

***Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na cultura da soja**



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Soja
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

Documentos 389

***Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na cultura da soja**

Rafael Moreira Soares

Embrapa Soja
Londrina, PR
2017

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Soja

Rodovia Carlos João Strass, acesso Orlando Amaral, Distrito de Warta

Caixa Postal 231, CEP 86001-970, Londrina, PR

Fone: (43) 3371 6000

Fax: (43) 3371 6100

www.embrapa.br/soja

<https://www.embrapa.br/fale-conosco>

Comitê de Publicações da Embrapa Soja

Presidente: *Ricardo Vilela Abdelnoor*

Secretária-Executiva: *Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite*

Membros: *Alvadi Antonio Balbinot Junior, Claudine Dinali Santos Seixas, Fernando Augusto Henning, José Marcos Gontijo Mandarin, Liliane Márcia Mertz-Henning, Maria Cristina Neves de Oliveira, Norman Neumaier e Osmar Conte.*

Supervisão editorial: *Vanessa Fuzinatto Dall'Agnol*

Normalização bibliográfica: *Ademir Benedito Alves de Lima*

Editoração eletrônica: *Marisa Yuri Horikawa*

Capa: *Marisa Yuri Horikawa*

Fotos da capa: *Rafael Moreira Soares*

1ª edição

PDF digitalizado (2017)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Soja

Soares, Rafael Moreira

Curtobacterium flaccumfaciens pv. *flaccumfaciens* na cultura da soja [recurso eletrônico]: / Rafael Moreira Soares. – Londrina: Embrapa Soja, 2017.

30 p. il. - (Documentos / Embrapa Soja, ISSN : 2176-2937 ; n.389).

1.Soja-Doença de planta-Bactéria. I.Título. III.Série.

CDD 633.349. (21.ed.)

Autor

Rafael Moreira Soares

Engenheiro Agrônomo, Dr.

Pesquisador da Embrapa Soja

Londrina, PR

Apresentação

A importância da cultura da soja para a produção agrícola e para a economia brasileira é inquestionável. Entre os diversos fatores que podem afetar o desenvolvimento da cultura, as doenças causadas por fungos, bactérias e vírus são um dos principais problemas a serem enfrentados.

Mais de 200 patógenos já são conhecidos afetando a soja, sendo que cerca de 35 são atualmente considerados economicamente importantes. À medida que a cultura se expande e que o valor da soja aumenta, também aumenta a importância desses patógenos. Entretanto, enquanto muitas doenças já são bem conhecidas e combatidas, algumas têm ocorrência relativamente recente e carecem de maiores informações. Este é o caso da mancha bacteriana marrom, causada pela bactéria *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, relatada em soja no Brasil no ano de 2012.

A presente publicação tem como objetivo descrever todos os aspectos relevantes sobre a mancha bacteriana marrom, baseados tanto na revisão de diversos trabalhos disponíveis na literatura, bem como em trabalhos ainda inéditos conduzidos na Embrapa Soja.

Com isso, espera-se que esse documento seja uma fonte de consulta útil a quem busca informações sobre mais essa doença da cultura da soja.

Ricardo Vilela Abdelnoor

Chefe de Pesquisa e Desenvolvimento da Embrapa Soja

Sumário

Introdução.....	9
Ocorrência da doença em soja no Brasil.....	11
Características da Doença	13
Descrição da bactéria	13
Sintomatologia.....	17
Ciclo de vida e epidemiologia.....	20
Métodos de controle.....	22
Considerações Finais	25
Agradecimentos	25
Referências	26

***Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na cultura da soja**

Rafael Moreira Soares

Introdução

A bactéria *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Hedges) Collins & Jones (CFF) foi descrita pela primeira vez em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), causando a murcha bacteriana ou murcha-de-Curtobacterium, no Estado de Dakota do Sul, Estados Unidos, em 1920 (HEDGES, 1922). Desde então, a bactéria foi descrita como patógeno numa extensa lista de plantas leguminosas (família Fabaceae) como a soja [*Glycine max* (L.) Merr.], o caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp], a ervilha (*Pisum sativum* L.), o feijão azuki (*V. angularis* Willd. Ohwi & Ohashi), o feijão lablab (*Lablab purpureus* L.), o feijão-lima (*P. lunatus* L.), o feijão-mungo (*V. radiata* L.) e o feijão-da-espanha (*P. coccineus* L.) (HARVESON, 2015). A sua presença tem sido registrada em diversas regiões do mundo, como o Leste e Sul da Europa (EPPO, 2011), Austrália, Ásia, América do Norte e do Sul, e África (BRADBURY, 1986). No Brasil, CFF foi detectada pela primeira vez em feijão em 1995, no Estado de São Paulo (MARINGONI; ROSA, 1997), e nos anos subsequentes foi observada em diversas áreas de produção de feijão, principalmente no Sul, Sudeste e Centro-Oeste (RAVA; COSTA, 2001).

O relato da bactéria em feijão no Brasil a excluiu da lista de pragas quarentenárias ausentes (Lista A1), mas medidas de contenção da dispersão da doença devem ser adotadas, bem como levantamentos para verificar a dispersão da doença no País (COELHO et al., 2004). Na Europa, CFF é considerada uma praga quarentenária presente (Lista A2), demandante de quarentenas ou regulamentações fitossanitárias em alguns países, visando restringir a disseminação da doença por sementes (HARVESON, 2015). Além disso, CFF é uma das pragas incluídas nos Requisitos Fitossanitários da Instrução Normativa n°45 de 18/12/2006 para envio de sementes entre os países do MERCOSUL, e por isso sementes de soja que saem do Brasil para a Argentina, o Paraguai e o Uruguai devem possuir um Certificado Fitossanitário de Origem que ateste a ausência dessa bactéria, além de outras também exigidas. Entretanto, para as sementes que entram no Brasil, vindas desses países, não se exige um certificado que ateste a ausência dessa bactéria ou outros patógenos.

