

Detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em sementes de feijoeiro provenientes do Estado do Paraná, Brasil

João Pereira Torres¹, Tadeu Antônio Fernandes da Silva Júnior^{2,3}, Antonio Carlos Maringoni^{2,4}

¹UENP – Universidade Estadual do Norte do Paraná, Faculdades Luiz Meneghel, Departamento de Patologia Geral, CP 261, 86.360-000, Bandeirantes, PR. ²UNESP – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Departamento de Produção Vegetal, CP 237, 18.603-970, Botucatu, SP. ³Bolsista da CAPES. ⁴Bolsista de produtividade em pesquisa do CNPq.

Autor para correspondência: Antonio Carlos Maringoni. E-mail: maringoni@fca.unesp.br

Data de chegada: 11/04/2008. Aceito para publicação em: 29/10/2008

1583

RESUMO

Torres, J. P.; Silva Júnior, T. A. F.; Maringoni, A.C. Detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em sementes de feijoeiro provenientes do Estado do Paraná, Brasil. *Summa Phytopathologica*, v.35, n.2, p.136-139, 2009

O crestamento bacteriano comum do feijoeiro causado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap) é a principal doença do feijoeiro comum no Brasil. O patógeno encontra-se disseminado em todas as regiões produtoras do país, porém com maior importância nos estados do Paraná, Rio de Janeiro, São Paulo e na região do Brasil Central, sobretudo na safra das águas. Dentre os vários meios de

sobrevivência e disseminação da Xap, a semente representa o mais eficiente. A qualidade sanitária de 34 amostras de sementes de feijoeiro produzidas no estado do Paraná, nas safras 1998/99 e 1999, foram avaliadas quanto à presença de Xap em macerados de sementes plaqueados em meio semi-seletivo. Cinquenta por cento dos lotes de sementes foram portadores de Xap com incidência de 0,1% a 1,7%.

Palavras-chave adicionais: crestamento bacteriano comum do feijoeiro, *Phaseolus vulgaris*, feijão, bactéria.

ABSTRACT

Torres, J. P.; Silva Júnior, T. A. F.; Maringoni, A.C. Detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* in common bean seeds from the state of Paraná (Brazil). *Summa Phytopathologica*, v.35, n.2, p.136-139, 2009

The common bacterial blight of bean, caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap), is a major disease of common beans in Brazil. Even though this pathogen is disseminated in all production regions of the country, it has caused major damages in the states of Paraná, Rio de Janeiro and São Paulo and in Central Region of Brazil, particularly during the rainy season. Infected bean seeds are most

effective means of survival and dissemination of the Xap. The health quality of 34 samples of seeds lots of common beans produced in the state of Paraná during 1998/99 and 1999 were evaluated to the presence of Xap in seed macerates plated on a semi-selective culture medium. Fifty percent of the seed lots were carrying out by Xap with an incidence range of 0.1% to 1.7%.

Keywords: bean common bacterial blight, *Phaseolus vulgaris*, bacteria

A cultura do feijoeiro encontra-se amplamente distribuída em todos os estados brasileiros, nos mais variados graus de tecnologia, desde cultura de subsistência até as de alta tecnologia como irrigação sob pivô central, cultivares com alta produtividade e resistência a patógenos, adubações equilibradas e controle satisfatório de pragas, doenças e plantas daninhas.

Dentre as doenças que podem representar perdas significativas na produção, dependendo das condições ambientais prevalentes, encontra-se o crestamento bacteriano comum (CBC), incitado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap), patógeno disseminado em praticamente todas as regiões produtoras, porém com maior importância nos Estados do Paraná, Rio de Janeiro, São Paulo e na região do Brasil Central, sobretudo na safra das águas (25).

Em levantamento realizado no Estado do Paraná, Maringoni & Komori (08) constataram a ocorrência do CBC em praticamente todas as regiões do Estado, situação decorrente da suscetibilidade das cultivares e do uso de sementes contaminadas/infectadas, aliadas às condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento da doença.

Na Tanzânia, Mabagala (7) detectou sementes infectadas provenientes de plantas assintomáticas inoculadas artificialmente de cultivares resistentes de feijoeiro, observando que essas sementes podem representar importante papel na epidemiologia da doença.

