

LUANA LAURINDO DE MELO

NICHOS DE SOBREVIVÊNCIA DE *Pseudomonas savastanoi* PV. *glycinea*, AGENTE CAUSAL DO CRESTAMENTO BACTERIANO DA SOJA (*Glycine max* L.)

Botucatu

2022

LUANA LAURINDO DE MELO

NICHOS DE SOBREVIVÊNCIA DE *Pseudomonas savastanoi* PV. *glycinea*, AGENTE CAUSAL DO CRESTAMENTO BACTERIANO DA SOJA (*Glycine max* L.)

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Proteção de Plantas.

Orientador: Prof. Dr. Tadeu Antônio Fernandes da Silva Júnior

Coorientadora: Dra. Daniele Maria do Nascimento

Botucatu

2022

M528n

Melo, Luana Laurindo de

Nichos de sobrevivência de *Pseudomonas savastanoi* PV. *glycinea*,
agente causal do crestamento bacteriano da soja (*Glycine max* L.) /
Luana Laurindo de Melo. -- Botucatu, 2022

77 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu

Orientadora: Prof. Dr. Tadeu Antônio Fernandes da Silva Júnior

Coorientadora: Prof. Dra. Daniele Maria do Nascimento

1. Proteção de Plantas. 2. Fitopatologia. 3. Bacteriologia Vegetal. 4.
Soja. 5. Ecologia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de
Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: NICHOS DE SOBREVIVÊNCIA DE *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*, AGENTE CAUSAL DO CRESTAMENTO BACTERIANO DA SOJA (*Glycine max* L.)

AUTORA: LUANA LAURINDO DE MELO

ORIENTADOR: TADEU ANTÔNIO FERNANDES DA SILVA JÚNIOR

COORIENTADORA: DANIELE MARIA DO NASCIMENTO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. TADEU ANTÔNIO FERNANDES DA SILVA JÚNIOR (Participação Virtual) *Tadeu Ant. do Silva Jr.*
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrômicas de Botucatu

Prof. Dr. ANTONIO CARLOS MARINGONI (Participação Virtual) *P/ Tadeu Ant. do Silva Jr.*
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrômicas de Botucatu - UNESP

Dr. RICARDO MARCELO GONÇALVES (Participação Virtual) *P/ Tadeu Ant. do Silva Jr.*
Escritório Seccional de Belo Horizonte/MG / Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA)

Botucatu, 28 de janeiro de 2022

*Aos meus amados pais, José Laurindo da
Silva (in memoriam) e Edmilda Mesquita de
Melo, dedico.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo que sou e tenho.

Ao meu grande e eterno amor, meu pai José Laurindo da Silva, que infelizmente não está mais comigo para compartilhar essa conquista, mas que sempre me apoiou em tudo.

Ao amor da minha vida, minha mãe Edmilda Mesquita de Melo, por todo apoio e amor incondicional.

Ao meu namorado Bruno Freitas Trevizo, por todo amor, carinho e companheirismo em todos os momentos.

A minha amiga e coorientadora Daniele Maria do Nascimento, pela amizade, conselhos, ajuda e apoio.

As amigas que fiz em Botucatu, Amanda Moraes e Renata Ferrari de Mello pelos momentos de companheirismo e apoio.

Aos amigos do laboratório de bacteriologia vegetal, João César da Silva e José Marcelo Soman por todo companheirismo e ajuda na realização dos trabalhos.

Aos amigos do laboratório de virologia vegetal, Marcos Ribeiro, Juliana Uzan, Angélica Nogueira, Felipe Barreto, Luiz Watanabe, Júlio Marubayashi e tantos outros que por ali passaram.

Aos amigos que fiz no departamento durante as disciplinas cursadas e durante esses dois anos.

Ao meu orientador Tadeu Antônio Fernandes da Silva Júnior pela oportunidade, confiança e ensinamentos.

A todos os professores do Departamento de Proteção Vegetal, em especial ao professor Antonio Carlos Maringoni e Renate Krause Sakate, pelo apoio e incentivo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Pseudomonas savastanoi pv. *glycinea* (Psg), agente causal do crestamento bacteriano, causa prejuízos severos à cultura da soja (*Glycine max* L.), e o conhecimento de seus nichos de sobrevivência é de elevada importância para o manejo eficiente da doença. Apesar de ser recorrente nas regiões produtoras de soja do Brasil, há poucas informações disponíveis sobre a ecologia de Psg. Desta forma, os objetivos deste trabalho foram avaliar em condições de campo: I) a sobrevivência de Psg como células livres em quatro tipos de solo; II) a sobrevivência de Psg na filosfera e rizosfera de 12 espécies de plantas cultivadas utilizadas em rotação com a soja; e em condições de casa de vegetação: III) a colonização endofítica de plantas cultivadas por Psg. Para avaliar a sobrevivência no solo, dez experimentos foram realizados e, após a infestação, as avaliações foram realizadas a cada dois dias até a não recuperação de células viáveis da bactéria. Foram conduzidos três experimentos para avaliação da sobrevivência de Psg na filosfera e rizosfera de *Avena sativa* (aveia branca), *Avena strigosa* (aveia preta), *Crotalaria juncea* (crotalária), *Glycine max* (soja), *Helianthus annuus* (girassol), *Hordeum vulgare* (cevada), *Lolium multiflorum* (azevém), *Phaseolus vulgaris* (feijão comum), *Raphanus sativus* (nabo forrageiro), *Sorghum bicolor* (sorgo), *Triticum aestivum* (trigo) e *Zea mays* (milho), com avaliações a cada sete dias, por até 70 dias. Para a colonização endofítica, dois experimentos foram conduzidos com as mesmas espécies de plantas cultivadas, com dois métodos de inoculação de Psg, com e sem ferimentos nas plantas. As avaliações ocorreram a cada 14 dias, pelo máximo de 70 dias. O isolado Soj. 1462 de Psg, patogênico à soja, e resistente a 100 µg.mL⁻¹ de rifampicina, foi utilizado em todos os experimentos, e os períodos de sobrevivência da bactéria foram confirmados por PCR com primers específicos. Nos solos, Psg apresentou uma baixa sobrevivência com períodos inferiores a dois dias, em todos os experimentos. Na filosfera, os maiores períodos de sobrevivência de Psg foram em soja (70 dias), e aveia branca, aveia preta, azevém, girassol e sorgo (35 dias). Na rizosfera, os maiores períodos de sobrevivência de Psg foram verificados para aveia branca, aveia preta, azevém, cevada, milho, soja e trigo (28 dias). Para a colonização endofítica, em plantas com ferimentos, os maiores períodos médios de sobrevivência (PMS) foram verificados em soja (70 dias), aveia branca, aveia preta e

azevém (63 dias), e sorgo (49 dias). Nas plantas inoculadas sem ferimentos, os maiores PMS foram em azevém e soja (70 dias), aveia branca e aveia preta (49 dias), e sorgo (42 dias). Com base nesses resultados, o solo não é um nicho favorável para a sobrevivência de *Psg*, assim como a rizosfera das plantas avaliadas. O cultivo de aveia branca, aveia preta, azevém, cevada, girassol, milho, sorgo e trigo em rotação/sucessão à soja, em áreas com histórico de crestamento bacteriano não é recomendado. Nessas áreas, o indicado é o plantio de crotalária, feijão comum e nabo forrageiro para redução do inóculo bacteriano.

Palavras-chave: colonização endofítica; ecologia; filosfera; rizosfera; solo.

ABSTRACT

Pseudomonas savastanoi pv. *glycinea* (Psg), the causal agent of bacterial blight, causes severe damage to soybean (*Glycine max* L.), and knowledge of the survival niches is important for the efficient management of the disease. Although it is recurrent in the soybean producing regions in Brazil, there is little information available on the ecology of Psg. Thus, the objectives of this work were to evaluate under field conditions: I) the survival of Psg as free cells in four soil types; II) the survival of Psg in the phyllosphere and rhizosphere of 12 crops used in rotation with soybean; and under greenhouse conditions: III) the endophytic colonization of Psg in crops. To evaluate the survival of Psg in the soil, ten experiments were carried out and, after soil infestation, evaluations were performed every two days until the non-recovery of viable cells of the bacterium. Three experiments were conducted to evaluate Psg survival in the phyllosphere and rhizosphere of *Avena sativa* (white oat), *Avena strigosa* (black oat), *Crotalaria juncea* (sunn hemp), *Glycine max* (soybean), *Helianthus annuus* (sunflower), *Hordeum vulgare* (barley), *Lolium multiflorum* (ryegrass), *Phaseolus vulgaris* (common bean), *Raphanus sativus* (forage turnip), *Sorghum bicolor* (sorghum), *Triticum aestivum* (wheat), *Zea mays* (maize), with evaluations every seven days for up to 70 days. For endophytic colonization, two experiments were conducted with the same crops, with two inoculation methods, with and without injuries in the plants. The evaluations took place every 14 days, for a maximum of 70 days. The strain Soj. 1462 of Psg, pathogenic to soybean, and resistant to 100 µg.mL⁻¹ of rifampicin was used in all experiments, and the survival periods of the bacterium were confirmed by PCR with specific primers. In the soils, Psg had a low survival with periods of less than two days, in all the experiments. In the phyllosphere, high survival periods of Psg were verified in soybean (for 70 days), and white oat, black oat, ryegrass, sunflower, and sorghum (for 35 days). In the rhizosphere, the highest survival periods were verified for white oat, black oat, ryegrass, barley, maize, soybean, and wheat (28 days). For endophytic colonization, in plants with injuries, the highest average survival period (ASP) were verified in soybean (70 days), white oat, black oat and ryegrass (63 days), and sorghum (49 days). In plants inoculated without injury, the highest ASP were obtained in ryegrass and soybean (70 days), white oat and black oat (49 days), and sorghum (42 days). Based on these results, the soil is not a survival niche of

Psg, as well as the rhizosphere of the evaluated crops. The cultivation of white oat, black oat, ryegrass, barley, sunflower, maize, sorghum, and wheat in rotation/succession to soybean, in areas with a history of bacterial blight is not recommended. In these areas, it is recommended the cultivation of croton, common bean and forage turnip to reduce bacterial inoculum.

Keywords: endophytic colonization; ecology; phyllosphere; rhizosphere; soil.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	Importância econômica da soja.....	17
2.2	Doenças bacterianas da cultura da soja.....	18
2.2.1	Pústula bacteriana	18
2.2.2	Mancha bacteriana marrom	20
2.2.3	Fogo selvagem	22
2.3	Crestamento bacteriano	24
2.3.1	Etiologia	25
2.3.2	Manejo.....	26
2.4	Ecologia de bactérias fitopatogênicas com ênfase em bacterioses da soja e feijão.....	27
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3.1	Isolados bacterianos, condições de cultivo e preservação.....	33
3.2	Sobrevivência de <i>Psg</i> em solo	33
3.2.1	Coleta e características dos solos	33
3.2.2	Instalação dos experimentos e processamento das amostras	34
3.3	Sobrevivência de <i>Psg</i> na filosfera e rizosfera de espécies cultivadas....	35
3.3.1	Obtenção das espécies vegetais.....	35
3.3.2	Instalação dos experimentos e processamento das amostras	35
3.4	Sobrevivência endofítica de <i>Psg</i> em plantas cultivadas.....	36
3.4.1	Instalação dos experimentos.....	36
3.4.2	Processamento das amostras	37
3.5	Dados climáticos.....	37
3.6	Delineamento experimental e análises estatísticas	38
3.7	Caracterização dos isolados de <i>Psg</i>	39
4	RESULTADOS	40
4.1	Sobrevivência de <i>Psg</i> em solo	40
4.2	Sobrevivência de <i>Psg</i> na filosfera de plantas cultivadas	43
4.3	Sobrevivência de <i>Psg</i> na rizosfera de plantas cultivadas	49
4.4	Sobrevivência endofítica de <i>Psg</i> em plantas cultivadas.....	51
5	DISCUSSÃO.....	55
6	CONCLUSÕES.....	60

REFERÊNCIAS	61
APÊNDICE A	69
APÊNDICE B	70
APÊNDICE C	71
APÊNDICE D	72
APÊNDICE E	73
APÊNDICE F	74
APÊNDICE G	75
APÊNDICE H	76
APÊNDICE I	77

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a agricultura brasileira vem se modernizando e elevando a produção de algumas culturas, principalmente de grãos. A soja (*Glycine max* L.) é o principal grão produzido no país, com grande contribuição na economia nacional. Em 2020, o Brasil se tornou o maior produtor de soja com 135,4 milhões de toneladas, em uma área de 38,5 milhões de hectares (CONAB, 2021).

A estimativa para a próxima safra é que a cultura obtenha um crescimento ainda maior, em torno de 14,2%, que representa 35,8 milhões de toneladas a mais do que na safra anterior. Além da produção, a cultura tende a aumentar também em área cultivada, com um acréscimo de 2,5%, podendo elevar a área plantada para até 39,9 milhões de hectares (CONAB, 2021).

Mesmo com esse grande avanço da soja no país, muitos fatores ainda são responsáveis por limitar a produtividade no campo. Os problemas fitossanitários podem prejudicar o desenvolvimento da cultura, levando a perdas de produtividade e prejuízos aos produtores. Ao longo dos anos foram relatadas diversas doenças na cultura e o cenário vem se modificando a cada ano, de acordo com variações climáticas, práticas agronômicas adotadas, cultivares utilizadas e adaptações e severidade de alguns patógenos (JUHÁSZ et al., 2013; GRIGOLLI, 2015).

Nematoides, vírus, fungos e bactérias são patógenos responsáveis por diversas doenças de importância econômica nas áreas de cultivo (GODOY, 2017). Na soja, assim como em outras culturas, as fitobactérias são consideradas importantes patógenos, não só pela alta incidência e severidade com que atacam suas plantas hospedeiras, mas também pela facilidade de disseminação e dificuldade de controle (ITO, 2013).

Na cultura da soja, quatro bacterioses foram relatadas até o momento no Brasil: crestamento bacteriano (*Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* - Psg); fogo selvagem (*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* - Pst); pústula bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* - Xag); e mancha bacteriana marrom (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* - Cff) (HENNING et al., 2014). Todas possuem sua importância, mas dentre estas, o crestamento bacteriano vem

sobressaindo nas áreas de cultivo. É uma doença recorrente nas regiões produtoras de soja em diversos países, incluindo o Brasil (GODOY et al., 2016).

Ainda não existem estudos sobre perdas e danos ocasionados pelo crestamento bacteriano no país, mas sabe-se que em condições de clima temperado, com temperaturas mais amenas, a doença aparece com maior severidade e seus danos podem variar de 5 a 40% na produtividade (GODOY et al., 2016).

A dificuldade de manejo eficiente do crestamento bacteriano é um fator preocupante e que possibilita o aumento de áreas com a incidência da doença (HARTMAN et al., 2016). Até o momento, existem poucos trabalhos sobre a ecologia de *Psg*, descrevendo a sobrevivência da bactéria em restos culturais remanescentes em áreas de cultivo e em sementes (NICHOLSON et al., 1973; FEET, 1979). Todavia, o conhecimento dos nichos de sobrevivência de *Psg* é essencial para o manejo eficiente do crestamento bacteriano.

Desta forma, os objetivos deste trabalho foram avaliar em condições de campo: I) a sobrevivência de *Psg* como células livres em quatro tipos de solo; II) a sobrevivência de *Psg* na filosfera e rizosfera de 12 espécies de plantas cultivadas utilizadas em rotação com a soja; e em condições de casa de vegetação: III) a colonização endofítica de plantas cultivadas por *Psg*. Essas informações serão fundamentais para a adoção de práticas de manejo mais eficientes para o crestamento bacteriano da soja.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância econômica da soja

A soja é uma planta da família Fabaceae com seu centro de origem descrito na Ásia, no nordeste da China. Por ser uma cultura de clima temperado, a soja precisou passar por melhoramento genético para iniciar sua produção em países tropicais, como o Brasil (GAZZONI, 2018).

Nos primeiros anos de produção, o interesse não era diretamente nos grãos, mas em seu cultivo como planta forrageira para a alimentação animal (HIRAKURI; LAZZAROTTO, 2014). Atualmente, no cenário agrícola mundial, a soja é o quarto produto mais consumido entre os cereais e oleaginosas, principalmente no setor industrial com a produção de óleos, sendo considerada uma grande fonte de proteína (RHODEN et al., 2020).

A versatilidade no uso de seus grãos, que tanto podem ser utilizados para a alimentação humana de forma *in natura*, quanto para a produção de biodiesel, explica a grande importância da cultura. A qualidade de sua proteína e o baixo custo relativo de sua produção a torna também uma complementação da dieta, principalmente em países em desenvolvimento (SEDIYAMA et al., 2015).

No Brasil, ao longo dos anos, a soja se tornou uma das principais *commodities*, sendo um dos produtos mais negociados nas exportações. O país é o maior exportador de grãos de soja, e exporta aproximadamente 51% da produção, seguido pelos Estados Unidos e Argentina (CONAB, 2021).

Acredita-se que o aumento nas exportações de soja surja da busca por alimentos mais saudáveis. Além disso, o alto teor de proteína de soja e o padrão de qualidade dos produtos brasileiros, permitem sua entrada em mercados altamente exigentes, como União Europeia e Japão. O aumento no consumo de carne é um fator que também contribui para a importância da soja, uma vez que a alimentação dos animais é constituída por altas quantidades do grão (PEREIRA et al., 2017).

Atualmente, o Brasil é considerado o maior produtor mundial de soja, com potencial para uma expansão de área e volume de produção, representando aproximadamente 48% dos 271,7 milhões de toneladas de grãos produzidos na

safr 2019/2020. Toda a cadeia produtiva é capaz de gerar empregos diretos e indiretos, movimentando a economia nacional (MONTTOYA et al., 2019).

2.2 Doenças bacterianas da cultura da soja

Pela alta incidência e severidade com que atacam culturas de importância agrícola, aliados à facilidade de disseminação e dificuldade de manejo, as bactérias se destacam como importantes patógenos em plantas (MARTINS et al., 2018).

Na cultura da soja, quatro doenças de etiologia bacteriana são conhecidas até o momento no Brasil: pústula bacteriana; mancha bacteriana marrom; fogo selvagem; e crestamento bacteriano. A importância de cada doença varia com a época de plantio, região produtora, cultivar utilizada e práticas agronômicas adotadas (GODOY et al., 2016; HARTMAN et al., 2016).

2.2.1 Pústula bacteriana

A pústula bacteriana, causada por Xag, é considerada uma importante bacteriose na cultura da soja em todo o mundo, sendo uma doença recorrente em países produtores como Brasil, China, Índia, Argentina e Estados Unidos (CHATNAPARAT et al., 2016). Não há estudos sobre perdas e danos causados pela doença no Brasil, mas é de conhecimento que em alta umidade, os rendimentos da cultura podem diminuir de 21 a 40% (KHAERUNI et al., 2018). Na Índia, a doença foi relatada causando reduções de produtividade de aproximadamente 38%, reduzindo significativamente o tamanho e o número de grãos, bem como a produtividade da cultura (SAIN; GOUR, 2013).

Toda parte aérea da planta pode ser afetada pelos sintomas da doença, entretanto, nas folhas, os sintomas são mais visíveis. Nelas, inicialmente, aparecem manchas de coloração verde-amarelada, com centro elevado de coloração amarelo-palha (HARTMAN et al., 2016). Esta elevação, no centro da lesão, é conhecida como pústula, e sua formação é resultado da hipertrofia e hiperplasia da célula vegetal. Xag coloniza os espaços intercelulares e realiza uma síntese de substâncias que resultam em distúrbios nas células do parênquima, ocasionando essa disfunção

celular. Em consequência, ocorre a expansão e ruptura da epiderme, a exteriorização do tecido parenquimatoso e formação da pústula, sintoma característico da doença (CHATNAPARAT et al., 2016).

Os genótipos de soja suscetíveis tendem a formar fortes halos amarelos ao redor das pústulas, tornando o sintoma bem característico, ao contrário de genótipos resistentes, onde os halos têm cor menos intensa (NARVEL et al., 2001).

Com incidência de chuvas e ventos, a bactéria pode ser disseminada rapidamente pelas lavouras, ocorrendo infecções secundárias. A doença se desenvolve em condições de clima quente, temperatura ótima de 30 a 33 °C, acompanhada por precipitações e umidade relativa superior a 70% (SHANKAR et al., 2017).

Sobre a ecologia de Xag, a bactéria sobrevive em sementes, onde pode permanecer viável por até 2,5 anos (PATEL; JINDAL, 1972). Em relação a seus hospedeiros alternativos, a rizosfera de plantas de trigo é um possível nicho de sobrevivência para Xag (KENNEDY; SINCLAIR, 1989). Em restos culturais na superfície do solo, a bactéria pode sobreviver por até 210 dias (FEET, 1979;).