A primeira descrição de CFF em soja, causando a doença denominada “bacterial tan spot”, foi nos Estados Unidos em 1975 (DUNLEAVY, 1983). Entretanto, em 1963, uma murcha similar à que ocorre em feijão foi reportada em plantas de soja no Estado de Iowa, sendo causada por CFF (DUNLEAVY, 1963), mas essa doença é considerada distinta da “tan spot”, embora causada pela mesma bactéria.

Experimentos em três locais no Estado de Iowa, durante três anos, mostraram perdas de produtividade na soja entre zero e 18,8% em cultivares suscetíveis, com média de 12,5% de perdas no ano de 1979, zero em 1980 e 4,3% em 1981 (DUNLEAVY, 1984).

Na safra 2011/2012 foi confirmada a ocorrência da CFF em lavouras de soja do Brasil, no Estado do Paraná (SOARES et al., 2013), passando a ser denominada mancha bacteriana marrom. Além do Brasil e dos Estados Unidos, CFF foi detectada em soja no Canadá, na Rússia e na Alemanha.

Ocorrência da doença em soja no Brasil

Durante a safra de soja 2011/2012, no mês de janeiro de 2012, o corpo técnico da Embrapa Soja foi solicitado a visitar lavouras de soja em uma propriedade no município de Guarapuava, PR (25° 25' 01" S, 51° 34' 35" O), onde plantas de duas cultivares (BRS 284 e NS 5858) estavam apresentando lesões foliares distintas de outros sintomas comumente conhecidos. Na mesma época, os mesmos sintomas apareceram nessas cultivares em ensaios no campo experimental da Embrapa Soja em Londrina, PR (23° 11' 35" S, 51° 11' 02" O). Folhas de soja foram coletadas desses locais e os sintomas apresentados levantaram a suspeita de se tratar da bacteriose causada por CFF.

Para a obtenção de isolados bacterianos, pequenos pedaços das folhas coletadas foram cortados e desinfestados com álcool e hipoclorito de sódio e usados para fazer suspensões em água esterilizada, que foram transferidas na forma de estrias para placas de Petri com meio de cultura NSA (nutriente-sacarose-ágar). Os crescimentos bacterianos obtidos foram transferidos para placas contendo meio CNS (Clavibacter Nebraskensis Selective Medium), descrito por Behlau et al. (2006) como semi-seletivo para CFF. Nesse meio, três isolados de bactérias cresceram, um de plantas provenientes de Guarapuava e dois de Londrina, e foram submetidos a testes de patogenicidade. Para esses testes, plantas de soja de cultivares suscetíveis a CFF foram cultivadas em casa de vegetação e inoculadas com os isolados. As folhas foram inoculadas com o método de corte com tesoura umedecida na suspensão (RAVA, 1984), avaliando-se a presença de clorose ao redor do corte. Os três isolados causaram sintomas nas folhas (Figura 1), de onde foram reisolados, sendo submetidos a testes de coloração diferencial de Gram e solubilidade em KOH (HALEBIAN et al., 1981). Todos foram Gram positivos e não solúveis em KOH, características inerentes a CFF.

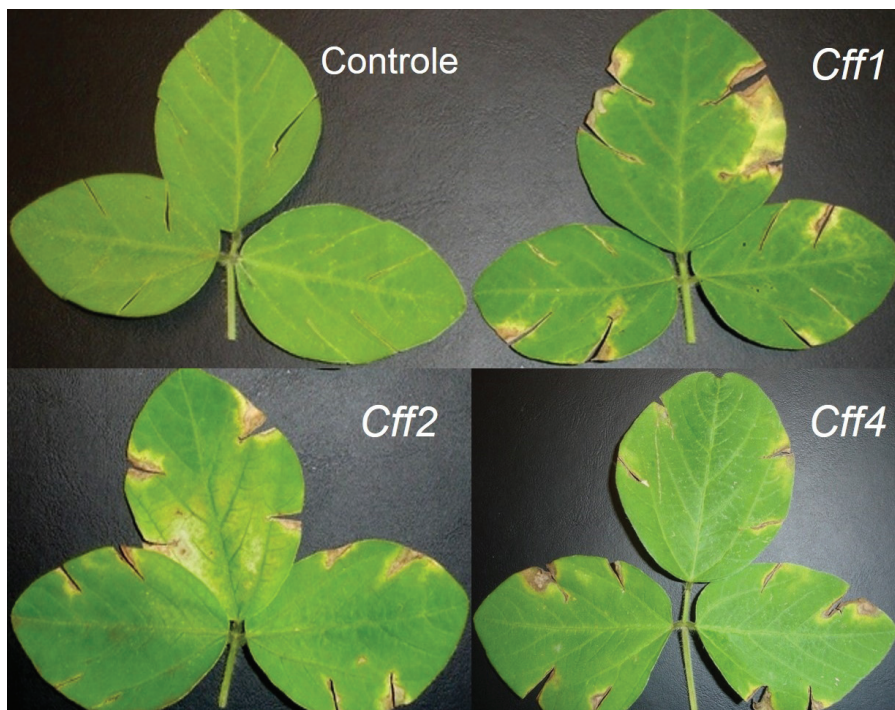


Figura 1. Trifólios de soja inoculados com diferentes isolados de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, em comparação ao controle inoculado com água.

