

# **AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DO FEIJOEIRO A *XANTHOMONAS AXONOPODIS* PV. *PHASEOLI***

JOSIANE TONETTI<sup>1</sup>; MARGARIDA F. ITO<sup>2\*</sup>; ALISSON F. CHIORATO<sup>3</sup>; SÉRGIO A. M. CARBONELL<sup>3\*</sup>; SÉRGIO P. LITHORDI<sup>4</sup>

Nº 0900023

## **Resumo**

O crestamento bacteriano comum, causado pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (*Xap*) é a principal doença bacteriana do feijoeiro no Brasil. A principal forma de seu controle é através da resistência genética (RAVA *et al.*, 1990). Foi realizada a avaliação da resistência de linhagens avançadas de feijoeiro, do Programa de Melhoramento Genético de Feijoeiro do Instituto Agronômico - IAC, ao patógeno *Xap*; os trabalhos foram desenvolvidos em laboratório e casa de vegetação. Trezentos e dez genótipos de feijoeiro foram inoculados com um isolado de *Xap*, pelo método de agulhas múltiplas (POMPEU *et al.*, 1972; POMPEU *et al.*, 1973). Para a produção do inóculo, o isolado de *Xap* foi repicado para placas de Petri, contendo meio de cultura BDA. Após a repicagem, foi realizada a incubação, em estufa, à temperatura de 28° C, por um período de 24 a 48 horas. O inóculo foi preparado pela adição de água destilada e esterilizada à superfície da colônia bacteriana e posterior raspagem com lâmina de vidro. A concentração do inóculo foi ajustada a 10<sup>8</sup>ufc/mL. A avaliação foi efetuada no sétimo dia e no décimo dia após inoculação, pela escala de notas de 1 a 5 (SUGIMORI *et al.*, 1989), sendo 1=sem sintoma na área inoculada (Imune=I), 2=encharcamento e/ou necrose da área inoculada (Resistente=R), 3=encharcamento de até 20% em torno dos pontos de inoculação (Moderadamente Resistente=MR), 4=encharcamento e/ou necrose da área inoculada (Suscetível=S) e 5=encharcamento, necrose da folha e aparecimento de sintomas fora da área inoculada (Altamente Suscetível=AS).

## **Abstract**

The common bacterial blight, caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (*Xap*) is the main bacterial disease in the bean crop in Brazil and the main form of control is through genetic resistance of the cultivar (RAVA *et al.*, 1990). Was performed the resistance evaluation at advanced lines from Beans Genetic Improvement Program of

1. Bolsista CNPq: Graduação em Ciências Biológicas, PUC-Campinas, Campinas-SP ✉ josiane\_tonetti@ig.com.br
  2. Orientadora: Pesquisadora, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Fitossanidade-Instituto Agronômico – IAC, Campinas-SP
  3. Colaborador: Pesquisador, Centro de Análises e Pesquisa Tecnológica do Agronegócio dos Grãos e Fibras-Instituto Agronômico – IAC, Campinas-SP.
  4. Bolsista CNPq: Graduação em Ciências Biológicas, UNIP-Campinas, Campinas-SP.
- \*Bolsista Produtividade em Pesquisa do CNPq.

Instituto Agronômico – IAC to *Xap*; the works were developed in laboratory and greenhouse. Three hundred and ten bean genotypes were inoculated with a strain of *Xap* with the multiple needles method (POMPEU *et al.*, 1972; POMPEU *et al.*, 1973). For the production of inoculum, the *Xap* was cultivated in Petri dishes containing BDA culture medium. The incubation was in greenhouse, at the temperature of 28° C for a period of 24 hours to 48 hours. The inoculum was prepared by adding sterile distilled water at the surface of the bacterial colony and subsequent scraping with a layer of glass; the concentration was adjusted to 10<sup>8</sup>ufc/mL. The evaluation was performed on the seventh day and on the tenth day after inoculation with the scale of grades 1 to 5 (SUGIMORI *et al.*, 1989), with 1=no symptoms in inoculated area (I=Immune), 2=flooding and/or necrosis of the inoculated area (R=Resistant), 3=flooding of up to 20% around the points of inoculation (MR=moderately resistant), 4=drenching and/or necrosis of the inoculated area (susceptible=S) and 5=drenching, necrosis of the leaves and onset of symptoms outside the inoculated area (AS=highly susceptible).