Diante de sua importância econômica e das perdas na produção causadas pela doença, diversos estudos para detecção da bactéria em sementes e tecidos vegetais vem sendo desenvolvidos. Violatti e Tebaldi (2016) observaram a eficiência no uso do meio de cultura semi-seletivo MXG, com e sem antibiótico, podendo ser utilizado para diagnose em laboratório. Neste meio, as colônias de Xag são mucoides, convexas, brilhantes e de coloração amarela. Khaeruni et al. (2007) desenvolveram, a partir de sequências parciais do gene de patogenicidade *hrp*, um conjunto de primers específicos para a rápida detecção de Xag em folhas sintomáticas de soja. Kang et al. (2009) detectaram a bactéria diretamente das sementes por meio da PCR utilizando primers específicos (XagF1/XagR1) desenhados a partir do gene *glycinecin A*.

Com a descoberta que a cultivar CNS era resistente à pústula bacteriana, pela incorporação do gene recessivo *rxp*, a maioria das cultivares de soja comercializadas no Brasil passaram por programas de melhoramento genético, e adquiriram resistência à pústula bacteriana, fato que levou à diminuição da doença no país. A partir da década de 2000, a incidência da pústula bacteriana foi observada esporadicamente nos campos de cultivo. Na safra 2007/2008, em

monitoramento de 16 áreas produtoras de soja no Estado do Paraná, Bonaldo et al. (2009) verificou a ocorrência da doença em 15% das lavouras analisadas. A justificativa para o aumento da incidência da doença foi o uso contínuo de uma única fonte de resistência genética (LANNA FILHO et al., 2015).

O manejo da doença consiste no uso de sementes com boa qualidade, livres da presença de Xag, e rotação com culturas não hospedeiras, como o milho (HARTMAN et al., 2016). Além destas, os produtores devem utilizar cultivares cuja resistência deriva do gene recessivo *rxp* da cultivar CNS (GORADIA et al., 2009) e incorporar os restos culturais ao solo (LANNA FILHO et al., 2015).

2.2.2 Mancha bacteriana marrom

Cff foi relatada pela primeira vez nos EUA, em 1920, causando a murcha bacteriana ou murcha-de-curtobacterium em feijoeiro (HEDGES, 1922). Desde então, a bactéria já foi relatada em diversas leguminosas, incluindo a soja (HARVESON, 2015). A primeira descrição de Cff em soja, foi realizada nos EUA, em 1975, causando a doença denominada "*tan spot*" (DUNLEAVY, 1983). No Brasil, a bacteriose foi descoberta na safra 2011/2012 em lavouras de soja no Estado do Paraná, passando a ser denominada mancha bacteriana marrom (SOARES et al., 2013). Além do Brasil e dos Estados Unidos, Cff foi detectada em soja no Canadá, na Rússia e na Alemanha (SOARES et al., 2017).

Os sintomas constituem em lesões cloróticas que evoluem para lesões necróticas, circundadas ou não por halo de coloração amarela. No avançar da doença, estas lesões secam e tornam-se marrons, podendo o tecido seco se soltar com a ocorrência de ventos. A infecção precoce pode levar à morte em plântulas, ao contrário de plantas mais velhas que não chegam a morrer, mas têm perdas de desenvolvimento e produtividade (HARTMAN et al., 2016). O bloqueio do sistema vascular da planta, causado pela colonização de Cff resulta em murcha, sintoma característico da presença da bactéria no feijoeiro comum. Em soja, esse sintoma pode ocorrer, entretanto não é algo corriqueiro (SOARES, 2017). As sementes podem apresentar mudança de coloração (amarelada, laranja ou púrpura) e se tornarem enrugadas, ou também podem ser assintomáticas (HENNING et al., 2014; SOARES et al., 2018).

Cff é a única bactéria Gram-positiva patogênica ao feijão e à soja facilitando seu diagnóstico através de testes básicos de laboratório. Apresenta coloração roxa nas células após ser submetida ao método de coloração de Gram. Apresenta reação negativa para os testes de solubilidade em hidróxido de potássio a 3%, oxidação/fermentação da glicose, redução de nitrato, urease, produção de indol, podridão em discos de batata, tirosinase, vermelho de metila, sendo tolerante ao cloreto de sódio a 7% e 9%, catalase positiva, produção de gás sulfídrico a partir de cisteína e ácidos a partir de adonitol, amido, inositol, glicerol, glicose, melizitose, maltose e sacarose (MORAES et al., 2010).

A superfície de suas colônias em meio nutriente-glicose-ágar é brilhante, circular, de bordo liso, sem viscosidade, semifluida e amarela, laranja ou rosa. Os isolados de soja geralmente apresentam apenas coloração amarela e laranja (SOARES et al., 2017).

Anteriormente, acreditava-se que isolados de feijão poderiam infectar apenas a espécie correspondente, mas pesquisadores mostraram que tanto isolados de feijão, quanto isolados de soja, podem infectar ambas as plantas, causando lesões foliares e vasculares (WENDLAND et al., 2021). Os isolados de Cff são mais virulentos ao feijão do que à soja, independentemente da origem, sugerindo que alguma resistência ao patógeno está naturalmente presente nessa cultura (HARTMAN et al., 2016).

Estudos demonstraram que Cff apresenta grande diversidade fenotípica e genotípica (MORAES et al., 2010). Segundo Hartman et al. (2016), 67 isolados de Cff, provenientes de várias plantas hospedeiras, incluindo a soja, foram selecionados com base em polimorfismo de comprimento de fragmento amplificado (AFLP), eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE) e reação em cadeia da polimerase baseada em sequência repetitiva (rep-PCR) e passaram por análise estatística de agrupamento. Como resultado, foi observado que os isolados de Cff de soja se encaixaram nos dois grupos de respostas que se formaram, apresentando desta forma ampla diversidade genética (HARTMAN et al., 2016).

Atualmente, os estudos sobre a ecologia de Cff são voltados para a cultura do feijoeiro. Sabe-se que a bactéria pode sobreviver no campo em restos culturais, infestando ou infectando sementes, no solo ou em hospedeiros alternativos. Em restos culturais de feijoeiro infectados e deixados na superfície do solo, Cff foi

recuperada por até 240 dias, e por 30 dias com a incorporação a 20 cm de profundidade (SILVA JÚNIOR et al., 2012). No solo como células livres, estudos mostraram uma capacidade de sobrevivência elevada da bactéria, por até 80 dias, em campo nas condições brasileiras (GONÇALVES et al., 2018).

Além da soja e do feijão, Cff também foi relatada sendo patogênica ao feijão azuki (*Vigna angularis*), feijão caupi (*V. unguiculata*), feijão da espanha (*Phaseolus coccineus*), feijão de jacinto (*Lablab purpureus*), feijão de lima (*P. lunatus*), feijão mungo (*V. radiata*) e ervilha (*Pisum sativum*) (HARTMAN et al., 2016).

O manejo da doença consiste em utilizar sementes livres de Cff; rotacionar a cultura da soja com plantas que não sejam hospedeiras da bactéria, evitando principalmente o feijoeiro (HARVESON, 2015); fazer uso de adubação equilibrada, uma vez que excesso de nitrogênio na cultura do feijoeiro pode aumentar significativamente a severidade da murcha-de-curtobacterium, mesmo em cultivares resistentes à doença (THEODORO; MARINGONI, 2006); eliminação de restos culturais (Referência); e utilização de cultivares que apresentem alguma resistência à doença (PUIA et al., 2020).

2.2.3 Fogo selvagem

O fogo selvagem, causado por Pst, apesar de ser conhecido como uma bacteriose do fumo, também atinge outras culturas agrícolas, incluindo o feijão, berinjela, tomate e soja. A doença é destrutiva em condições favoráveis de alta umidade e temperaturas entre 24 e 28 °C (HARTMAN et al., 2016).

Na soja, a doença pode ocorrer juntamente com outras doenças bacterianas, como o crestamento bacteriano e a pústula bacteriana (ITO, 2013). Em regiões de clima desfavorável ao desenvolvimento de Pst, a ocorrência da doença em campo é esporádica (SATSKAWICZ, 2002).

Os sintomas do fogo selvagem aparecem com maior incidência nas folhas, ainda que toda parte aérea possa ser afetada. É possível visualizar na superfície foliar, manchas marrons que variam em tamanho e forma e quase sempre são cercadas por amplos halos amarelos. A coloração marrom, pode variar desde marrom-claro até marrom-escuro, ou completamente pretas. Alguns pontos podem ser restritos e se desenvolver sem zonas cloróticas nitidamente delineadas. Em

condições de alta umidade, as lesões aumentam e coalescem, formando grandes áreas necróticas, tornando as folhas secas. Em casos de alta infecção, desfolhas podem ocorrer prematuramente (HARTMAN et al., 2016).

As lesões ocasionadas pela pústula bacteriana podem estar associadas às do fogo selvagem. Quando as bacterioses incidem sobre a cultura da soja, geralmente, uma pústula formada por Xag, pode ser encontrada no centro de uma lesão ocasionada por Pst (HARTMAN et al., 2016).

Pseudomonas syringae produz as toxinas coronatina, faseolotoxina, tabtoxinas, iringomicina e tagetitoxina, que intervêm direta ou indiretamente na patogênese de diferentes patovares da espécie. A toxina denominada tabtoxina é produzida por Pst, e é responsável pela formação de alguns sintomas como o halo clorótico nas folhas em torno da lesão, dependendo das condições de crescimento ou cultivo (BALLIO et al., 1991).

Os isolados de Psg de soja são morfologicamente, fisiologicamente e patologicamente semelhantes aos do fumo. Todavia, os isolados de Psg de fumo são geralmente mais virulentos ao fumo do que à soja, mas os isolados de soja são igualmente virulentos em ambas as culturas (HARTMAN et al., 2016).

Pst pode sobreviver nas sementes por até dois anos, sendo esta a fonte primária de inóculo. Também pode sobreviver em restos culturais, plantas daninhas ou outros hospedeiros, que servem como fonte de inóculo secundário (HARTMAN et al., 2016). A disseminação da bactéria a grandes distâncias se dá por meio de sementes contaminadas e, dentro da cultura, por ação de chuvas e vento. As perdas mais severas ocorrem em anos de chuvas intensas associadas a vento e temperatura elevada (RODRIGUEZ; MARQUES, 2003).

As medidas de controle do fogo selvagem baseiam-se no uso de sementes livres de contaminação, visando reduzir a ocorrência da doença (HARTMAN et al., 2016). Rotação de culturas é indicada também, mas com espécies não hospedeiras da bactéria, evitando-se plantio de feijão e do fumo. Eliminação ou incorporação de restos culturais e plantio de cultivares resistentes também são recomendados (HONG et al., 2012).

2.3 Crestamento bacteriano

O crestamento bacteriano é uma doença recorrente nas regiões produtoras de soja pelo mundo. Em condições de clima temperado, com temperaturas mais amenas, a doença aparece com maior severidade e seus danos podem variar de 5 a 40%. No Brasil, a doença encontra-se presente nas principais regiões produtoras, e com o uso de cultivares suscetíveis e condições favoráveis, o desenvolvimento de epidemias no campo pode ocorrer (QI et al., 2011; LANNA FILHO, 2015).

O processo de doença se inicia com a penetração da bactéria que pode acontecer através de ferimentos ou aberturas naturais, como os estômatos. *Psg* coloniza os espaços intercelulares das células vegetais, causando sintomas em toda parte aérea da planta (DAFT; LEBEN, 1972). Nas folhas, inicialmente surgem pequenas manchas, de aparência translúcida e aquosa, circundadas por um halo de coloração verde-amarelada. Com o passar do tempo, as manchas necrosam, ganhando contornos angulares e coalescendo, com extensas áreas de tecido morto entre as nervuras secundárias (HARTMAN et al., 2016). Na face inferior da folha, as manchas são de coloração quase negra e apresentam, na presença de orvalho, uma película brilhante formada pelo exsudato bacteriano. Ataques severos resultam em rompimento do limbo foliar (GODOY et al., 2016).

Apesar da folha ser o órgão da planta mais afetado, toda a parte aérea pode apresentar sintomas de crestamento bacteriano. Nas sementes, as lesões podem não se tornar visíveis, apesar da presença de *Psg* ou podem desenvolver lesões profundas ou elevadas, bem como tornar-se ligeiramente descoloridas (HARTMAN et al., 2016).

Nas primeiras horas do dia, em condições de alta umidade, uma película brilhante, pode ser vista sobre a superfície foliar, proveniente da formação de exsudato bacteriano. Folhas jovens são mais vulneráveis à infecção, sendo uma doença notada primeiramente no topo da planta, diferentemente de outras doenças foliares que incidem sobre a soja. Plântulas podem ter crescimento atrofiado, e se a infecção atingir o meristema apical do caule, estas podem morrer (GOODOY et al., 2016; HARTMAN et al., 2016).

Alta umidade, em torno de 70%, e temperaturas entre 20 e 26 °C favorecem o desenvolvimento de *Psg*. Estas condições climáticas propiciam o aumento

populacional da fitobactéria em campo, e com a incidência de chuvas, ventos e água de irrigação, a disseminação pode ocorrer de planta a planta, possibilitando infecções secundárias durante o ciclo da cultura (HARTMAN et al., 2016).

Psg, assim como muitas bactérias fitopatogênicas, é classificada em raças fisiológicas. A primeira delimitação de raça para Psg foi feita por Cross et al. (1966), onde foram identificadas sete raças da bactéria, com base em suas reações em sete cultivares de soja. Já foram descritas 12 raças de Psg, das quais oito (R1 a R8) foram descritas nos Estados Unidos, uma (R9) no Canadá e três novas raças (R10, R11 e R12) no Brasil, onde também se encontram as raças (R2, R3, R4, R6 e R7), com R3 sendo a mais comum (QI et al., 2011; LANNA-FILHO, 2015).

Nos Estados Unidos e em outros países produtores, a raça 4 é a predominante (QI et al., 2011). Prom e Venette (1997), em pesquisa realizada nos Estados Unidos, em Dakota do Norte, verificaram que de 80% das plantas de soja encontradas com sintomas de crestamento bacteriano, 64% estavam infectadas com a raça 4 de Psg.

2.3.1 Etiologia

Psg pertence à Classe Gammaproteobacteria, Ordem Pseudomonadales, Família Pseudomonadaceae e gênero *Pseudomonas*. É hemibiotrófica e classificada como Gram-negativa móvel, com formato bastonete (1,2-1,5 X 2,3-3,3 µm), reto ou curvo, que se locomove pela presença de um a vários flagelos polares. Em meio de cultura basal, as colônias de Psg são redondas, de coloração branco/creme, lisas, brilhantes, com bordos irregulares, além de apresentar coloração marrom ao redor do crescimento bacteriano, resultante da produção de melanina em meios nutritivos (SCHAAD et al., 2001; HARTMAN et al., 2016).

Como muitas bactérias Gram-negativas, Psg emprega um sistema de secreção do tipo III, e suas proteínas efetoras secretadas são responsáveis pelos danos à planta de soja. A bactéria também produz coronatina, uma fitotoxina não específica do hospedeiro, que é responsável por induzir os halos amarelos ao redor das lesões, e que também pode funcionar na supressão das defesas da planta hospedeira (HARTMAN et al., 2016).

Em meio B de King, Psg produz pioverdina, um pigmento produzido por bactérias do gênero *Pseudomonas*. A presença de sulfato de magnésio no meio, proporciona os cátions necessários para ativação do mecanismo de produção da pioverdina. Com incidência de luz UV, é possível visualizar halos de coloração verde-fluorescente ao redor das colônias de Psg. Essa característica é considerada um auxílio em laboratórios pois contribui na caracterização fenotípica dos isolados da bactéria.

Todavia, existem diversos testes que podem ser realizados para a diagnose da bactéria, como: testes bioquímicos e fisiológicos, métodos sorológicos e principalmente técnicas moleculares, como o uso de PCR (IGNJATOV et al., 2007; NGUYEN et al., 2021). Dentre os testes bioquímicos e fisiológicos, podem ser utilizados: coloração de Gram e solubilidade em KOH; oxidase; catalase; arginina dihidrolase; podridão de discos de batata; oxidação/fermentação da glicose; produção de levan e ácidos a partir de carboidratos; e testes de degradação de macromoléculas, como o de produção de gelatinase; hidrólise de aesculina e amido solúvel; e os de redução de compostos de nitrogênio, como nitrato. A sorologia pode ser usada a partir de testes de aglutinação e a PCR entre os métodos moleculares (IGNJATOV et al., 2007; NGUYEN et al., 2021).

A identificação de Psg por PCR é baseada na multiplicação de fragmentos de DNA que controlam a síntese da fitotoxina coronatina. Desta forma, pode-se associar a metodologia empregada por Bereswill et al. (1994) e Schaad et al. (2001), utilizando um conjunto de primers específicos: Forward (5' GGCGCT CCC TCGCACTT-3') e Reverse: (5' GGTATTGGCGGGGGTGC 3') que amplificam produtos de PCR a 650 pares de bases (bp) (IGNJATOV et al., 2007).

2.3.2 Manejo

O MID (Manejo Integrado de Doenças) se faz cada vez mais necessário, pois a associação de técnicas traz um reforço maior no controle do cretamento bacteriano (ITO, 2013). Para tanto, em áreas em que a doença é um problema potencial, os produtores devem plantar cultivares com níveis de resistência ou tolerância à doença (GOODOY et al., 2016; HARTMAN et al., 2016).

No Brasil, pela quantidade de cultivares de soja comercializadas, observa-se que o número de cultivares com alguma resistência à doença é baixo. Dentre as cultivares convencionais, os produtores podem utilizar Embrapa 48; 58; 59; 60; 61; 62; BRS-132; BRS-133; BRS-134; e BRS-135, e dentro da tecnologia IPRO, M59471; M6210; M6410; TEC 7849; BS 2606; TEC 7849; M6210, que apresentam resistência moderada ao crestamento bacteriano. As cultivares BRS 6680 e BRS 7481 são as únicas resistentes (MELO et al., 2022).

Como a doença é transmitida via semente, o plantio de sementes livres de *Psg* reduzirá sua ocorrência nas áreas de cultivo. Também são recomendadas práticas culturais como incorporação de restos culturais de soja infectados, para redução do inóculo de *Psg* para a próxima safra. Durante os tratos culturais, é importante evitar pulverizações quando a parte aérea da planta está molhada, o que pode favorecer a infecção das plantas de soja pela bactéria (HARTMAN et al., 2016).

A alternância das espécies cultivadas, dentro da área de cultivo, durante um tempo, visa a redução de inóculo em campo (BARBIERI et al., 2019). Como não há informações sobre os hospedeiros alternativos de *Psg*, o planejamento da rotação de culturas apesar de recomendado, é prejudicado. Para plantas daninhas, a literatura não aborda em quais espécies a bactéria pode sobreviver, mas é uma técnica recomendada, pois podem tornar-se uma fonte a mais de inóculo na área de cultivo (LANNA-FILHO, 2015).

2.4 Ecologia de bactérias fitopatogênicas com ênfase em bacterioses da soja e feijão

Dependendo do gênero e espécie da bactéria associada a determinada doença, considera-se que sua sobrevivência pode ocorrer em sementes ou partes propagativas; restos culturais infectados e remanescentes na área de cultivo; no solo; na filosfera e rizosfera de plantas cultivadas ou plantas daninhas, bem como no interior destas (SCHUSTER; COYNE, 1974; HARTMAN et al., 2016).

O solo é responsável por abrigar diversos microrganismos, incluindo bactérias fitopatogênicas (VIEIRA; SILVA, 2021). Todavia, como células livres, nesse nicho, a

maioria dos gêneros de fitobactérias apresentam dificuldades em sobreviver, por não produzirem estruturas de resistência, e sofrem com a carga antagonica exercida pela microbiota do solo (SCHUSTER; COYNE, 1974; ROUSK et al., 2010; FIERER; LENNON, 2011).

No solo, a sobrevivência de fitobactérias pode ocorrer de três formas: I) em estado hipobiótico, onde conseguem se manter por longos períodos, sendo menos suscetíveis aos demais microrganismos; II) associadas à rizosfera de plantas hospedeiras ou não hospedeiras; e III) no estado “viable but non culturable” (VBNC), onde as células bacterianas se mantêm viáveis, mas com baixa atividade metabólica e sem divisão celular. Apesar de se manterem vivas, só é possível cultivá-las quando a quantidade de células bacterianas é suficiente para sua detecção visual (LEBEN, 1981; GREY; STECK, 2001; LI et al., 2014; GIAGNONI et al., 2018).

Propriedades físicas e químicas do solo, antagonistas e práticas culturais são fatores que afetam diretamente a sobrevivência de bactérias fitopatogênicas no solo (MARTINS et al., 2018). A grande maioria das fitobactérias consegue manter sua sobrevivência por um período maior em solos argilosos. Dentro dos agregados de argila existe mais disponibilidade de água e proteção contra antagonistas (HATTORI, 1973). Cff, agente causal da murcha bacteriana no feijoeiro e da mancha bacteriana marrom da soja, por exemplo, sobreviveu em solo argiloso por até 80 dias, em condições de campo (GONÇALVES et al., 2018).