Para confirmação final foi feito o teste de reação da polimerase em cadeia (PCR). Para isso, primeiramente realizou-se a extração de DNA dos isolados bacterianos de acordo com o método descrito por Li e De Bøer (1995). Para a detecção específica de CFF por PCR, utilizou-se o par de iniciadores *Cff*FOR2 5'-GTTATGACTGAACTTCACTCC-3' e *Cff*REV4 5'-GATGTTCCCGGTGTTCTGA-3' (números de acesso EMBL AJ318036 e AJ318037, respectivamente) (TEGLI et al., 2002) para amplificar DNA bacteriano dos isolados selecionados. O produto amplificado foi separado por eletroforese em gel de agarose a 1,2% em solução tampão TAE 1X, corado com brometo de etídio e visualizado sob luz UV. Como controle positivo foram utilizados os DNAs de dois isolados de CFF obtidos de feijão e como controle negativo o DNA de um isolado de *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*. A análise por PCR utilizando os iniciadores *Cff*FOR2-*Cff*REV4 confirmou os resultados com base nos

sintomas morfológicos observados anteriormente. Obteve-se especificamente uma banda única de ADN de 306 pb em todas as estirpes CFF testadas (controles positivos) e nos três isolados recolhidos em campos brasileiros.

A partir dessa primeira ocorrência, plantas com sintomas da mancha bacteriana marrom foram identificadas em municípios de diferentes Estados brasileiros: Pato Branco/PR em 2014, Paragominas/PA, Água Boa/MT, Sorriso/MT e Umuarama/PR em 2016, e novas ocorrências em Londrina/PR em 2016 e 2017.

Características da Doença

Descrição da bactéria

As bactérias corineformes foram separadas em sete grupos de acordo com o modo de divisão celular, principal aminoácido da parede celular, conteúdo GC no DNA, características fisiológicas e bioquímicas. Foi proposta a criação do gênero *Curtobacterium*, para as corinebactérias do grupo cinco, com ampla distribuição em material vegetal, solo e ambiente e a espécie tipo designada foi *Curtobacterium citreum* (YAMADA; KOMAGATA, 1972).

Quando foi constatada pela primeira vez por Hedges, em 1921, o patógeno foi denominado *Bacterium flaccumfaciens* (HEDGES, 1922). Posteriormente, foi denominada de *Phytomonas flaccumfaciens* (Hedges) Bergey et al. 1923 e *Pseudomonas flaccumfaciens* (Hedges) Stevens 1925. Com a abolição do gênero *Bacterium*, o patógeno passou a ser denominado *Corynebacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Hedges) Dowson 1942. A partir da reclassificação das corinebactérias, antes classificadas todas no gênero *Corynebacterium*, surgiram os gêneros *Arthrobacter*, *Clavibacter*, *Curtobacterium* e *Rhodococcus*. Com isso, Collins e Jones, em 1983, propuseram a nomenclatura de CFF atualmente aceita para designar o patógeno (BRADBURY, 1986), sendo esse um procaríoto pertencente ao Reino Bacteria, Filo Actinobacteria, Classe Actinobacteria, Ordem Actinomycetales, Família Microbacteriaceae (DUARTE, 2009).

A CFF é uma bactéria gram-positiva, ou seja, apresenta coloração roxa nas células após ser submetida ao método de coloração de Gram (Figura 2). Essa característica é de grande relevância para a identificação da bactéria, pois, das bactérias fitopatogênicas não fastidiosas, apenas as do grupo Corineforme (ao qual pertence a CFF) possuem espécies gram-positivas (KLEMENT et al., 1990). Portanto, CFF é a única bactéria gram-positiva patogênica ao feijão e à soja.

Foto: Rafael Moreira Soares

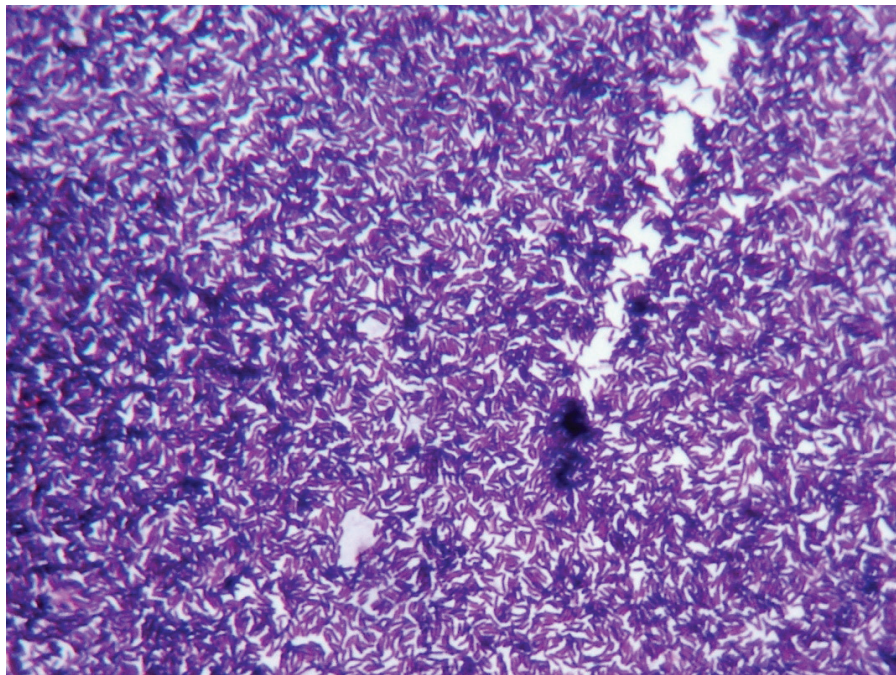


Figura 2. Bastonetes de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* submetidos ao método de coloração de Gram.