## **Introdução**

O crestamento bacteriano comum, causado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, é a principal doença bacteriana do feijoeiro no Brasil. Ocorre na maioria das regiões produtoras de feijão comum, principalmente na safra das águas, com queda na produção de até 45%. Os sintomas podem ocorrer em toda a parte aérea da planta. A maior severidade da doença é observada em períodos com temperaturas superiores a 28° C e em relação à umidade relativa (UR), estudos relatam que UR de 30% é suficiente para que ocorra a infecção (BARRA *et al.*, 2009). O controle químico dessa doença não tem proporcionado resultado satisfatório (PAIXÃO *et al.*, 2003) assim a principal forma de controle seria através do uso de cultivares com resistência genética a *Xap* (RAVA *et al.*, 1990). Este trabalho teve como objetivo avaliar genótipos de feijoeiro quanto à reação a *Xap*.

## **Materiais e Métodos**

**Produção de plântulas:** sementes de 310 genótipos de feijoeiro que fazem parte de linhagens avançadas de feijoeiro, do Programa de Melhoramento Genético de Feijoeiro do Instituto Agronômico-IAC e também sementes de uma testemunha suscetível a *Xap* (Rosinha G2) foram germinadas em papel de germinação, com pH neutro, à temperatura de 28° C, por um período de três dias. Para cada genótipo foram usadas 10 sementes. Após esse período as plântulas foram transplantadas para vasos contendo terra como substrato e mantidas em casa de vegetação. Para cada genótipo de feijoeiro foram utilizados três vasos com duas plântulas cada vaso.

**Produção de inóculo de *Xap*:** no laboratório de Fitopatologia - IAC, um isolado de *Xap*, selecionado como causador de sintomas com maior severidade, o isolado nº11090, registrado no Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Fitossanidade - IAC, foi repicado para tubos de ensaio contendo meio de cultura BDA (Batata – 200 g; Dextrose – 20 g; Agar – 18 g e Água destilada para completar 1000 mL), em seguida foi incubado em estufa à temperatura de 28° C, por um período de 24 horas a 48 horas. Para a produção do inóculo, o isolado de *Xap* foi repicado para placas de Petri, contendo o meio de cultura BDA. Após a repicagem, as placas assim preparadas foram incubadas em estufa à temperatura de 28° C, por um período de 24 horas a 48 horas. O inóculo foi preparado pela adição de água destilada e esterilizada à superfície da colônia bacteriana e posterior raspagem superfície com uma lâmina de vidro. A concentração do inóculo foi ajustada a  $10^8$  ufc/ML (POMPEU *et al.*, 1972; POMPEU *et al.*, 1973).

**Inoculação:** a inoculação foi realizada pela técnica de agulhas múltiplas (POMPEU *et al.*, 1972; POMPEU *et al.*, 1973), quando as folhas primárias das plântulas de feijoeiro apresentavam-se bem expandidas. O inóculo foi colocado num recipiente contendo uma esponja de espuma e com as agulhas múltiplas perfurou-se a folha primária com leve pressão entre a folha e a espuma, o que permitiu a entrada do inóculo através do ferimento. Logo após a aplicação do inóculo, os vasos assim preparados foram mantidos em câmara úmida, por um período de 48 horas, em casa de vegetação.

**Avaliação:** a avaliação foi efetuada no sétimo dia e no décimo dia após inoculação pela escala de notas de 1 a 5 (SUGIMORI *et al.*, 1989), sendo 1=sem sintoma na área inoculada (Imune=I), 2=encharcamento e/ou necrose da área inoculada (Resistente=R), 3=encharcamento de até 20% em torno dos pontos de inoculação (Moderadamente Resistente=MR), 4=encharcamento e/ou necrose da área inoculada (Suscetível=S) e 5=encharcamento, necrose da folha e aparecimento de sintomas fora da área inoculada (Altamente Suscetível=AS).

## **Resultados e Discussões**

As notas dos 310 genótipos de feijoeiro avaliados variaram de 1 a 5. Os genótipos H/65-1, M/100-2 (2), C/12-1, B/8-5, B/9-1, B/9-2, B/9-3, B/13-1, C/5-2, C/5-3, C/5-4, C/7-4, D/25-1, D/25-2, D/25-3, D/29-1 (1), D/29-3, E/26-3, F/19-5, F/27-1, F/27-3, F/27-4, G/40-3, G/40-4, H/37-2 (2), H/37-6, I/60-1 (1), J/32-3, J/32-4, J/43-2 (2), J/43-6, N/119-3 (3), 17/28-4, 17/28-7, 24/25-4, 52/64-5, 106/105-3, 106/105-4, G/46-9, G/69-3, G/69-5, H/57-3, H/58-1 (1), H/58-2, I/47-4, I/60-4, I/60-5, J/39-5, J/54-1 (1), J/54-4 (4), J/94-2 (2), J/94-3, M/100-4 (4), F/26-2, G/46-5, H/37-5, H/53-3, H/57-2, H/58-3, 5/7-1,