Um outro ponto importante a ser evidenciado, é o fato de que pela presença de diferentes microrganismos buscando espaço, nutrientes e água, o solo é considerado um complexo vivo (PRIYA et al., 2021). Desta forma, pode ocorrer a produção de substâncias com propriedades antimicrobianas, bacteriocinas e antibióticos, que são capazes de inibir a sobrevivência de bactérias fitopatogênicas (PANG et al., 2021).

Em soja, Graham (1953) verificou a sobrevivência de Psg, Xag e Pst em solo estéril por um período de 6 a 9 meses, mas em solo não estéril, as três bactérias sobreviveram somente em torno de um mês, em condições controladas. Em experimentos em campo, o autor observou que as três bactérias se mantiveram viáveis em folhas de soja infectadas e mantidas na superfície do solo, servindo de fonte de inóculo para as próximas safras.

Entre as safras, as fitobactérias podem sobreviver em restos culturais remanescentes nas áreas de cultivo (MICHEREFF et al., 2016). Quando o tecido vegetal está exposto na superfície do solo, a sobrevivência de algumas bactérias fitopatogênicas tende a ser maior.

Para Psg, Park e Lim (1984), relataram uma baixa capacidade saprofítica e competitiva da bactéria, não conseguindo suportar a carga de antagonismo presente no solo. Em experimentos no estado do Paraná, Feet (1979) comprovou esta informação, ao manter folhas de soja infectadas com Xag e Psg, na superfície do solo e incorporados a uma profundidade de 15 ou 30 cm. Para Xag, nos restos culturais deixados na superfície do solo, a sobrevivência foi de 210 dias após a inoculação, e no material incorporado ao solo, 91 dias. Por outro lado, não foi possível recuperar Psg em ambos os tratamentos. A baixa sobrevivência foi atribuída a temperaturas de moderadas a altas, levando à rápida decomposição dos restos culturais (FEET, 1979). Em outro estudo, Xag sobreviveu por até 85 dias em restos culturais mantidos na superfície do solo, sendo esse período reduzido para 33 dias quando os restos culturais foram incorporados ao solo (GROTH; BRAUN, 1989).

A sobrevivência de Psg em restos culturais infectados tem grande influência das condições climáticas. Nos Estados Unidos, nos estados de Minnesota e Nebraska, regiões de clima temperado, com condições favoráveis ao desenvolvimento da bactéria, Psg sobreviveu por maiores períodos quando os restos culturais de soja infectados foram mantidos na superfície do solo, do que incorporados a ele. Acredita-se que através da incorporação, ocorre uma competição por nutrientes, onde as condições de umidade do solo aumentam as atividades biológicas de outros microrganismos, e desta forma estes competem diretamente com os patógenos (SCHUSTER; COYNE, 1974; BASU, 1986).

Bactérias fitopatogênicas podem estar associadas às sementes de diferentes modos, aderidas à superfície ou de forma interna ligadas ao embrião. Em soja, Xag, Psg e Pst tem a semente como fonte primária de inóculo, com sobrevivência por períodos variando entre 6 e 30 meses (GRAHAM, 1953).

Psg pode infestar a superfície do tegumento sem causar quaisquer sintomas, dificultando sua detecção (HARTMAN et al., 2016). Em experimentos realizados, a bactéria foi detectada por até 24 meses em sementes de soja, armazenadas a 3 °C

(FEET, 1979). Entretanto, os cotilédones provenientes de sementes infestadas ou infectadas por *Psg* podem apresentar lesões necrosadas logo após a emergência. Com o desenvolvimento do processo de infecção, estas lesões progridem para as folhas unifolioladas e trifolioladas (GODOY et al., 2016). Parashar e Leben (1972), em experimento para detectar a sobrevivência de *Psg* em lotes de sementes de soja, observaram que passados de 8 a 10 dias após a semente infectada ser semeada, as lesões nos cotilédones apareciam. Inicialmente eram verdes escuras e tinham uma aparência encharcada. Entretanto, com o passar do tempo, foi possível verificar áreas necróticas pontilhadas com bordas encharcadas. As lesões foram formadas apenas na superfície externa dos cotilédones.

Na cultura do feijoeiro, *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* (Xcf), agente causal do crestamento bacteriano comum do feijoeiro, já foi relatada sobrevivendo em restos culturais na superfície do solo de 65 a 180 dias. Todavia, com a incorporação dos restos culturais a uma profundidade entre 10 e 15 cm, esta sobrevivência caiu para um período entre 30 e 120 dias (TORRES et al., 2009). Cff é um outro exemplo, onde a bactéria sobreviveu por até 240 dias em restos culturais de feijoeiro na superfície do solo. Entretanto, quando os restos culturais foram incorporados a 20 cm de profundidade, o período de sobrevivência foi reduzido para 30 dias (SILVA JÚNIOR et al., 2012)

Uma justificativa para este fenômeno seria que a exposição ambiental e a condição de seca presentes na superfície do solo são capazes de inibir o processo de decomposição microbiana. Com a incorporação dos restos culturais, existe umidade suficiente para manter a microbiota presente no solo ativa, o que facilita o processo de degradação do tecido vegetal. A competição por nutrientes entre os microrganismos pode se elevar com a incorporação dos restos culturais, o que prejudicaria a sobrevivência das fitobactérias (HABTE; ALEXANDER, 1975; LEBEN, 1981; MARTINS et al., 2018).

Schuster e Coyne (1974), em trabalho conduzido em Nebraska, nos Estados Unidos, recuperaram *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (Xpp), agente causal do crestamento bacteriano comum, por 660 dias em restos culturais de feijão, sendo a sobrevivência maior quando os resíduos da cultura permaneceram na superfície do solo, do que incorporados (SCHUSTER; COYNE, 1974). Para Cff, a sobrevivência

em restos culturais deixados na superfície do solo foi de 240 dias, e 30 dias quando foram incorporados a 20 cm de profundidade (SILVA JÚNIOR et al., 2012).

Algumas estratégias podem ser desenvolvidas por bactérias fitopatogênicas durante seu ciclo de vida, com o objetivo de garantir sua sobrevivência (LEBEN, 1981). A fase epifítica é uma dessas estratégias, onde populações bacterianas se multiplicam na superfície foliar ou nas raízes de plantas cultivadas e daninhas, hospedeiras ou não, sem infectá-las e sem causar o desenvolvimento da doença, mas sendo fonte de inóculo presente na área (SHUSTER; COYNE, 1974; KIMURA, 1981). Nessa situação, a bactéria sobrevive consumindo os exsudatos liberados pelo hospedeiro, sem causar prejuízos a este (KIMURA, 1981). Sabe-se que Xpp pode sobreviver em feijão-caupi (*V. unguiculata*); soja (*G. max*) e beterraba (*Beta vulgaris*), e nas plantas daninhas trevo azedo (*Oxalis latifolia*); tiririca (*Cyperus rotundus*); caruru (*Amaranthus hybridus*) e picão preto (*Bidens pilosa*) (CAFATI, 1980; RAMOS, 1991; KARAVINA et al. 2011). Outras espécies do gênero *Vigna* (*V. aconitifolia*, *V. angularis*, *V. mungo*, *V. radiata* e *V. umbellata*) podem ser consideradas hospedeiros naturais tanto de Xpp, quanto de Xcf.

Para Cff, além do feijoeiro e da soja, as mesmas espécies do gênero *Vigna*, citadas acima, no qual Xpp e Xcf podem sobreviver, também foram identificadas como hospedeiras alternativas da bactéria (HARTMAN et al., 2016). Aveia branca (*Avena sativa*), Aveia preta (*Avena strigosa*), azevém (*Lolium multiflorum*), canola (*Brassica napus*); cevada (*Hordeum vulgare*); girassol (*Helianthus annuus*), milho (*Zea mays*), milheto (*Pennisetum glaucum*), nabo forrageiro (*Raphanus sativus*) e trigo (*Triticum aestivum*) foram identificados como possíveis hospedeiras alternativas de Cff (GONÇALVES et al., 2017).

Nascimento et al. (2021) verificaram a sobrevivência de Cff por até 63 dias, na rizosfera de aveia preta, girassol e feijão comum. Em aveia branca, azevém, cevada, milheto, nabo forrageiro e trigo, Cff sobreviveu por 56 dias na rizosfera. Nascimento et al. (2020), em outro estudo, constataram a sobrevivência de Cff em diferentes espécies de plantas daninhas: caruru (*Amaranthus viridis*), buva (*Conyza bonariensis*), falsa serralha (*Emilia fosbergii*), picão branco (*Galinsoga parviflora*), macela (*Gnaphalium purpureum*), nabo forrageiro (*Raphanus sativus*), mastruço (*Lepidium virginicum*), trapoeraba (*Commelina benghalensis*), corda-de-viola (*Ipomoea triloba*), tiririca (*C. rotundus*), fedegoso (*Senna obtusifolia*), capim-

amargoso (*Digitaria insularis*), joá-de-capote (*Nicandra physalodes*) e maria preta (*Solanum americanum*).

Para Pst é de conhecimento a sobrevivência epifítica em plantas de cobertura de inverno como trigo, centeio e cevada (KNOCHE et al., 1994) e para Psg, não há estudos, até o momento.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Isolados bacterianos, condições de cultivo e preservação

Em todos os experimentos foi utilizado o isolado Soj. 1462 R de Psg do Laboratório de Bacteriologia Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA/UNESP), resistente a 100 µg. mL⁻¹ de rifampicina, e patogênico à soja. Esse isolado foi obtido a partir do isolado IBSBF 1462 da Coleção de Culturas de Fitobactérias do Instituto Biológico (IB/Campinas-SP). O isolado Soj. 1462 R foi cultivado em meio NSAR [20 g.L⁻¹ de nutriente ágar (Merck, Alemanha), 5 g.L⁻¹ de sacarose (Synth, Brasil) e 100 µg.mL⁻¹ de rifampicina (Rifaldin)], e incubado a 28 °C por 48 h. A preservação foi realizada em 30% de glicerol (v/v) a -80 °C.

3.2 Sobrevivência de Psg em solo

3.2.1 Coleta e características dos solos

Quatro solos foram coletados em áreas de produção agrícola da Fazenda Lageado da FCA/UNESP e encaminhados para análise de suas propriedades físico-químicas no Departamento de Solos e Recursos Ambientais da instituição (Tabela 1).

Tabela 1 – Propriedades físico-química dos quatro solos utilizados nos dez experimentos de sobrevivência de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* em solo

Solo	Matéria orgânica (g/dm ³)	pH (CaCl ₂)	Textura	Argila (g/kg)	Silte (g/kg)	Areia total (g/kg)	Cultivo*
A	28	5,0	Argilosa	536	301	163	M
B	18	5,9	Argilosa	583	330	87	S;M
C	25	5,4	Média	161	57	782	M;S;Ma;B
D	40	6,0	Argilosa	499	381	120	S;M

*Histórico de cultivo dos últimos 5 anos na área de coleta: M (milho); S (Soja); Ma (mandioca); B (batata).

Os solos foram peneirados em peneira de malha 8 (2,8 mm de abertura), secos em casa-de-vegetação durante sete dias, e armazenados em caixas plásticas

de 70 x 35 x 35 cm (largura x comprimento x altura). As partes superiores das caixas foram vedadas com folhas de papel kraft e mantidas em casa de vegetação (22-28 °C e 60-90% UR) até a instalação dos experimentos (SILVA JÚNIOR et al., 2020).

3.2.2 Instalação dos experimentos e processamento das amostras

Dez experimentos foram conduzidos entre os anos de 2020 e 2021, para avaliar a sobrevivência de *Psg* nos quatro tipos de solo. Os experimentos foram conduzidos em área experimental do Departamento de Proteção Vegetal da FCA/UNESP, e instalados em 25/05/2020 (Experimento 1), 12/06/2020 (Experimento 2), 11/12/2020 (Experimento 3), 13/01/2021 (Experimento 4), 30/01/2021 (Experimento 5), 12/02/2021 (Experimento 6), 24/02/2021 (Experimento 7), 10/05/2021 (Experimento 8), 17/05/2021 (Experimento 9) e 28/05/2021 (Experimento 10).

Vasos de 1 L contendo os solos foram infestados com a rega de 200 mL de inóculo bacteriano (10^7 UFC.mL⁻¹). As avaliações de sobrevivência de *Psg* foram realizadas a cada dois dias, até a não recuperação de células viáveis da bactéria nas amostras. Os experimentos foram conduzidos em condições naturais de campo.

Para o processamento das amostras, o solo de três vasos de cada tipo de solo foi armazenado em sacos plásticos. Dez gramas de solo de cada amostra coletada, foram transferidos para frascos de Duran de 250 mL, contendo 100 mL de água destilada autoclavada. Os frascos passaram por agitação (300 rpm/30 min), seguido de repouso (30 min) (NASCIMENTO et al., 2021). As suspensões obtidas foram diluídas em série ($10^0 - 10^{-2}$) e 100 µL foram plaqueados em meio NSARF (meio NSAR suplementado com chlorothalonil (0,01 g.L⁻¹) e tiofanato metílico (0,01 g.L⁻¹)). As placas de Petri foram incubadas em estufa bacteriológica a 28 °C, e após 48 h, foi realizada a avaliação quantitativa de colônias de *Psg*.

3.3 Sobrevivência de Psg na filosfera e rizosfera de espécies cultivadas

3.3.1 Obtenção das espécies vegetais

Para os experimentos de sobrevivência de Psg na filosfera e rizosfera, e de sobrevivência endofítica, foram utilizadas doze espécies de plantas cultivadas, pertencentes a quatro famílias botânicas (Tabela 2).

A semeadura foi realizada em vasos de 10 L contendo substrato constituído de terra de barranco, areia grossa e substrato organo-mineral (Tropstrato HT; Mogi Mirim) na proporção de 1:1:1, suplementado com 0,6 kg de cloreto de potássio e 0,8 kg de calcário dolomítico para cada m³ da mistura. Para os experimentos de 11 a 16, as plantas foram levadas para área experimental em campo aberto, após a inoculação com Psg.

Tabela 2 - Plantas cultivadas utilizadas nos experimentos de sobrevivência de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* na filosfera e rizosfera, e nos experimentos de sobrevivência endofítica

Família botânica	Nome Comum	Nome científico	Experimentos
Asteraceae	Girassol	<i>Helianthus annuus</i>	14, 15, 16, 17 e 18
Brassicaceae	Nabo Forrageiro	<i>Raphanus sativus</i>	14, 15, 16, 17 e 18
Fabaceae	Crotalária	<i>Crotalaria juncea</i>	14, 15, 16, 17 e 18
	Feijão comum	<i>Phaseolus vulgaris</i>	14, 15, 16, 17 e 18
	Soja	<i>Glycine max</i>	11 a 18
Poaceae	Aveia branca	<i>Avena sativa</i>	11, 12, 13, 17 e 18
	Aveia preta	<i>Avena strigosa</i>	11, 12, 13, 17 e 18
	Azevém	<i>Lolium multiflorum</i>	11, 12, 13, 17 e 18
	Cevada	<i>Hordeum vulgare</i>	11, 12, 13, 17 e 18
	Milho	<i>Zea mays</i>	11, 12, 13, 17 e 18
	Sorgo	<i>Sorghum bicolor</i>	14, 15, 16, 17 e 18
	Trigo	<i>Triticum aestivum</i>	11, 12, 13, 17 e 18

3.3.2 Instalação dos experimentos e processamento das amostras

Seis experimentos foram conduzidos entre os anos de 2019 e 2021, para avaliar a sobrevivência de Psg na filosfera e rizosfera de plantas cultivadas. Os

experimentos foram instalados em área experimental do Departamento de Proteção Vegetal da FCA/UNESP, em 07/11/2019 (Experimento 11), 06/12/2019 (Experimento 12), 19/02/2020 (Experimento 13), 01/07/2020 (Experimento 14), 26/11/2020 (Experimento 15) e 08/01/2021 (Experimento 16).

No processo de inoculação das plantas, a parte aérea foi aspergida com suspensão bacteriana (10^7 UFC.mL⁻¹). Para este processo, um pulverizador costal foi utilizado, inoculando toda a parte aérea da planta até o ponto de escorrimento. Para a rizosfera, o solo dos vasos foi infestado com 700 mL da mesma suspensão bacteriana.

Para o processamento das amostras, foram coletadas as folhas de três plantas por espécie, obtendo-se uma amostra composta para cada espécie. Em seguida, dez gramas das amostras foram transferidos para frascos de Duran de 250 mL contendo 100 mL de esterilizada. Os frascos foram agitados por 30 min a 300 rpm em mesa agitadora.

Para a rizosfera, o solo aderido às raízes de três plantas de cada espécie foi coletado, obtendo-se uma amostra composta. Em seguida, cinco gramas das amostras foram transferidos para frascos contendo 100 mL de água esterilizada. A agitação foi de 30 min/300 rpm, passando posteriormente por repouso (30 min), para sedimentação (SILVA et al., 2021).

Para todas as amostras, 100 µL das suspensões foram plaqueados em meio NSARF. As placas de Petri foram incubadas em estufa bacteriológica (28 °C/48 h), seguido de avaliação quantitativa de colônias de *Psg*.

3.4 Sobrevivência endofítica de *Psg* em plantas cultivadas

3.4.1 Instalação dos experimentos

Dois experimentos de sobrevivência endofítica (experimentos 17 e 18) foram instalados em 13/05/2021 e 05/08/2021 em casa de vegetação do Departamento de Proteção vegetal da FCA/UNESP.

A inoculação das plantas com *Psg* foi realizada 40 dias após a semeadura por dois métodos de inoculação (com e sem ferimentos nas folhas). Nas inoculações com ferimento, todas as folhas das plantas foram feridas pelo método de agulhas

múltiplas, seguido de aspersão de suspensão bacteriana (10^7 UFC.ml⁻¹) até o ponto de escorrimento. Nas inoculações sem ferimentos, a parte aérea das plantas foi inoculada por aspersão da suspensão bacteriana até o ponto de escorrimento (SILVA et al., 2021).

As avaliações da sobrevivência endofítica de *Psg* foram realizadas a cada 14 dias, por um período máximo de 70 dias.

3.4.2 Processamento das amostras

A parte aérea de três plantas de cada espécie foi coletada e seccionada com uma tesoura esterilizada. Em sacos plásticos, as folhas foram homogeneizadas e amostras de 10 g foram submetidas a desinfecção superficial: 30 s em álcool 70%, 60 s em hipoclorito de sódio 2% e três lavagens em água destilada esterilizada. Em liquidificador, as amostras foram trituradas com 100 mL de água destilada esterilizada, e os extratos obtidos foram plaqueados em meio de cultura semi-seletivo. As placas de Petri foram incubadas em estufa bacteriológica (28 °C/48 h), seguido de avaliação quantitativa de colônias de *Psg*. (SILVA et al., 2021).

3.5 Dados climáticos

Para os experimentos de sobrevivência de *Psg* em solo (experimentos 1 a 10) e de sobrevivência na filosfera e rizosfera de plantas cultivadas (experimentos 11 a 16), os dados climáticos (temperatura máxima, mínima e média, umidade relativa e precipitação) foram obtidos a partir de uma estação meteorológica localizada a 300 m da área experimental. Os experimentos endofíticos foram conduzidos em casa de vegetação, desta forma, os dados climáticos foram coletados diariamente com o auxílio de um termohigrômetro digital (PD003, Tomate). A umidade dos quatro solos, e dos solos de rizosfera, em cada período de recuperação de *Psg* foi aferida em balança com sensor de umidade por infravermelho (Gehaka, Modelo IV 2500).

3.6 Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento utilizado em todos os experimentos foi de blocos casualizados (DBC). No solo, dez experimentos foram desenvolvidos com quatro tratamentos (um isolado x quatro tipos de solo). Cada repetição foi composta por um vaso, desta forma, para cada solo, três vasos foram selecionados ao acaso em cada avaliação realizada.

Para filosfera e rizosfera, as doze espécies de plantas cultivadas foram divididas em dois grupos de avaliação: grupo 1 (aveia branca, aveia preta, azevém, cevada, milho e trigo) compondo os experimentos 11, 12 e 13, e o grupo 2 (crotalária, feijão, girassol, nabo e sorgo) integrando os experimentos 15, 16 e 17. Plantas de soja foram utilizadas como controle positivo para *Psg* em ambos os grupos. Vasos contendo apenas solo, sem plantas, foram utilizados como controle negativo para a rizosfera.

Nos experimentos 11, 12 e 13 foram utilizados quinze tratamentos (seis espécies de plantas cultivadas X dois nichos de sobrevivência [filosfera e rizosfera] + um controle negativo [solo sem plantas] + dois controles positivos [plantas de soja]); os experimentos 14, 15 e 16 tiveram treze tratamentos (cinco espécies de plantas cultivadas X dois nichos de sobrevivência [filosfera e rizosfera] + controle um controle negativo [solo sem planta] + dois controles positivos [plantas de soja]). Cada parcela experimental foi representada por um vaso, contendo cinco plantas, para um total de seis repetições.

