areas. The experiments were performed in plots of completely randomized design with three replications. The evaluations were made based on observing the visual changes experienced by inoculum-treated plants, where the plants were photographed and the symptoms described in relation to their general characteristics, developmental stage of occurrence and development of these symptoms. The initial symptoms of the disease are yellowing with the formation of chlorotic spots on leaves and blight on the edges and tips of leaves. It was possible to observe a flaccidity of the leaves with the leaves bent down at different levels. Wilt usually does not occur in the early stages of development, appearing more frequently in reproductive stages R7/R8.

**Keywords:** *Phaseolus vulgaris*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, wilt, yellowing



## 2.1 – Introdução

Qualquer manifestação das reações da planta a um agente nocivo pode ser considerada sintoma. Estruturas do patógeno, quando exteriorizadas no tecido doente recebem o nome genérico de sinal (Bergamin Filho *et al.*, 1995). Se tratando da Murcha de *Curtobacterium* não é possível a observação de sinais da bactéria e a caracterização de sintomas se dá pela descrição das alterações na planta hospedeira.

Durante o desenvolvimento da doença, diferentes sintomas sucedem-se em uma determinada ordem. A sequência completa dos sintomas de uma doença é conhecida como quadro sintomatológico (Bergamin Filho *et al.*, 1995).

Na maioria dos casos, estuda-se a sintomatologia de uma maneira objetiva considerando-se apenas os sintomas perceptíveis pela visão, tato, olfato e paladar, visto que a finalidade da sintomatologia se restringe à rápida diagnose da doença.

A resposta de um vegetal ao ataque de um patógeno é variável e muitas vezes semelhante a reações provocadas por outros agentes não infecciosos. Este fato faz com que a diagnose de uma doença infecciosa seja uma tarefa árdua, requerendo um conhecimento bastante sólido das interferências que uma planta ou população de plantas pode estar sujeita em um determinado ambiente (Kenaga, 1974).

Os sintomas podem ser classificados conforme a localização em relação ao patógeno, as alterações produzidas no hospedeiro e a estrutura e/ou processos afetados. Conforme a localização dos sintomas em relação ao patógeno podem ser separados em sintomas primários, resultantes da ação direta do patógeno sobre os tecidos do órgão afetado (Ex.: manchas foliares e podridões de frutos), e sintomas secundários ou reflexos, exibidos pela planta em órgãos distantes do local de ação do patógeno (Ex.: subdesenvolvimento da planta e murchas vasculares).

Um dos critérios mais utilizados na classificação de sintomas é a alteração na estrutura e/ou processos afetados. Ao nível celular, têm-se os sintomas histológicos cujas alterações podem expressar-se como granulose no citoplasma, plasmólise, vacuolose. Sintomas fisiológicos são alterações na fisiologia do hospedeiro onde geralmente são observados pelo aumento da respiração, aumento da transpiração, interferência nos processos de síntese. E as alterações morfológicas que são as alterações exteriorizadas e percebidas visualmente, pelo tato, pelo olfato e paladar (Bergamin Filho *et al.*, 1995).

Bactérias incitadoras de murcha tipicamente colonizam os feixes vasculares. Em última análise, a murcha em plantas, seja ela de causa biótica ou abiótica, nada mais é que um problema vascular, uma síndrome de transporte. A planta absorve água do solo no estado líquido e a libera na atmosfera em estado gasoso, num fluxo contínuo. A murcha perturba ou interrompe esse fluxo (Romeiro, 2005).

Plantas quando têm os vasos de xilema colonizados por patógenos, costumam apresentar esse tipo de resposta, diminuindo a velocidade do fluxo de seiva, por aumento de sua densidade ou de sua velocidade, restringir a disseminação do patógeno. No entanto, esse tipo de resposta isoladamente, não explica a murcha, mesmo por que em certas situações de estresse e infiltração de partículas estéreis induzem a formação de tilose, porém não há ocorrência de murcha (Romeiro, 2005).

O presente trabalho teve como foco principal a observação e caracterização dos sintomas da Murcha de *Curtobacterium*, com a instalação de ensaios no campo experimental da Estação Experimental de Biologia – UnB, bem como a observação da doença em campos de produção comercial na região do Distrito Federal e Entorno.

## 2.2 – Material e Métodos

O preparo de solo (Latosolo Vermelho Amarelo) utilizado foi o convencional, com duas gradagens, uma para o revolvimento do solo e outra para o seu nivelamento. A adubação de base foi posicionada seguindo os valores de referência para a cultura do feijoeiro e os valores da análise química do solo, com isso foi aplicado uma quantidade de, aproximadamente, 450 kg de adubo químico com formulação NPK 05-25-15 + Zn. A semeadura foi manual com uma densidade de plantio de 12,5 sementes/ m e espaçamento entre linhas de 0,5 m.

Os experimentos foram montados em parcelas inteiramente casualizadas com três repetições. As dimensões das parcelas foram de 2,0 m X 2,0 m, composta por quatro linhas de 2,0 m com espaçamento entre linhas de 0,5 m, totalizando assim uma quantidade de 60 plantas por parcela. Para a correção do número de plantas das parcelas foi realizado o arranquio das plantas para padronizar os tratamentos, ajustando a densidade de plantio para 7,5 sementes/ m. No delineamento experimental foram definidos dois tratamentos com a utilização de sementes básicas da cultivar Pérola, sadio (SB) sem a inoculação da bactéria e doente (SBI) com inoculação de 100% das plantas.

A inoculação foi realizada 10 dias após a emergência (DAE) das plantas (estádio fenológico V3), na haste da planta, pelo método da punção com agulha de injeção logo acima da inserção das folhas cotiledonares. A concentração do inóculo foi determinada seguindo a curva de calibração para *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Cff) medida em espectrofotômetro chegando a uma suspensão bacteriana de  $2,0 \times 10^4$  UFC/ml.

O controle de plantas daninhas foi realizado com capinas manuais. Houve, também, aplicação de herbicida devido a grande pressão de “tiririca” (*Cyperus* spp.) “timbete” (*Cenchrus echinatus*) que dificulta o controle apenas mecânico.

As avaliações foram versadas na observação das alterações visuais sofridas pelas plantas do tratamento SBI, onde as plantas foram fotografadas e os sintomas descritos em relação às suas características gerais, estágio fenológico de ocorrência e evolução destes sintomas. Foi usado o controle SB como padrão sadio, para garantir que tais alterações estavam relacionadas com a presença da bactéria. As plantas fotografadas foram marcadas e ao final do ciclo da cultura passaram por isolamento para verificar o sucesso da inoculação e colonização pela bactéria.

Em parcelas com dimensões de 2,0 m X 2,0 m, inteiramente casualizadas com três repetições, localizadas na Estação Experimental de Biologia – UnB, foram plantadas sementes oriundas de plantas inoculadas com a bactéria, ou seja, sementes naturalmente infectadas devido a inoculação previa das plantas em cultivo anterior. As observações visaram verificar as alterações morfológicas e possíveis sintomas destes tratamentos.

Foram realizadas observações durante todo o ciclo vegetativo da cultura do feijoeiro em campos de produção comercial na região do Distrito Federal e Entorno, de onde as plantas com alterações morfológicas eram levadas ao laboratório para uma verificação se os sintomas observados coincidiam com a presença da bactéria no interior das plantas por meio de isolamento em meio nutritivo 523.

Em plantas inoculadas com a bactéria que não mostraram sintomas visíveis, para confirmação do sucesso da inoculação foi realizado o isolamento em meio nutritivo 523 e subsequente identificação das colônias. Teste de patogenicidade foi realizado com as

colônias provenientes desse isolamento em plantas de feijoeiro com 10 DAE para confirmação da identidade.

### 2.3 – Resultados e Discussão

Utilizando como critério as alterações morfológicas das plantas doentes de acordo com a chave de classificação de Honey (1931), os sintomas iniciais da Murcha de *Curtobacterium* foram amarelecimentos com formação de manchas cloróticas nas folhas (Figura 1), ocorrendo nos estádios iniciais do desenvolvimento fenológico V4 (emissão da terceira folha trifoliolada). Descrito como sintoma necrótico, caracterizado pela degeneração do protoplasma, classificado como plesionecróticos devido ao aparecimento do sintoma antes da morte do protoplasma. Esses sintomas de amarelecimento só foram visualizados nas parcelas onde foram semeados grãos de feijão colhidos provenientes de plantas previamente inoculadas em uma situação de cultivo anterior. Nos tratamentos onde a inoculação foi realizada aos 10 DAE não foram observadas tais alterações.



**FIGURA 1** - Sintomas iniciais de amarelecimento da Murcha de *Curtobacterium* com formação de manchas cloróticas nas folhas

Também nos estádios iniciais ocorre uma “queima” das bordas e ponta das folhas (Figura 2), aparecendo com maior intensidade em situações de altas temperaturas e déficit hídrico, sintoma descrito como crestamento que se refere à necrose repentina de órgãos aéreos como folhas, flores e brotações. Tal sintoma é descrito como holonecrotico caracterizado pela morte das células, provocando mudança de coloração do órgão afetado para uma coloração parda, marrom ou preta.



**FIGURA 2** - Sintomas iniciais de queima de bordas das folhas em plantas de feijoeiro comum apresentando a Murcha de *Curtobacterium*.

Pode-se observar um estado flácido das folhas com um aspecto de folhas curvadas e posicionadas para baixo em diferentes níveis (Figura 3), observado mais nitidamente nas horas mais quentes do dia, podendo haver recuperação da turgidez e quase total desaparecimento do sintoma durante a noite. Essas alterações devem ser observadas com muita atenção, pois facilmente podem passar despercebidas.

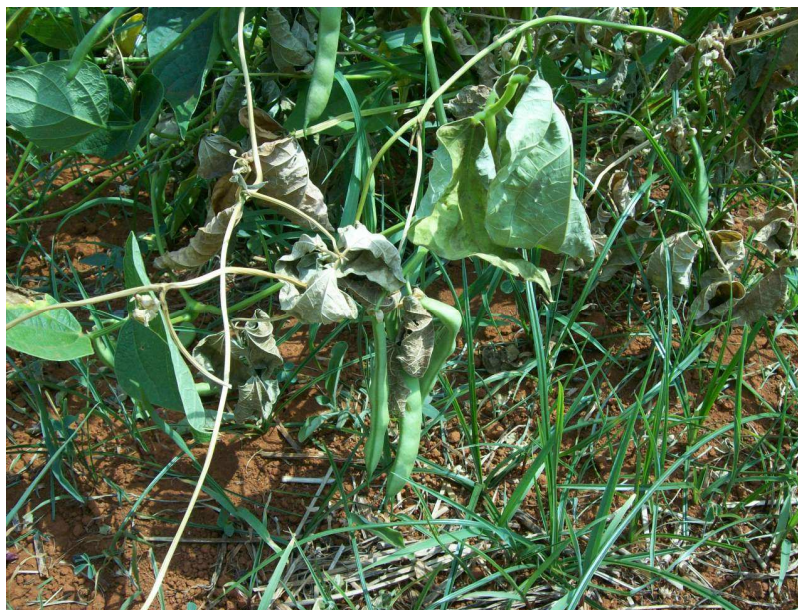
Nos estádios iniciais, aconteceu, em algumas plantas, uma recuperação da turgidez das folhas trifolioladas como descrito em literatura (Hedges, 1922), porém quando as plantas estavam em estágio reprodutivo (R7/R8) isso não foi observado, como ilustrado na Figura 3, onde a flacidez evoluiu para a murcha total da folha.



**FIGURA 3** - Sintomas da Murcha de *Curtobacterium* descritos como flacidez de folíolos.

A murcha propriamente dita (Figura 4), sintoma típico na caracterização da doença, diferentemente dos outros sintomas descritos acima, geralmente, não ocorre nos estádios iniciais de desenvolvimento aparecendo com muita frequência nos estádios reprodutivos R7/R8 (início da formação das vagens/ enchimento das vagens, respectivamente). Em situação de déficit hídrico, a murcha pode ocorrer no momento da floração (R6). A murcha é resultado da obstrução dos vasos de xilema das plantas doentes. A murcha pode ocorrer de forma desuniforme em uma mesma planta, podendo ter folhas trifolioladas com e sem o sintoma.

Nesses estádios fenológicos, descritos acima, as plantas têm suas maiores demandas de água, com dados compilados de diversos autores, pode-se afirmar que essa necessidade fica em torno de 4,5 mm a 5,0 mm por dia. Com a murcha da folha trifoliolada, as vagens que estão inseridas em tais folhas têm um total desequilíbrio da relação fonte-dreno, não sendo possível com isso que o enchimento dos grãos ocorra normalmente, tendo como resultado grãos menores e mais leves.



**FIGURA 4** - Sintomas de murcha típicos da Murcha de *Curtobacterium*.

O sintoma de murcha pode ser confundido com os da murcha causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Para que não haja esta dúvida, podemos observar o sistema radicular da planta no início dos sintomas. Na murcha causada pela bactéria não há nenhuma alteração morfológica visível no sistema radicular da planta, estando este, com um aspecto totalmente normal, não sendo possível a observação de alterações nas raízes ou mesmo sinais do fungo.

No aspecto temporal da doença pode-se dizer que, nos estádios iniciais de desenvolvimento (V3 e V4), ocorrem sintomas de amarelecimento e queima das bordas e ponta das folhas trifolioladas. Com o desenvolvimento vegetativo das plantas, tais sintomas podem ficar mascarados devido ao crescimento de novas folhas que, geralmente, não apresentam os sintomas descritos.

Uma maior duração da área foliar, computada pela produção de folhas pela planta, está relacionada diretamente com o rendimento de grãos para a cultura do feijoeiro, refletindo em maiores produtividades. Como a ocorrência da murcha propriamente dita ocorre nas fases R7/R8, esses valores de área foliar diminuem



drasticamente, ocasionando uma diminuição na duração da área foliar refletindo em uma perda, bem compreensível, no rendimento final da cultura.

Em cultivos irrigados alterações denominadas como queimas de bordas das folhas podem ocorrer situações de altas temperaturas, associadas às irrigações nas horas mais quentes do dia. Além de problemas como escaldadura no hipocótilo das plântulas há o aparecimento de deformações caracterizadas como queima nas bordas das folhas (Figura 5). Foi possível observar tal situação em uma propriedade localizada no município do Sitio D´Abadia, no Estado de Goiás, cujo solo está classificado como de textura arenosa e há ocorrência de altas temperaturas.



**FIGURA 5** - Sintomas de queima das bordas das folhas em plantas de feijoeiro comum, devido ao calor intenso e/ou irrigação em horário não recomendado.

Nesta fase, a queima de borda das folhas pode ocorrer devido às técnicas de manejo da cultura do feijoeiro, aplicações de herbicidas para o controle de plantas daninhas. Alguns produtos utilizados para este fim podem gerar alterações semelhantes à queima descrita acima. Principalmente produtos para o controle de plantas daninhas de folhas largas, ou mesmo quando os produtos químicos de ação graminicida são aplicados em mistura com óleo mineral. Com isto, esta caracterização de sintomas deve

ser realizada com cuidado, considerando todos os aspectos que influenciam nas plantas nesta fase de desenvolvimento.

Não há relação direta do aparecimento de sintomas de amarelecimento e queima das bordas e ponta das folhas com o sintoma da murcha propriamente dita. Foi observado que plantas que apresentaram sintomas de amarelecimento e queima podem apresentar o sintoma de murcha ou mesmo não murcharem, bem como plantas murchando quando estão no estágio reprodutivo (R7/R8), que não apresentaram sintomas em suas folhas em seus estádios iniciais.

Foi possível a confirmação de plantas que não apresentaram nenhum sintoma dos descritos acima mesmo estando inoculadas, com isso foi realizado isolamento em meio nutritivo e consequente reprodução de sintomas em plantas jovens de feijoeiro para verificação do sucesso da inoculação. Desta forma, foi confirmada a ocorrência de plantas assintomáticas da Murcha de *Curtobacterium*.

Nos tratamentos onde as plantas não foram inoculadas, o ciclo vegetativo das plantas foi de 96 dias da sementeira até o ponto de colheita. Nos tratamentos onde as plantas foram inoculadas foi observado um encurtamento do ciclo vegetativo. A cultura apresentou o ponto de colheita, descrito na prática com 2/3 das vagens na coloração creme, aos 84 dias após a sementeira. Este fato por si só já ocasiona uma perda significativa na produção final tendo em vista uma perda aproximada em torno 12,5% em relação ao ciclo normal da cultura. O ciclo para a cultivar Pérola, que está descrito em sua caracterização, é de aproximadamente 90 dias.

Com tais resultados, pode-se demonstrar mais detalhadamente os sintomas típicos da doença. As alterações observadas concordam com os relatos em literatura (Hedges, 1922) dos sintomas da doença, onde as informações relacionadas não são tão detalhadas, sendo descrito na maioria das vezes apenas como sintomas de murcha e

amarelecimento dos bordos do folíolo, posteriormente os folíolos morrem e as plantas murcham (Kimati *et al.*, 2005).

Há relatos de alguns autores (Hedges, 1922; Saettler, 1991) que podem ocorrer sintomas de vagens mal formadas e abortamento de sementes. Estes sintomas foram observados mais para o final do ciclo quando as vagens estão parcialmente formadas.

