



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

AValiação de Resistência de Feijoeiro

A Curtobacterium flaccumfaciens pv. flaccumfaciens

Bruno E. Pires^{1a}; Margarida F. Ito^{1b}; Alisson F. Chiorato^{1b}; Sérgio A. M. Carbonell^{1b};
Antonio C. Maringoni^{2b}

¹Instituto Agronômico, IAC; ² Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP; ³Fundação Educacional de Ituverava, FAFRAM

Nº 13104

RESUMO - A ocorrência de doenças é uma das principais causas de redução da produtividade do feijoeiro. A murcha de *curtobacterium*, causada pela bactéria *Curtobacterium flaccumfaciens pv. flaccumfaciens*, encontra-se já com distribuição preocupante no Brasil, especialmente nas regiões produtoras de feijão com temperaturas mais elevadas, com clima favorável ao desenvolvimento dessa doença. A bactéria *C. flaccumfaciens pv. flaccumfaciens* coloniza o sistema vascular impedindo a translocação da seiva, causando a murcha. Este trabalho teve o objetivo de avaliar genótipos de feijoeiro, de tegumentos tipo carioca e tipo preto, quanto à resistência ao patógeno *C. flaccumfaciens pv. flaccumfaciens*. Foram avaliados 429 genótipos do banco de germoplasma do Instituto Agronômico (IAC) e 105 genótipos (24,47%) apresentaram resistência. O trabalho foi desenvolvido em casa de vegetação.

Palavras-chaves: Bactéria, Murcha-de-curtobacterium, *Phaseolus vulgaris* (L.)

^a Bolsista CNPq PIBIC: Graduação em 2013, ferrari_elo@hotmail.com, ^b Pesquisador Produtividade em Pesquisa CNPq, mfito@iac.sp.gov.br; afchiorato@iac.sp.gov.br; carbonell@iac.sp.gov.br; maringoni@fca.unesp.br,



ABSTRACT - The diseases occurrence is one of the main causes of bean productivity reduction. The curtobacterium wilt, caused by the bacterium *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, is already worrying distribution in Brazil, especially in regions with higher temperatures, with favorable climate for the development of this disease. The *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* bacterium colonizes the vascular system by preventing the sap translocation, causing wilting. The purpose of this work was to evaluate bean lineages of black seed coat type and carioca type as pathogen resistance shall *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. four hundred twenty-nine genotypes were evaluated from Instituto Agronômico (IAC) germplasm bank, one hundred and five (24,47%) were resistant to *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. The work was developed in greenhouse conditions. The aim of this work was to obtain bean genotypes with resistance to pathogen.

Key-words: Bacteria, curtobacterium wilt, *Phaseolus vulgaris* (L.)

1 INTRODUÇÃO

O cultivo do feijoeiro representa importante atividade na agricultura brasileira, sendo o Brasil um dos maiores produtores e consumidores mundiais dessa leguminosa. A área ocupada com feijão é de aproximadamente 3.064.700 ha com uma produção de 2.986.700 t e uma produtividade média de 974 kg.ha⁻¹ (CONAB, 2013).

No Estado de São Paulo, a área ocupada com feijoeiro é de 133.600 ha⁻¹ com produção em torno de 243.100 t (CONAB, 2013). Na região sudeste encontra-se os maiores produtores brasileiros, tendo regiões com três cultivos anuais, o que permite a sobrevivência de patógenos (BERTOLDO et al., 2009) e as perdas na produção podem chegar a 15% (MENTEN, 2008).

O clima tropical propicia o desenvolvimento de doenças causadas por bactérias e fungos. Dentre as injúrias bacterianas destaca-se a murcha-de-curtobacterium, causada por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (HEDGES, 1922; COLLINS, JONES 1983), que foi descoberta nos Estados Unidos da América, no estado de Dakota do Sul, conforme Hedges (1922), e no Brasil foi relatada no ano de 1995 no estado de São Paulo (MARINGONI, ROSA, 1997), posteriormente essa doença foi encontrada em varias localidades produtoras de feijão do país, como Santa Catarina e Paraná (LEITE JUNIOR et al., 2001), Distrito Federal (UESUGI et al., 2003), o que indica a grande adaptabilidade do patógeno ao hospedeiro em diferentes ambientes. Em 2010, Valentini et al. (2010) identificaram a doença em outras regiões produtoras.