Com os resultados dos períodos de sobrevivência (dias) de *Psg* e do número de colônias obtidos em cada período de avaliação, foi possível calcular o Log_{10} (UFC.g de tecido vegetal⁻¹ e UFC.g de solo seco⁻¹) usados para calcular a área abaixo da curva (AAC). Buscando verificar a correlação entre as variáveis climáticas registradas durante o desenvolvimento dos experimentos, e os resultados alcançados, a análise dos componentes principais foi realizada (ACP) através do software estatístico Minitab 17.

Nos experimentos 17 e 18, que avaliaram a sobrevivência endofítica de *Psg* em plantas cultivadas, foram utilizados vinte e quatro tratamentos (doze espécies de plantas cultivadas X dois métodos de inoculação [plantas com ferimento e plantas

sem ferimentos]). Cada espécie de planta contou com seis repetições, representadas por um vaso com cinco plantas.

Os períodos de sobrevivência obtidos, foram submetidos à análise de agrupamento hierárquico ou análise de clustering, onde os períodos de sobrevivência (dias), de cada espécie e de cada método de inoculação, passaram por um agrupamento, verificando critérios de semelhança entre si. Desta forma, um dendrograma foi feito para representar a formação de grupos de respostas. Complementando esta análise, o número de colônias de cada período de avaliação de cada tratamento foi utilizado para o cálculo do Log_{10} (UFC.g de tecido vegetal⁻¹) e os cálculos da AAC, que mostram a população bacteriana acumulada durante o período de sobrevivência de *Psg* para cada planta cultivada.

3.7 Caracterização dos isolados de *Psg*

Para a confirmação dos períodos de sobrevivência de *Psg* em todos os nichos de sobrevivência, quatro colônias morfológicamente idênticas a *Psg* foram selecionadas de cada tratamento e período de avaliação, e repicadas para meio B de King para caracterização fenotípica. Após 72 h de incubação em estufa bacteriológica (28 °C), os isolados foram avaliados sobre a incidência de luz UV (IGNJATOV et al., 2007).

Os isolados que apresentaram fluorescência em meio B de King foram submetidos à caracterização molecular por PCR. O protocolo utilizado foi o descrito por Bereswill et al. (1994) com as sequências iniciadoras Forward (5' GGCGCT CCC TCGCACTT-3') e Reverse: (5' GGTATTGGCGGGGGTGC 3') que amplificam um fragmento de 650 pb. Para extração do DNA bacteriano, microtubos contendo a suspensão bacteriana foram levados ao termociclador (Eppendorf, Master cyclernexus gradiente, EUA), a temperatura de 95 °C durante 15 min, seguido de um resfriamento a 4 °C (SILVA JUNIOR et al., 2019). O volume total utilizado para a reação de PCR foi de 12,5 µL, sendo 6,25 µL GoTaq Green Master Mix (Promega, USA), 0,25 µL de primer de cada primer, 4,25 µL de água MilliQ e 1,5 µL de DNA. A amostra obtida passou pela eletroforese horizontal (6 V/cm⁻¹) em gel de agarose a 1% (p/v), contendo brometo de etídio (3 µL/100 mL). Em luz ultravioleta, as bandas foram observadas (Apêndice 1)

4 RESULTADOS

4.1 Sobrevivência de Psg em solo

A sobrevivência de Psg em todos os experimentos foi baixa. Nos experimentos 1, 4, 9 e 10, Psg sobreviveu por períodos inferiores a 2 dias (Tabela 3 e 4). Nos solos A e C do experimento 1, os valores de AAC foram de 10 e 11, respectivamente. Nos experimentos 4, 9 e 10, os solos A, B, C e D obtiveram valores de AAC variando entre 8,1 a 15,8) Nos experimentos 2, 3, 5, 6, 7 e 8, Psg não foi detectada a partir do 2º dia e os valores de AAC variaram de 4 a 6,6 (Tabela 3 e 4).

As épocas do ano não influenciaram na sobrevivência de Psg nos solos, uma vez que, em experimentos conduzidos durante o verão (Experimento 1, 9 e 10) e outono (Experimento 4), a bactéria sobreviveu por dois dias, mas em outros experimentos, também conduzidos nessas mesmas épocas (Experimentos 7 e 8 no verão e Experimentos 2, 3 e 5 no outono), Psg foi recuperada apenas no dia da instalação dos experimentos (Tabela 3 e 4).

Tabela 3 - Períodos de sobrevivência, áreas abaixo da curva (AAC) e variáveis climáticas (temperatura média, máxima, mínima, umidade do solo e precipitação) dos experimentos 1 a 5 de sobrevivência de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* em quatro solos

Tipo de solo	Período de sobrevivência (dias)	AAC	Temperatura média (°C)	Temperatura máxima (°C)	Temperatura mínima (°C)	Umidade do solo (%)	Precipitação (mm)
Experimento 1							
Solo A	2	10	20,8	27,1	16,5	26,4	0,0
Solo B	0	5,2	20,9	27,3	16,6	31,3	0,0
Solo C	2	11	20,8	27,1	16,5	21,8	0,0
Solo D	0	5,1	20,9	27,3	16,6	26,4	0,0
Experimento 2							
Solo A	0	4,3	20,0	26,4	15,6	24,9	0,0
Solo B	0	4,7	20,0	26,4	15,6	29,9	0,0
Solo C	0	4,6	20,0	26,4	15,6	26,5	0,0
Solo D	0	5	20,0	26,4	15,6	25,3	0,0
Experimento 3							
Solo A	0	5,9	20,3	26,7	13,2	22,8	0,0
Solo B	0	5,9	20,3	26,7	13,2	30,9	0,0
Solo C	0	4,6	20,3	26,7	13,2	23,1	0,0
Solo D	0	5	20,3	26,7	13,2	28,4	0,0
Experimento 4							
Solo A	2	14,9	13,6	19,8	9,4	28,2	0,0
Solo B	2	15,7	13,6	19,8	9,4	27,5	0,0
Solo C	2	12,7	13,6	19,8	9,4	23,7	0,0
Solo D	2	15	13,6	19,8	9,4	28,1	0,0
Experimento 5							
Solo A	0	6,6	23,2	28,6	17,3	30,2	0,0
Solo B	0	6,3	23,2	28,6	17,3	29,2	0,0
Solo C	0	6,2	23,2	28,6	17,3	18,3	0,0
Solo D	0	6,4	23,2	28,6	17,3	20,2	0,0

Tabela 4 - Períodos de sobrevivência, áreas abaixo da curva (AAC) e variáveis climáticas (temperatura média, máxima, mínima, umidade do solo e precipitação) dos experimentos 6 a 10 de sobrevivência de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* em quatro solos

Tipo de solo	Período de sobrevivência (dias)	AAC	Temperatura média (°C)	Temperatura máxima (°C)	Temperatura mínima (°C)	Umidade do solo (%)	Precipitação (mm)
Experimento 6							
Solo A	0	5,1	22,7	31,7	20,7	28,8	2,5
Solo B	0	5,4	22,7	31,7	20,7	28,1	2,5
Solo C	0	5,1	22,7	31,7	20,7	18,7	2,5
Solo D	0	5	22,7	31,7	20,7	31,2	2,5
Experimento 7							
Solo A	0	4,9	23,5	30,5	20,4	25,8	4,8
Solo B	0	5,2	23,5	30,5	20,4	28,1	4,8
Solo C	0	4,6	23,5	30,5	20,4	18,7	4,8
Solo D	0	5	23,5	30,5	20,4	31,2	4,8
Experimento 8							
Solo A	0	4,2	25,2	31,3	20,0	24,8	0,0
Solo B	0	4,2	25,2	31,3	20,0	22,4	0,0
Solo C	0	4,1	25,2	31,3	20,0	24,9	0,0
Solo D	0	4	25,2	31,3	20,0	23,7	0,0
Experimento 9							
Solo A	2	15,8	21,2	25,0	18,3	29,2	20,4
Solo B	2	15	21,2	25,0	18,3	21,5	20,4
Solo C	2	12	21,2	25,0	18,3	23,5	20,4
Solo D	2	14,1	21,2	25,0	18,3	21,1	20,4
Experimento 10							
Solo A	2	8,1	24,3	31,1	20,3	20,3	1,6
Solo B	2	10,5	24,3	31,1	20,3	23,4	1,6
Solo C	2	8,9	24,3	31,1	20,3	18,3	1,6
Solo D	2	9,7	24,3	31,1	20,3	24,9	1,6

4.2 Sobrevivência de *Psg* na filosfera de plantas cultivadas

Os maiores períodos de sobrevivência de *Psg* foram verificados na filosfera da soja, com períodos variando entre 63 e 70 dias. A soja foi a única espécie que apresentou sintomas característicos de crestamento bacteriano. Na filosfera de aveia branca, aveia preta, azevém, girassol e sorgo, a bactéria sobreviveu por períodos variando entre 7 e 35 dias, e entre 14 a 28 dias na filosfera da cevada e do trigo (Tabela 5).

Com relação à AAC, para soja os valores obtidos foram entre 362,9 a 451, variando entre os experimentos. Para aveia branca, aveia preta e azevém, estes valores variaram de 88,2 a 147. Girassol apresentou no experimento 15 AAC de 27,8. Em contrapartida, nos experimentos 14 e 16 os valores foram de 136,2 e 125,5, respectivamente. Cevada, crotalária, feijão comum, nabo forrageiro, sorgo e trigo os valores variaram de 14,5 a 118,2.

Tabela 5 - Períodos de sobrevivência e áreas abaixo da curva (AAC) de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* na filosfera de plantas cultivadas (experimentos 11 a 16)

Espécies	Exp. 11	Exp. 12	Exp. 13	Exp. 14	Exp. 15	Exp. 16
Aveia branca	35 ^a (141,7) ^b	21 (88,2)	35 (135,7)	-	-	-
Aveia preta	28 (137,9)	14 (89,6)	35 (133,3)	-	-	-
Azevém	35 (147,0)	21 (120,5)	21 (103,0)	-	-	-
Cevada	28 (97,3)	14 (77,0)	28 (90,2)	-	-	-
Crotalária	-	-	-	0 (14,5)	7 (40,9)	7 (36,5)
Feijão comum	-	-	-	7 (38,1)	0 (11,5)	28 (118,2)
Girassol	-	-	-	35 (136,2)	7 (27,8)	28 (125,5)
Milho	28 (116,9)	0 (13,9)	28 (100,5)	-	-	-
Nabo forrageiro	-	-	-	7 (32,2)	0 (13,2)	21 (115,3)
Soja	70 (451,0)	70 (420,9)	70 (423,3)	63 (402,8)	70 (380,2)	70 (362,9)
Sorgo	-	-	-	14 (70,5)	35 (79,8)	28 (105,7)
Trigo	28 (108,4)	21 (89,9)	21 (100,0)	-	-	-

^a Período de sobrevivência de *Psg* na filosfera de plantas cultivadas.

^b Área abaixo da curva (AAC) de *Psg* na filosfera de plantas cultivadas.

Os gráficos de análise de componentes principais (ACP) correlacionaram as variáveis climáticas, registradas durante cada período (Tabela 6 e 7) com os períodos de sobrevivência e AAC de *Psg* em cada uma das plantas. Para o primeiro grupo de plantas, experimentos 11, 12 e 13, o período de sobrevivência, AAC, bem

como a precipitação, aumentaram na mesma direção em relação ao primeiro componente (eixo X), sendo considerados positivamente correlacionados entre si (Figuras 1A, 1C e 1E). Ou seja, quanto maiores os volumes de precipitação, durante o período avaliado, maiores foram os períodos de sobrevivência e AAC (Apêndice B, C e D).

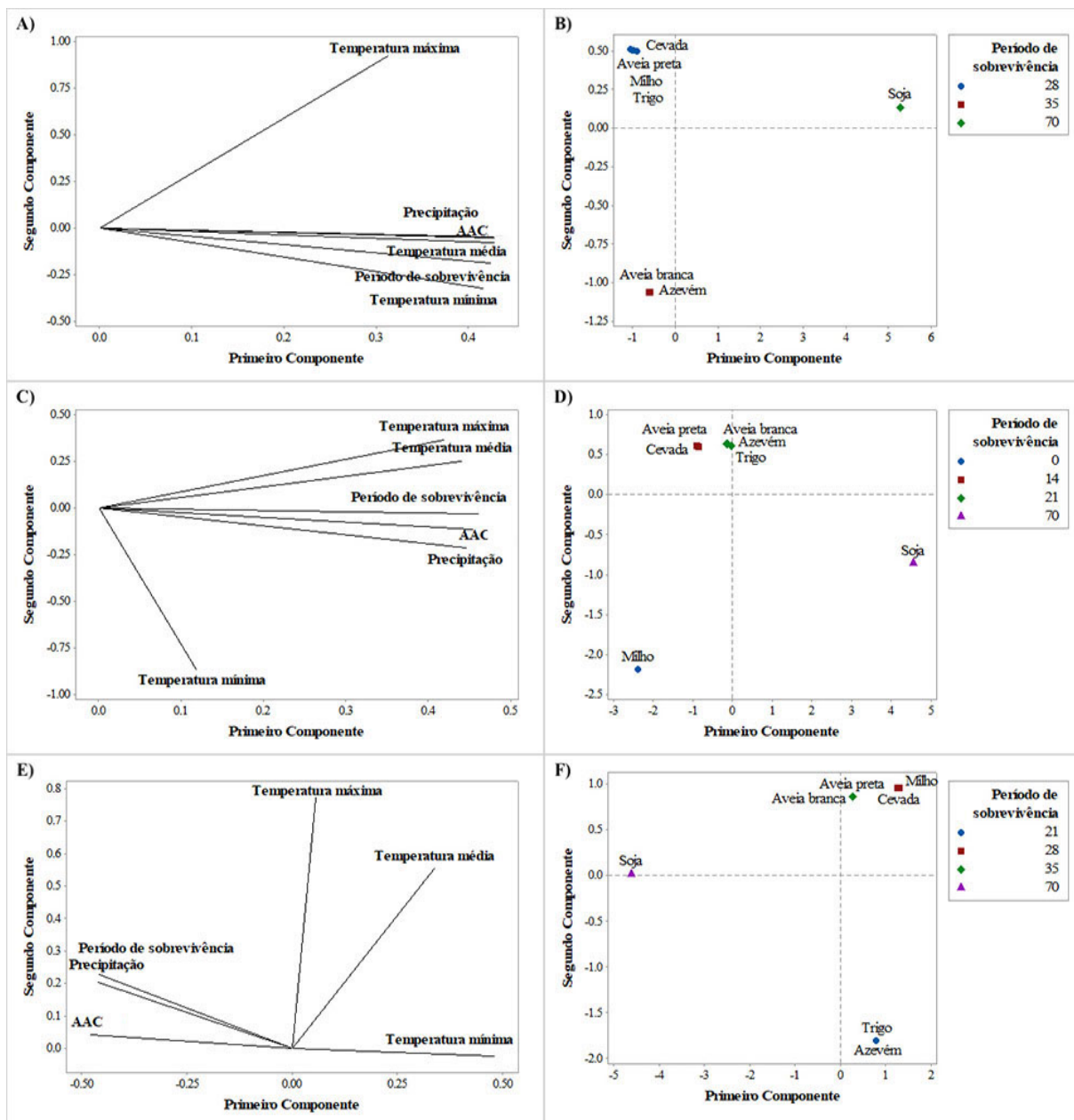
Tabela 6 – Médias de temperatura máxima, mínima e média, umidade do solo e precipitação dos experimentos de 11 a 13

Período	Temperatura média	Temperatura máxima	Temperatura mínima	Umidade relativa do ar	Precipitação (mm)
Experimento 11					
0	21,9	29,2	16,9	76,7	0,0
0 – 7	21,9	27,5	18,5	79,5	39,4
7 – 14	21,5	29,0	16,8	75,0	47,8
14 – 21	21,6	28,3	16,7	76,9	82,6
21 – 28	21,1	27,3	16,0	80,8	63,9
28 – 35	22,1	27,0	18,8	80,9	14,0
35 – 42	22,2	29,4	17,8	3,6	20,6
42 – 49	7,4	16,2	0,4	65,8	21,0
49 – 56	24,7	32,0	19,4	69,0	19,7
56 – 63	22,5	28,7	19,0	84,2	38,8
63 – 70	24,0	29,1	20,4	83,9	40,8
Experimento 12					
0	21,8	25,8	19,0	91,5	0,8
0 – 7	22,2	27,2	18,4	79,2	11,0
7 – 14	23,4	25,6	17,8	80,9	20,3
14 – 21	22,8	28,6	18,8	76,7	21,0
21 – 28	22,0	27,8	17,7	78,5	76,4
28 – 35	24,3	31,6	19,3	73,1	39,5
35 – 42	22,7	28,7	19,3	84,7	50,2
42 – 49	24,3	29,9	20,3	81,6	35,5
49 – 56	21,5	26,7	18,0	80,7	8,6
56 – 63	24,2	30,2	19,2	65,2	28,2
63 – 70	22,3	27,9	19,7	88,7	135,9
Experimento 13					
0	24,1	28,2	21,8	82,2	0,0
0 – 7	22,3	26,7	19,3	84,5	45,8
7 – 14	20,2	25,2	17,4	82,7	32,3
14 – 21	21,4	28,0	16,7	71,0	0,0
21 – 28	24,3	31,1	19,0	69,1	17,8
28 – 35	21,6	27,6	18,1	77,5	59,8
35 – 42	21,6	27,6	17,3	72,0	1,6
42 – 49	23,0	28,4	19,7	85,4	143,6
49 – 56	22,8	28,8	17,8	67,1	4,1
56 – 63	18,8	24,6	14,9	74,6	11,4
63 – 70	19,4	25,6	14,6	67,7	0,0

Tabela 7 – Médias de temperatura máxima, mínima e média, umidade do solo e precipitação dos experimentos de 14 a 16

Período	Temperatura média	Temperatura máxima	Temperatura mínima	Umidade relativa do ar	Precipitação (mm)
Experimento 14					
0	15,7	19,9	11,0	68,8	6,4
0 – 7	17,5	23,1	12,4	64,6	6,4
7 – 14	20,5	26,0	15,4	56,0	0,0
14 – 21	19,2	25,1	13,7	64,4	0,0
21 – 28	21,3	27,2	15,4	53,4	0,0
28 – 35	17,1	23,4	12,7	68,9	0,0
35 – 42	20,0	26,2	14,1	49,3	0,0
42 – 49	20,2	24,6	16,5	68,1	75,0
49 – 56	14,1	19,7	10,2	75,2	9,1
56 – 63	21,2	28,2	14,7	56,2	0,0
63 – 70	23,4	30,7	17,1	53,7	0,0
Experimento 15					
0	26,4	32,5	21,7	54,0	0,0
0 – 7	24,7	31,5	19,8	65,2	9,9
7 – 14	20,5	26,0	15,4	56,0	0,0
14 – 21	19,2	25,1	13,7	64,4	0,0
21 – 28	21,3	27,2	15,4	53,4	0,0
28 – 35	17,1	23,4	12,7	68,9	0,0
35 – 42	20,0	26,2	14,1	49,3	0,0
42 – 49	20,2	24,6	16,5	68,1	75,0
49 – 56	14,1	19,7	10,2	75,2	9,1
56 – 63	21,2	28,2	14,7	56,2	0,0
63 – 70	23,4	30,7	17,1	53,7	0,0
Experimento 16					
0	23,6	29,3	20,0	81,2	0,0
0 – 7	23,8	29,7	20,7	84,5	84,8
7 – 14	22,9	28,6	20,1	86,0	101,3
14 – 21	24,0	30,6	19,6	75,4	15,8
21 – 28	24,7	30,7	20,0	73,3	27,8
28 – 35	21,9	27,7	17,9	72,9	4,1
35 – 42	22,7	27,8	18,7	78,4	28,4
42 – 49	24,3	30,9	19,7	68,7	0,8
49 – 56	22,2	27,4	19,3	81,1	23,5
56 – 63	21,6	27,3	18,2	84,2	69,6
63 – 70	23,9	30,2	19,9	73,9	8,4