Em estudos epidemiológicos, Wallen & Sutton (26), no Canadá, verificaram que 0,5% de sementes infectadas foram suficientes para manifestação de epidemia. Em Uganda, na África, Opio et al. (13), em condições de campo, constataram que a população mínima para iniciar a infecção foi de 10² ufc/semente e que 0,2% de sementes infectadas provocaram severa epidemia. Valarini et al. (24) observaram que a emergência de plântulas não foi significativamente afetada utilizando sementes com mais de 10% de infecção, porém níveis de infecção nas sementes a partir de 5% reduziram a produção. Segundo Maringoni et al. (11), para algumas cultivares de feijoeiro, o desenvolvimento de epidemia do CBC dependeu mais do nível de resistência horizontal das cultivares e das condições climáticas do que da quantidade de inóculo presente nas sementes.

Quanto à qualidade fitossanitária das sementes de feijão no Brasil,

no que diz respeito à presença de Xap, Valarini & Spadotto (23) detectaram a bactéria em 8% das amostras analisadas, de um total de 25 amostras de sementes fiscalizada/certificada, oriundas da região de Guaira, Estado de São Paulo, utilizadas na safra de 1992/93. Valarini (19), também trabalhando com amostras de sementes do Estado de São Paulo, encontrou índices de infecção que variaram de 0,1% a 1,1% de sementes com Xap. Ito et al. (5) ao analisarem lotes de sementes de feijoeiro das safras de 1991 e 1993 do Estado de São Paulo, observaram, respectivamente que 5,3% e 30,6% dos lotes de sementes estavam infectados por Xap.

Em que pese os diversos meios de sobrevivência e disseminação da Xap, a semente representa o mais eficiente (29), pois a bactéria pode localizar-se no interior, na superfície, ou simplesmente junto, acompanhando as sementes (17). O tempo de sobrevivência da Xap, em sementes, foi variável conforme relatado em algumas pesquisas: dois (2), seis (27) e dez anos (29).

Os resultados mais efetivos de controle do CBC podem ser obtidos com uma combinação de medidas como o uso de sementes livres do patógeno (16, 29), cultivares resistentes (4, 9, 15) e rotação de culturas (16). A pulverização de produtos químicos não tem apresentado resultados satisfatórios no controle do CBC em condições de campo (1; 14).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade sanitária de sementes fiscalizadas de feijão produzidas no Estado do Paraná, em duas safras agrícolas quanto à presença de Xap.

MATERIALE MÉTODOS

Foram obtidas 34 amostras de sementes de feijão produzidas nas safras 1998/99 e 1999 no estado do Paraná, conforme Tabela 1, as quais foram submetidas à análise visando a detecção de Xap.

O método utilizado para detecção da bactéria nas sementes de feijoeiro foi descrito por Maringoni (12) e Silva & Maringoni (18), adaptado de Valarini (20) e Valarini & Menten (21; 22). Para cada amostra de sementes foram feitas 11 sub-amostras assim constituídas: uma de 500 sementes, cinco de 100 sementes e cinco de 10 sementes. As sub-amostras foram submetidas à maceração em erlemmeyers contendo água destilada e esterilizada com volume pré-determinado, conforme a Tabela 2.

As sementes permaneceram em maceração sob refrigeração à temperatura aproximada de 5°C, durante 18 a 24 horas. Em seguida, os frascos foram agitados manualmente e as suspensões obtidas da maceração das sementes foram semeadas, com auxílio de uma alça de platina, através de estrias, em placas de Petri contendo meio semi-seletivo para Xap, conforme Maringoni et al. (10). As placas de Petri foram divididas em dois campos, marcando-se o fundo da placa com caneta hidrográfica em dois setores. Assim, foram feitas, em cada placa, duas semeaduras, totalizando duas placas com quatro setores para cada sub-amostra. Desse modo obteve-se 22 placas com 44 repicagens, para cada amostra de semente analisada. Paralelamente, foi realizada a repicagem de um isolado puro padrão de Xap, para efeito de comparação no momento da avaliação. As placas foram incubadas a 28 °C, por um período de quatro a cinco dias.

A avaliação foi realizada imediatamente após o período de incubação, observando-se as características culturais e morfológicas das colônias bacterianas, comparando-se com o isolado padrão e verificando-se a hidrólise de amido, após adição de lugol à superfície do meio de cultura (10, 12, 18). A partir dos resultados positivos para cada amostra analisada, foi feita a quantificação de Xap na semente,

Tabela 1. Amostra, cultivar, lote e safra de sementes de feijoeiro fiscalizadas produzidas no Estado do Paraná.