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013 13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

Os sintomas podem aparecer em todas as partes da planta acima do solo, iniciando-se geralmente em reboleiras, podendo levá-la à morte ou retardar seu crescimento, resultando em queda na produtividade. Devido à bactéria *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* se instalar nos vasos do xilema, degenerando-os e provocando falha no transporte da seiva, ocorre a murcha gradual das folhas, principal característica da doença, seguida de áreas amareladas e irregulares, que se iniciam na margem da folha, causando necrose no tecido parenquimático (HEDGES, 1926).

Visto que a bactéria sobrevive e é transmitida por sementes (SATTLER; PERRY, 1972), tem-se recomendado o emprego de sementes sadias, rotação de culturas e cultivares resistentes, como as práticas de manejo mais indicadas para o controle do patógeno.

Este trabalho objetivou avaliar a reação de 429 genótipos de feijoeiro a *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, em casa de vegetação e detectar fontes de resistência a essa bactéria.

2 MATERIAL E MÉTODO

O método utilizado foi baseado em Maringoni (2002). O ensaio foi realizado a partir do dia cinco de outubro de 2012, em casa de vegetação, no Centro Experimental de Campinas, no Instituto Agrônomo (IAC), em Campinas, SP.

Foi avaliada a reação de 429 genótipos de feijoeiro à bactéria *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, através da inoculação de plantas de feijoeiro com o isolado dessa bactéria (Feij - 14627 de colônia cor amarela, cedida por Maringoni/UNESP/BOTUCATU).

As plântulas foram cultivadas em vasos contendo o volume aproximado de 2L de substrato autoclavado, constituído de mistura de terra, esterco de curral curtido e areia grossa lavada (1:2:1), além de adubo químico e calcário dolomítico (TORRES; MARINGONI, 1999).

Foram mantidas duas plantas por vaso e no estágio entre V3 e V4 as plântulas foram inoculadas, através de duas punções no caule, entre as folhas cotiledonares e as primárias, com uma agulha previamente umedecida na colônia, desenvolvida em meio de cultura NA (meio Nutriente Sacarose Ágar), durante 72 h a 28° C, em estufa incubadora.

No tratamento testemunha, as plantas de feijoeiro da cultivar IAC Formoso sofreram punções com agulha previamente umedecida na colônia bacteriana, como testemunha positiva e com água destilada e esterilizada, como testemunha (Figura 1).



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

Após a inoculação, as plântulas foram mantidas em condições de casa de vegetação, com controle parcial de temperatura entre 27° C a 32° C, porém atingindo no horário mais quente do dia a temperatura máxima de 40 °C e a umidade relativa entre 70% a 90%. A parcela experimental foi constituída por um vaso contendo duas plantas, com quatro repetições. As plantas foram irrigadas diariamente e pulverizadas semanalmente com defensivos agrícolas registrados para a cultura, visando ao controle da mosca branca *Bemisia tabaci* e outras pragas secundárias.

Os sintomas da doença foram avaliados aos 25 dias após a inoculação, através da adaptação da escala de notas empregada para a murcha-de-fusarium, recomendada pelo CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical), descrita por Shoonhven, Pastor Corrales (1987), que se segue: 0 = sem sintomas de doença; 1 = sintoma de mosaico nas folhas; 2 = muito poucas folhas murchas (1 a 3 folhas, menos de 10% das folhas da planta); 5 = aproximadamente 25% de folhas apresentando murchas e amarelecimento; 7 = aproximadamente 50% de folhas murchas, amarelecimento e necrose de folíolos, plantas com nanismo; 9 = 75% ou mais de folhas com murcha e/ou necrose, queda prematura de folhas, nanismo severo e ou morte da planta (Figura 2).