Deve-se ressaltar que esta demonstração de sintomas foi realizada utilizando apenas uma cultivar sendo submetida ao isolado denominado UnB – 1253, complementado com identificação de sintomas em campos comerciais na região do DF e Entorno. Para um quadro sintomatológico mais detalhado faz-se necessário uma maior quantidade de avaliações com a adoção de maior número de cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*), bem como a utilização de isolados representativos de outras regiões.

## **Referências Bibliográficas**

Agrios, G. N. **Introduction In: Agrios, GN. Plant Pathology. 4<sup>th</sup> ed.** San Diego: Academic Press, 1997. p.3-41.

Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. **Manual de Fitopatologia. V 1, 3<sup>o</sup> edição.** São Paulo. Editora Ceres, 1995. 906p

Goodman, R. N.; Kiraly, Z.; Wood, K. R. **Secondary Metabolite. In: Goodman, R. N. The Biochemistry and Physiology of Plant Disease.** Missouri: University of Missouri, 1986. p. 211-224.

Kado, C. I.; Heskett, M. G. **Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, and *Xanthomonas*.** Phytopathology, v. 60, p. 969-976, 1970.

Kenaga, C. B. (1974). **Plant disease concept, definitions, symptoms and classification. In: Kenaga, C. B. Principles of Phytopathology. 2<sup>nd</sup> ed.** Lafayette: Balt, 1974. p.12-31.

Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J. A. M.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L. E. A. **Manual de Fitopatologia volume 2. Doenças das plantas cultivadas.** Quarta edição ed. Agronômica Ceres, 2005. p.347.

Lucas, J. A. **The diseased plant.** In: **Lucas, JA Plant pathology and plant pathogens.** 3. ed. London: Blackwell Science, 1998. p.5-19.

Ponte, J. J. **Sintomatologia.** In: **Ponte, J. J. Fitopatologia: princípios e aplicações.** 2. ed. São Paulo: Nobel, 1986. p.49-60.

Roberts, D. A.; Boothroyd, C. W. **Morphological symptoms of disease in plants.** In: **Roberts, D. A.; Boothroyd, C. W. Fundamentals of Plant Pathology.** 2 nd ed. New York: W.H. Freeman, 1984. p.28-42.

Romeiro, R. S. **Bactérias Fitopatogênicas.** Viçosa: Imprensa Universitária, 1995. 283 p.

Romeiro, R. S. **Bactérias Fitopatogênicas – 2 Ed.** Atualizada e ampliada. – Viçosa Editora UFV, 2005 p.183-291.

Salgado, C. L.; Amorim, L. **Sintomatologia.** In: **Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (Eds.). Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos.** 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.1, 1995. p.212-223.

## **Capítulo 3**

**Persistência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv.**

***flaccumfaciens* em Solo de Cerrado**

## Resumo

A sobrevivência de uma bactéria no solo depende de fatores abióticos e bióticos. A diversidade e quantidade de microrganismos do solo são imensas. A massa microbiana é responsável direta e indiretamente por processos microbiológicos e bioquímicos diversos, os quais exercem enorme influência na produtividade e sustentabilidade dos ecossistemas terrestres. Atividade microbiológica inclui todas as reações metabólicas celulares, suas interações e seus processos bioquímicos mediados ou conduzidos pelos organismos do solo. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a persistência e viabilidade de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em solo de cerrado, tipo latossolo vermelho, coletado em uma área de cultivo de feijão explorado de maneira sucessiva (terceiro plantio de feijão) sob pivô central com alta incidência da Murcha de *Curtobacterium* nos três cultivos, respectivamente. Após a colheita, amostras de solo foram retiradas, seguindo um padrão de caminhamento inteiramente casualizado para a amostragem, retirando quantidades de solo em dez pontos da área. O solo foi coletado juntamente com restos culturais em uma profundidade de aproximadamente 20 cm. Foram realizados plantios mensais, conduzido em casa de vegetação, utilizando uma quantidade de solo suficiente para montar experimentos contendo quatro vasos de 2,5 l, onde foram plantadas sementes básicas de feijão da cultivar Pérola. Após a germinação foi realizado o raleio permanecendo 2 plantas por vaso. As avaliações foram realizadas durante 60 dias após a emergência das plantas, seguindo critérios visuais dos sintomas típicos da murcha do feijoeiro. A confirmação da entrada da bactéria na planta foi realizada com o seu isolamento em meio nutritivo 523. Os resultados das avaliações realizadas durante 60 dias após a emergência das plantas, seguindo critérios visuais dos sintomas típicos da doença e realização do isolamento em meio nutritivo 523 mostrou que a bactéria tem uma grande adaptabilidade para a sobrevivência em solo, permanecendo por 22 meses viável no solo nesta situação.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, sobrevivência

## **Persistence of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv.**

### ***flaccumfaciens* in Cerrado Soil**

#### **Abstract**

The survival of bacteria in the soil depends on abiotic and biotic factors. The diversity and quantity of soil micro-organisms are immense. The microbial mass is responsible directly and indirectly for various biochemical and microbial processes, which exert enormous influence on the productivity and sustainability of terrestrial ecosystems. Microbiological activity includes all cellular metabolic reactions, their interactions and their biochemical processes mediated or driven by soil organisms. This study aimed to evaluate the persistence and viability of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in Cerrado soil, collected in an area where bean crops have been grown successively (third planting of beans) on a central pivot with a high incidence of bean wilt in three consecutive crops. After harvest, soil samples were taken, following a standard pathway for randomized sampling, removing quantities of soil from ten points in the area. The soil was collected together with debris at a depth of about 20 cm. Planting was carried out monthly, conducted in a greenhouse, using a sufficient amount of soil for experiments containing four pots of 2.5 l, in which was planted basic seeds of bean cv. Pérola; after germination thinning was carried out, leaving 2 plants per pot. The evaluations were conducted for 60 days after seed germination, following visual criteria of typical symptoms of bean wilt. The confirmation of the bacteria in the plant was carried out with its isolation in nutrient medium 523. The results of research carried out for the 60 days after germination, following visual criteria of typical symptoms of common bean wilt and completion of the isolation in nutrient medium 523, showed that the bacterium has a large adaptability for survival in soil, remaining viable, at least, for 22 months in the ground in this situation.

**Keywords:** *Phaseolus vulgaris*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, survival

### 3.1 – Introdução

As características das bactérias que determinam sua persistência e que estão envolvidas na adaptabilidade aos solos não são bem conhecidas. Além disso, a complexidade dos fatores envolvidos (desidratação, altas temperaturas do solo, acidez, baixo conteúdo de matéria orgânica e toxicidade de manganês e alumínio), além de fatores bióticos do solo dificulta o entendimento dos mecanismos que atuam na sobrevivência da bactéria em solo. O período de sobrevivência depende de fatores abióticos e bióticos (antagonismo, predação e sinergismo) (Melo *et al.*, 1998).

A diversidade e quantidade de microrganismos do solo são imensas. A massa microbiana é responsável direta e indiretamente por processos microbiológicos e bioquímicos diversos, os quais exercem enorme influência na produtividade e sustentabilidade dos ecossistemas terrestres. Atividade microbiológica inclui todas as reações metabólicas celulares, suas interações e seus processos bioquímicos mediados ou conduzidos pelos organismos do solo (Siqueira *et al.*, 1994).

Os organismos edáficos apresentam alta diversidade metabólica, o que os torna extremamente versáteis para a ocupação em diversos nichos ecológicos (Moreira *et al.*, 2006a).

A presença de um microorganismo em determinado solo é função das condições ambientais dominantes e dos limites de sua constituição genética. O sucesso de um organismo em qualquer *habitat* é função da extensão e rapidez de suas respostas fisiológicas às condições ambientais predominantes (Moreira *et al.*, 2006a).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a persistência e viabilidade de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Cff) em solo de cerrado, tipo latossolo vermelho, coletado em uma área de cultivo de feijão explorado de maneira



sucessiva (terceiro plantio de feijão) sob pivô central com alta incidência da murcha do feijoeiro no decorrer de três cultivos sucessivos.

### 3.2 – Material e Métodos

Após a colheita do feijão, amostras de solo foram retiradas, seguindo um padrão de caminhamento inteiramente casualizado para a amostragem, retirando quantidades de solo em dez pontos da área de cultivo delimitada pela dimensão do sistema de irrigação por pivô central, totalizando assim 110 ha. O solo foi coletado juntamente com restos culturais em uma profundidade de aproximadamente 20 cm.

Foram coletados aproximadamente 250 kg de solo, somando todos os pontos de amostragem. O solo foi transportado para a Estação Experimental de Biologia – UnB realizando a mistura de todas as amostras para sua homogeneização. Após o processo de mistura, o solo foi distribuído em vasos de 2,5 l, sendo armazenado durante todo o período das avaliações (Figura 1).



**FIGURA 1-** Distribuição dos vasos contendo solo coletado em propriedade de cultivo comercial de feijoeiro comum, com incidência severa da Murcha de *Curtobacterium*.

Foram realizados plantios mensais, conduzido em casa de vegetação situada na Estação Experimental de Biologia – UnB, utilizando uma quantidade de solo suficiente para o enchimento de quatro vasos de 2,5 l, onde foram plantadas sementes básicas de feijão da cultivar Pérola. Após a germinação, foi realizado o raleio permanecendo 2 plantas por vaso. Após a emergência das plântulas foram realizados “ferimentos” nas raízes das plantas com o auxílio de objeto contundente (faca de mesa) a fim de criar porta de entrada para a bactéria, facilitando com isso sua infecção, caso esta esteja viável no solo. Para uma maior segurança, que a presença das bactérias nas plantas é proveniente do solo contaminado, foi adotado a utilização do plantio de sementes básicas do mesmo lote em quatro vasos de 2,5 l com solo previamente esterilizado com brometo de metila, conduzidos em bancada separada, sendo determinado como controle.

As avaliações foram realizadas durante 60 dias após a emergência das plantas, seguindo critérios visuais dos sintomas típicos da murcha do feijoeiro (Figura 2). A confirmação da entrada da bactéria na planta, evidenciando com isso, sua presença ainda viável no solo, foi realizada pelo isolamento a partir das plantas em meio nutritivo 523 (Kado & Heskett, 1970). Após o processo de plaqueamento realizado da retirada de material vegetal nas hastes das plantas, as placas foram incubadas a 28 °C.

As avaliações para a identificação das colônias foram realizadas após 48 horas do processo de plaqueamento. Para a confirmação de que nas bactérias encontradas existe a presença de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* foram realizados os testes de solubilidade em KOH e coloração de Gram, seguindo do processo de inoculação e reprodução dos sintomas em plantas de feijoeiro comum com 10 dias após a emergência (DAE), seguindo uma concentração baseada na escala 7 de McFarland.

### 3.3 – Resultados e Discussão

Os resultados das avaliações realizadas durante 60 dias após a emergência das plantas, seguindo critérios visuais dos sintomas típicos da Murcha de *Curtobacterium* (Figura 2) e realização do isolamento em meio nutritivo 523 (Kado & Heskett, 1970) mostraram que a bactéria tem uma grande adaptabilidade para a sobrevivência em solo. Os aspectos que conferem ao patógeno tal capacidade ainda não estão totalmente explicados.



**FIGURA 2** - Plantas de feijoeiro comum aos 60 dias após a emergência, com sintomas da Murcha de *Curtobacterium*.

Pode-se observar que nos resultados das avaliações referentes aos sintomas típicos da Murcha de *Curtobacterium* descritos como queima de bordas das folhas, flacidez de folíolos e murcha esteve na ordem de, aproximadamente, 30 % das plantas, evidenciando estes sintomas no decorrer do experimento (Tabela 1).

Nos sintomas descritos não ocorreu uma tendência de uniformidade de tais sintomas, nem mesmo de aumento ou decréscimo de sintomas em relação aos tempos de avaliação. Tal padrão de distribuição, ao acaso, reforça a sugestão que a ocorrência da

doença é influenciada não só pela presença da bactéria no solo, mas por outros fatores, tais como: condições ambientais, distribuição da palhada dentro do campo, variações de fertilidade do solo dentro de uma mesma área, condição e nutrição das plantas entre outros.

**Tabela 1** - Persistência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em solo de cerrado cultivado com feijoeiro comum

Período (dias)	Número de Plantas com Sintomas			Número de plantas com sintomas 60 DAE	Total de Plantas	Plantas com sintomas (%)	Isolamento
	Queima	Flacidez	Murcha				
30	1	0	2	3	8	37,5	+
60	2	0	1	2	8	25,0	+
90	3	0	4	5	8	62,5	+
120	1	0	3	3	8	37,5	+
150	3	1	2	3	8	37,5	+
180	2	0	4	4	8	50,0	+
210	2	1	3	3	8	37,5	+
240	0	0	2	2	8	25,0	+
270	2	0	1	2	8	25,0	+
300	3	0	1	3	8	37,5	+
330	2	0	2	2	8	25,0	+
360	2	0	3	3	8	37,5	+
390	0	0	0	0	8	0,0	-
420	0	0	0	0	8	0,0	+
450	0	0	2	3	8	37,5	+
480	0	0	1	1	8	12,5	+
510	3	0	2	3	8	37,5	+
540	3	0	2	3	8	37,5	+
610	1	1	1	2	8	25,0	+
640	2	0	2	3	8	37,5	+
670	2	0	2	2	8	25,0	+
700	1	0	1	2	8	25,0	+
730	0	0	0	0	8	0,0	-
760	0	0	0	0	8	0,0	-
790	0	0	0	0	8	0,0	-
810	0	0	0	0	8	0,0	-
840	0	0	0	0	8	0,0	-
870	0	0	0	0	8	0,0	-

Foram observados com maior frequência sintomas de murcha seguidos dos sintomas de queima de bordas das folhas. Não foram observados com tanta frequência sintomas de flacidez de folíolos. Este fato pode ter ocorrido pela dificuldade de se observar tal sintoma. Analisando os valores médios das plantas que apresentaram

sintomas mês a mês durante o período de viabilidade da bactéria, considerado como sendo de 22 meses (aproximadamente 700 dias como descrito na Tabela 1) de persistência. Foi observado um resultado médio de aproximadamente 30,0 % de plantas, apresentando sintomas durante o período viável da bactéria, ou seja, o tempo em que foi possível a observação de sintomas bem como a presença e confirmação da bactéria em meio nutritivo, seguido da reprodução de sintomas em plantas jovens de feijoeiro.

Os mecanismos de sobrevivência de bactérias não estão totalmente elucidados, alguns já estão conhecidos, outros permanecem de maneira que ainda necessitam ser investigados mais detalhadamente. Dentre alguns mecanismos pesquisados com maiores detalhes, podem-se mencionar sobrevivência relacionada com a cápsula bacteriana; produção de endósporos; latência; antagonismo antimicrobiano; versatilidade bioquímica e fisiológica; abrigo em nichos ecológicos; hospedeiros alternativos; sobrevivência em órgãos vegetais infectados.

São poucas as informações que esclarecem os mecanismos de sobrevivência de Cff. Relatos em literatura mostram um grande período de sobrevivência em sementes, chegando a 24 anos. A sua sobrevivência no ambiente está atribuída à associação com os restos culturais infectados (Hedges, 1922; Saettler, 1991).

Sobrevivência em órgãos vegetais infectados é um fenômeno complexo e parece estar em grande dependência das condições climáticas e ambientais. Órgãos vegetais infectados são locais onde fitobactérias sobrevivem e constituem importantes fontes de inóculo (Romeiro, 2005).

Em relação a outras bactérias possuem relatos de sobrevivência semelhante: *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* (Ferreira & Romeiro, 1986) possibilitando a preservação de suas culturas em folhas de soja inoculadas e dessecadas, logrando sobrevivência por vários anos (Romeiro, 2005).

Resultados similares, com longo período de sobrevivência para uma bactéria no solo, foram encontrados por Fatmi e Schaad (2002) em ensaios conduzidos nos EUA (Califórnia e Ohio) e no Marrocos, no sistema tomate e *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, quando concluíram que a sobrevivência era dependente tanto do grau de exposição à microbiota do solo como da região geográfica com uma sobrevivência de 314 dias e 194 dias nos EUA e no Marrocos. Foram relatados, por Gleason *et al.*, (1991), no sistema tomate e *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* encontrando sobrevivência por até 24 meses em restos culturais na superfície do solo e 7 meses quando o material vegetal era enterrado (Romeiro, 2005).

A sobrevivência de bactérias associadas aos restos culturais infectados comprova uma “posição protegida” de uma fitobactéria a fatores adversos como radiação direta, temperaturas extremas, dessecação, antagonismo bacteriano entre outros. Este fato é comprovado por Kritzman (1991), que estudando a sobrevivência de 64 isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, encontrou células viáveis do patógeno 22 meses após restos culturais de couve flor serem incorporados ao solo (Romeiro, 2005).

Segundo os dados apresentados para *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, podemos considerar um longo período de sobrevivência. Em ensaios semelhantes, foi considerado como longo um período de sobrevivência de 170 a 180 dias de persistência para *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* em diferentes tipos de solos na Índia (Murty, 1982).

A rotação de culturas, adotada como medida de diminuição do inóculo inicial do patógeno, utilizada com frequência no intuito de controlar doenças, segundo os dados aqui apresentados e considerando que não haja introdução de outras espécies de plantas

leguminosas, deverá ser de no mínimo dois anos (24 meses), tendo em vista a persistência de 22 meses da bactéria no solo.