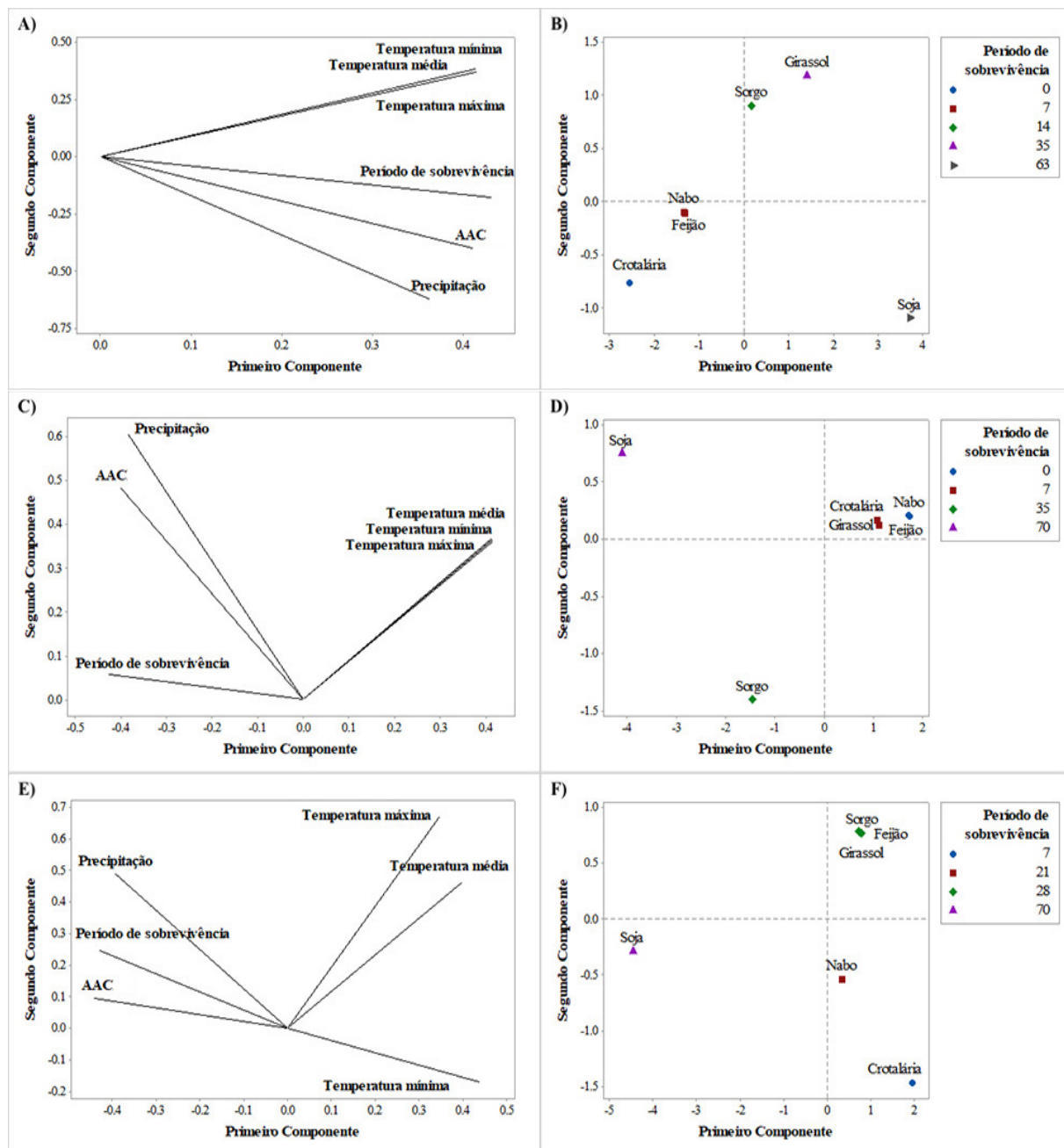
Figura 1 - Análise de componentes principais (ACP) da sobrevivência de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* na filosfera de plantas cultivadas nos experimentos 11 (A, B), 12 (C, D) e 13 (E, F). A, C, E) Gráfico de projeção dos vetores: temperatura máxima, média e mínima, precipitação, área abaixo da curva de progresso da doença (AAC) e período de sobrevivência. B, D, E) Gráfico biplot com a dispersão das plantas de acordo com o período de sobrevivência.



Em relação à temperatura, no experimento 11, as temperaturas máxima, média e mínima se correlacionaram positivamente com os períodos de sobrevivência e AAC (Figura 1A). No experimento 12, as temperaturas máxima e média também se correlacionaram positivamente, mas a temperatura mínima não apresentou correlação, provavelmente porque variações na temperatura mínima, dentre os experimentos, foram baixas, de 0,3 °C (Figura 1C). Para o experimento 13, as temperaturas média e mínima se correlacionaram negativamente com os períodos de sobrevivência e AAC (Figura 1E). A temperatura máxima, que apresentou variações de 0,8 °C entre os experimentos, não se correlacionou com as demais variáveis (Figura 1E e Apêndice D (C) nesse experimento).

No segundo grupo de plantas, os gráficos de ACP também evidenciaram a correlação positiva entre período de sobrevivência, AAC e precipitação, nos três experimentos (Figura 2). No experimento 14, essas três variáveis se correlacionaram positivamente com a temperatura mínima, média e máxima (Figura 2A). Para os experimentos 15 e 16, foi possível observar correlação negativa entre temperatura média, máxima e mínima e período de sobrevivência e AAC (Figuras 2C e 2E).

Figura 2 - Análise de componentes principais (ACP) da sobrevivência de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* na filosfera de plantas cultivadas nos experimentos 14 (A, B), 15 (C, D) e 16 (E, F). A, C, E) Gráfico de projeção dos vetores: temperatura máxima, média e mínima, precipitação, área abaixo da curva (AAC) e período de sobrevivência. B, D, E) Gráfico biplot com a dispersão das plantas de acordo com o período de sobrevivência



De modo geral, a maior ocorrência de precipitações favoreceu a sobrevivência de *Psg* na filosfera de todas as plantas cultivadas, em todos os experimentos. As altas temperaturas reduziram o período de sobrevivência de *Psg* nos experimentos 13, 15 e 16, mas favoreceram a sobrevivência da bactéria nos experimentos 11, 12 e 14 (Apêndice B, C e E).

4.3 Sobrevivência de *Psg* na rizosfera de plantas cultivadas

Os maiores períodos de sobrevivência de *Psg* na rizosfera foram verificados para aveia branca, aveia preta, azevém, cevada, milho, soja e trigo (28 dias). Para o nabo forrageiro, o período máximo de sobrevivência na rizosfera foi de 21 dias, e 14 dias para crotalária, feijão comum, girassol e sorgo (Tabela 8).

Tabela 8 - Períodos de sobrevivência e áreas abaixo da curva (AAC) de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* na rizosfera de plantas cultivadas, e em solo (experimentos 11 a 16)

Espécies	Exp. 11	Exp. 12	Exp. 13	Exp. 14	Exp. 15	Exp. 16
Aveia branca	28 ^a (110,7) ^b	0 (19,1)	0 (13,9)	-	-	-
Aveia preta	28 (116,9)	0 (14,7)	7 (50,3)	-	-	-
Azevém	28 (127,0)	0 (16,2)	7 (34,5)	-	-	-
Cevada	28 (122,6)	0 (15,7)	7 (30,8)	-	-	-
Crotalária	-	-	-	0 (15,8)	14 (75,4)	0 (17,5)
Feijão comum	-	-	-	0 (16,4)	14 (102,6)	0 (18,2)
Girassol	-	-	-	0 (12,8)	14 (101,5)	0 (17,6)
Milho	28 (112,8)	0 (17,0)	7 (43,8)	-	-	-
Nabo forrageiro	-	-	-	0 (20,4)	21 (115,5)	0 (16,6)
Soja	28 (122,0)	0 (16,1)	7 (35,2)	0 (14,3)	21 (107,9)	7 (43,0)
Sorgo	-	-	-	0 (17,9)	14 (79,9)	0 (16,8)
Trigo	28 (113,4)	0 (23,8)	7 (39,8)	-	-	-
Solo	0 (18,5)	0 (27,4)	7 (35,2)	7 (38,3)	21 (110,7)	0 (18,4)

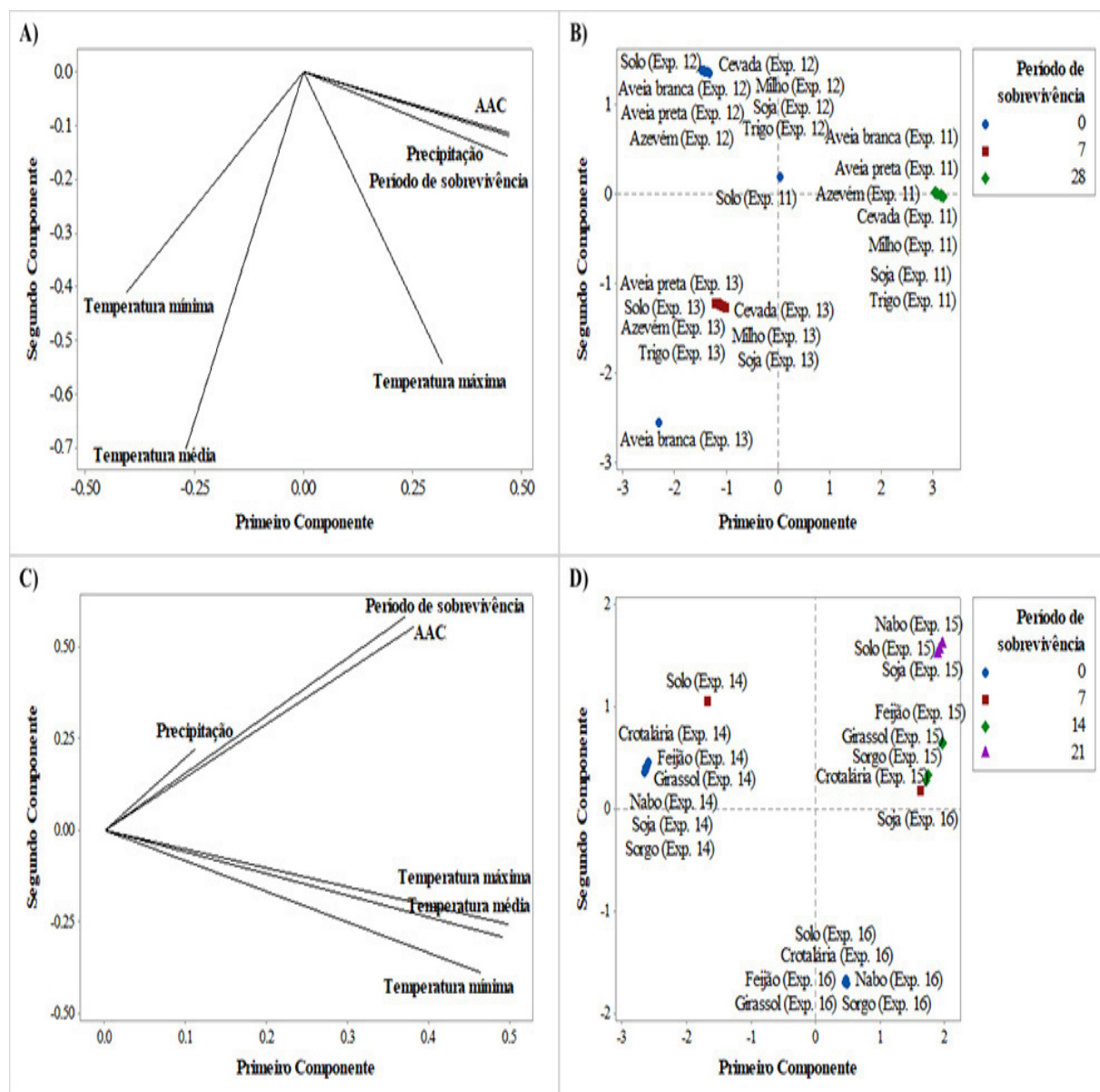
^aPeríodo de sobrevivência de *Psg* na rizosfera de plantas cultivadas.

^bÁrea abaixo da curva (AAC) de *Psg* na rizosfera de plantas cultivadas.

Para o primeiro grupo de plantas, as variáveis período de sobrevivência, AAC, precipitação e temperatura máxima se correlacionaram positivamente, enquanto as temperaturas mínima e média apresentaram correlação negativa (Figura 3A). No experimento 11, onde a precipitação acumulada foi de 233,7 mm, *Psg* sobreviveu por 28 dias na rizosfera de todas as plantas (Apêndice H). Quando não ocorreram

chuvas, ou a precipitação registrada foi baixa, o período de sobrevivência foi de no máximo sete dias.

Figura 3 - Análise de componentes principais (ACP) da sobrevivência de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* na rizosfera de plantas cultivadas nos experimentos 11, 12 e 13, que correspondem ao grupo 1 (A, B) e, 14, 15 e 16, referentes ao grupo 2 (C, D). e) Gráfico de projeção dos vetores: temperatura máxima, média e mínima, precipitação, área abaixo da curva (AAC) e período de sobrevivência. B, D, E) Gráfico biplot com a dispersão das plantas de acordo com o período de sobrevivência.



No segundo grupo de plantas, apenas as variáveis período de sobrevivência, AAC e precipitação se correlacionaram positivamente entre si (Figura 3C). Nos experimentos em que Psg sobreviveu de sete a 21 dias na rizosfera, a precipitação acumulada variou entre 9,9 a 84,8 mm, sendo que não foram registradas chuvas nesse período inicial nos experimentos 14 e 16 onde a bactéria só foi recuperada no dia da instalação (Figura Suplementar I). A exceção é a soja, onde Psg sobreviveu por sete dias no experimento 16.

No solo (controle negativo), os períodos de sobrevivência de Psg variaram entre zero (em três dos experimentos) a 21 dias, sendo que a ausência de chuvas no período inicial também desfavoreceu a sobrevivência da bactéria. Nos experimentos 11, 12 e 16, onde Psg só foi recuperada no dia da instalação, a precipitação acumulada variou entre 0 a 0,8 mm. Para os demais experimentos, a precipitação acumulada variou entre 9,9 a 45,88 mm, mas o período de maior sobrevivência não coincidiu com os maiores volumes de precipitações registradas, pelo contrário.

4.4 Sobrevivência endofítica de Psg em plantas cultivadas

Psg foi recuperada em todas as espécies de plantas cultivadas avaliadas, entretanto, o período de sobrevivência variou entre os tratamentos, com e sem ferimento (Tabela 9).

Nas plantas com ferimentos, os períodos médios de sobrevivência foram: soja (70 dias), aveia branca, aveia preta e azevém (63 dias), cevada, girassol e sorgo (49 dias), milho (42 dias), feijão comum e trigo (35 dias), crotalária e nabo forrageiro (28 dias) (Tabela 7). Já nas plantas sem ferimentos, os períodos médios foram: azevém (70 dias), soja (63 dias), aveia branca e aveia preta (49 dias), sorgo (42 dias), cevada e milho (35 dias), feijão comum e trigo (28 dias), girassol (21 dias) e crotalária (7 dias) (Tabela 9).

Em plantas como cevada, girassol e milho, o método de inoculação com ferimento, favoreceu a sobrevivência de Psg. Nos experimentos 17 e 18, estas plantas obtiveram elevados períodos médios de sobrevivência, fato que não ocorreu nas plantas inoculadas sem ferimentos (Tabela 9).

Dentre todas as plantas avaliadas, a soja, aveia branca e aveia preta, foram as espécies que apresentaram uma média de AAC mais alta. No tratamento com ferimento a média de AAC de aveia branca foi 309,0 e de aveia preta 328,3. Dentre as plantas sem ferimentos, a média foi de 236,5 e 203,6, respectivamente, para aveia branca e aveia preta.

Dentre as espécies que registraram a média mais baixa de AAC, podemos destacar crotalária com 46,69, e nabo forrageiro com 73,99, em plantas sem ferimento. Com ferimento a média foi de 140,03 e 113, 93 respectivamente.

Tabela 9 - Períodos de sobrevivência e áreas abaixo da curva (AAC) de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* em plantas cultivadas com e sem ferimento (experimento 17 e 18)

Espécies	Experimento 17		Experimento 18		Média	
	CF*	SF**	CF	SF	CF	SF
Aveia branca	70 ^a (325,7) ^b	42 (219,3)	56 (292,3)	56 (253,6)	63 (309,0)	49 (236,5)
Aveia preta	56 (318,3)	42 (188,1)	70 (338,3)	56 (219,1)	63 (328,3)	49 (203,6)
Azevém	56 (280,3)	70 (281,2)	70 (283,4)	70 (268,2)	63 (281,8)	70 (274,7)
Cevada	42 (209,8)	14 (83,3)	56 (264,3)	56 (181,1)	49 (237,0)	35 (132,2)
Crotalária	42 (212,0)	14 (73,9)	14 (68,0)	0 (19,4)	28 (140,0)	7 (46,6)
Feijão comum	56 (276,4)	42 (231,5)	14 (100,1)	14 (70,6)	35 (188,2)	28 (151,1)
Girassol	56 (188,6)	0 (31,1)	42 (172,6)	42 (152,8)	49 (180,6)	21 (91,9)
Milho	70 (300,7)	28 (124,6)	14 (107,1)	42 (164,9)	42 (203,9)	35 (144,7)
Nabo forrageiro	42 (152,3)	14 (77,5)	14 (75,5)	14 (70,4)	28 (113,9)	14 (73,9)
Soja	70 (442,4)	56 (279,5)	70 (407,2)	70 (392,3)	70 (424,8)	63 (335,9)
Sorgo	70 (274,8)	56 (251,7)	28 (132,7)	28 (132,6)	49 (203,8)	42 (192,1)
Trigo	42 (211,8)	28 (139,4)	28 (154,5)	28 (112,7)	35 (183,1)	28 (126,0)

a período de sobrevivência de *Psg*

b área abaixo da curva (AAC)

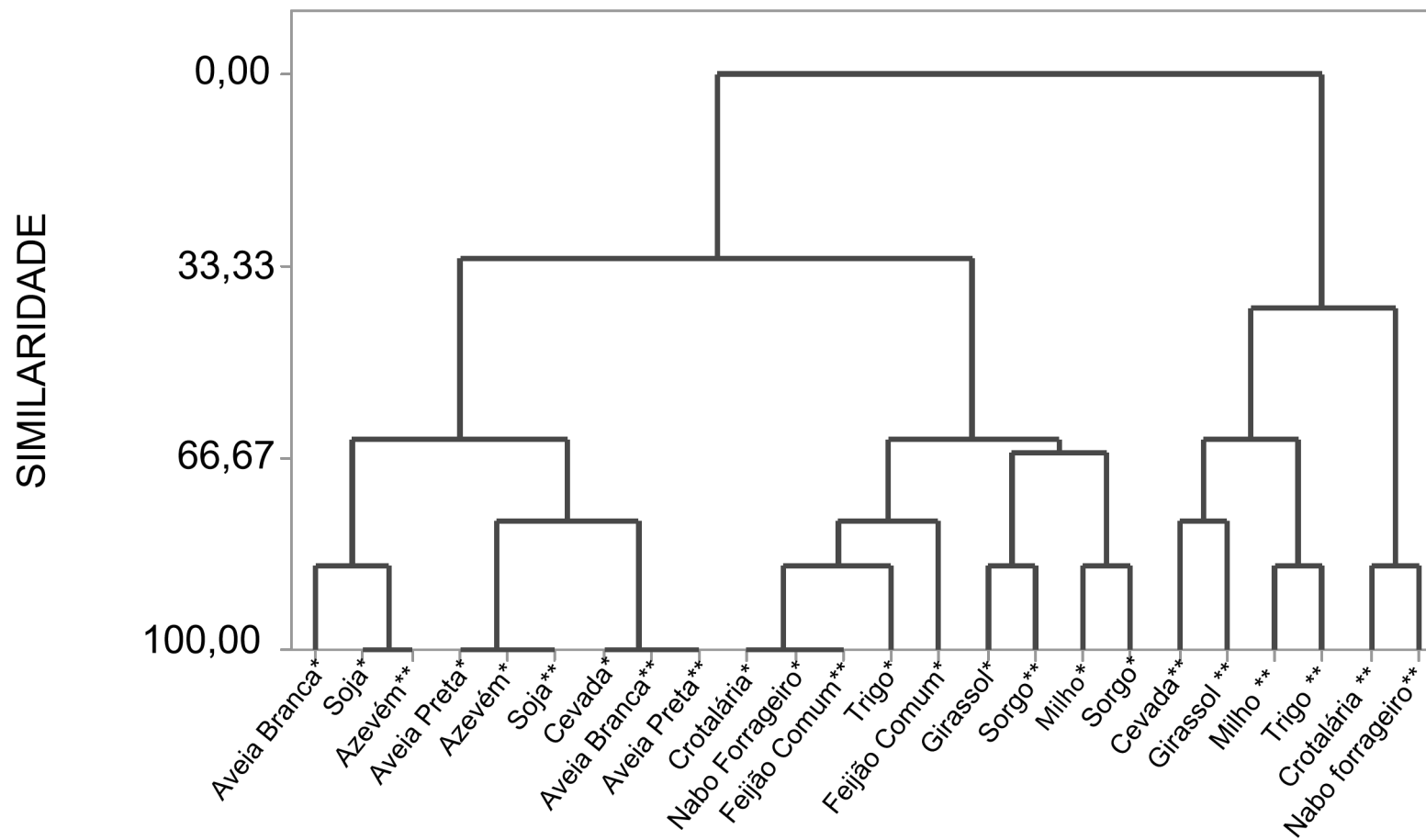
*CF – com ferimento; **SF – sem ferimento

Observou-se a formação de quatro agrupamentos com corte de similaridade próximo de 60%. No agrupamento I, as espécies como aveia branca, aveia preta, azevém, cevada e soja, mostraram ser 100% similares entre si, em ambos os tratamentos, nos experimentos 17 e 18. Estas espécies, com exceção da cevada, formaram um grupo de resposta com aproximadamente 67% de similaridade (Figura 4).