As reações de resistência e de suscetibilidade foram consideradas respectivamente, para notas médias de severidade até 2 e superiores a 2,1.



Figura 1. Inoculação da bactéria *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro. (1) Plântulas aos nove dias após a emergência. (2) Isolado de *C. flaccumfaciens* pv. *flaacumfaciens* em meio de cultura NA, com 72 horas de idade. (3) Contaminação de agulha com a bactéria. (4) Inoculação da bactéria através da punção do caule, entre a folha primária e o nó cotiledonar.



Figura 2. Representação da escala de notas de 1 a 9, usada na avaliação da reação de genótipos de feijoeiro comum à bactéria *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os 429 genótipos de feijoeiro avaliados, 105 (24,47%) apresentaram resistência à bactéria.

Aos 21 dias após inoculação (DAI), todos os genótipos suscetíveis tiveram nota média de severidade acima de dois, mesmo aquelas que se mostraram como “resistente”, até aos 14 DAI. Esse resultado corrobora com Theodoro; Maringoni (2006), que indicaram que avaliações precoces podem mascarar o comportamento de genótipos perante *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, e que o período para proceder as avaliações da murcha-de-curtobacterium em genótipos de feijoeiro deve estender-se pelo menos até os 20 DAI.

Foi comprovado neste ensaio que os sintomas apresentados na planta de feijoeiro infectada com *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* apresentam-se com maior severidade em altas temperaturas, segundo a citação de Saettler (1991), que a murcha-de-curtobacterium é favorecida por temperaturas acima de 32°C e o maior desenvolvimento da doença é a 37°C.

Os dados observados neste trabalho comprovam a alta suscetibilidade da maioria dos genótipos de feijoeiro avaliados quanto à murcha-de-curtobacterium (Figura 3). Este fato indica uma grave ameaça à cultura do feijoeiro comum no Brasil, pois essa doença poderá se tornar problemática para cultivares suscetíveis, em condições favoráveis à ocorrência de epidemias em campo (Maringoni, 2000).

A procura por fontes de resistência a *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* tem sido realizada por diversas instituições de pesquisa no Brasil. Rava et al. (2003) identificaram os materiais 'CF800375', 'Coquinho Enxofre', 'Feijão Baetão', 'Mulatinho MG' e 'Vermelho 1 Epamig' como resistentes a *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, entre 333 cultivares locais coletados em sete estados brasileiros.