## Referências Bibliográficas

Alfenas, A. C.; Mafia, R. G.; Sartório, R. C.; Binoti, D. H. B.; Silva, R. R.; Lau D' Vanetti, C. A. **Ralstonia solanacearum on eucalyptus clonal nurseries in Brazil.** Fitopatologia Brasileira, v.31, n.4 p. 357-366, 2006.

Dindall, D. L. **Soil Biology Guide.** New York: John Wiley & Sons, 1990. 1349p.

Fatmi, M.; Schaad, N. W. **Survival of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in infected tomato stems under natural field conditions in California, Ohio and Morocco.** Plant Pathology, v. 51 p. 149 – 154, 2002.

Ferreira, L. P.; Romeiro, R. S. **Ampliação de cultivares da série diferenciadora de raças fisiológicas de *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* em soja.** Fitopatologia Brasileira, v. 11 p. 335, 1986.

Kado, C. I.; Heskett, M. G. **Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, and *Xanthomonas*.** Phytopathology, v. 60, p. 969-976, 1970.

Kritzmam, G. **A method for detection of seedborne bacterial disease in tomato seeds.** Phytoparasitica, v.19 p. 133-141, 1991.

Goedert W. J.; Lobato, E. **In: XXI Congresso Brasileiro de Ciência do Solo.** Campinas-SP, p. 101-108, 1988.

Gleason, M. L.; Braum, E. J.; Carlton, W. R.; Peterson, R. H. **Survival and dissemination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomatoes.** Phytopathology, v. 81, p. 1519 – 1523, 1991.

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

Malavolta Júnior, V. A.; Rodrigues Neto, J.; Carvalho, M. V. L. **Estudos sobre a sobrevivência da bactéria agente causal do cancro cítrico.** Laranja, Cordeirópolis, v. 1, n. 8, p. 125-132, 1987.

Melo, I. S.; Azevedo, J. L.; **Ecologia Microbiana.** Jaguariúna EMBRAPA – CNPMA, 1998. 488p.

Moreira, F. M. S.; Siqueira, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo – 2ed. Atualizada e ampliada.** Lavras: Ed UFLA, 2006a.

Moreira, F. M. S.; Siqueira, J. O.; Brussaard, L. **Soil Biodiversity in Amazonian and other Brazilian Ecosystems**. Wallingford: CAB international, 2006b. 280p.

Murty, V. S. T.; Devadath, S. **Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* in different soils**. Indian Phytopathology, New Delhi, v. 35, n. 1, p. 32-38, 1982.

Romeiro, R. S. **Bactérias Fitopatogênicas – 2 Ed.** Atualizada e ampliada. – Viçosa Editora UFV, 2005 p.183-291.

Saettler, A. W. **Diseases Caused by Bacteria. In: Hall, R (Ed). Compendium of bean diseases**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1991. p. 29-32.

Siqueira, J. O.; Moreira, F. M. S.; Grisi, B. M.; Hungria, M.; Araujo, R. S. **Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental**. Brasília: EMRAPA-SPI, 1994. p.7-81.

Theodoro, G. F.; Maringoni, A. C.; **Sobrevivência de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* em manipueira sob condições ambientais**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 37, p. 945-953, 2002.



## **Capítulo 4**

**Disseminação de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv.  
*flaccumfaciens* entre plantas do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*)**

## Resumo

O inóculo dissemina-se graças a agentes que podem ser tanto bióticos como abióticos. Os agentes bióticos são, principalmente, o homem, insetos, animais, nematóides. Como agentes abióticos, podem ser considerados os fatores climáticos e meteorológicos, como: chuvas, vento, granizo, enxurradas. Para a *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, a via mais conhecida é através de sementes. Na disseminação em campo, entre plantas, as informações ainda são poucas ou inexistentes. Para avaliar a transmissão da bactéria de planta para planta foram utilizados ensaios com a semeadura de sementes básicas cv. Pérola, submetendo o contato de plantas Indicadoras de feijão oriundas destas sementes lado a lado com plantas posteriormente inoculadas com a bactéria. Os ensaios de transmissão via parte aérea foi realizado em casa de vegetação e foi delineado de maneira que as plantas ficassem lado a lado, distantes entre si, à 0,1m para simular o arranjo entre plantas e 0,5 m uma da outra para simulação entre linhas. Para as avaliações de transmissão via sistema radicular foram conduzidos ensaios em campo, utilizando as mesmas distâncias entre plantas anteriormente citadas, sendo delineado de maneira que as plantas não tivessem contato na parte aérea. Para tal finalidade, foi utilizado como barreira física lona plástica para estufa transparente de 150 µm de espessura. As avaliações foram realizadas durante sessenta dias após a inoculação, seguindo critérios visuais de aparecimento dos sintomas da doença. Após esse período, as plantas foram arrancadas e o isolamento efetuado em meio nutritivo 523 e incubado a 28 °C. Foi possível constatar a ocorrência da transmissão da bactéria de planta para planta nos diferentes espaçamentos utilizados, sendo constatada a transmissão via parte aérea e via sistema radicular. A transmissão via parte aérea foi de 20 % nos dois espaçamentos avaliados que foram a 0,1m (transmissão entre plantas) e 0,5m (transmissão entre linhas). Para a avaliação via sistema radicular para o espaçamento de 0,1m, a transmissão foi de 16,7 % e de 10 % para o espaçamento 0,5m. Os dados mostram que em relação à epidemiologia da doença há disseminação a curta distância, caracterizada como a transmissão entre plantas dentro do campo.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, epidemiologia

# Dissemination of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in the Field

## Abstract

The inoculum is spread by agents that can be both biotic and abiotic. Biotic agents are mainly man, insects, animals, nematodes, while climatic factors and weather such as rain, wind, hail and floods can be considered abiotic agents. For *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, the best known route is through seeds. There is still little or no information about how the inoculum is spread in the field between plants. To evaluate the transmission of the bacterium from plant to plant, tests were used with the cultivation of basic seeds of cv. Pérola, subjecting healthy bean plants derived from these seeds to side by side contact with plants subsequently inoculated with bacterium. The spatial organization of plants in the transmission-by-shoot assay, which took place in a greenhouse, was designed so that the plants were at a distance of 0.1 m apart to simulate the arrangement of plants and in rows that were 0.5 m apart to simulate normal crop spacing. Evaluations of transmission through the root system were conducted using the same distances as previously mentioned, so that the plants did not have contact via the shoots. As a physical barrier, 150-mm-thick transparent plastic sheeting was used. The evaluations were carried out for sixty days after inoculation, following criteria of visual appearance of symptoms. After this period the plants were uprooted and isolation made on nutrient medium and incubated at 28 °C. The occurrence of disease transmission from plant to plant was found in different spacings and took place by both shoot and root system. Transmission via the air was 20% in the two spaces that were evaluated, which were 0.1 m (transmission between plants) and 0.5 m (transmission between lines). For the evaluation through the root system for the spacing of 0.1 m transmission was 16.7%, while it was 10% for the 0.5 m spacing. According to the data found it can be said that in terms of epidemiology, the disease can be spread over a short distance, characterized as the transfer between plants within the field.

**Keywords:** *Phaseolus vulgaris*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, epidemiology

## 4.1 – Introdução

O conhecimento dos mecanismos de disseminação e distribuição de uma doença no campo é de extrema importância para a tomada de decisão das estratégias de controle. Para *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Hedges) Collins & Jones, a via mais conhecida de disseminação é através de sementes infectadas com a bactéria. Quanto a disseminação em campo, entre plantas, as informações ainda são muito escassas.

O inóculo dissemina-se graças a agentes que podem ser tanto bióticos como abióticos. Os agentes bióticos são principalmente o homem, insetos, animais, nematóides. Como agentes abióticos podem ser considerados os fatores meteorológicos como chuvas, vento, granizo, enxurradas.

“Para uma melhor compreensão e análise dos fenômenos atinentes à disseminação das bacterioses de plantas, fica mais fácil considerar essa disseminação a curta e longa distância. No primeiro caso, estão as situações em que a bactéria se redistribui na planta infectada e também aquelas em que ela se dissemina para as plantas vizinhas na mesma cultura. No segundo caso, estudam-se os eventos que dizem respeito à disseminação de uma propriedade para outra, de uma região ou país para outro e, mesmo, de um continente para outro” (Romeiro, 2005).

A introdução e disseminação a longas distâncias têm uma relação muito estreita com a capacidade de um patógeno em infestar ou infectar as sementes. As associações da bactéria com a semente podem ser relacionadas de diferentes maneiras, podendo a bactéria estar aderida externamente à casca ou aderida aos pêlos (caso ocorram), logo abaixo da casca ou internamente à semente, podendo ser encontrada no embrião.

Muitas bactérias fitopatogênicas podem estar associadas a sementes (Saettler *et al.*, 1989). Quando lotes de sementes, aos quais uma fitobactéria está associada, são plantados, observa-se um padrão típico de disseminação, onde após a germinação aparecem umas poucas plantas infectadas, distribuídas ao acaso. Em virtude da disseminação de uma planta para as vizinhas, por agentes diversos, aparecem reboleiras tendem a aumentar de tamanho.

O fato de um lote de sementes conter uma determinada bactéria a ela associada, não significa, necessariamente, que essas sementes, quando plantadas, originarão plantas doentes. O sucesso de bactérias associadas a sementes ao infectarem plantas, após o plantio, é função da sua localização na semente, da estrutura anatômica e do tipo de germinação dessas sementes, assim como da capacidade de sobrevivência e das características da espécie bacteriana em si (Saettler *et al.*, 1989).

O presente trabalho teve por objetivo verificar a transmissão da bactéria entre plantas de feijoeiro a fim de obter informações mais detalhadas da disseminação da doença no campo.

## **4.2 – Material e Métodos**

Para avaliar a transmissão da bactéria de planta para planta, foram utilizados ensaios com a semeadura de sementes básicas da cv. Pérola expondo plantas Indicadoras de feijão oriundas destas sementes lado a lado com plantas posteriormente inoculadas com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Cff).

A inoculação foi realizada aos 10 dias após a emergência das plantas, estando em estágio fenológico V3, na haste da planta pelo método da punção com agulha de injeção logo acima da inserção das folhas cotiledonares. A concentração do inóculo foi

determinada seguindo a curva de calibração para Cff (Miranda & Uesugi, 2001) e medida em espectrofotômetro, chegando a uma suspensão bacteriana de  $2,0 \times 10^4$  UFC/ml.

As avaliações foram realizadas durante sessenta dias após a inoculação, seguindo critérios visuais de aparecimento dos sintomas da doença. Após esse período, as plantas foram arrancadas e o isolamento efetuado em meio nutritivo 523 (Kado & Heskett, 1970) e incubado a 28 °C. Para a confirmação da presença de Cff foram realizados os testes de solubilidade em KOH e coloração de Gram, seguido do processo de inoculação com suspensão de aproximadamente  $10^8$  UFC/ml e reprodução dos sintomas em plantas de feijoeiro comum com 10 dias após a emergência (DAE).

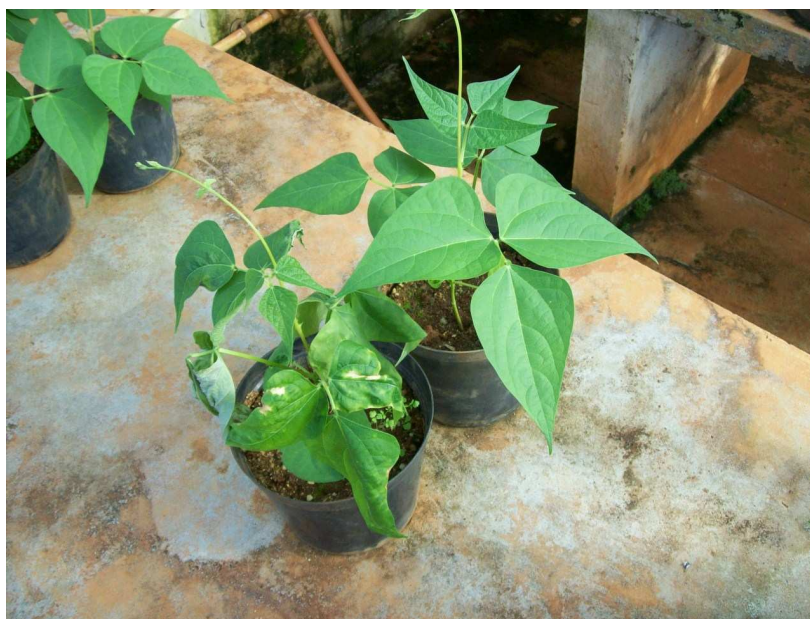
#### **4.2.1 – Transmissibilidade na linha de plantio via parte aérea.**

A organização espacial das plantas neste ensaio foi delineada de maneira que as plantas ficassem a uma distância de 0,1 m uma da outra, distribuídas aos pares. Foram realizadas 10 repetições totalizando assim 20 plantas, arranjadas em 10 pares. O experimento foi conduzido em casa de vegetação em vasos de 2,5 l para possibilitar o isolamento do sistema radicular das plantas, ficando assim a transmissão restrita à parte aérea. Foi definido que as inoculações, nas plantas, fossem feitas de forma a obter uma organização espacial onde as plantas inoculadas ficassem colocadas sempre do mesmo lado em relação às plantas indicadoras para cada bancada utilizada.

#### **4.2.2 – Transmissibilidade entre linhas via parte aérea.**

A organização espacial das plantas neste ensaio foi delineada de maneira que as plantas ficassem a uma distância de 0,5 m uma da outra, arranjadas aos pares. Foram

realizadas 10 repetições totalizando assim 20 plantas, organizadas em 10 pares. O experimento foi conduzido em casa de vegetação em vasos de 2,5 l. (Figura 1).



**FIGURA 1-** Detalhe das plantas de feijoeiro comum, com sintomas da Murcha de *Curtobacterium* (à esquerda) lado a lado com plantas indicadoras.

#### **4.2.3 – Transmissibilidade na linha de plantio via sistema radicular.**

Foram conduzidos ensaios com três repetições em campo delineado de maneira que as plantas não tivessem contato na parte aérea. Para tal finalidade foi utilizada a lona plástica transparente para estufa de 150  $\mu\text{m}$  de espessura, com dimensões de 1,5 m de altura e 3,0 m de comprimento, fixada em ripas de madeira de 1,8 m, colocada entre as plantas, restringindo assim o contato das plantas ao sistema radicular. Cada tratamento foi composto por 12 plantas, seis de cada lado, tendo com isso, após a inoculação, 6 plantas indicadoras e 6 plantas infectadas com Cff. O arranjo espacial das plantas foi de 0,1 m de planta para planta de lados opostos e 0,5 m de espaçamento de planta para planta do mesmo lado. As inoculações foram realizadas nas plantas seguindo a declividade do terreno, as plantas inoculadas eram as que estavam mais abaixo (Figura 2).



**FIGURA 2-** Detalhe das plantas de feijoeiro comum, inoculadas com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* lado a lado com plantas indicadoras.

#### **4.2.4 – Transmissibilidade entre linhas via sistema radicular.**

Em ensaios com três repetições em campo delineado de maneira que as plantas não tivessem contato na parte aérea, onde como descrito para o ensaio anterior, foi utilizada a lona plástica transparente para estufa de 150  $\mu\text{m}$  de espessura, com dimensões de 1,5 m de altura e 2,0 m de comprimento, fixadas em ripas de madeira de 1,8 m, colocadas entre as plantas, possibilitando com isso o contato das plantas restrito ao sistema radicular. Cada tratamento foi composto por 20 plantas 10 de cada lado, tendo com isso, após a inoculação, 10 plantas Indicadoras e 10 plantas infectadas com Cff. O arranjo espacial das plantas foi de 0,5 m de planta para planta de lados opostos e 0,1 m de espaçamento de planta para planta do mesmo lado. Para a inoculação das plantas foi utilizado o mesmo processo descrito na situação anterior (4.2.3).



### 4.3 – Resultados e Discussão

Em todos os ensaios utilizados foi possível confirmar a suspeita da ocorrência de transmissão de Cff entre plantas de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.). O processo de disseminação em uma situação real de cultivo comercial pode ser afetado por diversos fatores. Com os ensaios iniciais demonstrou-se que a transmissão entre plantas neste patossistema é possível, elucidando desta forma um aspecto importante relacionado à epidemiologia da Murcha de *Curtobacterium*.

#### 4.3.1 - Transmissibilidade na linha de plantio via parte aérea.

Durante o período de avaliação de 60 dias após a emergência das plantas apenas uma planta indicadora apresentou sintoma suspeito de ser da Murcha de *Curtobacterium* sendo confirmado pela presença da bactéria em isolamento. Houve a ocorrência de uma planta com resultado positivo para o isolamento da bactéria não apresentando sintomas, confirmando a possibilidade de plantas assintomáticas estarem infectadas com a bactéria. A transmissibilidade foi de 20% entre plantas na mesma linha de plantio, via parte aérea (Tabela 1).