Amostra	Cultivar	Lote	Safra
01	IAPAR 81	único	1999
02	MD-811	único	1999
03	Carioquinha	único	1999
04	FT Nobre	04/99	98/99
05	IAPAR 44	02/99	98/99
06	FT Nobre	05/99	98/99
07	FT Nobre	01/99	98/99
08	FT Nobre	03/99	98/99
09	FT Nobre	02/99	98/99
10	FT Nobre	602.0.4	1999
11	Carioca	2.0.4	1999
12	Pérola	157.2.4	1999
13	Pérola	107	1999
14	Rudá	201	1999
15	FT Nobre	305	1999
16	IAPAR 81	01/01	98/99
17	IAPAR 81	005	98/99
18	IAPAR 81	004	98/99
19	FT Nobre	01	1999
20	FT Nobre	02	1999
21	FT Bonito	03	1999
22	FT Nobre	04	1999
23	FT Nobre	05	1999
24	FT Nobre	06	1999
25	FT Bonito	07	1999
26	FT Bonito	08	1999
27	IAPAR 81	02	98/99
28	FT Nobre	20	98/99
29	Pérola	13	98/99
30	FT Nobre	16	98/99
31	IAPAR 81	06	98/99
32	Pérola	14	98/99
33	FT Nobre	15	98/99
34	FT Nobre	05	98/99

por meio da estimativa do número mais provável (NMP) de sementes portadoras da bactéria, expressa em porcentagem, empregando-se a Tabela 3 (12, 18, 20, 21, 22).

Alguns isolados obtidos das amostras de sementes (três isolados por amostra) com características culturais e morfológicas típicas de Xap foram submetidas a teste de patogenicidade na cultivar de feijoeiro IAPAR 57 (18).

Tabela 2. Volume de água destilada esterilizada utilizado na maceração de sementes de feijoeiro para a detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*.

Nº de sub-amostras	Nº de sementes	Volume de água (mL)	Erlenmeyer (mL)
Uma	500	180	500
Cinco	100	35	250
Cinco	10	10	125

Fonte: Valarini (20).

Tabela 3. Quantificação da presença de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em amostras de sementes de feijoeiro.

Número de sub-amostras com resultado positivo			Número mais provável (NMP) de semente portadora do patógeno (%)	Limites do NMP/100 sementes	
1 a 500 sementes	5 a 100 sementes	5 a 10 sementes		Inferior	Superior
0	0	1	0,1	< 0,05	0,4
0	0	2	0,2	0,05	0,6
0	1	0	0,1	0,05	0,4
0	1	1	0,2	0,05	0,6
0	1	2	0,3	0,05	0,8
0	2	0	0,2	0,05	0,6
0	2	1	0,3	0,05	0,8
0	2	2	0,4	0,05	1,1
0	3	0	0,3	0,05	0,8
0	3	1	0,5	0,05	1,3
0	4	0	0,5	0,05	1,3
1	0	0	0,1	0,05	0,4
1	0	1	0,3	0,05	0,8
1	0	2	0,4	0,05	1,1
1	0	3	0,6	0,05	1,5
1	1	0	0,3	0,05	0,8
1	1	1	0,5	0,05	1,3
1	1	2	0,7	0,1	1,7
1	1	3	0,9	0,2	2,1
1	2	0	0,5	0,05	1,3
1	2	1	0,7	0,1	1,7
1	2	2	1,0	0,3	2,3
1	2	3	1,2	0,3	2,8
1	3	0	0,8	0,2	1,9
1	3	1	1,1	0,3	2,6
1	3	2	1,4	0,4	3,4
1	3	3	1,8	0,5	5,3
1	3	4	2,1	0,6	6,6
1	4	0	1,3	0,4	3,1
1	4	1	1,7	0,5	4,7
1	4	2	2,2	0,7	6,9
1	4	3	2,8	0,9	8,5
1	4	4	3,5	1,2	10,1
1	4	5	4,3	1,5	11,7
1	5	0	2,4	0,8	7,5
1	5	1	3,5	1,2	10,1
1	5	2	5,4	1,8	13,8
1	5	3	9,2	9,2	21,7
1	5	4	16,1	3,1	>45,0

Fonte: Swaroop (1951), conforme Valarini (20) e Valarini & Menten (21;22)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pôde-se observar que dos 34 lotes de sementes de feijoeiro analisados, 17 estavam transportando Xap, ou seja, 50% dos lotes.