Trata-se de uma bactéria aeróbia, que apresenta bastonetes retos ou levemente curvados ($0,3-0,5 \mu\text{m} \times 0,6-3,0 \mu\text{m}$), na maioria individuais, mas podendo estar arranjados em forma de V, Y ou em paralelo, com um ou mais flagelos polares ou subpolares. A superfície das colônias em meio nutriente-glicose-ágar é brilhante, circular, de bordo liso, sem viscosidade, semifluida e amarela, laranja ou rosa, medindo 1 mm a 4 mm de diâmetro em três a quatro dias de cultivo (Figura 3). A tem-

peratura ótima de crescimento situa-se entre 24°C e 27°C, 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 (BRADBURY, 1986; SAETTLER, 1991). Distingue-se das espécies de *Clavibacter* pelo crescimento mais rápido e pela presença de células flageladas móveis (Komagata e Suzuki, citados por TAKATSU, 1995).

Foto: Rafael Moreira Soares

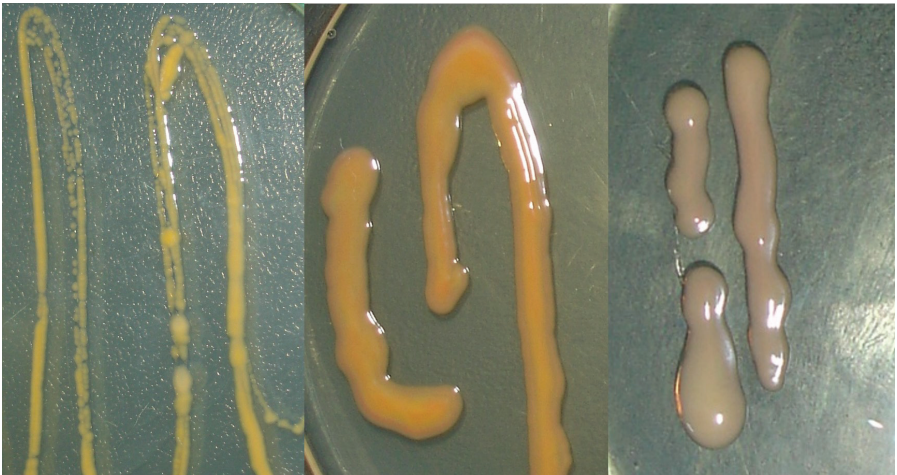


Figura 3. Colônias de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* de diferentes colorações, em meio de cultura nutriente-sacarose-água.

Estudos demonstraram que essa bactéria apresenta grande diversidade fenotípica e genotípica. Análises de agrupamento (cluster) de 67 isolados de CFF de diversas culturas e fontes, em um conjunto de dados composto por análise de polimorfismos de comprimento de fragmento amplificado (AFLP), eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE) e rep-PCR, demonstrou haver dois grupos distintos, sendo que isolados de soja estavam em ambos os grupos (HARVESON, 2015).

A bactéria pode ser detectada por meio de vários métodos: sintomas foliares, observação de corrida bacteriana em microscópio (Figura 4), por coloração diferencial de Gram, isolamento indireto por meio de plântulas, teste sorológico da imunofluorescência, sendo os dois últimos eficientes para detecção em semente (DIATLOFF et al., 1993) e teste molecular utilizando PCR.

Foto: Rafael Moreira Soares

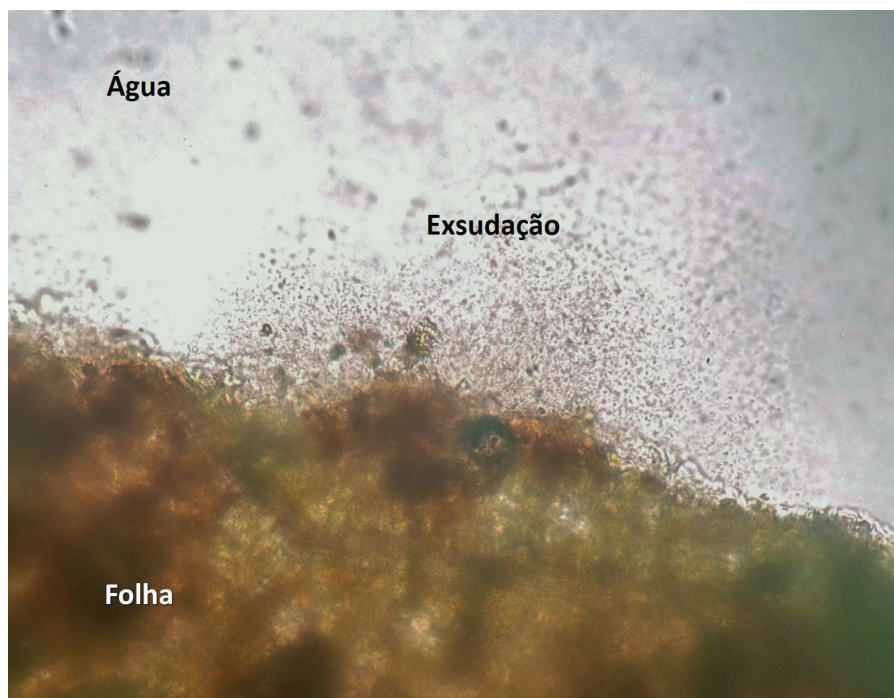


Figura 4. Corrida bacteriana de células de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, exsudando de um corte em folha de soja infectada.