**TABELA 1** - Transmissibilidade de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* entre plantas de feijoeiro comum na linha via parte aérea e sistema radicular\*

Transmissão	Sintomas Qde. Plantas		Isolamento Qde. plantas		Transmissibilidade %
	Inoculadas	Indicadoras	Inoculadas	Indicadoras	
Parte aérea – na linha	9/10	1/10	10/10	2/10	20,0
Parte aérea – entre linhas*	10/10	0/10	10/10	2/10	20,0
Sistema radicular – na linha*	18/18	1/18	18/18	3/18	16,7
Sistema radicular – entre linhas	30/30	1/30	30/30	3/30	10,0

\*Espaçamento de 50 cm entre linhas e 10 cm na linha

#### **4.3.2 - Transmissibilidade entre linhas via parte aérea.**

Nenhuma planta indicadora apresentou sintomas suspeitos de ser da Murcha de *Curtobacterium*. Houve a ocorrência de duas plantas com resultado positivo para o isolamento, confirmando com isso a transmissibilidade entre plantas nas entrelinhas de plantio. A bactéria foi transmitida entre plantas em 20% dos casos, via parte aérea (Tabela 1).

Os dados acima, para a transmissão via parte aérea, foram obtidos em casa de vegetação. O ambiente era mais protegido e controlado, não havendo ocorrência de ventos que possibilitariam um maior atrito entre as plantas, podendo com isso facilitar a disseminação. Por outro lado, mesmo nesta situação foi possível observar que há transmissão da bactéria de uma planta doente a uma *Indicadora*. Estes dados para uma situação comercial podem variar em suas quantidades específicas, sugerindo que também ocorra tal transmissão em uma situação real de exploração da cultura, mas havendo a necessidade de estudos desta transmissão com um delineamento experimental que mais se aproxime desta realidade.

#### **4.3.3 - Transmissibilidade na linha de plantio via sistema radicular.**

Apenas uma planta entre as indicadoras apresentou sintoma suspeito de ser da Murcha de *Curtobacterium*, sendo confirmado pela presença da bactéria em isolamento em meio nutritivo 523 (Kado & Heskett, 1970). Houve a ocorrência de três plantas com resultado positivo para o isolamento da bactéria, as quais não apresentaram sintomas. A transmissibilidade foi de 16,7% entre plantas na mesma linha de plantio via raiz (Tabela 1).

#### **4.3.4 - Transmissibilidade entre linhas via sistema radicular.**

Uma planta, entre as Indicadoras, apresentou sintoma suspeito de ser da Murcha de *Curtobacterium*, sendo confirmado pela presença da bactéria em isolamento em meio nutritivo 523. Houve a ocorrência de três plantas com resultado positivo para o isolamento da bactéria não apresentando sintomas. Dentre as plantas que foram detectadas a bactéria, apenas uma evidenciou sintomas, mostrando com isso que as assintomáticas podem mascarar a ocorrência da doença, ocasionando com isso uma disseminação não perceptível da doença com a introdução da doença em novas culturas, cuja semeadura seja realizada com a utilização de sementes das plantas nesta situação.

A transmissibilidade foi de 10% entre plantas na mesma linha de plantio via sistema radicular (Tabela 1).

Segundo os dados encontrados, pode-se dizer que em relação à epidemiologia da doença há um caráter oligocíclico, com isso não podendo enquadrar a doença em um monociclo, onde há apenas um ciclo do patógeno durante o ciclo da cultura nem mesmo como policíclico onde é caracterizado por vários ciclos durante um ciclo da cultura.

#### **Referências Bibliográficas**

Bergamin Filho, A.; Amorim, L. **Doenças de plantas tropicais: Epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1996. 289p.

Kado, C. I.; Heskett, M. G. **Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, and *Xanthomonas***. *Phytopathology*, v. 60, p. 969-976, 1970.

Hunt, O. J.; Griffin, G. D.; Murray, J. J.; Petersen, M. W.; Paeden, R. N. **The effect of root knot nematodes on bacterial wilt of alfafa**. *Phytopathology*, v. 61 p. 256 – 259, 1971.

Kranz, J. **Epidemiological research on tropical plant disease.** FAO Plant Prot. Bull v. 32, 1984a. p. 67 – 71.

Kranz, J. **Training for epidemiological research and its field application in the tropics.** FAO Plant Prot. Bull v. 32, 1984b. p. 73 – 76.

Romeiro, R. S. **Bactérias Fitopatogênicas – 2 Ed.** Atualizada e ampliada. – Viçosa Editora UFV, 2005 p.183-291.

Saettler, A. W. **Diseases caused by bacteria. In: Hall, R (Ed). Compendium of Bean Diseases.** St. Paul: The American Phytopathological Society, 1991. p. 29-32.

Zadoks, J. C. **A critical review of methodologies in epidemiology.** FAO Plant Prot. Bull v. 32, 1984 p. 73 – 76.

## **Capítulo 5**

**Efeitos da Murcha de *Curtobacterium* no desenvolvimento,  
produção final e qualidade dos grãos em plantas de feijoeiro**

## Resumo

Em relação às perdas causadas por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* Cff), tem-se relatos de perdas de 90% da produção em regiões dos Estados Unidos, considerada em anos subsequentes como a mais importante doença do feijoeiro, causando perdas totais da produção. No Brasil, as perdas de produtividade relacionadas à doença variam de 4,4% a 46,7% de redução da produção em níveis de inóculo, variando de 5% a 30% de plantas apresentando a doença, respectivamente. O presente trabalho teve por objetivo verificar os efeitos da doença no desenvolvimento, produção final e qualidade dos grãos de plantas de feijoeiro. As unidades experimentais tiveram como objetivo a avaliação das alterações no desenvolvimento de plantas, apresentando sintoma de murcha e seus reflexos na produtividade final comparada às plantas sadias, desenvolvimento vegetativo, qualidade dos grãos, bem como avaliar as alterações nos teores de proteína, fibras e material mineral dos grãos colhidos. Os experimentos foram delineados utilizando parcelas inteiramente casualizadas com três repetições. As inoculações foram realizadas aos 10 dias após a emergência das plantas, estando no estágio fenológico V3. O ponto de inoculação utilizado foi na haste da planta, pelo método da punção com agulha de injeção, logo acima da inserção das folhas cotiledonares. A concentração do inóculo foi de  $2,0 \times 10^4$  UFC/ml seguindo a curva de calibração para Cff. Os resultados de maneira geral mostraram a influência negativa da doença na maioria dos parâmetros avaliados. Houve prejuízos ocasionados pela doença com uma redução estatisticamente significativa na quantidade de folhas trifolioladas aos 30 dias após a inoculação das plantas, na quantidade final de vagens, na produção final, no peso de 100 grãos e também nas dimensões dos grãos. Não foram observados efeitos estatisticamente significativos para as alterações nos teores de proteína, cinzas, gorduras, matéria seca e umidade dos grãos colhidos. Não houve interação entre os fatores adubação e ocorrência da doença. Em ensaios simulando cultivos de sucessão pode-se observar significativa redução no rendimento final da lavoura.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, fisiologia

# Effect of bacterial wilt on the development, production and quality of the common bean plant

## Abstract

*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Cff) has been reported to cause losses of 90% of production in regions of the United States of America, and has been considered in subsequent years as the most important bean disease, even causing total loss of production. In Brazil, the productivity losses related to the disease range from 4.4% to 46.7% reduction in production levels of inoculums ranging from 5% to 30% of plants showing the disease, respectively. This study aimed to evaluate the effects of the disease on the development, production and final quality of beans. The experimental units were designed to evaluate the changes in the development of plants showing symptoms of wilt and its impact on productivity compared to healthy plants, assessing vegetative growth, grain quality and changes in protein, fiber and mineral material, in the harvested bean. The experimental plots used a completely randomized design with three replications. Inoculations were performed at 10 days after plant germination, at the V3 growth stage; the inoculation was applied in the stem of the plant, by means of puncture with needle, just above the cotyledons. Inoculum concentration was  $2.0 \times 10^4$  CFU/ ml using the calibration curve for Cff. The results generally showed the negative influence of the disease on most parameters. There were losses caused by the disease at 30 days after inoculation of plants with a statistically significant reduction in the number of trifoliolate leaves, in the final quantity of pods, the final production, weight of 100 grains and also in terms of yield. There were no statistically significant effects for changes in protein, ash, fat, dry matter and moisture content of harvested grain. There was no interaction between fertilization and occurrence of disease. In tests simulating crop succession a significant reduction in final yield of the crop was noted.

**Keywords:** *Phaseolus vulgaris*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, physiology

## 5.1 – Introdução

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma planta exigente em nutrientes, muito sensível a fatores climáticos extremos como alta ou baixa umidade do solo, alta ou baixa temperatura do ar, ventos fortes, além de ser conhecido como planta muito suscetível a doenças e pragas. A própria arquitetura da planta é deficiente, tendo um sistema radicular limitado e muito sensível aos períodos de distribuição pluviométrica irregular. Os danos ocasionados pela deficiência hídrica dependem da duração, da intensidade, da frequência e da época de sua ocorrência (Araujo *et al.*, 1996).

A planta exige maior quantidade de nutrientes disponíveis a partir de 40 dias após a germinação (DAG). Nesta fase é o pico de exigência para produção de matéria verde e posteriormente formação de vagens e grãos. A manutenção de suas atividades fisiológicas normais ocorre no período de 60 a 70 DAG. Nesse estágio, verifica-se uma grande mobilização de nutrientes de várias partes da planta para os grãos (Araújo *et al.*, 1996).

A parte aérea de plantas de feijoeiro infectadas por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Cff) apresenta reduções nos níveis de macronutrientes, principalmente nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e magnésio, sendo mais acentuadas nas cultivares suscetíveis do que nas resistentes à Murcha de *Curtobacterium* (Maringoni, 2003).

Em relação às perdas causadas pela Murcha de *Curtobacterium*, têm-se relatos pioneiros de perdas de 90% da produção em regiões dos Estados Unidos (Hedges, 1922), considerada na década de 1920 como a mais importante doença do feijoeiro, causando perdas totais da produção (Hedges, 1926). No Brasil, os prejuízos relacionados à doença variam entre 4,4% e 46,7% de redução de produtividade, em



níveis de inóculo variando de 5% a 30% de plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Pérola inoculadas com a bactéria aos 10 dias após a emergência, respectivamente (Miranda Filho, 2005).

O presente trabalho teve por objetivo verificar os efeitos da Murcha de *Curtobacterium* no desenvolvimento, produção final e qualidade dos grãos de plantas de feijoeiro.

## **5.2 – Material e Métodos**

### **5.2.1 Efeito da Murcha de *Curtobacterium*) sobre feijoeiro no cultivo das águas**

O delineamento experimental utilizado foi com parcelas inteiramente casualizadas com três repetições. As parcelas compostas por 3 linhas de 2,0 m e espaçamento entre linhas de 0,5 m, totalizando uma área aproximada de 3,0 m<sup>2</sup> (1,5 m X 2,0 m) no momento de total desenvolvimento vegetativo das plantas.

A semeadura foi manual, cuja densidade de plantio foi de 14 sementes/ m e espaçamento de 0,5 m entre as linhas. Após a germinação foi realizada a padronização dos tratamentos para a densidade de 10 plantas por metro, totalizando com isso, 60 plantas por parcela.

As sementes utilizadas foram as Básicas da cultivar Pérola, provenientes do Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (Cnpaf – EMBRAPA). Os tratamentos foram denominados como S: “Sadio” (plantas sem inoculação) e D: Doente (todas as plantas inoculadas com a bactéria).

O preparo de solo foi de forma mecanizada, com grade aradora. A adubação de base foi seguindo os valores da análise de solo da área e as exigências para a cultura do

feijoeiro. Foi realizada a calagem 60 dias antes do plantio dos ensaios em uma quantidade de 6 kg por m<sup>2</sup> e adubação química NPK na formulação 04-30-16 no momento do plantio em quantidade de 40 g/ m. Os sulcos de plantio foram abertos manualmente com a utilização de enxada, aplicação do adubo químico no sulco, revolvimento com a própria enxada para se evitar o contato direto das sementes com o adubo e consequente distribuição das sementes.

A inoculação nas plantas foi aos 10 dias após a emergência, no estágio fenológico V3. O ponto de inoculação utilizado foi a haste da planta, pelo método da punção com agulha de injeção, logo acima da inserção das folhas cotiledonares. A concentração do inóculo foi determinada seguindo a curva de calibração para Cff (Miranda & Uesugi, 2001) com uma suspensão bacteriana de  $2,0 \times 10^4$  UFC/ml.

O controle de plantas daninhas foi realizado com duas capinas manuais aos 15 e 25 dias após a emergência. Não foi aplicado nenhum produto químico para o controle de insetos, tendo em vista a ocorrência insignificante de pragas durante o decorrer do ensaio.

As avaliações foram realizadas durante todo o ciclo vegetativo da cultura. As variáveis observadas foram: sintomas visuais de murcha aos 28 dias após a inoculação (DAI), quantidade de folhas trifolioladas aos 20 DAI e 30 DAI, quantidade de vagens no final do ciclo, produção final das parcelas (peso final da parte aérea e peso dos grãos), dimensões dos grãos.

Na avaliação de sintomas, realizada aos 28 DAI, os sintomas foram observados em 100% das plantas de cada uma das parcelas. Nas análises da quantidade de folhas trifolioladas foram consideradas 10 plantas da linha central de cada parcela; na escolha das plantas dentro da linha, novamente, foram utilizadas as centrais. As mesmas plantas

citadas para a avaliação da quantidade de folhas trifolioladas foram utilizadas para aferir a quantidade de vagens ao final do ciclo.

A produção final foi calculada com a pesagem da parcela inteira. A dimensão dos grãos colhidos foi calculada a partir de 10 grãos selecionados ao acaso em cada uma das parcelas, sendo utilizados como parâmetros o comprimento, largura e espessura dos grãos.

Foi realizada avaliação dos teores de proteína, fibras totais, matéria mineral e gordura dos grãos. As análises foram realizadas no laboratório de análise de alimentos da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – UnB, e os grãos de feijão foram divididos nos seguintes tratamentos (Amostra 1-200 C.P.1. Pérola Amostra 2-200 Sadios Pérola). As amostras foram selecionadas e coletadas de modo representativo da produção, foram moídas em moinho próprio para grãos, homogeneizadas e pesadas separadamente para cada tipo de análise. As análises de composição centesimal (umidade, matéria seca, resíduos minerais, proteína bruta e extrato etéreo) foram realizadas de acordo com a metodologia indicada pela OAC (2006).

A determinação de proteínas foi realizada, segundo o método de KJELDAHL, para a quantificação de nitrogênio total, descrito pela OAC. Para a conversão do nitrogênio em proteínas foi utilizado o fator 6,25. Os carboidratos foram determinados por diferença, sendo subtraído de 100, a soma dos teores de lipídeos, proteínas, umidade e cinzas. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

### **5.2.2 Efeito da Murcha de *Curtobacterium* sobre feijoeiro no cultivo de inverno (irrigado).**

Os ensaios experimentais tiveram como objetivo verificar a interação entre os fatores doença (Murcha de *Curtobacterium*) e adubação, bem como a avaliação das alterações no desenvolvimento das plantas doentes, tendo como variáveis: produtividade final comparada às plantas saudáveis, desenvolvimento vegetativo, qualidade dos grãos, alterações nos teores de proteína, fibras e material mineral dos grãos colhidos.

O preparo do solo e a adubação foram os mesmos do item 5.2.1. A semeadura realizada manualmente com uma densidade de plantio de 12,5 sementes/ m e espaçamento entre linhas de 0,5 m. Para a correção do número de plantas das parcelas, foi realizado o arranquio manual das plantas para padronizar os tratamentos com uma quantidade de 60 plantas / parcela, resultando em uma densidade de 7,5 plantas/ m.

As parcelas experimentais possuíam 4 linhas de 2,0 m, com espaçamento entre linhas de 0,5 m.

O sistema de irrigação utilizado foi por microaspersão, com o uso de mangueiras perfuradas de polietileno (“Santeno”) distribuídas junto ao nível do solo. As irrigações foram posicionadas de maneira a atender às necessidades hídricas das plantas fornecendo uma quantidade de lâmina de água efetiva de 4,0 mm na fase inicial (V0 a V4), com um período de rega de 15 min duas vezes ao dia, às 6:00 h e 18:00 h; 6,0 mm na fase de crescimento vegetativo (V4 a R5), com um período de rega de 15 min três vezes ao dia, às 8:00 h, 16:00 h e 00:00 h; 8,0 mm na fase reprodutiva (R5 à R8), com um período de rega de 15 min, quatro vezes ao dia, às 4:00 h, 10:00 h, 16:00 h e 22:00 h.

Foram definidos quatro tratamentos. A semeadura nas quatro situações foi realizada com sementes básicas da cultivar Pérola. Sendo o tratamento sadio adubado (Sa) sem a inoculação da bactéria, com calagem e adubação equilibrada; doente adubado (Da) com inoculação da bactéria em 100% das plantas da parcela, com calagem e adubação equilibrada; o tratamento sadio sub-adubado (Ssa) sem a inoculação da bactéria, sem calagem e sub-adubação (50% da adubação equilibrada de referência), o tratamento doente sub-adubado (Dsa) com a inoculação de todas as plantas da parcela sem calagem e sub-adubação (50% da adubação equilibrada de referência).