Os isolados bacterianos obtidos desses lotes de sementes, submetidos a teste de patogenicidade, foram patogênicos à cultivar IAPAR 57, sendo identificados como Xap.

Tabela 4. Avaliação da presença de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em 34 lotes de sementes de feijoeiro fiscalizadas de várias regiões do Estado do Paraná, safras 1998/99 e 1999/99.

Amostra	Número de sub-amostra com resultado positivo			Número mais provável (NMP) de semente portadora do patógeno (%)
	1 a 500 sementes	5 a 100 sementes	5 a 10 sementes	
01	1	3	0	0,8
02	0	2	0	0,2
03	0	0	1	0,1
04	1	3	1	1,1
05	0	0	0	0
06	0	2	0	0,2
07	0	1	0	0,1
08	0	4	0	0,5
09	0	0	0	0
10	1	4	1	1,7
11	0	0	0	0
12	0	0	0	0
13	0	0	0	0
14	1	2	0	0,5
15	0	1	0	0,1
16	0	1	0	0,1
17	1	3	0	0,8
18	0	1	0	0,1
19	0	0	0	0
20	0	0	0	0
21	0	0	0	0
22	0	1	1	0,2
23	1	3	0	0,3
24	0	4	0	0,5
25	0	0	0	0
26	0	0	0	0
27	0	0	0	0
28	0	0	0	0
29	0	0	0	0
30	0	0	0	0
31	0	0	0	0
32	0	0	0	0
33	1	1	0	0,3
34	0	0	0	0

Aliando sobrevivência e disseminação de Xap, a semente representa um dos mais importantes veículos de disseminação, tanto a curtas quanto a longas distâncias (29), pois a bactéria pode localizar-se no interior da semente ou estar aderida à superfície, acompanhando a semente, em restos de tecidos do hospedeiro (17).

Dependendo das condições edáficas e da suscetibilidade da cultivar de feijoeiro a Xap, 0,2% ou 0,5% de sementes com esta bactéria é inóculo suficiente para causar epidemia da doença em campo (13, 26). Para as cultivares avaliadas por Valarini et al. (24), sementes com incidência de Xap a partir de 10% originaram lavouras com redução na produção.

Pela importância das sementes como instrumento de sobrevivência e veículo de inóculo, 50% dos lotes com a presença de Xap é um índice muito elevado. Nos 17 lotes em que a bactéria foi detectada, a incidência

de sementes com Xap variou de 0,1% a 1,7%. Considerando-se que o mínimo de 0,2% de sementes de feijoeiro com Xap seja suficiente para dar início à epidemia da doença em campo (13), pelo menos 12 lotes de sementes avaliadas estariam comprometidos para o cultivo. A quantidade de lotes de sementes com Xap observadas neste estudo é superior àqueles encontrados por Valarini (20) e Ito et al. (5) no Estado de São Paulo, embora esses autores tenham utilizado metodologias diferentes para a detecção da bactéria nas sementes de feijoeiro analisadas.

Os dados obtidos para o estado do Paraná reafirmam observações anteriores (8), no sentido da ampla disseminação de Xap nas regiões produtoras desse estado, em função da combinação de fatores tais como a suscetibilidade das cultivares e o uso de sementes portadoras de Xap, aliados às condições climáticas favoráveis à doença.