Em contrapartida, cevada, crotalária, girassol, milho, nabo forrageiro, sorgo e trigo foram as espécies que apresentaram maior influência na sobrevivência de *Psg* entre plantas com e sem ferimento, não apresentando nenhuma similaridade entre

os grupos de resposta para os dois experimentos realizados. Em paralelo, foi possível verificar a formação de um grupo, composto por cevada, crotalária, girassol, milho, nabo forrageiro e trigo, sem fermento. Este grupo obteve uma sobrevivência considerada baixa, mostrando com similaridade aproximada de 30% (Figura 4).

Figura 4 - Grupo de respostas formados pelo tempo de sobrevivência endofítica de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* em plantas cultivadas nos experimentos 17 e 18. Agrupamento com ambos os tratamentos com e sem ferimento. (*) plantas com ferimento; () plantas sem ferimento.**



5 DISCUSSÃO

O conhecimento sobre a ecologia de *Psg* é extremamente importante para um manejo bem-sucedido do cretamento bacteriano. Dentre todos os nichos de sobrevivência, o patógeno encontra maior dificuldade de sobreviver no solo, como células livres. Pela pouca adaptação, as bactérias fitopatogênicas pertencentes ao gênero *Pseudomonas* não produzem estruturas de resistência e sofrem com a carga antagônica exercida pelos demais microrganismos ali presentes (SCHUSTER; COYNE, 1974; ROUSK et al., 2010; FIERER; LENNON, 2011).

Este é o primeiro trabalho desenvolvido em condições brasileiras avaliando a sobrevivência de *Psg* no solo. Entre os dez experimentos conduzidos a campo, em apenas quatro experimentos (experimento 1, 4, 9 e 10) *Psg* foi recuperada dois dias após a sobrevivência. Nos demais experimentos, dois dias após a infestação do solo, não foram detectadas células viáveis de *Psg*, demonstrando baixa sobrevivência nesse nicho.

Acreditava-se que, de acordo com as épocas do ano em que os experimentos fossem instalados, diferentes períodos de sobrevivência seriam obtidos. No entanto, verificou-se que, seja no verão, onde foram registradas altas temperaturas, ou no outono, com temperaturas mais amenas, a sobrevivência de *Psg* no solo foi baixa.

Segundo Park e Lim (1984), *Psg* é uma bactéria com baixa capacidade saprofítica. Levando em consideração que os quatro solos utilizados nos experimentos não foram esterilizados, esta poderia ser uma justificativa para a baixa sobrevivência nos experimentos realizados. Graham (1953), já havia relatado *Psg* sobrevivendo por um período maior em solo esterilizado, com períodos entre seis e nove meses. Em contrapartida, em solo não estéril, a sobrevivência limitou-se a um mês. No solo existem diversos microrganismos competindo por espaço, nutrientes e água, fatores essenciais à sobrevivência (PANG et al., 2021).

Em contrapartida, para *Xag*, outra bactéria patogênica à soja, estudos demonstraram que a temperatura é um fator que pode influenciar diretamente sua sobrevivência em solo. Srivastava e Bais (1987), demonstraram a sobrevivência de *Xag* por até 60 dias sob temperaturas baixas, entre 6 e 8 °C e por até 30 dias em uma faixa de temperatura entre 14 a 40 °C, em solo esterilizado. Em solo não

esterilizado, expostos às mesmas condições de temperatura, Xag foi recuperada por 30 e 10 dias, respectivamente.

O tipo de solo também pode influenciar na sobrevivência das fitobactérias. Dentro dos agregados de argila existe disponibilidade de água e proteção contra antagonistas (HATTORI, 1973). Gonçalves et al. (2018), estudando a ecologia de Cff, constataram que o tipo de solo e a umidade influenciaram diretamente a sobrevivência da bactéria. Neste estudo, três tipos de solo foram de textura argilosa (solos A, B e D) e o outro de textura média (solo C), mas, mesmo assim, os períodos de sobrevivência de Psg foram baixos.

Bactérias também podem colonizar as plantas de forma epifítica. Nesta fase, as populações bacterianas se multiplicam na superfície foliar ou nas raízes de determinadas espécies de plantas, hospedeiras ou não, sem infectá-las e sem causar o desenvolvimento da doença (SHUSTER; COYNE, 1974; KIMURA, 1981). Nessa condição, a bactéria sobrevive consumindo os exsudatos liberados pelo hospedeiro, sem causar prejuízos a este (KIMURA, 1981).

A filosfera, que é caracterizada como toda a superfície foliar das plantas (REMUS-EMSERMANN; SCHLECHTER, 2018), é considerada um ambiente natural na interação entre fitobactérias e seu hospedeiro, na qual as fitobactérias buscam um refúgio em condições adversas à sua sobrevivência. Todavia, a filosfera também é conhecida como um ambiente hostil para estes patógenos. A exposição a fatores climáticos pode influenciar diretamente na sobrevivência das fitobactérias nesse nicho (VORHOLT, 2012).

Neste estudo, com auxílio da classificação realizada pela análise estatística de ACP, foi observado que as variáveis precipitação e temperatura influenciaram diretamente a sobrevivência de Psg na filosfera das plantas cultivadas avaliadas. A ocorrência de precipitações se correlacionou positivamente ao período de sobrevivência, nos dois grupos de plantas avaliadas. Deste modo, quanto maior o volume de precipitação, maior foi o período de sobrevivência registrado.

Huffman et al. (2013), ao contrário do observado nesse estudo, relataram que a ocorrência de chuvas pode lavar ou retirar as populações epifíticas presentes no filoplano, reduzindo a fonte de inóculo na superfície foliar. Nascimento et al. (2020), confirmaram essa teoria para Cff, verificando que chuvas abundantes diminuíram o período de sobrevivência da bactéria em plantas daninhas. Em contrapartida, Allard

et al. (2020) verificou que chuvas intensas podem favorecer a sobrevivência de bactérias pertencentes à família Xanthomonadaceae.

Para Psg, mesmo com a precipitação favorecendo sua sobrevivência durante os experimentos, em algumas espécies de plantas, o período de sobrevivência observado foi inferior. Na filosfera de crotalária, feijão comum e nabo forrageiro, Psg teve pouco desenvolvimento quando comparada às outras plantas avaliadas. Uma justificativa para este resultado, seria de que as características da filosfera dessas espécies podem influenciar na sobrevivência da bactéria. A filosfera é constituída por folhas, que apresentam características distintas, sendo intercaladas por células epidérmicas e sulcos entre estas, estômatos, tricomas, hidatódios e tricomas. Desta forma, cada espécie vegetal pode oferecer em suas folhas diferentes microhabitats para os microrganismos presentes (VORHOL, 2012; REMUS-EMSERMANN, 2019), e este fator pode influenciar também a sobrevivência de Psg.

Com relação à temperatura, é descrito que temperaturas mais amenas são favoráveis ao desenvolvimento de Psg (LANNA FILHO, 2015; GODOY et al., 2016), e que as oscilações de temperaturas que podem ocorrer ao longo do dia, podem afetar diretamente e indiretamente as populações bacterianas (LEVEAU, 2018). Os dados obtidos neste estudo foram inconclusivos. Altas temperaturas reduziram o período de sobrevivência de Psg nos experimentos 13, 15 e 16, mas favoreceram a sobrevivência da bactéria nos experimentos 11, 12 e 14.

Para a rizosfera, região que compreende o solo sob influência das raízes das plantas (QU et al., 2020), mesmo com proteção a fatores climáticos e oferta de carbonos e minerais importantes para o desenvolvimento de microrganismos (BRENCIC; WINANS, 2005; RAAIJMAKERS et al., 2009), a sobrevivência de Psg não foi considerada alta. Os maiores períodos foram registrados em aveia branca, aveia preta, azevém, cevada, milho, soja e trigo.

As diferentes espécies de plantas podem selecionar uma população específica de microrganismos em sua rizosfera (GOPAL; GUPTA, 2016), devido à liberação de exsudatos radiculares que podem afetar a composição química deste nicho, atuando ou não como fonte de substrato para o desenvolvimento de determinados microrganismos (YANG; CROWLEY, 2000). Esta poderia ser uma resposta às divergências encontradas neste trabalho em relação à sobrevivência de Psg na rizosfera das plantas cultivadas avaliadas.

Vancura et al. (1969), estudando-se a sobrevivência de Xcf em meios de cultura contendo exsudatos liberados pelas raízes de feijoeiro, cevada e trigo, sugeriram uma relação entre a sobrevivência da bactéria na rizosfera e a liberação de peptídeos biologicamente ativos pela semente e cotilédone da planta em desenvolvimento. Corroborando com esta hipótese, os autores ressaltaram que nas fases iniciais do desenvolvimento das plantas, as bactérias são capazes de se multiplicar com sucesso em sua rizosfera. Possivelmente, fatores como a idade da planta e a ausência desses peptídeos liberados pela mesma em sua fase inicial de desenvolvimento, possam explicar a falta de estímulo à sobrevivência de Psg na rizosfera, uma vez que foram poucas as plantas cultivadas que ainda abrigavam populações bacterianas após os sete dias de inoculação.

Apenas sob influência da precipitação a sobrevivência de Psg foi maior na rizosfera. Quando não ocorreram chuvas, ou a precipitação registrada foi baixa, o período de sobrevivência foi de no máximo sete dias. Outros fatores que podem estar associados são as práticas culturais, disponibilidade de nutrientes, umidade e pH do solo, assim como o tipo de solo (GRAYSTON et al., 1998; LATOUR et al., 1999; SMALLA et al., 2001).

Para Xcf, assim como para Psg, a rizosfera não é um potencial nicho de sobrevivência (MELO et al., 2021). Em contrapartida, para Cff a região do entorno das raízes apresenta condições favoráveis para o desenvolvimento da bactéria. Nascimento et al. (2021) relataram que Cff sobreviveu na rizosfera de aveia preta, girassol e feijão comum por até 63 dias, e em milheto, nabo forrageiro, azevém, cevada, aveia branca e trigo por até 56 dias.

Para os experimentos que avaliaram a sobrevivência endofítica de Psg, plantas com ferimentos obtiveram períodos de sobrevivência maiores que as plantas inoculadas sem ferimento. Acredita-se que, o fato das bactérias fitopatogênicas necessitarem de alguma abertura para penetrar determinada planta, pode ter influenciado nesse resultado (KANDEL et al., 2017).

Observando a análise estatística foi possível identificar que além da soja, aveia branca, aveia preta e azevém foram espécies nas quais não ocorreram diferenças entres os períodos de sobrevivência endofítica de Psg, em função dos métodos de inoculação. Este resultado pode estar associado a fatores como espécie e tecido vegetal, genótipos e condições ambientais (HARDOIM et al., 2015).

O interior das plantas pode ser colonizado não só por fitopatógenos, mas também por microrganismos benéficos. Diversos microrganismos podem contribuir com o crescimento e desenvolvimento da planta, podendo inclusive auxiliar na defesa contra bactérias fitopatogênicas (REINHOLD-HUREK; HUREK, 2011). Desta forma, a planta torna-se responsável por recrutar e moldar suas comunidades microbianas. Foi verificado nos experimentos, que mesmo as plantas apresentando ferimentos nas folhas, algumas espécies tiveram um período de sobrevivência maior em relação às outras.

Como fonte de inóculo, em campo, a sobrevivência endofítica pode ter um elevado impacto no desenvolvimento de epidemias. Com as bactérias protegidas dentro dos tecidos da planta, sofrendo menos com fatores bióticos e abióticos, as bactérias tendem a sobreviver por períodos mais longos (LEBEN, 1981; SCHUSTER; COYNE 1974; GONÇALVES et al., 2017).

6 CONCLUSÕES

Psg apresentou baixa capacidade de sobrevivência no solo. Quatro solos foram avaliados, e em todos a bactéria sobreviveu por no máximo dois dias após a instalação dos experimentos. Desta forma, o solo não é um nicho favorável para a sobrevivência de Psg.

Além da soja, Psg também pode sobreviver na filosfera de aveia branca, aveia preta, azevém, girassol e sorgo por até 35 dias, e em cevada, milho e trigo por 28 dias. Deste modo, não é indicada a rotação/sucessão destas plantas cultivadas com a soja, especialmente em áreas com histórico de ocorrência de crestamento bacteriano. Nestas áreas é recomendado o plantio de crotalária, feijão comum e nabo forrageiro, espécies no qual Psg apresentou baixa sobrevivência.

Para a rizosfera, a sobrevivência de Psg foi baixa quando comparada à filosfera. Em pelo menos um dos experimentos a bactéria foi recuperada somente no dia da instalação. Deste modo, a rizosfera das plantas cultivadas avaliadas não foi um nicho favorável à sobrevivência de Psg.

Com relação à sobrevivência endofítica de Psg foi observado que plantas inoculadas com ferimentos, obtiveram uma sobrevivência maior de Psg em comparação às plantas sem ferimentos. Também foi observada uma maior sobrevivência endofítica de Psg em aveia branca, aveia preta e azevém tanto nas plantas com ou sem ferimentos nas folhas.

REFERÊNCIAS

- ALLARD, S. M.; OTTESEN, A. R.; MICALLEF, S. A. Rain induces temporary shifts in epiphytic bacterial communities of cucumber and tomato fruit. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p.1-10, dez. 2020.
- BALLIO, A. et al. Syringopeptins, new phytotoxic lipodepsipeptides of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. **FEBS letters**, v. 291, n. 1, p. 109–112, 7 out. 1991.
- BARBIERI, Mirian et al. Ensaio sobre a bioatividade do solo sob plantio direto em sucessão e rotação de culturas de inverno e verão. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 1, p. 122-134, 2019.
- BERESWILL, S. et al. Identification and relatedness of coronatine-producing *Pseudomonas syringae* pathovars by PCR analysis and sequence determination of the amplification products. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, n. 8, p. 2924–2930, 1994.
- BONALDO, S. M.; RIEDO, I. C.; LIMA, A. R. Monitoramento e Diagnóstico de Doenças foliares da Cultura da Soja na Região da Comcam na Safra 2007/2008. **Campo Digital**, v. 4, n. 1, 2009.
- CAFATI, C. R.; SAETTLER, A. W. Role of nonhost species as alternate inoculum sources of *Xanthomonas phaseoli*. **Plant Disease (formerly Plant Disease Reporter)**, v. 64, n. 2, p. 194–196, 1980.
- CHATNAPARAT, T.; PRATHUANGWONG, S.; LINDOW, S. E. Global Pattern of Gene Expression of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* Within Soybean Leaves. **Molecular plant-microbe interactions: MPMI**, v. 29, n. 6, p. 508–522, 1 jun. 2016.
- CONAB – COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos**, 2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/infoagro/safras>. Acesso em: 30 nov 2021
- DAFT, G. C.; LEBEN, C. Bacterial blight of Soybeans: epidemiology of blight outbreaks. **Phytopathology**, v. 62, p. 1, 1972.
- DUNLEAVY, J. M. Bacterial tan spot, a new foliar disease of soybeans. **Crop Science**, v. 23, n. 3, p. 473-476, 1983.
- FEET, W. F. **Survival of *Pseudomonas glycinea* and *Xanthomonas phaseoli* var. *sojensis* in leaf debris and soybean seed in Brazil**. Disponível em: <<https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US7902405>>. Acesso em: 5 dez. 2021.
- FIERER, N.; LENNON, J. T. The generation and maintenance of diversity in microbial communities. **American Journal of Botany**, v. 98, n. 3, p. 439–448, 1 mar. 2011.
- GAZZONI, D. L. A soja no Brasil é movida por inovações tecnológicas. **Ciência e Cultura**, v. 70, n. 3, p. 16–18, jul. 2018.

FRANCHINI, Julio Cezar et al. Importância da rotação de culturas para a produção agrícola sustentável no Paraná. **Embrapa Soja-Documentos (INFOTECA-E)**, 2011.

GODOY, C. V. et al. Doenças da soja. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016. v. 2, cap. 67, p. 657-675.

GODOY, C. V. Manejo de doenças na cultura da soja. In: **Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: WORKSHOP CTC AGRICULTURA, 16., 2017, Rio Verde. Agricultura-Resultados 2017. Rio Verde: Centro Tecnológico Comigo, 2017., 2017.

GONÇALVES, R. M. et al. Alternative hosts of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, causal agent of bean bacterial wilt. **European Journal of Plant Pathology**, v. 148, n. 2, p. 357-365, 2017.

GONÇALVES, R. M. et al. Survival of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in the soil under Brazilian conditions. **European Journal of Plant Pathology** **2018 152:1**, v. 152, n. 1, p. 213–223, 10 mar. 2018.

GOPAL, M.; GUPTA, A. Microbiome Selection Could Spur Next-Generation Plant Breeding Strategies. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1971, 2016.

GORADIA, L.; HARTMAN, G. L.; DANIEL, S. L. Evaluation of glyphosate-tolerant soybean cultivars for resistance to bacterial pustule. **European journal of plant pathology**, v. 124, n. 2, p. 331-335, 2009.

GRAHAM, J. H. Overwintering of three bacterial pathogens of Soybean. **Phytopathology**, v. 43, n. 4, 1953.

GRAYSTON, S. J. et al. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 30, n. 3, p. 369-378, 1998.

GRIGOLLI, J. F. J. Manejo de doenças na cultura da soja. **Tecnologia e produção: Soja**, v. 2015, p. 134-156, 2014.

GROTH, D. E; BRAUN, E. J. Survival, Seed Transmission, and Epiphytic Development of *Xanthomonas campestris* pv. *glycines* in the North-Central United States. **Plant Disease**, v. 73, n. 4, p. 326, 1989.

HABTE, M.; ALEXANDER, M. Protozoa as agents responsible for the decline of *Xanthomonas campestris* in soil. **Applied microbiology**, v. 29, n. 2, p. 159–164, fev. 1975.

HARDOIM, P. R. et al. The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. **Microbiology and molecular biology reviews: MMBR**, v. 79, n. 3, p. 293–320, set. 2015.

HARTMAN, G. et al. Compendium of Soybean Diseases and Pests, Fifth Edition. **Compendium of Soybean Diseases and Pests, Fifth Edition**, 28 out. 2016.

HARVESON, R. M. et al. Bacterial wilt of dry-edible beans in the central high plains of the U.S: Past, present, and future. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 99, n. 12, p. 1665-1677, 2015.

HATTORI, T.; KÜSTER, E. Microbial Life in the Soil; an Introduction. **Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde**, v. 136, n. 3, p. 248–249, 1 jan. 1973.

HEDGES, Florence. A bacterial wilt of the bean caused by *Bacterium flaccumfaciens* nov. sp. **Science**, v. 55, n. 1425, p. 433-434, 1922.

HENNING, A. A. et al. Manual de identificação de doenças de soja. **Embrapa Soja Documentos (INFOTECA-E)**, 2014.

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro. **Embrapa Soja-Documentos (INFOTECA-E)**, 2014.

HONG, Jeum Kyu et al. Differential effect of delayed planting on soybean cultivars varying in susceptibility to bacterial pustule and wildfire in Korea. **Crop Protection**, v. 42, p. 244-249, 2012.

HUFFMAN, J. A. et al. High concentrations of biological aerosol particles and ice nuclei during and after rain. **Atmospheric Chemistry and Physics**, v. 13, n. 13, p. 6151– 6164, 2013.

IGNJATOV, M. et al. Characterization of *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* isolates from Vojvodina. **undefined**, 2007.

ITO, M. F. Principais doenças da cultura da soja e manejo integrado. **Nucleus**, v. 3, n. 3, p. 83–101, 7 jun. 2013.

JUHÁSZ, A. C. P. et al. Desafios fitossanitários para a produção de soja. **Embrapa Agrossilvipastoril-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2013.

KANDEL, S. L.; JOUBERT, P. M.; DOTY, S. L. Bacterial Endophyte Colonization and Distribution within Plants. **Microorganisms**, v. 5, n. 4, 1 dez. 2017.

KARAVINA, C. et al. Epiphytic survival of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (EF Sm). **Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 9, n. 2, p. 1161–1168, 2011.

KEITH, L. W. et al. Comparison of *avrD* alleles from *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*. **Molecular plant-microbe interactions: MPMI**, v. 10, n. 3, p. 416–422, 1997.