O delineamento experimental foi um fatorial 2 X 2 em parcelas inteiramente casualizadas com três repetições, para a verificação de interação dos dois fatores (doença x adubação). Foram realizados contrastes ortogonais adicionais analisando os tratamentos Sa e Da; Ssa e Dsa separadamente. As inoculações e o manejo de plantas daninhas foram os mesmos descritos para a situação do item 5.2.1.

Os grãos colhidos foram analisados, seguindo critérios visuais, segundo o seu aproveitamento para o consumo, sendo pesados e separados como: grãos “bons” e refugos. Foram retiradas 4 amostras de 100 g de grãos de cada tratamento, o valor final da pesagem foi obtido pela média das 4 amostras para cada tratamento. Seguindo uma avaliação visual, foram retirados os grãos quebrados, mal formados, danificados e apodrecidos estes grãos foram denominados como refugos.

### **5.2.3 Efeito da Murcha de *Curtobacterium* sobre feijoeiro no cultivo das águas em sucessão.**

Para se avaliar os efeitos de cultivo de sucessão, prática muito comum na exploração da cultura do feijão, foram aproveitados os grãos colhidos dos tratamentos

descritos anteriormente (Sa; Da; Ssa; Dsa) para semeadura de um novo ensaio na mesma área de plantio.

O delineamento experimental foi composto por parcelas inteiramente casualizadas, totalizando quatro tratamentos e três repetições. Os grãos do cultivo anterior (colhidos dos ensaios 5.2.2) foram novamente semeados nas mesmas áreas de suas plantas mães, respectivamente.

Os tratamentos foram definidos como Sa<sub>2</sub> Grãos F1, provenientes de plantas originadas de sementes básicas sadias cv. Pérola, cultivadas com adoção de adubação equilibrada; Da<sub>2</sub> Grãos F1 provenientes de sementes básicas “doentes” (Plantas mãe 100% inoculadas com Cff) cv. Pérola, cultivadas com adoção de adubação equilibrada; Ssa<sub>2</sub> Grãos F1 provenientes de sementes básicas “sadias” cv. Pérola cultivadas sem adoção de adubação equilibrada e Dsa<sub>2</sub> Grãos F1 provenientes de sementes básicas “doentes” (Plantas mãe 100% inoculadas com Cff) cv. Pérola, cultivadas sem adoção de adubação equilibrada.

Não foram realizadas práticas de movimentação de solo. No momento da semeadura foram abertos sulcos de forma manual com o auxílio de enxada. A adubação utilizada foi a mesma em todos os tratamentos, seguindo análise de solo realizada para os tratamentos anteriores. Totalizando na aplicação de NPK + Zn de 400 kg/ ha.

As parcelas onde não se havia realizado a calagem foram corrigidas com a mesma quantidade de calcário logo após a colheita dos ensaios anteriores, permanecendo o funcionamento da irrigação a fim de contribuir para a ação do corretivo.

Para a escolha das sementes, foram retirados totalmente ao acaso 100 grãos de cada um dos tratamentos anteriores, para, posteriormente, realizar a semeadura nas

parcelas. As dimensões das parcelas, espaçamento e densidade de plantio são as mesmas descritas para o ensaio experimental anterior.

O plantio foi realizado, de forma manual, na estação chuvosa. Não houve nenhum tipo de suplementação hídrica adicional.

As avaliações foram realizadas durante todo o ciclo vegetativo, com observações das alterações morfológicas, desenvolvimento vegetativo e produção final.

## **5.3 – Resultados e Discussão**

### **5.3.1 – Efeito da Murcha de *Curtobacterium* sobre feijoeiro no cultivo das águas.**

Nas avaliações realizadas no tratamento sadio denominado S, aos 28 dias após a inoculação, houve 47,2% de plantas que apresentaram sintomas, na maioria alteração descrita como queima de bordas das folhas com 41,7% e o restante (5,5%) com flacidez de folíolos (Tabela 1).

Em relação à quantidade de folhas trifolioladas do tratamento onde as plantas foram inoculadas, denominado como doente (D), as quantidades médias de folhas trifolioladas foram de 4,7 aos 20 DAI e 7,43 aos 30 DAI, ao passo que as não inoculadas (S) tiveram 4,77 e 11,03 respectivamente.

Foi possível observar uma maior quantidade de folhas trifolioladas entre as plantas sadias, na ordem de 1,48% e 32,63% aos 20 e 30 DAI, sendo o último significativamente diferente ao nível de 5% ao se comparar os valores de suas médias pelo teste de Tukey (Tabela 1). Aos 20 dias não houve diferença significativa, podendo este fato estar relacionado com o período de adaptação da bactéria à hospedeira, adotando como parâmetro de comparação a curva de crescimento de microorganismos. Nesta fase inicial, o organismo não tem um crescimento significativo, sendo descrita

como fase de adaptação. Por outro lado, em um período de apenas 10 dias seguidos da avaliação anterior, aos 30 DAI a diferença estatística foi significativa, demonstrando que a presença da bactéria influenciou negativamente no desenvolvimento vegetativo da planta, ocasionando um impacto negativo com redução na produção final. Esta redução pode ter sido resultado de um desequilíbrio na relação fonte (folhas trifolioladas) e dreno (vagens).

A produção final está relacionada com o índice de área foliar, com a diminuição observada nos ensaios para a variável número de folhas trifolioladas. Houve redução neste índice, o que provavelmente contribuiu para a diminuição de produção final nos tratamentos onde a bactéria foi inoculada (Tabela 1).

A quantidade média de vagens por planta, no final do ciclo, para o tratamento onde as plantas não foram inoculadas foi de 13 vagens e, para o tratamento com plantas inoculadas a média foi de 6,2 vagens (Tabela 1).

A produção final pode ser estimada como sendo o resultado do número de vagens por metro quadrado da cultura. Com esta diminuição, têm-se uma clara diminuição da produção final nos tratamentos contaminados com a bactéria onde houve uma redução de 47,69% no número de vagens quando comparados com o sadio (Tabela 1).

O peso médio final da matéria seca no final do ciclo da cultura, representado pelo peso final da parte aérea descontado o peso dos grãos, variou entre o tratamento inoculado e não inoculado, com os valores de 1020,0 kg/ ha para o tratamento sadio (S) e 340,0 kg/ ha para o tratamento doente (D), sendo possível observar uma redução em rendimento da ordem de 68% quando comparado ao sadio (Tabela 1). A produção média final, expressa por peso final dos grãos, no tratamento sadio foi de 1076,78 kg/



ha e a da doente 328,78kg/ ha respectivamente, sendo estatisticamente significativo ao nível de 5% (Tabela 1).

Os dados concordam com os disponíveis em literatura que mostram uma tendência de redução no peso da matéria seca, podendo variar segundo a cultivar utilizada. Esses valores variaram em trabalhos realizados por Maringoni em 2002 em níveis de 44,1% para a cultivar IAC Carioca Pyatã, descrita pelo autor como resistente à doença e chegando a 80,7% em cultivar Pérola. Tal experimento foi conduzido em condições de telado, onde as plantas foram acondicionadas em vasos.

Para a cultivar observada, neste trabalho, há dados que estão próximos tendo em vista que em situação de campo, no qual foram conduzidos estes ensaios, foi obtido um valor de redução no peso da matéria seca de 68,1%, um valor um pouco menor do que encontrado em condições de telado que foi da ordem de 80,7% (Maringoni, 2002).

Em situação de campo, Chavarro *et al.* (1985), relataram redução aproximada de 37% da matéria seca da parte aérea na cultivar Porrillo Sintético, considerada resistente à murcha de *Curtobacterium*, e de 81% em *Zornia glabra* cultivar CIAT 7847, suscetível à murcha de *Curtobacterium*, quando comparadas com os controles não inoculados. Nesta situação, a redução foi em *Phaseolus vulgaris* menor que os dados encontrados neste trabalho, porém novamente se aproximam da redução de 81% encontrada em *Z. glabra*, comparando com 68,1% de redução para a cultivar Pérola utilizada em nossos ensaios, material descrito, também, como suscetível à doença.

Os resultados mostraram diferença significativa para a produção final dos ensaios. É possível observar uma intensa redução na produção final, gerando uma perda de rendimento de aproximadamente 69,5%, mostrando o potencial destrutivo da doença e reforçando a real ameaça de tal patógeno aos cultivos comerciais do feijoeiro comum na região Centro Oeste. Comparando esses dados com trabalhos anteriores, tem-se uma

concordância no sentido que à medida que se aumenta a quantidade de plantas doentes, potencializam as perdas. Ensaio para avaliação na perda de produtividade causada pela doença mostraram perdas, variando de 23,7 % a 46,7 % na produção final com uma quantidade inicial de 30 % de plantas inoculadas com a bactéria aos 10 dias após a emergência (Miranda Filho *et al.*, 2006c).

As dimensões dos grãos colhidos no tratamento não inoculado variaram de 10,9 mm para o comprimento, 7,2 mm para a largura e 4,9 mm para a espessura. (Tabela 1).

As dimensões dos grãos colhidos no tratamento inoculado variaram de 9,5 mm, 6,2 mm e 3,0 mm para o comprimento, largura e espessura, respectivamente (Tabela 1).

Os dados médios das dimensões dos grãos doentes nos dois tratamentos mostraram diferença estatisticamente significativa para todas as dimensões avaliadas, quando comparadas com os valores dos grãos sadios. No comprimento houve uma redução de 12,84%, na largura uma redução de 13,89% e a redução mais evidenciada foi na espessura chegando a 32,65% (Tabela 1).

Esses dados contribuem para reforçar observações em campos de produção comercial onde era possível fazer uma associação dos grãos colhidos de plantas com a doença e uma grande diminuição em suas dimensões. Estas observações são reforçadas pelos dados obtidos no aspecto visual dos grãos que são denominados comumente, por produtores e técnicos, como “tabinhas” relatando os grãos que sofrem uma significativa diminuição em sua espessura.

O peso de 100 grãos no tratamento inoculado foi menor quando comparado ao tratamento não inoculado. Os valores médios finais foram de 25,80 g para o tratamento não inoculado e 17,21 g para o tratamento inoculado (Tabela 1).

**Tabela 1** – Influência da Murcha de *Curtobacterium* na fisiologia do feijoeiro cultivar Pérola em cultivo das águas.

Características analisadas	S (sadia)	SD (inoculada)	% Redução
Sintoma de queima de bordos (%)	0	41,7	-
Sintoma de flacidez de folíolo (%)	0	5,5	-
Quant. trifólios 20dias (PI)	4,77 a	4,70 a	<b>1,48</b>
Quant. trifólios 30 dias (PI)	11,03 a	7,43 b	<b>32,63</b>
Quant. de vagens por PI	13,0 a	6,2 b	<b>47,69</b>
Massa de 100 sementes	25,80 a	17,21 b	<b>33,29</b>
Matéria seca (kg/ha)	1020,00 a	340,00 b	<b>68,10</b>
Peso dos grãos (kg/ha)	1076,78 a	328,78 b	<b>69,50</b>
Comprimento grão (mm)	10,9 a	9,5 b	<b>12,84</b>
Largura grão (mm)	7,2 a	6,2 b	<b>13,89</b>
Espessura grão (mm)	4,9 a	3,3 b	<b>32,65</b>

\* Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente ente si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.  
PI = Planta

Na presença da doença foi possível observar visualmente uma diminuição no peso dos grãos de feijoeiro comum. Essa redução se mostrou estatisticamente significativa quando aplicado o Teste de Tukey a 5% de probabilidade, reforçando os efeitos negativos da doença no peso de 100 grãos.

Estes dados concordam com ensaios anteriores que mostraram prejuízos causados pela Murcha de *Curtobacterium*, relatando um reflexo negativo de perda de tamanho e densidade dos grãos, ocasionando assim um menor peso. Acima de 20% de inóculo inicial, a perda de tamanho e densidade já se torna estatisticamente significativa quando comparada ao controle sadio. Há uma perda significativa na qualidade dos

grãos, além da perda de produtividade ocasionada por uma menor massa final de 100 grãos. Ocorre o escurecimento do tegumento das sementes e desuniformidade no tamanho dos grãos, depreciando bastante o valor final de comercialização do produto (Miranda Filho *et al.*, 2006b).

Os resultados das análises laboratoriais para o efeito da doença nos teores finais de cinzas, gorduras, proteínas, matéria seca não mostraram diferenças estatisticamente significativas quando os dados foram submetidos ao Teste de Tukey a 5% de probabilidade. É oportuno ressaltar que é possível observar um aumento nos teores de gordura e proteína nos grãos oriundos de plantas doentes. Este aumento é notado principalmente no teor de proteína que ficou em torno de 27,7 % nos grãos doentes e 23,5 % nos grãos sadios (Tabela 2).

**TABELA 2** - Teores de Cinzas (CZ), Gorduras (G), Proteínas (P), Matéria Seca (MS) e Umidade (U) nos grãos dos tratamentos Sadio (S) e Doente (SD).

Tratamentos	CZ (%)	G (%)	P (%)	MS (%)	U (%)	Variação nos teores				
						CZ (%)	G (%)	P (%)	MS (%)	U (%)
SD	4,065 a*	1,335 a	27,745 a	93,540 a	6,460 a					
S	4,015 a	1,215 a	23,485 a	94,510 a	5,490 a	1,24	9,87	18,13	-1,01	-15,02

\* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em análises semelhantes, visando avaliar as alterações nos teores de macronutrientes em plantas de feijoeiro infectadas por *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* foi possível observar esta relação, sendo que a presença da doença ocasionou reduções na massa de matéria seca da parte aérea e nos teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e magnésio (Maringoni 2003b).

### **5.3.2 – Efeito da Murcha de *Curtobacterium* sobre feijoeiro no cultivo das águas cultivado de inverno (irrigado).**

No tratamento sadio adubado (Sa), onde as plantas não foram inoculadas e tiveram adubação equilibrada; como esperado, não ocorreram plantas com sintomas da Murcha de *Curtobacterium* em nenhuma das três repetições. No tratamento doente adubado (Da), onde as plantas foram inoculadas com a bactéria, e tiveram adubação equilibrada, foi possível visualizar plantas com sintomas. Os valores médios das três repetições mostraram que aos 20 dias após a inoculação 4,7 plantas, aos 30 dias após a inoculação (DAI) 11,0 plantas e aos 50 DAI 29,7 plantas mostraram sintomas visíveis. Dentro da parcela, a percentagem média de plantas que apresentaram sintomas aos 20 DAI, 30 DAI e 50 DAI foi de 7,8%, 18,3% e 49,4%, respectivamente (Tabela 3).

Foi possível observar o aumento de plantas apresentando sintomas no decorrer do tempo, reforçando com isso que mesmo a bactéria estando presente no sistema vascular da planta, os sintomas surgem à medida que as plantas se aproximam de sua fase reprodutiva, situação onde geralmente os sintomas são mais visíveis. Com isso, gerando um possível erro na diagnose, caracterizando equivocadamente que este seja o momento da infecção pela bactéria. No tratamento Ssa, onde as plantas não foram inoculadas e foi realizada uma sub-adubação; como esperado, não ocorreram plantas com sintomas da doença em nenhuma das três repetições. No tratamento Dsa, onde as plantas foram inoculadas com a bactéria associada à sub-adubação foram observadas plantas com sintomas. Os valores médios das três repetições mostraram que aos 20 dias após a inoculação 9,0 plantas, aos 30 DAI 18,0 plantas e aos 50 DAI 43,0 plantas mostraram sintomas visíveis. Dentro da parcela, as percentagens médias de plantas que

apresentaram sintomas aos 20 DAI, 30 DAI e 50 DAI foi de 15,0 %, 30,3 % e 71,7 %, respectivamente (Tabela 3).

Com os dados apresentados acima, pode-se notar que as plantas doentes, sujeitas a uma sub adubação (Dsa) evidenciaram uma maior quantidade de sintomas nas três épocas avaliadas, quando comparados aos tratamentos com as plantas doentes mas com adubação equilibrada (Da). Estes dados podem ser comparados com experimentos realizados na região Centro Oeste, também sob irrigação, para se avaliar a produtividade final de plantas de feijoeiro, sujeitas a diferentes quantidades de calagem e adubação, onde nos ensaios conduzidos por Barbosa Filho *et al.*, (2001) chegaram às conclusões: A calagem promove aumentos no pH, na saturação por bases e na extração e exportação de N, P, K, Ca, Mg, Cu e diminuição no Mn e Zn, gerando aumentos na produtividade dos grãos de feijoeiro irrigado em 37%; o feijoeiro responde bem a adubação NPK, atingindo a maior produtividade na dose de 400 kg/ha (04-30-16) no plantio mais 30 kg/ha de adubação de cobertura (N).

No tratamento Sa houve uma quantidade média de 7,83 folhas trifolioladas aos 20 dias após a inoculação e 17,37 folhas trifolioladas aos 30 DAI; no tratamento Da, houve uma quantidade média de 6,97 folhas trifolioladas aos 20 dias após a inoculação e 13,47 folhas trifolioladas aos 30 DAI (Tabela 3). No tratamento Ssa, houve uma quantidade média de 6,50 folhas trifolioladas aos 20 dias após a inoculação e 12,30 folhas trifolioladas aos 30 DAI; no tratamento Dsa, houve uma quantidade média de 5,77 folhas trifolioladas aos 20 dias após a inoculação e 9,20 folhas trifolioladas aos 30 DAI (Tabela 3).