Sintomatologia

Os sintomas da mancha bacteriana marrom na soja caracterizam-se, inicialmente, pelo surgimento de pequenas lesões cloróticas nos folíolos, que evoluem em formato oval ou ao longo dos espaços entre as nervuras, para lesões necróticas com ou sem halo amarelo (Figuras 5 e 6). Após secarem no centro, adquirem coloração bege a marrom (“tan spot”). Com o tempo, as lesões podem coalescer, ultrapassando as nervuras e secando grande parte do folíolo. O tecido seco pode se soltar com o vento, formando áreas rasgadas. A morte de plântulas ocorre no caso de infecção precoce. As plantas mais velhas costumam sobreviver ao ataque, mas o crescimento e a produtividade podem reduzir significativamente (HARVESON; VIDAVER, 2007).

Foto: Rafael Moreira Soares



Figura 5. Sintomas da mancha bacteriana marrom em folhas de soja.



Figura 6. Lavoura de soja atacada pela mancha bacteriana marrom.

Os tecidos mortos das folhas, resultantes do ataque da bactéria, podem ser posteriormente colonizados por fungos oportunistas, que formam estruturas dentro das lesões causadas pela mancha bacteriana marrom. Isso pode causar confusão na identificação da doença, pois as lesões ficam semelhantes às causadas pela mancha foliar de *Phyllosticta* (HARVESON, 2015).

Os sintomas da murcha-de-*Curtobacterium*, típicos do feijão, mas que podem também ocorrer na soja, consistem em plantas amarelecidas, murchas ou com folhas flácidas durante períodos secos e quentes (Figura 7). A ocorrência da doença em plântulas pode levar à formação de plantas subdesenvolvidas ou causar a sua morte antes mesmo da formação do primeiro par de folhas. A murcha é resultado do bloqueio do movimento da água no sistema vascular da planta, causado pelas células bacterianas. A bactéria penetra nas raízes por ferimentos

causados pelas práticas de cultivo e por nematoides, nos cotilédones no processo de germinação e por fermentos no caule, nas folhas e nas vagens. Não se tem relatos de penetração por estômatos, hidatódios ou outras aberturas naturais na parte aérea ou subterrânea da planta de feijão (BURKE; SELISKAR, 1957; HEDGES, 1926; RICKARD; WALKER, 1965; SCHUSTER, 1959).

Foto: Rafael Moreira Soares



Figura 7. Plantas de feijão com sintomas da murcha-de-Curtobacterium.

Sementes infectadas podem apresentar coloração amarelada, laranja ou púrpura, em razão do crescimento bacteriano e se tornarem enrugadas, mas também podem ser assintomáticas (TEGLI et al., 2002).

Ciclo de vida e epidemiologia

A CFF sobrevive no campo em restos culturais, externa ou internamente em sementes e no solo, por pelo menos dois anos (EPPO, 2011). As sementes representam a principal fonte de inóculo e forma de dispersão da bactéria. Características como longo período de latência, crescimento relativamente lento em meio de cultura, natureza endofítica e ocorrência em baixa concentração, dificultam a diagnose e a identificação da doença, especialmente em programas de certificação de sementes ou inspeção quarentenária para importação/exportação (GUIMARÃES et al., 2001). Pesquisas apontam sobrevivência do patógeno em sementes por até 24 anos (BURKHOLDER, 1945).

A infecção ocorre quando o patógeno entra no sistema vascular da planta por meio de sementes infectadas, das raízes de plântulas em desenvolvimento ou de ferimentos em folhas e hastes. Os sintomas de murcha podem aparecer e se agravar em condições de alta temperatura e estresse por falta de água (HARVESON, 2015).

Segundo Saettler (1991), CFF não é capaz de sobreviver por grandes períodos no solo, mas pode se tornar fonte de inóculo para cultivos subsequentes por meio de restos de cultura infestados ou sobreviver em hospedeiros alternativos. Pesquisas realizadas nas condições brasileiras mostraram que CFF sobreviveu em restos culturais de feijoeiro infectados mantidos na superfície do solo por até 240 dias e na forma de células livres, por períodos variáveis de 2 a 16 dias, dependendo do tipo, teor de umidade e a temperatura de incubação do solo (SILVA JÚNIOR et al., 2012b).

Além das plantas da família Fabaceae, já foram observadas colonização epifítica e endofítica de CFF em trigo, por meio de inoculação artificial (SILVA JÚNIOR et al., 2012a), e por infecção natural em aveia preta e trigo (GONÇALVES et al., 2013).

A semeadura de sementes infectadas com a bactéria pode levar à infecção das folhas primárias e do primeiro trifólio, via sistema vascular, sendo favorecida por temperaturas entre 25 °C e 30 °C. Pode haver transmissão entre plantas adjacentes, pelo contato entre folhas que apresentem algum ferimento que sirva de porta de entrada para a bactéria (HARVESON, 2015).

Existem poucas pesquisas sobre a transmissão de CFF de plantas para as sementes, sendo a maioria realizada em feijão. Segundo Chavarro et al. (1985), a bactéria fica alojada na semente nas células paliçádicas que formam a testa, e sob condições de inoculação artificial, ocorreu a transmissão de 51,4% a 52,5% em sementes de feijão, além de efeito negativo sobre a germinação. Camara et al. (2009) testaram a transmissão em cultivares de feijão com diferentes níveis de resistência a doença, obtendo de zero a 74,2% de transmissão, variando de acordo com a cultivar testada.