KHAERUNI, A. N. D. I. et al. Rapid Detection of Bacterial Pustule Disease on Soybean Employing PCR Technique with Specific Primers. **HAYATI Journal of Biosciences**, v. 14, n. 2, p. 76–76, 1 jun. 2007.

KIMURA, O. Importância das populações “residentes” de fitobactérias na epidemiologia de enfermidades bacterianas. **Fitopatologia Brasileira, Brasília**, v. 6, n. 3, p. 310-311, 1981.

KNOCH, K. K.; PARKE, J. L.; DURBIN, R. D. Relationship of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* races to the rhizosphere of Wisconsin-grown tobacco. **Plant and soil**, v. 158, n. 1, p. 91-97, 1994.

LANNA FILHO, R. **Doenças da soja: melhoramento genético e técnicas de manejo**. Edição I ed. [s.l.] Millenium Editora Ltda., 2015.

LATOUR, X. et al. The establishment of an introduced community of fluorescent *Pseudomonads* in the soil and in the rhizosphere is affected by the soil type. **FEMS microbiology ecology**, v. 30, n. 2, p. 163-170, 1999.

LEBEN, C. How Plant-Pathogenic Bacteria Survive. **Plant Disease**, v. 65, n. 8, p. 633, 1981.

MARTINS, P. M. M. et al. Persistence in Phytopathogenic Bacteria: Do We Know Enough? **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 1099, 2018.

MELO, L. L. et al. Survival of *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* in the phyllosphere and rhizosphere of crops and weeds. In: MOURA, P. H. A.; MONTEIRO, V. F. C. **Ciências Agrárias, Indicadores e Sistemas de Produção Sustentáveis**. 3. ed. Ponta Grossa: Atena Editora, 2021. Cap. 4., p. 31-40.

MELO et al. Vulneráveis a bactérias. In: QUEVEDO et al. **Revista Cultivar: Grandes Culturas**. n. 273, p. 35-37, 2022.

MONTOYA, M. A. et al. Uma Nota Sobre Consumo Energético, Emissões, Renda e Emprego na Cadeia de Soja no Brasil. **Revista Brasileira de Economia**, v. 73, n. 3, p. 345–369, 25 nov. 2019.

MORAES, M. H. D. et al. Avaliação de dois meios de cultura semi-seletivos para a detecção de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em sementes de feijoeiro. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n. 6, p. 385–389, nov. 2010.

NARVEL, J. M. et al. Molecular Mapping of Rxp Conditioning Reaction to Bacterial Pustule in Soybean. **Journal of Heredity**, v. 92, n. 3, p. 267–270, 1 maio 2001.

NASCIMENTO, D. M. et al. Survival of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in weeds. **Plant Pathology**, v. 69, n. 7, p. 1357–1367, 2020.

NASCIMENTO, D. M. et al. Survival of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in the phyllosphere and rhizosphere of crops. **European Journal of Plant Pathology** 2021 160:1, v. 160, n. 1, p. 161–172, 24 fev. 2021.

NGUYEN, V. T. et al. Multiple virulence factors regulated by AlgU contribute to the pathogenicity of *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* in soybean. **PeerJ**, v. 9, p. 12405, 2021.

NICHOLSON, J. F.; SINCLAIR, J. B.; JOSHI, L. K. Seedborne *Pseudomonas glycinea* and fungi affect soybean seed quality in India. **Plant Disease Reporter**, v. 57, n. 6, p. 531–533, 1973.

PANG, Z. et al. Soil metagenomics reveals effects of continuous sugarcane cropping on the structure and functional pathway of rhizospheric microbial community. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 369, 2021.

PARASHAR, R. D.; LEBEN, C. Detection of *Pseudomonas glycinea* in soybean seed lots. **Phytopathology**, v. 62, n. 9, p. 1075–1077, 1972.

PARK, E. W.; LIM, S. M. Overwintering of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* in the field. **Phytopathology**, v. 75, n. 5, p. 520–524, 1985.

PEREIRA, F. P. et al. Avaliação comparativa da composição nutricional do leite de soja em relação ao leite de vaca com e sem lactose. **Revista Acadêmica Conecta FASF**, v. 2, n. 1, p. 378-392, 2017.

PRABHAKAR, K. et al. Seed yield and quality of soybean [*Glycine max* (L.) merill] as influenced by cultivar and sowing date in vertisols of Andhra Pradesh during kharif season. **Legume Research**, v. 41, n. 2, p. 281–286, 1 abr. 2018.

PRIYA, P.; ANEESH, B.; HARIKRISHNAN, K. Genomics as a potential tool to unravel the rhizosphere microbiome interactions on plant health. **Journal of Microbiological Methods**, v. 185, p. 106215, 2021.

PROM, L. K.; VENETTE, J. R. Races of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* on Commercial Soybean in Eastern North Dakota. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.5.541>, v. 81, n. 5, p. 541–544, 22 fev. 2007.

PUIA, J. D. et al. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na Cultura da Soja: Importância e Manejo. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 24, n. 5-esp., p. 552-559, 2020.

QU, Q. et al. Rhizosphere microbiome assembly and its impact on plant growth. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 68, n. 18, p. 5024-5038, 2020.

REMUS-EMSERMANN, M. N. P.; SCHLECHTER, R. O. Phyllosphere microbiology: at the interface between microbial individuals and the plant host. **New Phytologist**, v. 218, n. 4, p. 1327-1333, 2018.

REINHOLD-HUREK, B.; HUREK, T. Living inside plants: bacterial endophytes. **Current opinion in plant biology**, v. 14, n. 4, p. 435–443, ago. 2011.

RHODEN, A. C. et al. Análise das tendências de oferta e demanda para o grão, farelo e óleo de soja no Brasil e nos principais mercados globais. **Desenvolvimento em Questão**, v. 18, n. 51, p. 93-112, 2020.

RODRÍGUEZ, E. A.; MARQUES, A. S. A. **Caracterização molecular, sorológica e nutricional de isolados de *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* provenientes de fumo, feijão e soja**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes//publicacao/185378/caracterizacao-molecular-sorologica-e-nutricional-de-isoladosde-pseudomonas-syringae-pv-tabaci-provenientes-de-fumo-feijao-e-soja>>. Acesso em: 5 dez. 2021.

ROUSK, J. et al. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. **The ISME Journal** **2010** **4:10**, v. 4, n. 10, p. 1340–1351, 6 maio 2010.

SAIN, S. K.; GOUR, H. Pathological and physio-biochemical characterization of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*, incitant of *Glycine max* leaf pustules. **Journal of Phytopathology**, v. 66, p. 20–27, 1 jan. 2013.

SCHAAD, N. W.; JONES, J. B.; CHUN, W. **Laboratory guide for the identification of plant pathogenic bacteria**. [s.l.] American Phytopathological Society (APS Press), 2001.

SCHUSTER, M. L.; COYNE, D. P. Survival mechanisms of phytopathogenic bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 12, n. 1, p. 199-221, 1974.

SMALLA, K. et al. Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed. **Applied and environmental microbiology**, v. 67, n. 10, p. 4742-4751, 2001.

SEO, M. et al. Identification of Quantitative Trait Loci Associated with Resistance to Bacterial Pustule (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*) in Soybean. **Korean Journal of Breeding Science**, v. 41, n. 4, 2009.

SHANKAR, G. et al. Evaluation of antimicrobial activity of antibiotics, fungicides and plant growth promoting activity of fluorescent *Pseudomonads* isolate against *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* causing bacterial pustule in soybean. **Trends in Biosciences**, v. 10, n. 12, p. 2219–2225, 2017.

SILVA, A. M. F. et al. Sobrevivência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em tecido infectado de videira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, p. 757-765, 2012.

SILVA, J. C. Nichos de sobrevivência e disseminação de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, agente causal da podridão negra das brássicas. 2020. 89 p. Tese (Doutorado em Agronomia – Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2020.

SILVA JÚNIOR, T. A. F. et al. Survival of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in soil and bean crop debris. **Journal of Plant Pathology**, p. 331–337, 2012.

SILVA JÚNIOR, T. A. F. et al. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* associated with soil and cauliflower crop debris under Brazilian conditions. **European Journal of Plant Pathology**, v. 156, n. 2, p. 399–411, 2020.

SINCLAIR, J. B.; BACKMAN, P. A. **Compendium of soybean diseases**. **American Phytopathological Society**, p. 106, 1989.

SRIVASTAVA, S. S. L.; BAIS, B. S. Survival and virulence of *Xanthomonas campestris* pv. *glycines* causing leaf pustules of soybean. **Indian Journal of Plant Pathology**, v. 5, n. 1, p. 22–23, 1987.

SOARES, R. M. et al. First report of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* on soybean in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 5, p. 452–454, set. 2013.

SOARES, R. M. et al. Plant-to-seed transmission of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* on soybean. **Tropical Plant Pathology** 2018, v. 43, n. 4, p. 376–379, 2018.

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, 2006.

TORRES, J. P.; MARINGONI, A. C.; SILVA JR, T. A. F. Survival of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* var. *fuscans* in common bean leaflets on soil. **Journal of Plant Pathology**, p. 195–198, 2009.

VANČURA, V.; STANĚK, M.; HANZLÍKOVÁ, A. Effect of seed and root exudates on the growth of *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans*. **Folia microbiologica**, v. 14, n. 1, p. 23–26, 1969.

VIEIRA, A. F.; MOURA, M.; SILVA, L. Soil metagenomics in grasslands and forests – A review and bibliometric analysis. **Applied Soil Ecology**, v. 167, p. 104047, 1 nov. 2021.

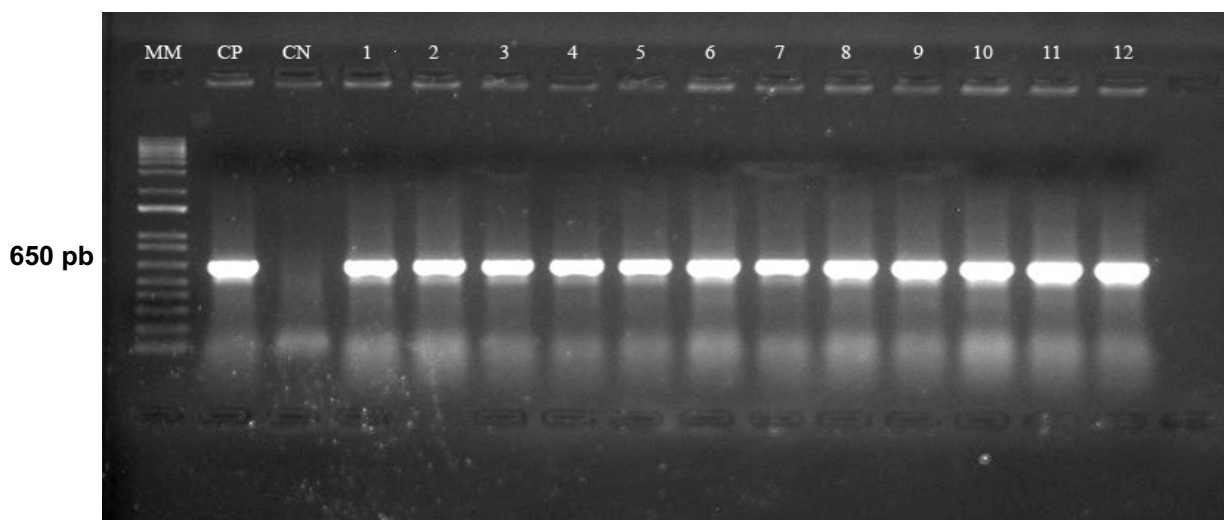
VIOLATTI, M. R.; TEBALDI, N. D. Detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* em sementes de soja. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 3, p. 268–270, 1 jul. 2016.

VORHOLT, J. A. Microbial life in the phyllosphere. **Nature Reviews Microbiology** 2012 10:12, v. 10, n. 12, p. 828–840, 16 nov. 2012.

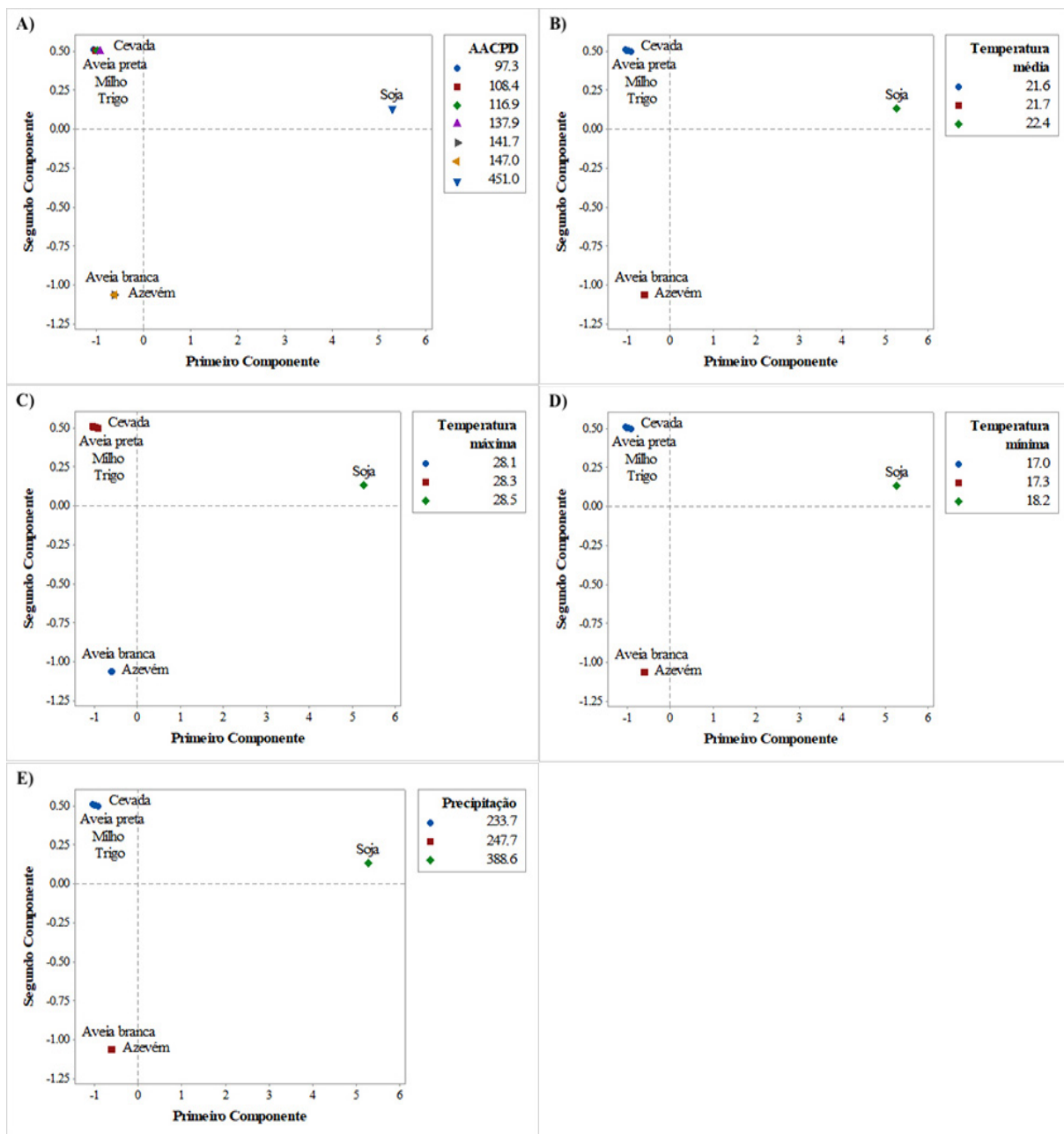
WENDLAND, A. Plantio de feijão após soja intensifica bacteriose em lavouras. **Embrapa Soja**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/noticia/65619730/plantio-de-feijao-apos-soja-intensifica-bacteriose-em-lavouras>. Acesso em: 05 dez 2021.

YANG, C-H.; CROWLEY, D. E. Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status. **Applied and environmental microbiology**, v. 66, n. 1, p. 345-351, 2000.

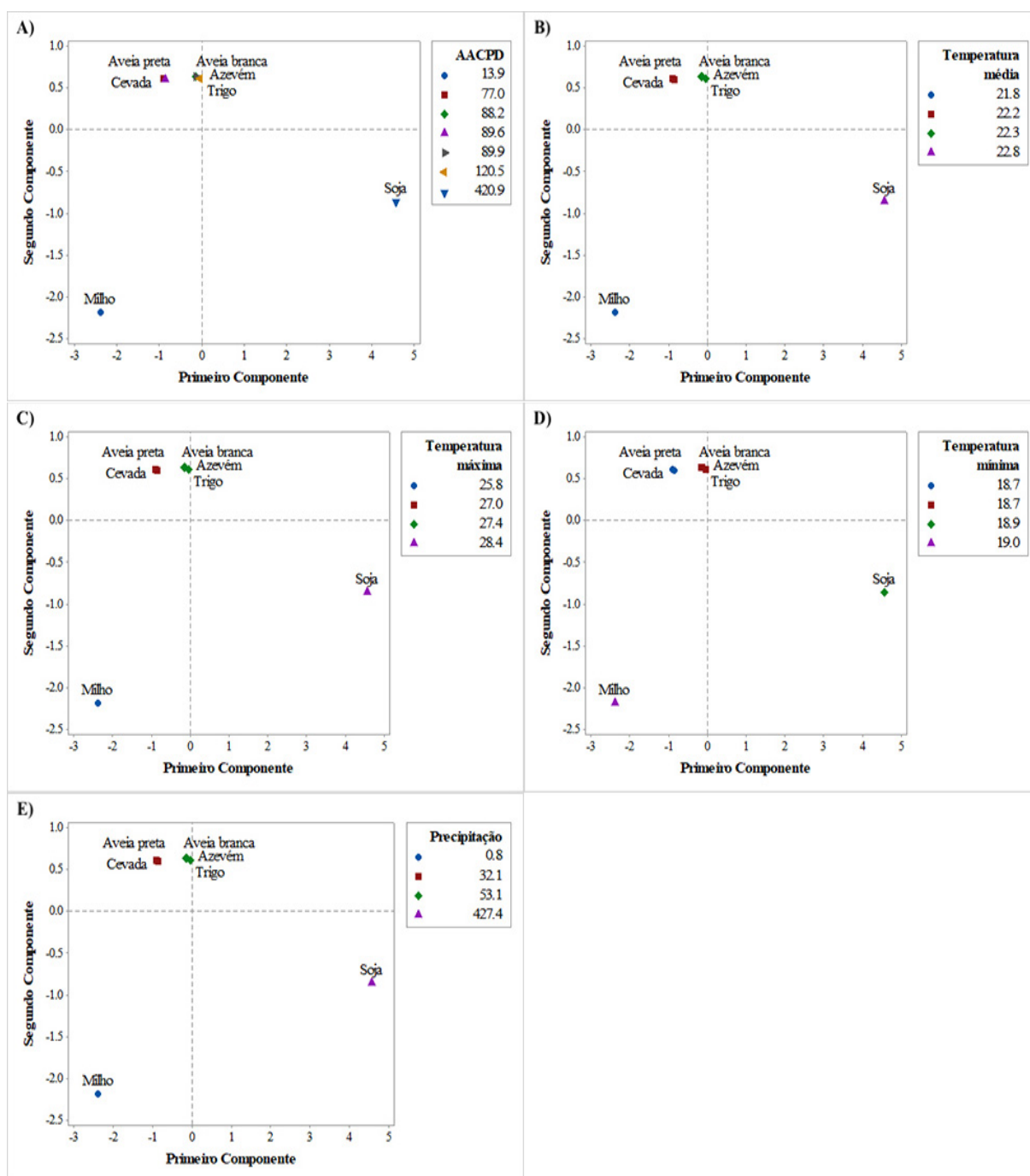
APÊNDICE A - Amplificações dos isolados de Psg em eletroforese gel de agarose 1%. MM – Marcador molecular, 1Kb Plus Invitrogen; CP – controle positivo, isolado Soj. 1462R; CN – controle negativo, *Xanthomonas citri* pv. *fuscans*; 1 – aveia branca; 2 – aveia preta; 3- azevém; 4 – cevada; 5 – crotalária; 6 – feijão; 7 – girassol; 8 – milho; 9 – nabo forrageiro; 10 – soja; 11 – sorgo; 12 – trigo