5/7-2, 5/7-4, 5/7-5, 5/7-6, 6/5-1, 6/5-2, 6/5-3, 17/28-1, 22/16-1, 22/16-2, 22/16-3, 22/16-4, 22/16-5, 22/16-6, 31/37-1, 31/37-2, 31/37-3, 31/37-4, 31/37-5, 38/32-1, 38/32-2, 38/32-3, 38/32-4, 38/32-5, 38/32-6, 41/35-3, 41/35-4, 41/35-5, 47/49-1, 47/49-2, 47/49-3, 47/49-4, 47/49-5, 49/61-1, 49/61-2, 49/61-4, 49/61-5, 49/61-6, 55/43-1, 55/43-2, 55/43-4, 55/43-5, 55/43-6, 56/44-1, 56/44-2, 56/44-3, 56/44-4, 56/44-5, 56/44-6, 56/44-8, 72/82-1, 72/82-2, 72/82-4, 72/82-5, 72/82-6, 87/91-5, 87/91-6, 99/98-3, 99/98-4 e 106/105-2 foram moderadamente resistentes. Os genótipos H/65-3, H/73-1 (1), 44/H-3, 44/H-4, 52/H-1 (1), C/7-3, E/26-2, F/15-1, D/17-1, D/19-2, D/19-3, D/19-4, E/20-5, E/21-2, E/21-3, E/21-4, F/19-4, G/46-1 (1), G/46-2 (2), G/46-3 (3), G/46-4, J/61-4, J/61-5, J/61-6, J/61-7, B/9-4, C/2-5, C/7-1, C/7-2, D/29-2, F/19-6, G/40-2, H/37-3, H/37-4, H/53-1 (1), I/31-1, I/42-1, I/42-2, J/47-6, J/61-8, N/119-4 (4), 17/28-5, 21/64-5, 24/25-2, I/60-2 (2), J/39-4, J/43-4, J/94-4, G/51-4, I/60-3, J/42-6, J/94-1 (1), J/94-5, N/119-6, H/8, H/89-3, 41/35-1, 41/35-2, 49/61-3, 55/43-3, 56/44-7, 72/82-3, 99/98-5 e 99/98-6 foram suscetíveis. Os Genótipos H/65-2, H/65-4, H/73-2 (2), H/73-6, 44/H-1 (1), 44/H-2 (2), 44/H-5, 52/H-2, 52/H-3, 82/H-1 (1), A/6-7, A/8-4, B/8-4, C/12-4, E/26-1, F/19-2, F/27-2, G/69-1 (1), G/64-3 (3), H/89-7, 38/I-1 (1), 82/H-2 (2), 82/H-3, 99/N-1 (1), 99/N-7, A/8-1, A/8-3, A/12-2, B/10-1, B/10-2, B/10-3, B/10-4, C/12-2, C/12-3, D/17-3, D/19-1 e E/20-2 foram altamente suscetíveis. Os genótipos B/8-2, B/8-3, B/10-5, C/7-5, C/11-2, C/11-3, C/11-4, C/11-5, C/12-5, F/27-5, G/36-3, G/40-5, G/46-6, G/46-7, G/51-1 (1), G/51-2 (2), G/51-3 (3), G/51-5, G/56-1 (1), G/56-2 (2), G/56-3 (3), G/56-4, G/56-5, G/59-1 (1), G/59-2 (2), G/59-3, G/59-4, G/64-5, G/64-6, G/68-1 (1), G/68-2, G/68-3, G/68-4, G/69-2, G/69-4, G/69-5, G/69-6, G/76-1, G/76-2, G/76-3, H/53-2, H/58-4, H/58-5, 82/H-4, 82/H-5, 89/H-2, I/42-3, I/42-4, I/42-5, I/42-7, I/47-1 (1), I/47-2 (2), I/47-3 (3), I/47-5, 34/I-1 (1), 34/I-4, 34/I-5, 38/I-2, 38/I-3, 38/I-4, J/39-1, 75/J-1 (1), 75/J-2 (2), 75/J-3 (3), 75/J-4, 75/J-5, 75/J-7, N/110-5, 99/N-3 (3), 99/N-6, 2/4-4, 11/9-1, 11/9-2, 17/28-2, 50/62-1, 50/62-3, 50/62-4, 50/62-5, 51/63-1, 60/48-1, 60/48-2, 60/48-3, 60/48-4, 60/48-5, 60/48-6, 87/91-1, 87/91-2, 87/91-3 e 87/91-4 foram avaliados em período de temperatura amena e a testemunha positiva apresentou nota 3, assim como esses genótipos, que foram classificados como moderadamente resistentes. Ao considerar-se que em período de temperatura mais elevada essa testemunha apresentou notas 4 e 5, esses genótipos, em condições ideais ao desenvolvimento da doença, poderão apresentar notas mais elevadas. Diversos autores trabalharam com outros genótipos e outros isolados de *Xap* e constatarem fontes de resistência em materiais resistentes e imunes (RAVA *et al.*, 1996; ÁVILA *et al.* 1998; ITO *et al.*, 1998). Neste trabalho não foram identificados genótipos imunes e ou resistentes, foram constatados genótipos moderadamente resistentes.