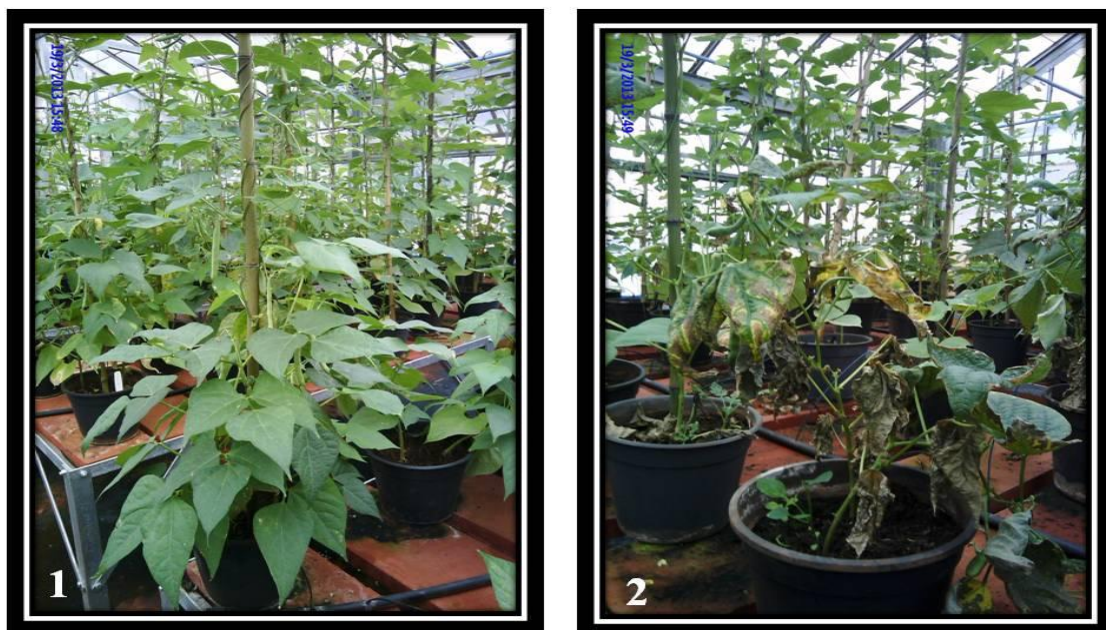


Figura 3. Reação de feijoeiro à inoculação de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. (1) Cultivar Alvorada x C6-9-10-1, resistente. (2) Genótipo VCU C4-7-7-2-2, suscetível.

4 CONCLUSÕES

Cento e cinco genótipos de feijoeiro (24,47%) são resistentes a *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*: Pr-11-2-8-1-1; Diplomata; IAC Alvorada; F8 58/46-1-2-2-2/3; Gen 06 C5-5-4 x Alvorada; Gen 06 C5-5-4 x Alvorada; Colibri x P5-4-4-1; Alvorada x C6-9-10-1; Colibri x P5-4-3-1; Alvorada x Branquinho; LP02-02 x Alvorada; Alvorada x C6-9-10-1; Alvorada x Colibri; Colibri x P5-4-3-1; Alvorada x C6-9-10-1; Colibri x P5-4-3-1; C4-8-2-2 x Colibri; P5-3-9-2 x



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013

13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

Colibri; Alvorada x Colibri; Alvorada x C6-9-10-1; Gen C2-1-1 x Alvorada; Alvorada x Branquinho; Branquinho x Gen 05 P5-4-3-1; P5-3-9-2 x Colibri; Alvorada x C6-9-10-1 e P12-1-11-1 x LP04-72; Pr15-5-15-1 x LP 0472; Alvorada x C6-9-10-1; P5-3-9-1 x Colibri; Alvorada x C6-9-10-1; Gen 05 C2-2-8-1 x Alvorada; Gen C2-1-1 x Alvorada; P12-1-11-1 x LP04-72; P5-3-9-2 x Colibri; Alvorada x C6-9-10-1; Colibri x P5-4-3-1; Gen C2-1-1 x Alvorada; Alvorada x C6-9-10-1; Pr15-3-4-1 x Argentino; Pr15-3-4-1 x Argentino; Pr15-3-4-1 x Argentino; Pr15-3-4-1 x Argentino; Pr15-3-4-1 x Argentino; Pr15-3-4-1 x Argentino; Pr15-5-15-1 x LP 0472; Pr15-5-15-1 x LP 0472; Pr15-3-4-1 x Argentino; Uirapuru x (Una x XAN 251); Pr15-3-4-1 x Argentino; Pr15-3-4-1 x Argentino; (Una x XAN 251) x Diplomata; (Una x XAN 251) x Diplomata; Pr15-3-4-1 x Argentino; Pr15-3-4-1 x Argentino; Diplomata x (Una x XAN 251); P12-1-11-1 x LP04-72; Pr15-5-15-1 x LP 0472; Pr15-5-15-1 x LP 0472; Pr15-3-4-1 x Argentino; (Una x Argentino) x Diplomata; Diplomata x LP04-72; P12-1-11-1 x LP04-72; Una x LP04-72; (Una x XAN 251) x Diplomata; Una x LP04-72; Pr15-3-4-1 x Argentino; Una x LP04-72; Una x LP04-72; Una x LP04-72; P12-1-11-1 x LP04-72; Diplomata x LP04-72; Pr15-5-15-1 x LP 0472; Una x LP04-72; Pr15-5-15-1 x LP 0472; Una x LP04-72; AC1794 x Alvorada; (Una x XAN 251) x Diplomata; Una x LP04-72; Una x LP04-72; Una x LP04-72; Uirapuru x (Una x XAN 251); Una x LP04-72; Pr15-3-4-1 x Argentino; Una x LP04-72; Pr15-3-4-1 x Argentino; Una x LP04-72; ; Pr15-5-15-1 x LP 0472; P11-5-9-1 x Una; Una x LP04-72; (Una x Argentino) x Diplomata; Una x LP04-72; (Una x Argentino) x Diplomata; Diplomata x (Una x Argentino); Pr15-3-4-1 x Argentino; Diplomata x LP04-72; Pr15-5-15-1 x LP 0472; (Una x Argentino) x Diplomata; P11-5-9-1 x Uma; Pr15-3-4-1 x Argentino; Pr15-3-4-1 x Argentino; Diplomata x LP04-72; Pr15-3-4-1 x Argentino.