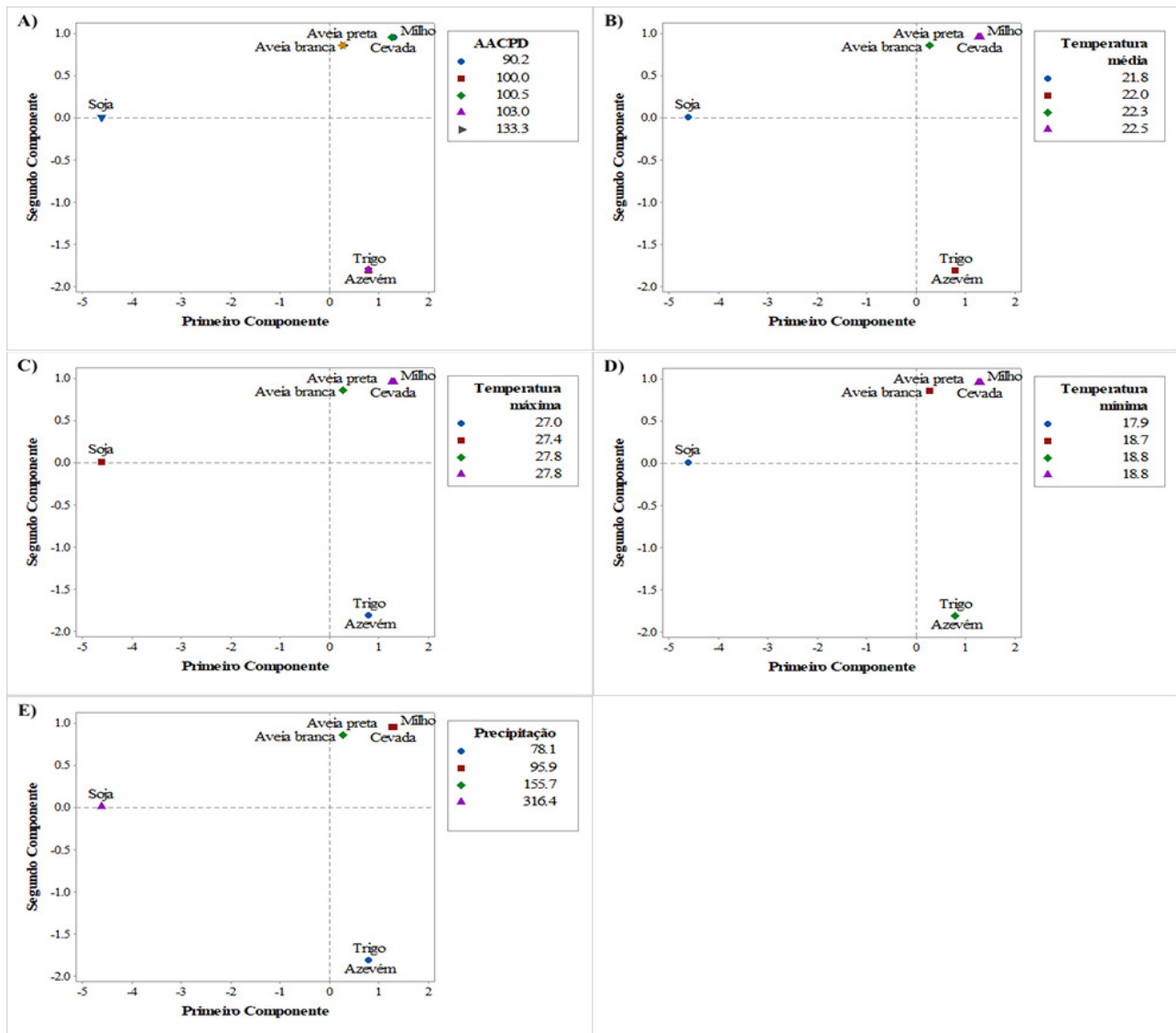
APÊNDICE B - Gráfico biplot da análise de componentes principais (ACP) da sobrevivência de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* na filosfera de plantas cultivadas no experimento 11, com a dispersão das plantas de acordo com A) área abaixo da curva (AAC); B) temperatura média; C) temperatura máxima; D) temperatura mínima e; E) precipitação



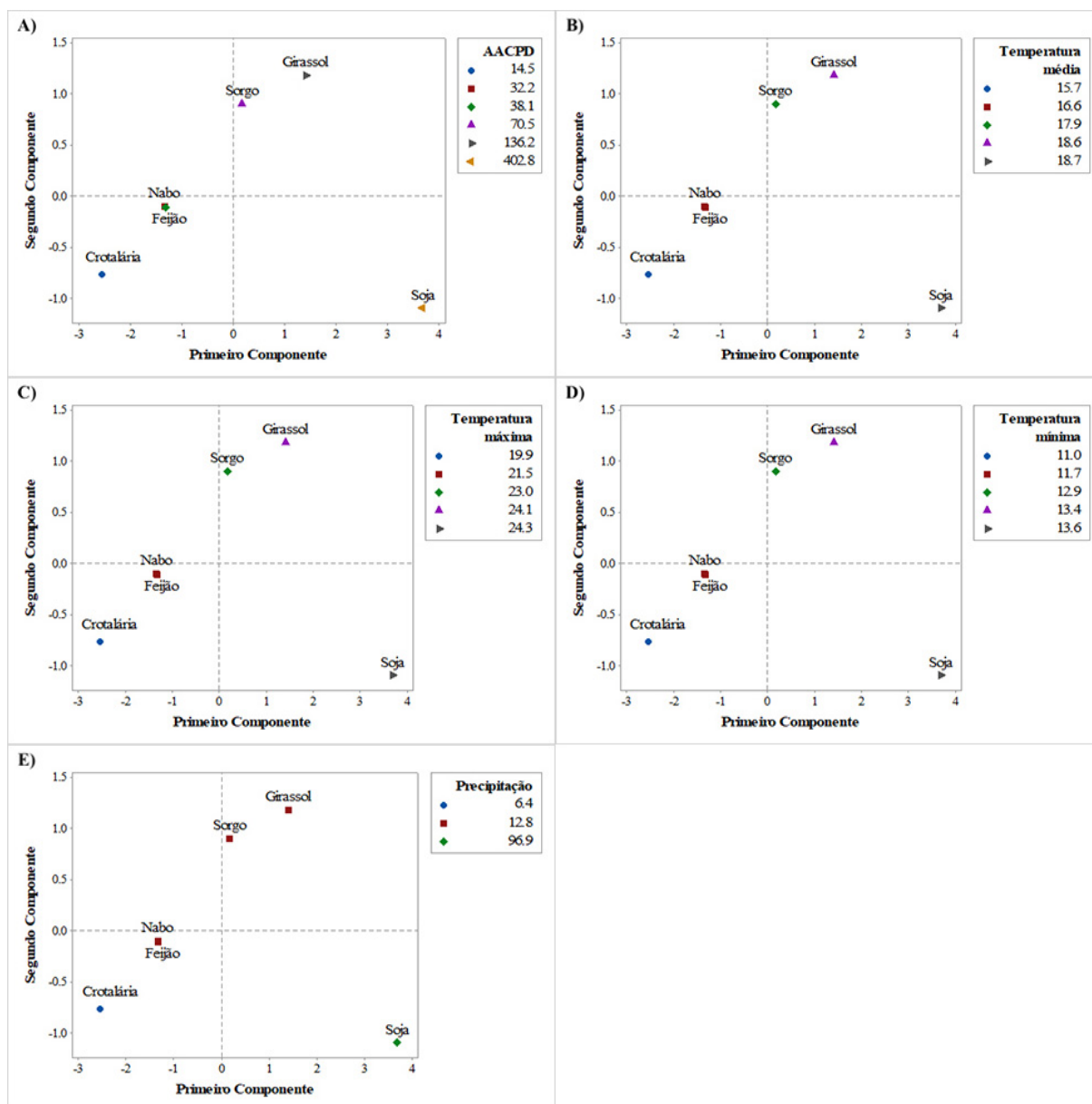
APÊNDICE C - Gráfico biplot da análise de componentes principais (ACP) da sobrevivência de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* na filosfera de plantas cultivadas no experimento 12, com a dispersão das plantas de acordo com A) área abaixo da curva (AAC); B) temperatura média; C) temperatura máxima; D) temperatura mínima e; E) precipitação



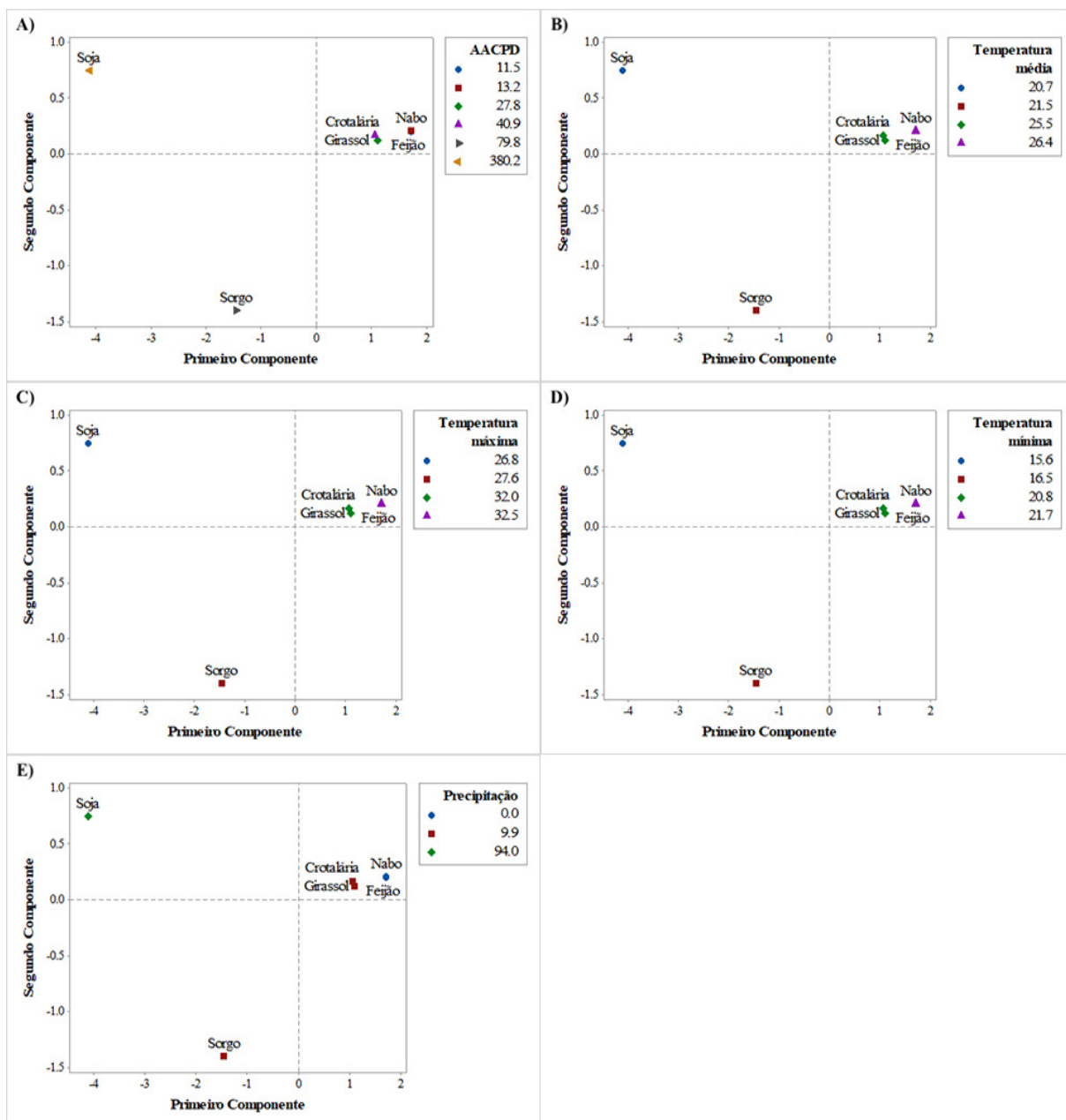
APÊNDICE D - Gráfico biplot da análise de componentes principais (ACP) da sobrevivência de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* na filosfera de plantas cultivadas no experimento 13, com a dispersão das plantas de acordo com A) área abaixo da curva (AAC); B) temperatura média; C) temperatura máxima; D) temperatura mínima e; E) precipitação



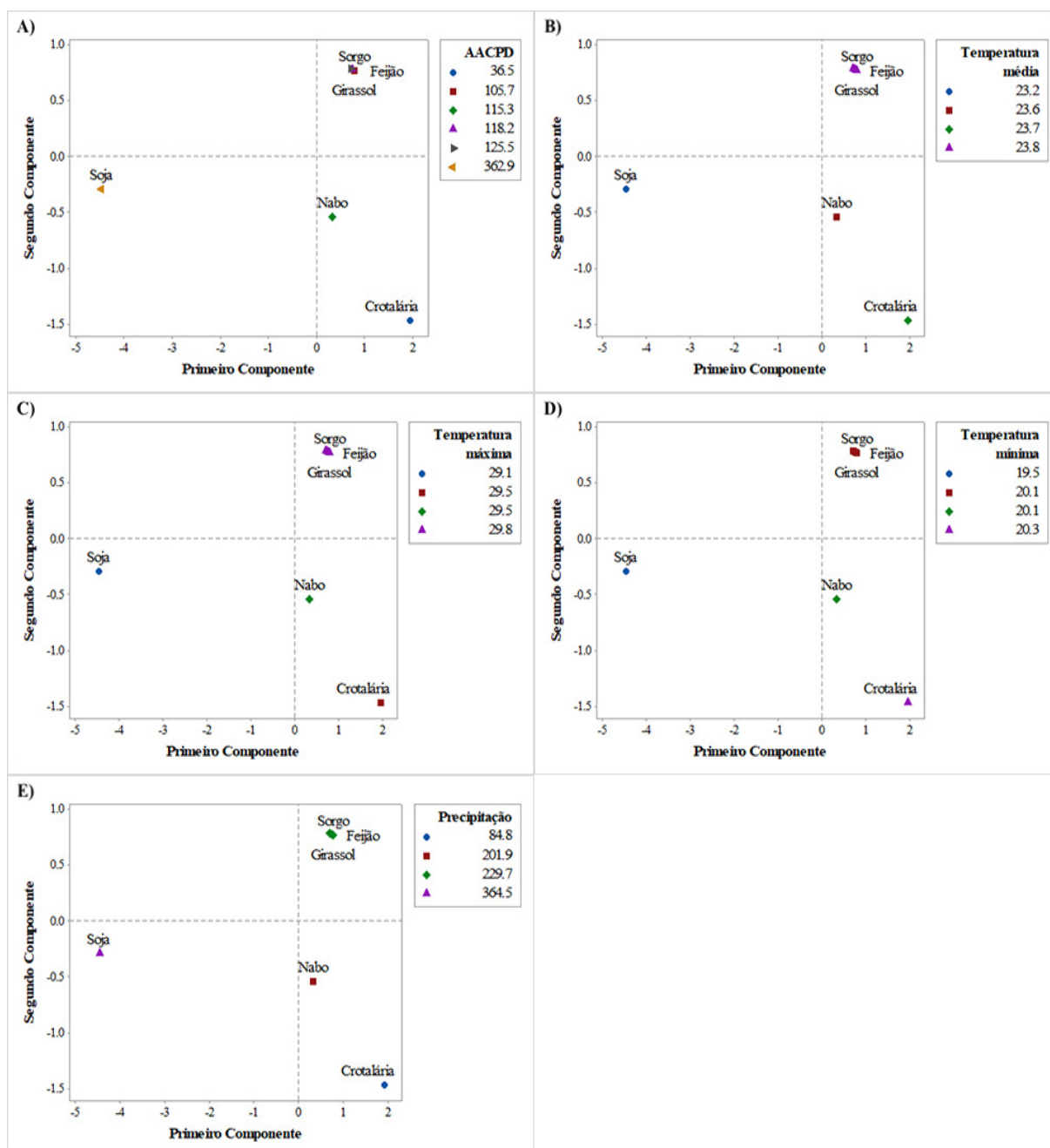
APÊNDICE E - Gráfico biplot da análise de componentes principais (ACP) da sobrevivência de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* na filosfera de plantas cultivadas no experimento 14, com a dispersão das plantas de acordo com A) área abaixo da curva (AAC); B) temperatura média; C) temperatura máxima; D) temperatura mínima e; E) precipitação



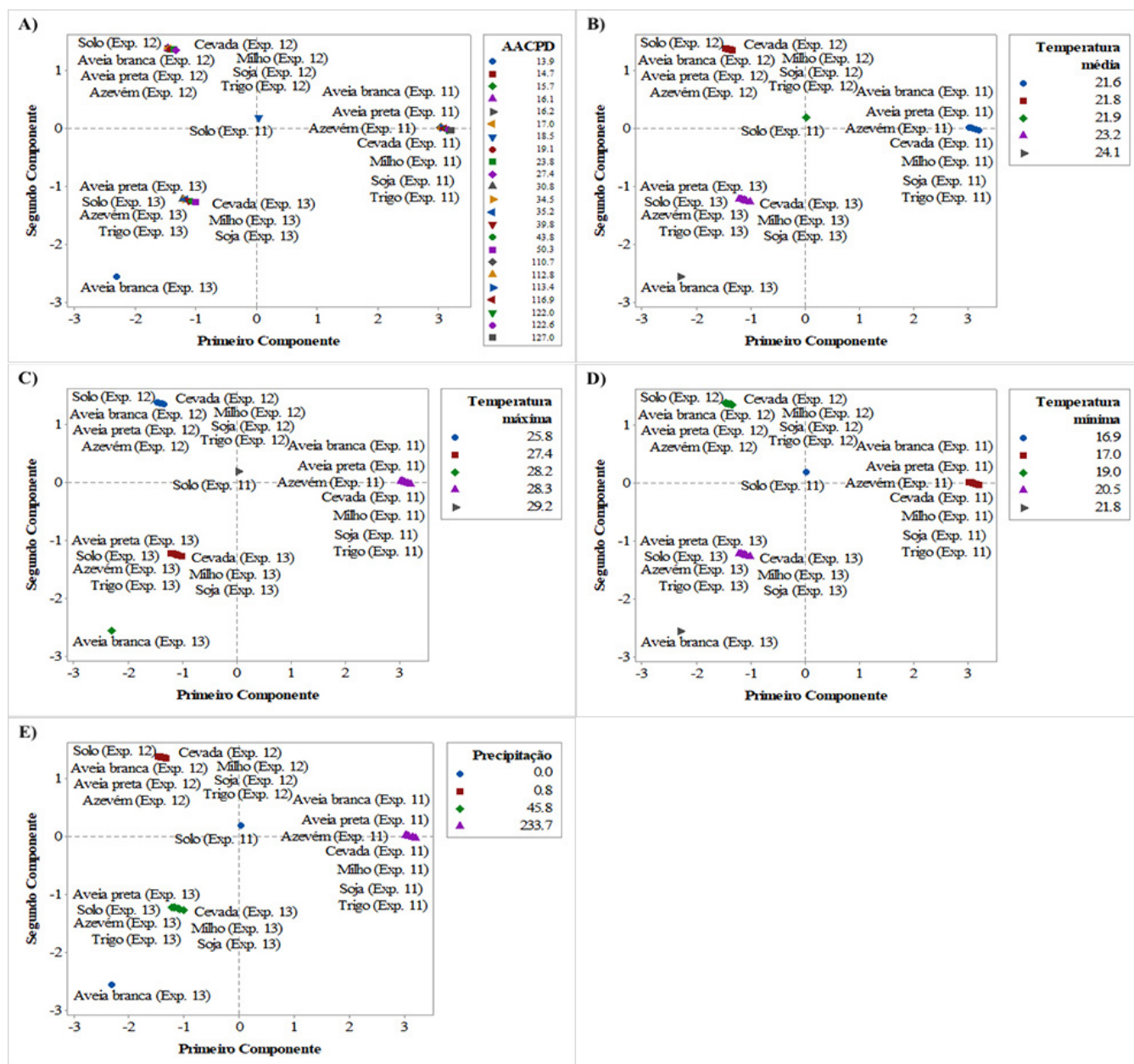
APÊNDICE F - Gráfico biplot da análise de componentes principais (ACP) da sobrevivência de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* na filosfera de plantas cultivadas no experimento 15, com a dispersão das plantas de acordo com A) área abaixo da curva (AAC); B) temperatura média; C) temperatura máxima; D) temperatura mínima e; E) precipitação



APÊNDICE G - Gráfico biplot da análise de componentes principais (ACP) da sobrevivência de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* na filosfera de plantas cultivadas no experimento 16, com a dispersão das plantas de acordo com A) área abaixo da curva (AAC); B) temperatura média; C) temperatura máxima; D) temperatura mínima e; E) precipitação



APÊNDICE H - Gráfico biplot da análise de componentes principais (ACP) da sobrevivência de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* na rizosfera de plantas cultivadas nos experimentos 11, 12 e 13 (grupo 1), com a dispersão das plantas de acordo com A) área abaixo da curva (AAC); B) temperatura média; C) temperatura máxima; D) temperatura mínima e; E) precipitação



APÊNDICE I - Gráfico biplot da análise de componentes principais (ACP) da sobrevivência de *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* na rizosfera de plantas cultivadas nos experimentos 14, 15 e 16 (grupo 2), com a dispersão das plantas de acordo com A) área abaixo da curva (AAC); B) temperatura média; C) temperatura máxima; D) temperatura mínima e; E) precipitação