Trabalhos têm mostrado diferenças de patogenicidade entre isolados dessa bactéria (ÁVILA *et al.*, 1998; ITO *et al.*, 1998; RAVA *et al.*, 1990), esse fato deve ser considerado em pesquisas sobre *screening* de material para resistência.

### Conclusões

Os 310 genótipos de feijoeiro avaliados não apresentam níveis adequados de resistência genética a *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, para uso em Programa de Melhoramento Genético visando resistência a esse patógeno, a melhor reação dos genótipos é de Moderadamente Resistentes.

### Agradecimentos

Agradecemos ao Instituto Agrônomo - IAC, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Fitossanidade e Centro de Análises e Pesquisa Tecnológica do Agronegócio dos Grãos e Fibras, pela oportunidade de infra-estrutura e orientação para a realização do trabalho, assim como ao CNPq pela concessão da Bolsa de Iniciação Científica.

### Referências Bibliográficas

ÁVILA, Z.R.; SOUZA, R.M.; SANTOS, J.B.; SOUZA, P.E.; CASTRO, A.M.S. Reação de cultivares e linhagens de feijoeiro comum a diferentes isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e sua variante *fuscans*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.23, n.1, p.18-22, 1998.

BARRA, V. R.; ROMEIRO, R. S; SANTOS, U. A. **Crestamento Bacteriano Comum**. Departamento de Fitossanidade. Agronomia, UFRGS. Disponível em: <http://www6.ufrgs.br/agronomia/fitossan/fitopatologia/ficha.php?id=49#> Acesso em 23 junho 2009

ITO, M.F.; CARBONELL, S.A.M.; SUGIMORI, M.H.; POMPEU, A.S.; RAVAGNANI, S.; FRANCISCO, F.G. Fontes de resistência em feijoeiro à *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.23 (Suplemento): 209.1998.

PAIXÃO, G. L. S. ; SEABRA, S. JR; MORAIS, L. A. S. DE; BIAZON, V. L.; GOTO, R.; MARINGONI, A. C.; MING, L. C. **Atividade de tinturas de plantas medicinais sobre o crestamento bacteriano comum em feijão vagem.**, Departamento de Produção Vegetal/Horticultura UNESP-FCA. Botucatu-SP 2003. Disponível em:

<<http://www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos/Download/Biblioteca/olfs4072c.pdf>> Acesso em 23 junho 2009.

POMPEU, A.S.; CROWDER, L.V. Inheritance of resistance of *Phaseolus vulgaris* L. (dry bean) to *Xanthomonas phaseoli* Dows. (common blight). **Ciência e Cultura** 24: 1055-1063. 1972.

POMPEU, A.S.; CROWDER, L.V. Methods of inoculation and bacterial concentrations of *Xanthomonas phaseoli* Dows. for the inheritance of disease reaction in *Phaseolus vulgaris* crosses (dry bean), under growth chamber conditions. **Ciência e Cultura** 25: 1078-1081. 1973.

RAVA, C.A.; COSTA, J.G.C. da, SARTORATO, A.; ZIMMERMANN, M.J. de O. Obtenção de linhagens de feijoeiro resistentes ao cretamento bacteriano comum originadas do cruzamento entre *Phaseolus vulgaris* e *P. acutifolius*. **Summa Phytopatologica**, v.22, p. 33-36, 1996.

RAVA, C.A.; ROMEIRO, R.S. Variabilidade de isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* quanto a patogenicidade em cultivares de *Phaseolus vulgaris*. **Summa Phytopathologica** 16:225-232, 1990.

SUGIMORI, M. H. Caracterização serológica dos patovares brancos de *Xanthomonas campestris* e Reação de Mangueiras (*Mangifera indica* L.) a *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*. Tese apresentada a escola superior de Agricultura Luiz de Queiroz, da Universidade de São Paulo, 1989.