No resultado da compilação dos dados referentes às quantidades de folhas trifolioladas aos 20 DAI e 30 DAI, descritos na Tabela 3, não houve diferença estatística significativa para as análises dos experimentos em contrastes ortogonais dos

tratamentos sadio adubado (Sa) x doente adubado (Da); sadio sub-adubado (Ssa) x doente sub-adubado (Das) para a quantidade de folhas trifolioladas aos 20 DAI; entretanto, já foi possível observar diferença significativa aos 30 DAI, para as duas situações. Estes dados concordam com o evidenciado no tópico anterior deste trabalho para os ensaios conduzidos em sequeiro.

Seguindo com as análises estatísticas, para os quatro tratamentos, nos ensaios de forma fatorial 2 X 2 para a variável número de folhas trifolioladas não houve interação entre os fatores adubação e doença em nenhuma das épocas avaliadas (Tabela 3).

A maior quantidade média de vagens por planta de feijoeiro no final do ciclo foi observada no tratamento, onde as plantas não foram inoculadas e a adubação foi equilibrada, totalizando uma quantidade de 19,3 vagens/ planta (Tabela 3).

A quantidade média de vagens por planta de feijoeiro no final do ciclo para o tratamento, onde as plantas foram inoculadas e a adubação foi equilibrada, seguindo dados da análise de solo, foi de 9,67 vagens. (Tabela 3).

A quantidade média de vagens por planta de feijoeiro no final do ciclo para o tratamento, onde as plantas não foram inoculadas e submetidas à sub-adubação, foi de 10,0 vagens (Tabela 3).

A quantidade média de vagens por planta de feijoeiro no final do ciclo para o tratamento onde as plantas foram inoculadas, associado à sub-adubação foi de 3,7 vagens (Tabela 3).

Tabela 3 – Efeito da Murcha de *Curtobacterium* nas características fisiológicas do feijoeiro em cultivo de inverno (irrigado).

Características	Sadio adubado (Sa)	Doente adubado (Da)	% Redução
Pl. c/ sintomas 20 DAI (%)	0	7,8	-
Pl. c/ sintomas 30 DAI (%)	0	18,3	-
Pl. c/ sintomas 50 DAI (%)	0	49,4	-
Nº de trifólios aos 20 dias (PI)	7,83 a*	6,97 a	<b>11,06</b>
Nº de trifólios aos 30 dias (PI)	17,37 a	13,47 b	<b>22,46</b>
Nº vagens por planta	19,30 a	9,67 b	<b>50,09</b>
Peso Matéria Seca (kg/ha)	2466,50 a	1775,00 b	<b>60,00</b>
Peso grãos (kg/ha)	1966,75 a	800,00 b	<b>59,30</b>
	Sadio sub-adubado (Ssa)	Doente sub- adubado (Dsa)	
Pl. c/ sintomas 20 DAI (%)	0	15,00	-
Pl. c/ sintomas 30 DAI (%)	0	30,30	-
Pl. c/ sintomas 50 DAI (%)	0	71,70	-
Nº de trifólios aos 20 dias (PI)	6,50 a	12,30 a	<b>11,28</b>
Nº de trifólios aos 30 dias (PI)	5,77 a	9,20 b	<b>25,20</b>
Nº vagens por planta	10,00 a	3,70 b	<b>37,00</b>
Peso Matéria Seca (kg/ha)	1950,00 a	725,00 b	<b>66,00</b>
Peso grãos (kg/ha)	1091,75 a	308,25 b	<b>71,70</b>

\*Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

PI = Planta; DAI = Dias após a inoculação.

Compilando os dados contidos na Tabela 3, referentes às quantidades de vagens no final do ciclo, verificou-se haver diferença estatística significativa para as análises dos experimentos em contrastes ortogonais Sa X Da; Ssa X Dsa evidenciando que tanto em uma situação de nutrição equilibrada há uma redução significativa na quantidade de vagens nas plantas doentes, estes dados estão em concordância com a mesma variável analisada no tópico anterior deste capítulo para os ensaios conduzidos em sequeiro. Contudo, não houve interação entre os fatores (adubação *versus* doença) para a quantidade de vagens.

Nos quatro tratamentos, ao analisar os ensaios de forma fatorial 2 X 2, observa-se a influência dos fatores adubação e doença na quantidade de vagens ao final de ciclo. É possível observar o efeito positivo da adubação pelo maior número de vagens produzidas, da ordem de 19,3 por planta em contraste com a menor quantidade média da ordem de 10,0 nos tratamento doente. Houve, também, efeito do fator ocorrência da



doença nas plantas doentes com uma redução na quantidade final de vagens, tendo o tratamento sadio com maior quantidade de vagens no final do ciclo da cultura com 9,67, para a sadia em contraste com 3,7 vagens do doente.

Os valores médios da matéria seca nos tratamentos com adubação equilibrada (Sa) foram de 2466,5 kg/ ha para o tratamento não inoculado e 1775,0 kg/ ha para o tratamento inoculado (Da). Nos tratamentos onde houve sub-adubação, o peso médio da matéria seca foi de 1950 kg/ ha para o tratamento não inoculado (Ssa) e 725,0 kg/ ha para o tratamento inoculado (Dsa) (Tabela 3).

Segundo os dados apresentados na Tabela 3 é possível observar o efeito prejudicial da doença, gerando uma diminuição no peso da matéria seca. Estes resultados se mostraram significativos estatisticamente quando submetidos ao Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Entretanto, para a variável peso final da matéria seca, novamente não houve interação estatisticamente significativa entre os fatores adubação e ocorrência da doença.

Na apresentação e análise dos dados, quando comparados com os ensaios conduzidos em sequeiro, no tópico anterior deste trabalho, há uma concordância no que se diz respeito à redução no peso da matéria seca, mesmo na situação de adubação equilibrada. Estes dados, novamente, concordam com os disponíveis em literatura, reforçando uma tendência para a redução no peso da matéria seca em plantas acometidas pela Murcha de *Curtobacterium*.

Nestes ensaios, o valor de redução no peso da matéria seca foi de 60% e 66% para os tratamentos com adubação equilibrada e sujeitos a sub-adubação, respectivamente. Estes valores estão bem próximos da redução 61,8% dos ensaios anteriores, em cultivos conduzidos em sequeiro; ainda, neste trabalho, um valor relativamente menor do que encontrado por Maringoni (2002) em condições de telado

que foi da ordem de 80,7%. A redução foi menor que os dados encontrados por Chavarro *et al.* (1985), onde foi observada a redução de 81% para um material descrito como suscetível.

Os valores médios para o peso dos grãos nos tratamentos com adubação equilibrada foram de 1966,65 kg/ ha para o tratamento não inoculado (Sa) e 800 kg/ ha para o tratamento inoculado (Da), ocasionando uma redução de 59,30 %. Nos tratamentos onde houve sub-adubação, o peso médio dos grãos foi de 1091,75 kg/ ha para o tratamento não inoculado (Ssa) e 308,25 kg/ ha para o tratamento inoculado (Das), correspondendo a uma redução de 71,70 % (Tabela 3).

Foi possível observar diminuição estatisticamente significativa no peso final dos grãos nas duas situações distintas, independentemente da adubação.

Comparando os dados encontrados nestes ensaios, onde em nenhuma das variáveis avaliadas houve interação entre os fatores adubação e doença, com dados disponíveis em literatura é possível notar uma concordância parcial com trabalhos realizados para avaliar o efeito da adubação nitrogenada por Teodoro (2003a), onde foi avaliada a influência de doses de nitrogênio (N) na severidade da Murcha de *Curtobacterium* do feijoeiro, causada por Cff, nas cultivares IAC Pyatã, IPR 88 – Uirapuru e SCS 202 – Guará, em condições de casa de vegetação. Os tratamentos foram as doses recomendadas de N e outras 25 e 50 % abaixo e acima desta, empregando-se uréia.

Neste trabalho, o aumento de doses de N influenciou positivamente o progresso da Murcha de *Curtobacterium*. Com base nos ensaios conduzidos, os autores demonstraram que a quantidade de N, P, K, Ca e Mg na parte aérea das plantas inoculadas foi inferior àquela encontrada nas plantas não inoculadas; entretanto, tanto a maior como a menor dose de uréia empregada não interferiram na menor quantidade de

N dos feijoeiros infectados, as doses de uréia não interferiram no peso da matéria seca das plantas de todas as cultivares avaliadas.

Em ensaios realizados por Teodoro (2003b) para se avaliar o efeito das doses de potássio na severidade da Murcha de *Curtobacterium* em cultivares de feijoeiro comum não foi verificada influência das doses de K<sub>2</sub>O na AACPMC (área abaixo da curva de progresso da Murcha de *Curtobacterium*) e na quantidade de K na parte aérea de plantas das cultivares IAC Carioca Pyatã e IPR 88 - Uirapuru. Conforme o aumento das doses de K<sub>2</sub>O, somente houve incremento na massa da matéria seca das plantas não inoculadas da cultivar SCS 202 – Guará.

Em testes de avaliação da aplicação de adubação orgânica, com ensaios para avaliar o efeito de lodo de esgoto (LE), na redução da severidade de Murcha de *Curtobacterium* em feijoeiro, cultivar Pérola, e no desenvolvimento das plantas (massa seca da parte aérea). Não foi verificado o efeito do lodo na severidade dos sintomas da doença, bem como na massa seca da parte aérea das plantas inoculadas. Nem foi evidenciada a eficácia de controle da doença com a incorporação de lodo de esgoto ao substrato (Rodrigues *et al.*, 2003).

Avaliando o aproveitamento para o consumo dos grãos colhidos dos tratamentos, foi possível observar uma perda considerável na qualidade do produto final, onde os valores de aproveitamento para os tratamentos, onde foi realizada a adubação equilibrada, foram de 91,0% para o tratamento não inoculado e 81,4%, onde houve inoculação da bactéria. Nos tratamentos onde se utilizou sub-adubação, os valores de aproveitamento foram de 85,1% onde as plantas não foram inoculadas e 62,2% nas parcelas inoculadas (Tabela 4).

Tabela 4 – Aproveitamento, em análise visual, para consumo de grãos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)

Tratamentos	"Bons" (g)	Refugos (g)	Aproveitamento(%)
Sadio adubado	91,0	9,0	<b>91,0 a*</b>
Sadio sub-adubado	85,1	14,9	<b>85,1 a</b>
Doente adubado	81,4	18,6	<b>81,4 a</b>
Doente sub-adubado	62,2	37,8	<b>62,2 b</b>

\*Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Para o aproveitamento dos grãos para o consumo é possível observar um prejuízo quando temos a ocorrência da doença. As análises estatísticas dos dados mostraram diferença significativa, quando submetidos ao Teste de Tukey a 5% de probabilidade, entre os tratamentos. O melhor tratamento, apresentando um rendimento de 91% dos grãos para o consumo, foi o tratamento com as plantas sadias e adubação equilibrada (Sa), não se diferenciando dos tratamentos sadio com sub-adubação (Ssa) e doente adubado (Da). Foi observado prejuízos estatisticamente significativos no tratamento onde as plantas foram inoculadas e conduzidas sob um regime de sub-adubação (Dsa) com um aproveitamento médio de apenas 62,2% dos grãos.

### 5.3.3 – Efeitos da doença em cultivo de feijão das águas em sucessão.

Com a utilização das sementes de cultivos anteriores para exploração da cultura do feijoeiro, simulando cultivos em sucessão, foi possível observar perdas na produção final de matéria seca, bem como na produção final dos grãos.

As análises estatísticas mostram que há influência do regime de exploração que estas sementes foram produzidas. Não houve diferença estatística entre os tratamentos oriundos de sementes plantas sadias e adubação equilibrada (SS), sementes de plantas sadias sujeitas a sub-adubação (ST) e sementes de plantas inoculadas com *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* e adubação equilibrada (SSi), sendo possível observar diferença estatística entre este grupo e o tratamento oriundo de sementes de

plantas inoculadas com *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, submetidas a sub-adubação (STi) (Tabela 5).

Tabela 5 – Pesos médios finais da matéria seca e peso final dos grãos de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.).

Tratamentos	Matéria seca (kg/ha)	Produção final (kg/ ha)
SS2	1720,85 a*	1595,82 A*
ST2	1316,67 a	1425,00 A
SSi2	1487,51,33 a	1195,82 A
STi2	858,33 b	791,67 B

\* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

SS<sub>2</sub> = Sementes oriundas de plantas sadias com regime de adubação equilibrada;

SSi<sub>2</sub> = Sementes oriundas de plantas doentes com regime de adubação equilibrada;

ST<sub>2</sub> = Sementes oriundas de plantas sadias sujeitas a sub-adubação;

STi<sub>2</sub> = Sementes oriundas de plantas doentes sujeitas a sub-adubação.

Comparando com ensaios conduzidos para a cultura do feijoeiro comum para avaliar o efeito da sucessão de cultivos, há uma concordância com resultados obtidos por Rodrigues (1999), em trabalho para avaliar a influência das sementeiras sucessivas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) na severidade da mancha angular e da ferrugem, bem como as perdas na produção em decorrência dessas doenças. Os experimentos foram conduzidos em condições de campo, nas safras outono-inverno (1994) e das águas (1994/95), cada uma com três sementeiras sucessivas de feijão. Nestes ensaios severidade da Mancha Angular (*Phaeoisariopsis griseola*) e da Ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) aumentaram significativamente da primeira para a terceira sementeira, atingindo níveis mais elevados na última. As sementeiras anteriores foram a fonte de inóculo para os cultivos subsequentes. Aplicações de fungicida foram eficientes no controle das doenças, permitindo um aumento significativo da produção de grãos, quando comparado com o controle.

Estes resultados se mostram de suma importância com o cenário que se encontra a atual safra a ser explorada durante o corrente ano agrícola 2009/10. Devido a um exacerbado aumento no preço dos adubos químicos, uma grande quantidade de

produtores, no intuito de “economizar” em seus custos de produção diminuíram a quantidade de adubo tecnicamente recomendada. Outros seguiram esta tendência de diminuição na quantidade de fertilizante, devido a problemas financeiros de naturezas diversas, bem como endividamento adquirido de cultivos em anos anteriores.

Pode-se observar na Tabela 4 que mesmo com apenas um cultivo de sucessão em uma situação, onde as plantas não se desenvolveram em um racional e equilibrado regime de adubação e nutrição destas plantas há uma significativa redução no rendimento final da lavoura. Desta forma, pode-se sugerir um ano extremamente desfavorável para a cultura do feijão, com uma forte tendência de redução na produtividade e qualidade dos grãos, sendo que estas perdas serão potencializadas e sentidas com uma maior intensidade em lavouras que foram conduzidas neste sistema de contenção de custos, adotando-se a sub-adubação e/ou foram sujeitos à ocorrência da Murcha de *Curtobacterium*.

## Referências Bibliográficas

Araújo, R. S.; Rava, C. A.; Stone, L. F.; Zimmermann, M. J. O, **Cultura do Feijoeiro Comum no Brasil**. Piracicaba: POTAFOS, 1996. 696 p.

Caixeta, T. J. **Irrigação do feijoeiro**. Informe Agropecuário, v. 4, n.46, 1978. p.36-40.

Chavarro, C. A.; Lopez, G. C. A.; Lenne, J. M. **Características y pathogenicidad de *Corynebacterium flaccumfaciens* (Hedges) Dows. agente causal del marchitamiento bacteriano de *Zornia* spp. y su efecto en el rendimiento de *Z. glaba* CIAT 7847 y *Phaseolus vulgaris***. Acta Agronômica, v. 35, p. 64-79, 1985.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Programa Nacional de Pesquisa de Feijão**. Departamento Técnico Científico, Brasília, DF. EMBRAPA – DID, 1981. 117p.

Hedges, F. **A bacterial wilt of the bean caused by *Bacterium flaccumfaciens* sp. Nov.** Science, v. 55, p. 433-434, 1922.

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

Maringoni, A. C.; Rosa, E. F. **Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro no Estado de São Paulo**. Summa Phytopathologica, v. 23, p. 160-162, 1997.

Maringoni, A. C. **Comportamento de cultivares de feijoeiro comum à murcha-de-*Curtobacterium***. Fitopatologia Brasileira, v. 27, p. 157-162, 2002.

Maringoni, A. C.; Kurozawa, C. **Tipificação de isolados de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* por bacteriocinas**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 37, p. 1339-1346, 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, v. 38, p. 777-781, 2003a.

Maringoni, A. C. **Alterações nos teores de macronutrientes em plantas de feijoeiro infectadas por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens***. Ciência e Agrotecnologia, v. 27, p. 217-222, 2003b.

Maringoni, A. C.; Camara, R. C. ***Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* detection in bean seeds using a semi-selective culture medium**. Brazilian Journal of Microbiology, v. 37, p.451-455, 2006.

Melchior, H. A. **Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien**. 12. ed. Berlin: Gebrüder Bornträger, 1964. 666 p.

Miranda Filho, R. J.; Nogueira, L. R.; Uesugi, C. H. **Distribuição da murcha de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens***. In: XLI Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2008. Tropical Plant Pathology, v. 33, p. S91-S91, 2008.