Em testes realizados na Embrapa Soja, Londrina-PR, sementes de soja providas de plantas de duas cultivares diagnosticadas com a doença no campo foram semeadas em vasos em casa de vegetação e não mostraram a ocorrência da doença nas plantas produzidas (SOARES, 2014, dados não publicados). Em outro teste, visando avaliar a transmissão da bactéria da planta de soja para a semente, duas cultivares suscetíveis e uma resistente à doença foram infectadas artificialmente com a bactéria na fase vegetativa e as sementes produzidas foram colhidas. Em laboratório, utilizando o método preconizado por Camara et al. (2009), 200 sementes de cada cultivar foram analisadas e mostraram transmissão de planta para semente de 0,5% para as cultivares suscetíveis e zero para a cultivar resistente (SOARES; FANTINATO, 2017, dados não publicados). Esses resultados indicam que, embora a semente seja um agente de disseminação da doença na soja, os restos culturais, o solo e os hospedeiros alternativos infectados são as principais fontes de inóculo para a ocorrência da doença em lavouras.

Métodos de controle

Os métodos de controle recomendados são o uso de cultivares resistentes, o controle da sanidade das sementes (usar sementes certificadas); a rotação de culturas com espécies não hospedeiras (fazer rotação de soja com gramíneas e não semear soja em sucessão ao feijão); a adubação adequada e o manejo adequado da água (irrigação e preparo do solo). Essas práticas podem controlar ou, pelo menos, limitar a ocorrência da doença (VENETTE et al. 1995; HARVESON, 2015).

Realizar adubação equilibrada pode ajudar no controle, pois já foi mostrado que doses crescentes de nitrogênio aplicadas em feijão na forma de ureia, aumentaram a severidade da murcha-de-*Curtobacterium* em uma cultivar considerada resistente à doença (THEODORO; MARINGONI, 2006).

Os tratamentos de sementes de feijão por termoterapia (2h de embebição em água + 3 h a 60 °C) ou com produto químico a base de sulfato de cobre + oxitetraciclina resultaram em erradicação da bactéria em sementes naturalmente infectadas, mas foram fitotóxicos, pois interferiram na germinação e no vigor das sementes (ESTEFANI et al., 2007).

Em relação à resistência genética das cultivares à mancha bacteriana marrom, já foram relatados diferentes graus de resistência ou tolerância. Os métodos de inoculação da bactéria para realizar a seleção de genótipos resistentes têm variado de acordo com o hospedeiro testado. Em feijão costuma-se utilizar a punção com agulha no caule (SOARES; MARINGONI, 2002) e para outros hospedeiros, incluindo a soja, o método utilizado é de riscar na superfície dos folíolos com um palito dental molhado no inóculo ou pulverizar a suspensão da bactéria (MARINGONI, 2002; MARINGONI; SOUZA, 2003). O método pelo uso da tesoura (RAVA, 1984), que consiste em imergir uma tesoura previamente esterilizada na suspensão de inóculo bacteriano e fazer cortes no limbo foliar, é bastante eficiente para avaliar essa bactéria, pelo tipo de sintoma que causa.

Avaliações com cinco isolados de *C. flaccumfaciens*, um obtido de soja e quatro obtidos de feijão, mostraram que todos os isolados causaram mancha foliar e murcha no feijão, mas apenas o isolado obtido de soja causou mancha foliar na soja. De 20 cultivares de soja da região norte dos EUA testadas pelo autor, três foram resistentes, sete foram moderadamente suscetíveis, três foram suscetíveis e sete foram altamente suscetíveis. De 20 cultivares da região sul dos EUA, oito foram resistentes e 12 moderadamente suscetíveis (DUNLEAVY, 1983).

Vinte cultivares de soja da Embrapa foram testadas contra um isolado de CFF obtido de feijão, usando dois métodos de inoculação, e foram observados baixos níveis de severidade da doença nas cultivares, independentemente do método de inoculação utilizado (MARINGONI; SOUZA, 2003).

Soares e Bracale (2014), com o objetivo de avaliar a reação de 19 cultivares de soja disponíveis no Brasil à mancha bacteriana marrom, inocularam um isolado obtido de soja com uso da tesoura mergulhada previamente em suspensão da bactéria. A avaliação consistiu em atribuir notas (1 a 3) de acordo com tipo de sintoma desenvolvido ao redor do ponto de inoculação, sendo: 1) sem sintoma; 2) clorose; e 3) clorose e necrose. A classificação dos níveis de resistência, realizada com base na nota média de quatro repetições, seguiu os seguintes critérios: resistente = nota 1,0; moderadamente resistente = nota de 1,1 a 2,0; suscetível = nota de 2,1 a 3,0. Aos 32 dias após a inoculação, das 19 cultivares avaliadas (BRS 133, BRS 184, BRS 232, BRS 257, BRS 262, BRS 282, BRS 284, BRS 317, BRS 361, BRS 295RR, BRS 316RR, BRS 334RR, BRS 359RR, BRS 360RR, BMX Potencia RR, BMX Apolo RR, NA 5909 RG, NS 5858 RR e NK 7059 RR), três (BRS 257, BRS 259RR e NA 5909 RG) foram moderadamente resistentes à bactéria, 16 foram suscetíveis e nenhuma foi resistente.

Em outro trabalho, Bello e Soares (2015) usaram o mesmo método de inoculação, mas com o critério de classificação de Maringoni e Souza (2003), dando as seguintes notas: 1) sem sintomas; 2) escurecimento ao redor do corte do folíolo; 3) halo amarelado com ou sem necrose

ao redor do corte do folíolo; 4) halo amarelecido com necrose pronunciada ao redor do corte do folíolo. Foram avaliadas 30 cultivares de soja quanto à resistência à mancha marrom bacteriana. Nenhuma cultivar foi resistente, 13 foram moderadamente resistentes e 17 foram suscetíveis (Tabela 1). Dessa forma, verifica-se a falta de materiais resistentes no mercado, o que é preocupante caso ocorra uma disseminação maior da doença na cultura.