Por ser o CBC uma doença de difícil controle, a produção de sementes com alto padrão de sanidade constitui-se em uma das medidas mais eficientes de controle (3, 28). Assim, os dados aqui obtidos recolocam a discussão da eficiência ou a oportunidade de padronização de parâmetros de campos para produção de sementes tais como, nível de tolerância de plantas infectadas de 20%, modelo ou padrão de trânsito de vistorias nas lavouras, etc. (6), bem como a necessidade de implantação de testes laboratoriais para a detecção de Xap em sementes, como complemento aos trabalhos de inspeções de campo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arnaud-Santana, E., Coyne, D. P., Beaver, J. S., Zaiter, H. Z. Effect of photoperiod and temperature on common blight disease of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphytica**, v. 66, p. 211-6, 1993.
2. Burkholder, W. H. The bacterial blight of bean: a systemic disease. **Phytopathology**, St. Paul, v. 11, p. 61-9, 1921.
3. Calzolari, A. Maculatura alonata e comune del fagiolo. **Informatore Agrario**, Verona, v. 53, n. 25, p. 66-7, 1997.
4. Gilbertson, R. L., Rand, R. E., Carlson, E. The use of dry-leaf inoculum for establishment of common bacterial blight of bean. **Plant Disease**, St. Paul, v. 72, p. 385-389, 1988.
5. Ito, M. F., Valarini, P. J., Patrício, F. R. A., Sugimori, M. H. Detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e fungos em sementes de feijão produzidas no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 118-21, 1997.
6. Lollato, M. A. Produção de sementes. **Circular IAPAR**, Londrina, n. 63, p. 257-279, 1989.
7. Mabagala, R. B. The effect of populations of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* in bean reproductive tissues on seed infection of resistant and susceptible bean genotypes. **European Journal of Plant Pathology**, v. 103, n. 2, p. 175-81, 1997.
8. Maringoni, A. C., Komori, N. Levantamento das bacterioses do feijoeiro no Estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 14, p. 241-4, 1989.
9. Maringoni, A. C., Fregonese, L. H., Tófoli, J. G., Kurozawa, C. Reação foliar e da vagem de feijoeiro à *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e transmissão da bactéria pelas sementes. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 412-5, 1993.
10. Maringoni, A. C., Kimati, H., Kurozawa, C. Desenvolvimento de meio de cultura semi-seletivo para *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*. **Científica**, São Paulo, v. 22, p. 227-88, 1994.
11. Maringoni, A. C., Kimati, H., Kurozawa, C. **Presença da *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* em sementes de feijoeiro e consequências epidemiológicas**. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, p. 449-457, 1995.
12. Maringoni, A. C. Método de quantificação de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* em sementes de feijoeiro. Curso de detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* em sementes de feijoeiro. Campinas: CATI, 1996, 8 p.
13. Opio, A. F. Studies on seed transmission of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* in common beans in Uganda. **African Crop Science Journal**, Grahamstown, v. 1, n. 1, p. 59-67, 1993.
14. Rava, C. A., Zimmermann, M. J. O., Romeiro, R. S. Inheritance of resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye in *Phaseolus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 10, p. 709-27, 1987.
15. Rava, C. A., Sartorato, A., Romeiro, R. S. Avaliação de cultivares de feijoeiro quanto à resistência a *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* em condições de campo e de casa de vegetação. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 16, p. 83-91, 1990.
16. Rava, C. A., Sartorato, A. Crestamento bacteriano comum. In: SARTORATO, A., RAVA, C. A. (Ed). **Principais doenças do feijoeiro e seu controle**. EMBRAPA, 1994. p. 217-42.
17. Schuster, M. L., Coyne, D. P. Survival mechanisms of phytopathogenic bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 12, p. 199-221, 1974.
18. Silva, A. T., Maringoni, A. C. Detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* em sementes de feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 79, 1998.
19. Valarini, P. J. **Método para detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* em sementes de feijão**. 1990. 167p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
20. Valarini, P. J. Detecção do agente causal do crestamento comum em sementes de feijão. In: MENTEN, J. O. M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1991. P. 53-76.
21. Valarini, P. J., Menten, J. O. M. *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* em sementes de feijão: detecção por inoculação de plantas indicadoras. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 14, n. 2, p. 171-9, 1992a.
22. Valarini, P. J., Menten, J. O. M. *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*: método para detecção em sementes de feijão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 4, p. 373-83, 1992b.
23. Valarini, P. J., Spadotto, C. A. Identificação de nichos de sobrevivência de fitopatógenos em áreas irrigadas de Guairá, SP. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30 n. 10, p. 1239-43, 1995.
24. Valarini, P. J., Galvão, J. A. H., Oliveira, D. A. *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*: importância do inóculo da semente na epidemiologia do crestamento bacteriano comum do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 261-7, 1996.
25. Vieira, C. **Doenças e pragas do feijoeiro**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1983. 231p.
26. Wallen, V. R., Sutton, M. D. *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* (Burkh.) Starr & Burkh. on field bean in Ontario. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 43, p. 437-46, 1965.
27. Wallen, V. R., Galway, D.A. Effective management of bacterial blight of field in Ontario - a 10-yr program. In: CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. **Resumens analíticos sobre fríjol (*P. vulgaris* L.)**. CALI, 1980. v. 5, p. 119.
28. Webster, D. M., Atkin, J. D., Cross, J. E. Bacterial blight of snap bean and their control. **Plant Disease**, St. Paul, v. 67, p. 935-40, 1983.
29. Zaumeyer, W. J., Thomas, H. R. **A monographic study of bean disease and methods for the control**. Washington: Technical Bulletin. USDA 868, 1957, p. 65-74.