Miranda Filho, R. J.; Costa, I. X. A.; Resende, A. M.; Uesugi, C. H. **Detecção de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijões empacotado, destinado ao consumo**. Fitopatologia Brasileira, v. 32, p. 268, 2007.

Miranda Filho, R. J.; Pereira, I. M.; Uesugi, C. H. **Persistência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em solo de cerrado cultivado**. Fitopatologia Brasileira, v. 31, p. 158-159, 2006a.

Miranda Filho, R. J.; Pereira, I. M.; Uesugi, C. H. **Efeito do níveis de infecção por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na massa de sementes de feijão cultivar Pérola**. Fitopatologia Brasileira, v. 31, p. 234, 2006.

Miranda Filho, R. J.; Pereira, I.M.; Uesugi, C. H. **Levantamento da ocorrência de murcha-de-*Curtobacterium* e consequente perdas em regiões do Distrito Federal, Goiás e Minas Gerais**. Fitopatologia Brasileira, v. 31, p. 234-235, 2006c.

Miranda Filho, R. J.; Uesugi, C. H. **Comportamento de diferentes espécies vegetais em relação à *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* isolada de feijoeiro.** Fitopatologia Brasileira, v. 29, p. S92, 2004a.

Miranda Filho, R. J.; Uesugi, C. H.; Silva, M. R.; Miranda, C. E. P. **Níveis de inoculo de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na produção de sintomas em cultivares e linhagens de feijão.** Fitopatologia Brasileira, v. 29, p. S92, 2004b.

Miranda Filho, R. J.; Resende, A. M.; Uesugi, C. H. **Efeito dos níveis de infecção por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na produção de feijão cultivar Pérola.** Fitopatologia Brasileira, v. 30, p. S62, 2005.

Rodrigues, F. A.; Fernandes, J. J.; Martins, M. **Influência das semeaduras sucessivas na severidade da mancha- angular e da ferrugem, bem como as perdas na produção.** Pesquisa Agropecuária brasileira, v. 34, p. 1373-1378, 1999.

Rodrigues, R. B.; Silva Júnior, T. A. F.; Maringoni, A. C. **Effect of sewage sludge application on the severity of *Curtobacterium* wilt in bean plants.** Summa Phytopathologica, v. 32, n. 1, p. 82-84, 2006.

Sartorato, A.; Rava, C. A. **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle.** 2002. ISBN 85-7437-009-6. CD.

Theodoro, G. F.; Maringoni, A. C. **Effect of nitrogen levels in the severity of bacterial wilt in common bean cultivars.** Summa Phytopathologica, v.32, n. 2, p. 131-138, 2006a.

Theodoro, G. F.; Maringoni, A. C. **Effect of potassium levels in the severity of bacterial wilt in common bean cultivars.** Summa Phytopathologica, v.32, n. 2, p.139-146, 2006b.

Yokoyama, L. P.; Del Peloso, M. J.; Di Stefano, J. G.; Yokoyama, M. **Nível de Aceitabilidade da Cultivar de Feijão “Pérola”: Avaliação Preliminar.** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. 20p.



## **Capítulo 6**

**Efeito do tratamento de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) para eliminação de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens***

## Resumo

Para o cultivo do feijoeiro comum, não há uma utilização de sementes realmente produzidas em um sistema estruturado de produção, a grande maioria dos produtores, utilizam grãos provenientes de cultivos anteriores, ou mesmo a aquisição junto a outros produtores. Seguindo assim uma tendência marcante na exploração da cultura do feijoeiro, a utilização de grão na implantação da cultura. A qualidade da semente de feijão não se limita apenas as suas características genéticas fisiológicas e físicas, envolvendo, também, seu estado fitossanitário. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do tratamento de sementes contaminadas com a bactéria (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) para o controle da Murcha de *Curtobacterium* com Agrimaicin 500 (Oxitetraciclina 30 g/ kg + Sulfato de Cobre 500 g/ kg), Agrimicina (Oxitetraciclina 15 g/ kg – Sulfato de Estreptomicina 150 g/ kg), Mycoshield (Oxitetraciclina 200 g/ kg) e Fegatex (Cloretos de benzalcônio). A emergência no experimento foi influenciada negativamente na maioria dos tratamentos de sementes, exceto nas sementes tratadas com o Fegatex, sendo significativa em relação ao controle ao nível de 5% pelo Teste de Tukey. Na repetição do experimento não foi observada a mesma tendência. Isso sugere que não há danos relacionados à emergência das sementes quando submetidas aos tratamentos. Em relação às produtividades e pesos de 100 grãos não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, mantendo a mesma tendência quando o experimento foi repetido, indicando que os tratamentos com os produtos utilizados não foram efetivos na erradicação da *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, controle

## Effects of Seed Treatments

### Abstract

There is currently no use of seed produced in a structured production system for the cultivation of common bean; the vast majority of producers use beans from the previous crop, or even purchase from other producers. This is a time-honored trend in the exploitation of the bean crop. The quality of the bean seed is not limited to its genetic, physiological and physical characteristics, but also involves its health status. Among the diseases of greatest economic importance only rust and bean golden mosaic are not transmitted by seed. This study aimed to evaluate the effect of treatment of seeds contaminated with the bacteria (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) with Agrimaicin 500 (Oxytetracycline 30 g/ kg + Copper Sulphate 500 g/ kg), Agrimicin (Oxytetracycline 15 g/ kg – Streptomycin Sulphate 150 g/ kg), Mycoshield (Oxytetracycline 200 g/ kg) and Fegatex (Cloretos de benzalcônio) on the control of *Curtobacterium* Wilt. The emergence in the experiment was negatively affected in most seed treatments, except in the seeds treated with Fegatex, being significant compared to control at 5% by the Tukey test. In repeating the experiment we did not observe the same trend. This suggests that there is damage related to the emergence of seeds exposed to treatment. In relation to productivity and weight of 100 grains there were no significant differences between treatments, with the same trend when the experiment was repeated, indicating that treatments with the products used were not effective in eradicating *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* .

**Keywords:** *Phaseolus vulgaris*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, control.

## 6.1 – Introdução

A utilização de sementes de qualidade comprovada, representada pela presença de atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários, constitui-se em fator preponderante para a manifestação do potencial produtivo de uma determinada cultura (Fancelli & Dourado Neto, 2000).

Em relação à utilização de sementes para o cultivo do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), não há uma utilização de sementes realmente produzidas em um sistema estruturado de produção. A grande maioria dos produtores utiliza grãos provenientes de cultivos anteriores, ou mesmo faz a aquisição junto a outros produtores. Seguindo assim uma tendência marcante na exploração da cultura do feijoeiro, à utilização de grão na implantação da cultura.

Qualidade fisiológica é a capacidade potencial da semente em gerar nova planta, perfeita e vigorosa, sob condições favoráveis. Há duas maneiras básicas para aferir-se a qualidade fisiológica da semente: pelo seu poder germinativo e pelo vigor. O poder germinativo se expressa pelo percentual de sementes germinadas, ou seja, sua viabilidade; já o vigor possui um conceito mais abrangente e indica a habilidade da planta em resistir a estresses ambientais e a sua capacidade de manter a viabilidade durante o armazenamento.

A qualidade da semente de feijão não se limita apenas às suas características genéticas fisiológicas e físicas, envolvendo, também, seu estado fitossanitário. Dentre as doenças de maior importância econômica, apenas a ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) e o mosaico-dourado (*Bean golden mosaic virus*) não são transmitidas pela semente. O reconhecimento das doenças em campo é de fundamental importância para a aplicação das medidas de controle recomendadas com a finalidade de se obter uma semente de boa qualidade (Vieira & Rava, 2000). A primeira constatação de que as

sementes constituíam em um veículo de transmissão de patógenos não pode ser determinada com precisão (Vieira & Rava, 2000). Baker & Smith (1966) consideram o relato de Hellwig, em 1699, como o primeiro sobre a associação de um patógeno com a semente, escleródios de *Claviceps purpurea* misturados a sementes de centeio (*Secale cereale* L); enquanto Noble (1979) considera o trabalho de Tillet (1755) com sementes de trigo (*Triticum aestivum*) transmitindo *Tilletia* sp., e como o marco inicial da patologia de sementes (Vieira & Rava, 2000).

Aproximadamente 90% das culturas alimentícias são propagadas por sementes verdadeiras e nove delas, incluindo o feijoeiro comum, são consideradas de maior importância. Todas elas são afetadas por patógenos devastadores muitos dos quais, podem ser transmitidos por sementes (Neergaard, 1979).

A utilização de substâncias químicas no controle ou eliminação de parasitas, tanto do homem como de animais e vegetais, perde-se no tempo. Existem relatos que 3.000 anos atrás, os romanos, gregos e chineses já utilizavam enxofre, arsênico e pó de piretro para protegerem suas colheitas. Até o século XIX, a produção agrícola era feita em pequenas áreas de maneira diversificada, o que aliada à riqueza da matéria orgânica do solo e ao maior equilíbrio, devido a tal diversidade de animais e plantas, contribuía para uma menor incidência de pragas e doenças.

São comumente utilizados produtos a base de cobre para o controle de doenças bacterianas. O produto químico tem ação fungicida, e atua, também, em bactérias com ação bacteriostática. Aplicações foliares, na tentativa de controle da Murcha de *Curtobacterium*, onde o patógeno coloniza os vasos de xilema, não se consegue um contato direto do produto com o patógeno.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes produtos no tratamento de sementes contaminadas com a bactéria (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) para o controle da Murcha de *Curtobacterium*.

## **6.2 – Material e Métodos**

### **6.2.1 Produtos utilizados**

Agrimaicin 500 (Oxitetraciclina 30 g/ kg + Sulfato de Cobre 500 g/ kg)

Agrimicina (Oxitetraciclina 15 g/ kg – Sulfato de Estreptomicina 150 g/ kg)

Mycoshield (Oxitetraciclina 200 g/ kg)

Fegatex (Cloretos de Benzalcônio)

### **6.2.2 Efeitos do tratamento de sementes e pulverizações foliares.**

O trabalho foi desenvolvido na Estação Experimental de Biologia, onde foram conduzidos em repetição dois experimentos: o primeiro, semeado no dia 13 de novembro de 2006; e repetido com a semeadura no dia 1º de fevereiro de 2007, com o objetivo de avaliar a influência do tratamento de sementes por imersão, utilizando os produtos acima relacionados disponíveis no mercado, contra a Murcha de *Curtobacterium* causada por *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. Os experimentos foram conduzidos em cultivo de sequeiro, ou seja, sem nenhum tipo de irrigação ficando assim sujeitos às variações climáticas.

A organização espacial das parcelas nos tratamentos foi feita de forma aleatória. No delineamento experimental foi definido a utilização de parcelas inteiramente casualizadas em um total de treze tratamentos com três repetições por tratamento. Em cada tratamento foram plantadas manualmente três linhas com 5,0 m e uma densidade

de plantio de 16 sementes/ m. Após a emergência das sementes, foi feita a contagem das plântulas e feita a correção para 60 plantas por linha, ficando com uma densidade de 12 sementes/m.

As sementes utilizadas foram sementes da cultivar Pérola, adquirindo grãos coletados diretamente do produtor, oriundas de campo de produção comercial de feijão severamente atacado pela doença.

A adubação foi feita de forma manual, seguindo uma medida pré estabelecida para se atingir uma quantidade de 100 g da formulação NPK+Zn, no decorrer da linha de 5,0 m em cada repetição dentro dos tratamentos, totalizando, assim, uma quantidade de 400 kg por hectare. Foi adotada a prática de adubação nitrogenada de cobertura na quantidade de 100 kg/ ha, sendo utilizada a formulação NPK 10 – 10 – 10 aos 30 dias após a semeadura.

Os tratamentos foram:

1. Controle não tratado com nenhum produto, imersão em água.
2. Tratamento com imersão das sementes em Mycoshield.
3. Tratamento com pulverização das plantas com Mycoshield.
4. Tratamento com imersão das sementes + pulverização com Mycoshield.
5. Tratamento com imersão das sementes em Agrimicina.
6. Tratamento com pulverização das plantas com Agrimicina.
7. Tratamento com imersão das sementes + pulverização com Agrimicina.
8. Tratamento com imersão das sementes em Agrimaicim 500.
9. Tratamento com pulverização das plantas com Agrimaicim 500.
10. Tratamento com imersão das sementes + pulverização com Agrimaicim 500.
11. Tratamento com imersão das sementes em Fegatex.
12. Tratamento com pulverização das plantas com Fegatex.
13. Tratamento com imersão das sementes + pulverização com Fegatex.

Os tempos de imersão em todos os tratamentos foram de 20 min. As pulverizações foram realizadas seguindo calendário fixo com pulverizações aos 20, 40 e 60 dias após a emergência das plantas. As concentrações das soluções para os tratamentos foram as recomendadas pelos fabricantes dos produtos. Para o Agrimaicim

500 foi utilizado o produto comercial na dosagem de 4,0 g/ l de água, no tratamento com Agrimicina, a concentração foi de 3,0 g/l, para o Mycoshield a concentração usada foi de 2,0 g/l e para o Fegatex a concentração foi de 3,0 ml/l.

O controle de plantas daninhas foi obtido com capinas manuais realizado duas vezes: uma aos 15 dias após a emergência e outra realizada aos 25 dias, mantendo assim a cultura livre da influência negativa da matocompetição.

No decorrer dos experimentos, foram realizadas avaliações diárias do estado de desenvolvimento da cultura, bem como a tomada de medidas a fim de não haver a interferência de outras variáveis que pudessem atrapalhar o desenvolvimento dos experimentos, tais como o ataque de insetos.

A colheita foi realizada de forma manual, linha por linha, sendo cada uma acondicionada em sacos plásticos com capacidade de 50 l. Após a colheita, a “debulha” ou processo de trilha das linhas colhidas foi também de forma manual. Posteriormente, os grãos de cada linha foram acondicionados em sacos plásticos para 2,0 kg. Os restos culturais e resíduos gerados do processo de trilha dos grãos foram incinerados.

As análises foram germinação em GERBOX, emergência das plântulas aos 10 dias após a sementeira, peso de 100 grãos e produtividade de cada tratamento.

## **6.3 – Resultados e Discussão**

### **6.3.1 - Efeitos do tratamento de sementes e pulverizações foliares.**

Na germinação dos tratamentos, onde as sementes foram submetidas à imersão, não foi observado prejuízos estatisticamente significativos em nenhum dos tratamentos utilizados. Os testes de germinação foram aplicados às sementes utilizadas nos dois tratamentos, tendo em vista a utilização do mesmo lote de sementes para as duas



situações. Os valores médios de germinação para os tratamentos denominados como controle, MSt, AMt, 500t e FGt foram de 99 %, 96 %, 98 %, 93 % e 97 % respectivamente (Tabela 1).

A emergência no experimento foi influenciada negativamente na maioria dos tratamentos de sementes, exceto nas sementes tratadas com o Fegatex, sendo significativa em relação ao controle ao nível de 5% pelo Teste de Tukey. Na repetição do experimento não foi observada a mesma tendência. Isso sugere que não há danos relacionados à emergência das sementes quando submetidas aos tratamentos.

Em relação às produtividades e pesos de 100 grãos, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, mantendo a mesma tendência quando o experimento foi repetido, indicando que os tratamentos com os produtos utilizados não foram efetivos na erradicação da Cff, concordando com os resultados obtidos por Estefani e colaboradores (2007).

**Tabela 1** - Efeitos dos tratamentos químicos de semente de feijão na germinação, emergência, produtividade e peso de 100 grãos

Tratamento	Experimento			
	Germinação (%)	Emergência (%)	Produtividade kg/ha(sc/ha)	Peso de 100 grãos (g)
Controle	99 a	67 a	2151,54 (35,80) a	24,51 a
MS (pulver.)	-	70 a	2116,87 (35,28) a	24,05 a
MS (trat. + pulver.)	96 a	59 b	2418,71 (40,31) a	24,31 a
MS (só trat.)		55 b	2174,00 (36,23) a	24,15 a
AM (pulver.)	-	69 a	2193,40 (35,55) a	23,77 a
AM (trat. + pulver.)	98 a	61 b	1819,91 (30,33) a	23,09 a
AM (só trat.)		61 b	2190,28 (36,50) a	24,43 a
500 (pulver.)	-	70 a	2287,14 (38,11) a	25,23 a
500 (trat. + pulver.)	93 a	51 b	2523,12 (42,05) a	24,76 a
500 (só trat.)		55 b	2305,20 (38,42) a	24,67 a
FG (pulver.)	-	70 a	2185,50 (36,40) a	25,45 a
FG (trat.+ pulver.)	97 a	64 a	2050,93 (34,18) a	24,57 a
FG (só trat.)		70 a	2118,28 (35,30) a	24,31 a

500 = Agrimaicim 500 4,0 g/ l de água; AM = Agrimicina a 3,0 g/l; MS = Mycoshield a 2,0 g/l e FG = Fegatex a 3,0 ml/l. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Estes dados concordam parcialmente com trabalhos anteriores relacionados com técnica similar. Estefani *et al.* (2007) obtiveram os resultados para a embebição de sementes de feijoeiro cv. Pérola embebidos, apenas, em água entre 30 min e 2 h não afetou a germinação, sendo relatado diferenças na germinação, quando as sementes foram submetidas a diferentes concentrações do produto comercial Agrimaicin<sup>®</sup> 500, em diferentes tempos de embebição.