Há entre as populações avançadas de feijoeiro, do Programa de melhoramento genético de feijoeiro do Instituto Agrônomo (IAC), material com boa resistência a *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

As cultivares de feijão Alvorada e Colibri são boas fontes de genes de resistência a *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.

5 AGRADECIMENTO

Ao CNPq, pela bolsa PIBIC

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bertoldo, J. G. et al. Tempo de cocção de grãos de feijão em função de doses de fósforo no plantio e do tempo de armazenamento. **Revista Biotemas**, v. 22, n. 1, p. 39-47, 2009.



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013

13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

Conab. Levantamento da safra Brasileira de grãos, Abril, 2012/13, Sétimo Levantamento, p.15. http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_04_09_10_27_26_boletim_graos_abril_2013.pdf

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

Hedges, F. A. Bacterial wilt of bean (bacterium flaccumfaciens hedges) including comparisons with bacterium phaseoli. **Phytopathology**, v. 16, n.1, p. 1-22, 1926.

Hedges, F. A. Bacterial wilt of bean caused by bacterium flaccumfaciens nov. sp. **Science**, **55** (1425), p. 433-434, 1922.

Leite Junior, R. P. et al. Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro no Paraná e Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**, 2 (Suplemento) 303, 2001.

Menten, J. O. Importância de novos defensivos agrícolas no manejo de doenças no feijoeiro. **Anais do Congresso Nacional de Pesquisa de Feijão**, Campinas, Brasil, p.957-960, 2008

Maringoni, A.C. Caracterização de isolados de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* e avaliação da resistência de cultivares de feijoeiro comum à murcha-de-Curtobacterium. **(Tese de Livre-Docência)**. Botucatu. Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP. 2000.

Maringoni, A.C. Comportamento de cultivares de feijoeiro comum à Murcha-de-Curtobacterium. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 2, 2002.

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

Rava, C. A.; Costa, J. G. C.; Fonseca, J. R.; Salgado, A. L. Fontes de resistência à antracnose, cretamentobacteriano-comum e murcha-de-curtobacterium em coletas de feijoeiro comum. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 50, n. 292, p. 97-802, 2003.

Saettler, A.W.; Perry, S.K. Seed-transmitted bacterial diseases in Michigan navy (pea) beans, *Phaseolus vulgaris*. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v.56, n.5, p.378-381, 1972.

Saettler, A.W. Bacterial wilt. In: Hall, R. (Ed.) **Compendium of bean diseases**. St.Paul: APS Press, 1991. p.31.

Schoonhoven, A. van, Pastor-Corrales, M.A. Sistema estándar para la evaluacion de germoplasma de frijol. Cali. **Centro Internacional de Agricultura Tropical**. 1987

Theodoro, G. F.; Maringoni, A. C. Murcha-decurtobacterium no Estado de Santa Catarina e reação de genótipos a *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 1, p. 34-41, 2006a.

Uesugi, C. H.; Freitas, M. A.; Menezes, J. R. Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro, em Goiás e no Distrito Federal. **Fitopatologia Brasileira**, 28 (3): 324, 2003.

Valentini, G.; Guidolin, A.F.G.; Baldissera, J.N. da C.; Coimbra, J.L.M. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*: etiologia, detecção e medidas de controle. **Revista Biotemas**, v.23, p.1-8, 2010.