Tabela 1. Nota e reação de cultivares de soja inoculadas com um isolado de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, causador da mancha bacteriana marrom.

Cultivar	Mancha bacteriana marrom		Cultivar	Mancha bacteriana marrom	
	Nota	Reação		Nota	Reação
A 6411 RG	3	MR	DM 6458 IPRO	3	MR
ANTA 82 RR	4	S	DM 6563 IPRO	4	S
BMX APOLO RR	4	S	M 6410 IPRO	4	S
BMX ATIVA RR	3	MR	M 6952 IPRO	4	S
BMX DESAFIO RR	4	S	M 7110 IPRO	4	S
BMX POTENCIA RR	3	MR	NA 5909 RG	4	S
BMX TURBO RR	4	S	NA 7337 RR	3	MR
BMX VALENTE RR	4	S	NS 5858 RR	4	S
BRS 317	4	S	NS 5959 IPRO	3	MR
BRS 359RR	4	S	NS 6262 RR	3	MR
BRS 360RR	4	S	NS 7209 IPRO	4	S
BRS 361	4	S	TEC 7849 IPRO	3	MR
BRS 378RR	4	S	V MAX	3	MR
BRS 388RR	3	MR	V MAX RR	3	MR
DM 5958 IPRO	3	MR	V TOP RR	3	MR

Fonte: adaptado de Bello e Soares (2015).

Considerações Finais

A ocorrência de prejuízos severos causados pela mancha bacteriana marrom ainda não foi registrada em lavouras de soja no Brasil até a safra 2016/2017, e a experiência nos Estados Unidos, onde ela já foi constatada há mais tempo, mostra que se trata de uma doença de ocorrência esporádica que pode ficar vários anos sem causar perdas econômicas no campo. Por outro lado, ela possui um potencial de dano considerável, já que experimentos mostraram redução de até 18,8% de produtividade. Portanto, os estudos com a mancha bacteriana marrom revestem-se de uma importância preventiva, pois se conhecendo melhor a doença, é mais fácil evitar situações que possam favorecer a sua ocorrência e/ou encontrar estratégias para manejá-la após o seu aparecimento, de forma que a cadeia da soja não venha a sofrer prejuízos.

Nesse contexto, a atenção de programas de melhoramento de soja para o desenvolvimento de cultivares resistentes, é a principal forma de se prevenir contra eventuais problemas que essa doença possa vir causar no futuro.

Agradecimentos

Aos membros da equipe de Fitopatologia da Embrapa Soja, que colaboraram na obtenção de vários resultados descritos nessa publicação: Guilherme Goulart Filho, Gisele Gonçalves Pozzobom Fantinato, Luís Antonio Cajolla e Natanael Bento da Silva (Fundação Meridional).

Referências

BEHLAU, F.; NUNES, L. M.; LEITE JUNIOR, R. P. Meio de cultura semi-seletivo para detecção de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em solo e sementes de feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 32, p. 394-396, 2006.

BELLO, V. H.; SOARES, R. M. Reação de cultivares de soja à mancha bacteriana marrom, ao mofo-branco e à murcha de sclerotium. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 7.; MERCOSOJA, 2015, Florianópolis. **Tecnologia e mercado global: perspectivas para soja: anais**. Londrina: Embrapa Soja, 2015. 3 p. 1 CD-ROM.

BRADBURY, J. F. **Guide to the plant pathogenic bacteria**. Kew: CAB International Mycological Institute, 1986. 332p.

BURKHOLDER, W. H. The longevity of the pathogens causing the wilt of the common bean. **Phytopathology**, v. 35, n. 9, p. 743-744, 1945.

CAMARA, R. C.; VIGO, S. C.; MARINGONI, A. C. Plant-to-seed transmission of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in a dry bean cultivar. **Journal of Plant Pathology**, v. 91, n. 3, p. 549-554, 2009.

CHAVARRO, C.A.; LOPEZ, G.C.A.; LENNE, J.M. Características y pathogenicidad de *Corynebacterium flaccumfaciens* (Hedges) Dows. agente causal del marchitamiento bacteriano de *Zornia* spp. y su efecto em el rendimiento de *Z. glaba* CIAT 7847 y *Phaseolus vulgaris*. **Acta Agronomica**, v. 35, n. 2, p. 64-79, 1985.

COELHO, M.V.S.; GUIMARÃES, P.M.; MARQUES, A.S.A.; MARTINS, O.M. ***Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* - Murcha bacteriana do feijoeiro e da soja: alto risco de disseminação no Brasil**. Brasília: MAPA, 2004. 9p. (MAPA. Comunicado Técnico, 117).

DIATLOFF, A., WONG, W. C., WOOD, B. A. Non-destructive methods of detecting *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in mugbean seeds. **Letters in Applied Microbiology**, v. 16, p. 269-73, 1993.

DUARTE, V. Taxonomia atual de bactérias fitopatogênicas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 17, p. 87-109, 2009.

DUNLEAVY, J. M. A vascular disease of soybean caused by *Corynebacterium* sp. **Plant Disease Report.**, v. 47, p. 612-613, 1963.

DUNLEAVY, J. M. Bacterial tan spot, a new foliar disease of soybeans. **Crop Science**, v. 23, p. 473-476, 1983.

DUNLEAVY, J. M. Yield losses in soybeans caused by bacterial tan spot. **Plant Disease**, v. 6, p. 774-776, 1984.