A concentração e o tempo de embebição das sementes em solução de Agrimaicin 500 influenciaram no vigor das sementes. Embebição em solução com 10 g do produto/ L de água por 1 e 2 h, reduziu significativamente a germinação quando comparada com a testemunha, na embebição em água e a embebição em solução com 5 g do produto/ L de água por 30 min, não foi observado diferença estatística na germinação (Estefani *et al.*, 2007).

É importante ressaltar que estes dados reforçam a importância da utilização de sementes sadias, mostrando que nenhuma técnica de controle, ou mesmo aplicação de produtos químicos, supera uma semente sabidamente de qualidade e livre de patógenos.

Esta redução do peso da matéria seca é relatada em outros trabalhos para esta doença. Maringoni (2002) em trabalho calculando a redução da matéria seca da parte aérea devido à colonização por *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, foi constatada a redução da ordem de 69,2 a 80,7 %, para as cultivares suscetíveis, e de 44,1 a 50,7%, para as cultivares resistentes. A menor redução de matéria seca nas cultivares resistentes, quando inoculadas com Cff, indicou a existência de um provável mecanismo de resistência que dificultou e/ou retardou a colonização dos vasos do xilema pela bactéria.

Não existem relatos sobre o comportamento de sementes de feijão submetidos a tratamentos por embebição relacionados com a sua influência no peso da matéria seca.

Os dados aqui apresentados não mostram efeito significativo dentro dos parâmetros avaliados. Estas observações são inéditas e sugerem que, mesmo sendo observado em trabalhos anteriores um controle efetivo devido a este tipo de tratamento, ainda há uma necessidade de maiores estudos que possam aprimorar a técnica, bem como melhor avaliá-la, utilizando outras variáveis como parâmetros de comparação.

Por outro lado é possível observar uma diferença considerável em números absolutos com um rendimento maior nos tratamentos com os produtos Agrimaicin 500 e Mycoshield. Esta diferença foi de aproximadamente 15% superior para os tratamentos quando comparados ao controle com utilização de sementes não tratadas.

Não havendo diferença estatística significativa entre os tratamentos, tais dados observados sugerem que o tratamento com estes produtos é ineficiente, da maneira que foi utilizado, necessitando de uma maior quantidade de ensaios experimentais para sua avaliação mais precisa.

A ineficiência em estratégias de controle para esta doença não são relatos inéditos. Trabalhos realizados por Soares *et al.* (2004) mostraram a ineficiência do acibenzolar-S-methyl no controle da Murcha de *Curtobacterium*, apesar da constatação de que o produto aumentou a atividade da peroxidase na folha e no caule, e da polifenoloxidase e proteínas totais solúveis no caule das plantas de feijoeiro, podendo indicar que outros mecanismos ou compostos estariam envolvidos na ativação da resistência das plantas neste patossistema.

## **Referências Bibliográficas**

Baker, K. F.; Smith, S. H. **Dynamics of seed transmission of plant pathogens.** Annual Review of Phytopathology, v. 4, p. 311-334, 1966.

Brasil. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Brasília, 1992. 365p.

Estefani, R. C. C.; Miranda Filho, R. J.; Uesugi, C. H.; **Tratamentos térmico e químico de sementes de feijoeiro: eficiência na erradicação de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* e efeitos na qualidade fisiológica das sementes**. Fitopatologia Brasileira, v. 32, p. 434-438, 2007.

Fancelli, A. L.; Dourado Neto, D. **Produção de Feijão**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 385p.

Maringoni, A. C. **Comportamento de cultivares de feijoeiro comum à murcha-de-*Curtobacterium***. Fitopatologia Brasileira, v. 27, p. 157-162, 2002.

Neergaard, P. **Seed Pathology**. London: Macmillan v. 1 p. 715-721, 1979.

Popinigis, F. **Fisiologia da Semente**. 2º Ed. Brasília: [S. N.], 1985. 289p.

Soares, R. M.; Maringoni, A. C.; Lima, G. P. P. **Ineficiência de acibenzolar-S-methyl na indução de resistência de feijoeiro à murcha de *Curtobacterium***. Fitopatologia Brasileira, v. 29, p. 373-377, 2004.

Vieira, E. H. N.; Rava, C. A. **Sementes de feijão: Produção e tecnologia**. Santo Antonio de Goiás EMBRAPA arroz e feijão, 2000. 270p.

## ANEXOS

### 1 – Aspectos gerais da Murcha de *Curtobacterium* em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) na Região do DF e Entorno.

Cidade Ocidental  
GO



Cabeceiras  
GO



Formosa  
GO



Água Fria  
GO



Serra Bonita  
GO



Brasília  
DF



## 2 – Análise química do solo da área experimental dos ensaios de campo.

### RESULTADOS DE ANÁLISES DE SOLO TIPO: *Química Básica*

Interessado: Reinaldo José de Miranda Filho  
Propriedade: Estação Experimental de Biologia da UNB  
Município: Brasília - DF  
Data do recebimento da amostra: 10 / 06 / 08  
Data da coleta: 10 / 06 / 08  
Responsável pela coleta: O Interessado  
Código da Hidrosolo: 40  
Amostra (N.º): Experimento Campo EEB-UnB

PARÂMETRO	RESULTADO
pH em água ( 1:2,5 )	<b>5,2</b>
MO ( g/ Kg )	<b>11</b>
Fósforo Extraível ( mg / dm <sup>3</sup> )	<b>5,8</b>
Potássio Extraível ( c mol <sub>C</sub> /dm <sup>3</sup> )	<b>0,62</b>
Cálcio Extraível(c mol <sub>C</sub> /dm <sup>3</sup> )	<b>3,6</b>
Magnésio Extraível (c mol <sub>C</sub> /dm <sup>3</sup> )	<b>1,8</b>
Alumínio Trocável (c mol <sub>C</sub> /dm <sup>3</sup> )	<b>0,1</b>
Acidez Potencial (c mol <sub>C</sub> /dm <sup>3</sup> )	<b>15,7</b>
Capacidade de Troca Catiônica Efetiva (c mol <sub>C</sub> /dm <sup>3</sup> )	<b>6,0</b>
Capacidade de Troca Catiônica Total (c mol <sub>C</sub> /dm <sup>3</sup> )	<b>21,7</b>
Saturação de Bases (% V)	<b>27</b>

OBS: Estes resultados refletem exclusivamente as características da amostra coletada e enviada ao laboratório pelo cliente.

**Formosa, 16 de Junho de 2008.**  
“Terra Analisada, Safra Garantida”  
“16 Anos a Serviço da Química Agrícola e Ambiental.”

Responsável Técnico: Romino Batista Ornelas  
MsC Química Analítica

### 3 – Dados originais dos ensaios de campo (capítulo 5)

#### 3.1- Efeitos da Murcha de *Curtobacterium* no Feijoeiro em Cultivo das Águas (Dados originais).

##### 3.1.1 – Quantidade de folhas trifolioladas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) aos 20 e 30 dias após a inoculação (DAI) com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

Plantas	Quantidade de folhas trifolioladas S1		Plantas	Quantidade de folhas trifolioladas D1	
	20 DAI	30 DAI		20 DAI	30 DAI
1	5	13	1	3	14
2	6	7	2	5	8
3	4	11	3	4	6
4	4	9	4	4	11
5	5	8	5	6	11
6	5	13	6	6	6
7	3	11	7	5	6
8	5	12	8	4	5
9	4	12	9	4	10
10	6	10	10	5	7
<b>Média</b>	<b>4,7</b>	<b>10,6</b>	<b>Média</b>	<b>4,6</b>	<b>8,4</b>

Plantas	Quantidade de folhas trifolioladas S2		Plantas	Quantidade de folhas trifolioladas D2	
	20 DAI	30 DAI		20 DAI	30 DAI
1	3	9	1	6	8
2	3	9	2	4	8
3	5	9	3	7	0
4	4	11	4	6	6
5	6	10	5	5	10
6	5	12	6	3	5
7	5	17	7	4	10
8	6	15	8	3	6
9	5	13	9	5	7
10	6	14	10	4	5
<b>Média</b>	<b>4,8</b>	<b>11,9</b>	<b>Média</b>	<b>4,7</b>	<b>6,5</b>

Plantas	Quantidade de folhas trifolioladas S3		Plantas	Quantidade de folhas trifolioladas D3	
	20 DAI	30 DAI		20 DAI	30 DAI
1	3	7	1	7	10
2	4	9	2	6	7
3	6	16	3	5	7
4	5	10	4	5	10
5	5	10	5	5	7
6	5	8	6	4	8
7	6	10	7	4	9
8	3	10	8	5	8
9	5	15	9	3	0
10	6	11	10	4	8
<b>Média</b>	<b>4,8</b>	<b>10,6</b>	<b>Média</b>	<b>4,8</b>	<b>7,4</b>

### 3.1.2 – Quantidade final de vagens de feijão (*Phaseolus vulgaris*) por planta.

Plantas	Quantidade de Vagens no final do ciclo			Plantas	Quantidade de Vagens no final do ciclo		
	S1	S2	S3		D1	D2	D3
1	13	19	17	1	3	11	16
2	11	15	11	2	5	5	8
3	14	14	18	3	13	0	3
4	8	12	15	4	9	8	5
5	13	13	11	5	10	3	8
6	14	12	11	6	8	5	5
7	13	14	25	7	9	1	9
8	11	15	8	8	12	4	6
9	9	11	12	9	3	0	0
10	10	10	11	10	7	5	5
<b>Média</b>	<b>11,6</b>	<b>13,5</b>	<b>13,9</b>	<b>Média</b>	<b>7,9</b>	<b>4,2</b>	<b>6,5</b>

### 3.1.3 – Produtividade final de feijão (*Phaseolus vulgaris*) por parcela; Peso final da parte aera de plantas de feijão por parcela; Massa final dos grãos de feijão por parcela.

#### Peso Final da Matéria Seca (g)

S1	650
S2	560
S3	640
<b>Média</b>	<b>616,7</b>

#### Peso Final da Matéria Seca (g)

D1	220
D2	220
D3	150
<b>Média</b>	<b>196,7</b>

#### Peso Final dos Grãos (g)

S1	350
S2	260
S3	340
<b>Média</b>	<b>316,7</b>

#### Peso Final dos Grãos (g)

D1	130
D2	120
D3	40
<b>Média</b>	<b>96,7</b>

#### Peso de 100 Grãos (g)

S1	26,2
S2	25,4
S3	25,8
<b>Média</b>	<b>25,8</b>

#### Peso de 100 Grãos (g)

D1	18,45
D2	16,78
D3	16,39
<b>Média</b>	<b>17,2</b>



### 3.2 - Efeito da Murcha de *Curtobacterium* no Feijoeiro em Cultivo de Inverno (irrigado) (Dados originais).

#### 3.2.1 – Quantidade de folhas trifolioladas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) aos 20 e 30 dias após a inoculação (DAI) com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

Plantas	Quantidade de folhas trifolioladas Sa1		Quantidade de folhas trifolioladas Da1	
	20 DAI	30 DAI	20 DAI	30 DAI
	1	12	18	9
2	10	18	7	15
3	11	22	4	8
4	8	14	7	16
5	6	18	8	14
6	11	22	7	12
7	12	17	7	15
8	7	18	6	16
9	11	20	9	12
10	6	18	7	11
<b>Média</b>	<b>9,4</b>	<b>18,5</b>	<b>7,1</b>	<b>13,6</b>

Plantas	Quantidade de folhas trifolioladas Sa2		Quantidade de folhas trifolioladas Da2	
	20 DAI	30 DAI	20 DAI	30 DAI
	1	5	16	8
2	5	14	4	16
3	4	16	3	8
4	4	14	8	15
5	4	13	12	16
6	7	15	11	16
7	4	20	10	12
8	6	18	7	14
9	6	16	7	12
10	5	20	7	14
<b>Média</b>	<b>5</b>	<b>16,2</b>	<b>7,7</b>	<b>14</b>

Plantas	Quantidade de folhas trifolioladas Sa3		Quantidade de folhas trifolioladas Da3	
	20 DAI	30 DAI	20 DAI	30 DAI
	1	11	16	3
2	10	18	4	14
3	5	14	6	13
4	15	22	8	12
5	13	16	6	13
6	13	20	6	14
7	2	20	8	11
8	8	14	8	12
9	7	18	7	14
10	7	16	5	11
<b>Média</b>	<b>9,1</b>	<b>17,4</b>	<b>6,1</b>	<b>12,8</b>

Quantidade de folhas trifolioladas  
Ssa1

20 DAI	30 DAI
6	14
8	12
8	10
11	13
12	14
11	13
5	15
7	14
7	12
8	13
<b>8,3</b>	<b>13</b>

Quantidade de folhas trifolioladas  
Dsa1

20 DAI	30 DAI
3	5
4	8
4	7
3	5
4	5
6	10
5	10
7	12
5	11
3	6
<b>4,4</b>	<b>7,9</b>

Quantidade de folhas trifolioladas  
Ssa2

20 DAI	30 DAI
7	14
7	10
6	14
7	12
7	12
7	8
8	9
5	10
5	14
5	12
<b>6,4</b>	<b>11,5</b>

Quantidade de folhas trifolioladas  
Dsa2

20 DAI	30 DAI
5	15
6	10
7	15
6	9
5	11
8	8
5	9
7	7
6	8
7	7
<b>6,2</b>	<b>9,9</b>

Quantidade de folhas trifolioladas  
Ssa3

20 DAI	30 DAI
4	14
6	12
5	10
5	10
4	14
6	12
4	14
4	10
5	14
5	14
<b>4,8</b>	<b>12,4</b>

Quantidade de folhas trifolioladas  
Dsa3

20 DAI	30 DAI
6	10
7	12
7	8
4	7
5	12
11	12
7	8
6	7
7	10
7	12
<b>6,7</b>	<b>9,8</b>

### 3.2.2 – Quantidade final de vagens de feijão (*Phaseolus vulgaris*) por planta.

Plantas	Quantidade de Vagens no final do ciclo			Quantidade de Vagens no final do ciclo		
	Sa1	Sa2	Sa3	Ssa1	Ssa2	Ssa3
1	32	14	28	14	11	6
2	29	7	32	6	19	7
3	15	19	36	18	11	10
4	9	12	23	10	14	8
5	12	15	3	5	12	12
6	31	18	29	4	20	14
7	20	17	15	8	10	5
8	13	14	19	4	9	8
9	12	17	17	6	15	13
10	32	9	30	5	12	4
<b>Média</b>	<b>20,5</b>	<b>14,2</b>	<b>23,2</b>	<b>8</b>	<b>13,3</b>	<b>8,7</b>

Plantas	Quantidade de Vagens no final do ciclo			Quantidade de Vagens no final do ciclo		
	Da1	Da2	Da3	Dsa1	Dsa2	Dsa3
1	14	1	0	1	10	2
2	8	6	7	0	0	11
3	14	12	10	3	6	2
4	8	6	2	0	2	2
5	8	10	7	6	0	3
6	7	4	26	7	9	0
7	10	15	6	1	9	4
8	12	13	6	8	3	2
9	15	13	21	2	3	3
10	8	12	9	8	2	2
<b>Média</b>	<b>10,4</b>	<b>9,2</b>	<b>9,4</b>	<b>3,6</b>	<b>4,4</b>	<b>3,1</b>

**3.2.3 – Produtividade final de feijão (*Phaseolus vulgaris*) por parcela; Peso final da parte aera de plantas de feijão por parcela.**

Peso Final da Matéria Seca (g)	
Sa1	1840
Sa2	1270
Sa3	2210
<b>Média</b>	<b>1773,3</b>

Peso Final da Matéria Seca (g)	
Da1	940
Da2	500
Da3	690
<b>Média</b>	<b>710,0</b>

Peso Final da Matéria Seca (g)	
Ssa1	700
Ssa2	1510
Ssa3	1440
<b>Média</b>	<b>1216,7</b>

Peso Final da Matéria Seca (g)	
Dsa1	490
Dsa2	250
Dsa3	500
<b>Média</b>	<b>413,3</b>

Peso Final dos Grãos (g)	
Sa1	780
Sa2	630
Sa3	950
<b>Média</b>	<b>786,7</b>

Peso Final dos Grãos (g)	
Da1	410
Da2	230
Da3	320
<b>Média</b>	<b>320,0</b>

Peso Final dos Grãos (g)	
Ssa1	255
Ssa2	590
Ssa3	465
<b>Média</b>	<b>436,7</b>

Peso Final dos Grãos (g)	
Dsa1	190
Dsa2	60
Dsa3	120
<b>Média</b>	<b>123,3</b>

**3.3 - Efeito da Murcha de *Curtobacterium* no Feijoeiro em Cultivo das Águas em Sucessão (Dados originais).**

**3.3.1 – Produtividade final de feijão (*Phaseolus vulgaris*) por parcela; Peso final da parte aera de plantas de feijão por parcela.**

Tratamentos	Matéria Seca (g)	Média (g)	Produção final (g)	Média (g)
1	550		275	
2	590	660,00	275	316,67
6	840		400	
4	890		460	
5	1020	1096,67	550	570,00
3	1380		700	
7	1200		525	
11	1180	1073,33	510	478,33
9	840		400	
10	1300		625	
8	1300	1326,67	600	638,33
12	1380		690	