EPPO. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. **OEPP/EPPO Bulletin**, v. 41, p. 320–328, 2011.

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

GONÇALVES, R. M.; SILVA JÚNIOR, T. A. F.; SOUZA FILHO, R. C.; MARINGONI, A. C. Preliminary report of epiphytic and endophytic colonization of black oat (*Avena strigosa*) and wheat (*Triticum aestivum*) by *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in Brazil. **Journal of Plant Pathology**, v. 95, supl., S4.69, 2013.

GUIMARÃES, P. M.; PALMANO, S.; SMITH, J. J.; SA, M. F. G.; SADLER, G. S. Development of PCR test for detection of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 80, p. 1-10, 2001.

HALEBIAN, S.; HARRIS, B.; FINEGOLD, S. M. Rapid method that aids in distinguishing Gram-positive from Gram-negative anaerobic bacteria. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 13, p. 444–448, 1981.

HARVESON, R. M.; VIDAVER, A. K. First report of the natural occurrence of soybean bacterial wilt isolates pathogenic to dry beans in Nebraska. **Plant Health Progress**, 2007. Disponível em: <<http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/brief/2007/drybean/>>. Acesso em: 5 set. 2012.

HARVESON, R.M. Bacterial wilt and bacterial tan spot. In: HARTMAN, G. L.; RUPE, J. C.; SIKORA, E.J.; DOMIER, L.L.; DAVIS, J.A.; STEFFEY, K.L. (Ed.). **Compendium of soybean diseases and pests**. 5. ed. Saint Paul: APS Press, 2015. p. 21-24.

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

KLEMENT, Z.; RUDOLPH, K.; SANDS, D. C. **Methods in phytobacteriology**. Budapest: Akademiai Kiadó. 1990. 568p.

LI, X.; DE BÖER, S. H. Selection of polymerase chain reaction primers from an RNA intergenic spacer region for specific detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. **Phytopathology**, v. 85, p. 837-842, 1995.

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

MARINGONI, A. C.; SOUZA, E. L. C.de. Reação de cultivares de soja a isolado de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, proveniente de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 777-781, 2003.

MARINGONI, A.C. Behaviour of dry bean cultivar to bacterial wilt. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 157-162, 2002.

RAVA, C. A. Patogenicidade de isolamentos de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 19, p. 445-448, 1984.

RAVA, C. A.; COSTA, J. G. C. da. Reação de cultivares de feijoeiro comum à murcha-de-curtobacterium. In: REUNIÃO SUL-BRASILEIRA DE FEIJÃO, 5.; REUNIÃO ANUAL PARANAENSE, 2001, Londrina. **Anais...** Londrina: IAPAR, 2001. p. 55-56.

RICKARD, S. F.; WALKER, J. C. Mode of inoculation and host nutrition in relation to bacterial wilt of bean. **Phytopathology**, v. 55, n. 5, p. 174-178, 1965.

SAETTLER, A. W. Diseases caused by bacteria. In: HALL, R. (Ed.). **Compendium of bean diseases**. St. Paul: APS, 1991. p. 29-32.

SCHUSTER, M. L. Relation of root-knot nematodes and irrigation water to the incidence and dissemination of bacterial wilt of bean. **Plant Disease Reporter**, v. 43, n. 2, p. 27-32, 1959.

SILVA JÚNIOR, T. A. F.; NEGRÃO, D. R.; ITAKO, A. T.; MARINGONI, A. C. Pathogenicity of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* to several plant species. **Journal of Plant Pathology**, v. 94, p. 427-430, 2012a.

SILVA JÚNIOR, T. A. F.; NEGRÃO, D. R.; ITAKO, A. T.; SOMAN, J. M.; MARINGONI, A. C. Survival of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in soil and bean crop debris. **Journal of Plant Pathology**, v. 94, p. 331-337, 2012b.

SOARES, R. M.; BRACALE, M. F. Reação de cultivares de soja a *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 47; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MOFO BRANCO, 2014, Londrina. **Desafios futuros: anais**. Londrina: SBF, 2014. 1 CD-ROM.

SOARES, R. M.; FANTINATO, G. G. P.; DARBEN, L. M.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; SEIXAS, C. D. S.; CARNEIRO, G. E. S. First report of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* on soybean in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, p. 452-454, 2013.

SOARES, R. M.; MARINGONI, A. C. Efeito do acibenzolar-S-methyl sobre a germinação e desempenho de sementes de feijoeiro e na indução de resistência à murcha-de-curtobacterium. **Summa Phytopathologica**, v. 28, p. 41-45, 2002.

TAKATSU, A. Taxonomia de corinebactérias fitopatogênicas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 3, p. 85-110, 1995.

TEGLI, S.; SERENI, A.; SURICO, G. PCR-based assay for the detection of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in bean seeds. **Letters in Applied Microbiology**, v. 35, p. 331-337, 2002.

THEODORO, G. F.; MARINGONI, A. C. Efeito de doses de nitrogênio na severidade da murcha-de-curtobacterium em cultivares de feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 32, p. 131-138, 2006.

VENETTE, J.R.; LAMPA, R.S.; GROSS, P. L. First report of bean bacterial wilt caused by *Curtobacterium flaccumfaciens* subsp. *flaccumfaciens* in North Dakota. **Plant Disease**, v. 79, p. 966, 1995.

YAMADA, K.; KOMAGATA, K. Taxonomic studies on coryneform bacteria V. Classification of coryneform bacteria. **Journal of General and Applied Microbiology**, v. 16, p. 417-431, 1972.

Embrapa

Soja

MINISTÉRIO DA
**AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO**



CGPE 13774