

ARTIGOS

Detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e fungos em sementes de feijão produzidas no Estado de São Paulo

Margarida F. Ito^{1,4}, Pedro J. Valarini^{2,4}, Flávia R.A. Patrício³, Mauro H. Sugimori^{1,4}

¹Instituto Agronômico de Campinas, Seção de Fitopatologia, Caixa Postal 28, 13020-902, Campinas/SP

²EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação do Impacto Ambiental-CNPMA, Caixa Postal 69, 13820-000, Jaguariúna/SP.

³CATI/Departamento de Sementes, Mudanças e Matrizes, Caixa Postal 960, 13073-001, Campinas/SP.

⁴Bolsista do CNPq.

Aceito para publicação em: 26/06/97.

RESUMO

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*, v. 23, p. 118-121, 1997.

Foi pesquisada a presença de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e de fungos em sementes certificadas de feijão produzidas pela Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo nas safras da seca e inverno de 1991 e 1993. A bactéria foi detectada através do método de inoculação em planta indicadora de feijoeiro da cultivar CNF 0010. A incidência de fungos foi determinada pelo método do papel de filtro. Quanto à bactéria, foram examinadas amostras de 188 lotes em 1991 e 124 em 1993. Para os fungos foram analisadas amostras de 147 lotes no ano de 1991.

Em 1991, a bactéria foi detectada somente nas amostras de Araçatuba (16,7%), Paraguaçu Paulista (18,2%) e São José do Rio Preto (4%) com incidência mínima de (0,5%). No ano de 1993, *X. campestris* pv. *phaseoli* foi encontrada nas amostras de Araçatuba (6,3%), Baurú (20%), Fernandópolis (12,7%), Lucélia (33,3%), Marília (12,5%), Paraguaçu Paulista (50,0%), Presidente Prudente (46,7%), Ribeirão Preto (16,7%), Santo Anastácio (66,7%), São José do Rio Preto (40,0%). Em 1991, a bactéria foi detectada em apenas 5,3% das amostras analisadas, ocorrendo em 1993 um aumento da incidência do patógeno, que foi detectado em 30,6%

das amostras, provavelmente devido as condições climáticas favoráveis ao crestamento bacteriano.

Foram encontrados os fungos *Colletotrichum lindemuthianum*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Phaeoisariopsis griseola* e *Alternaria* spp.. As regiões de Aguai, Araçatuba, Avaré e Lucélia apresentaram maior incidência destes fungos. Entre as 147 amostras analisadas, *R. solani* foi detectada em Araçatuba em 28,6% das amostras, Baurú (50,0%), Fernandópolis (8,7%), Lucélia (27,0%) e Marília (7,5%) e *C. lindemuthianum* em Araçatuba (3,3%), Avaré (25,0%) e Lucélia (5,5%). Os demais fungos foram detectados em baixas incidências podendo-se concluir que com relação à presença de fungos, os lotes analisados apresentaram boa qualidade sanitária.

Os resultados mostraram que houve alta contaminação das sementes por *X. campestris* pv. *phaseoli* em 1993, e que ocorreu aumento do inóculo nas sementes de 1991 para 1993, destacando-se os municípios P. Paulista, S. José do Rio Preto, Santo Anastácio e Presidente Prudente como os que apresentaram maior infecção das sementes.

Palavras-chave adicionais: Patologia de sementes, *Phaseolus vulgaris*.

ABSTRACT

Ito, M.F., Valarini, P.J., Patrício, F.R.A., Sugimori, M.H. Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and fungi in bean seeds produced at São Paulo State. *Summa Phytopathologica*, v. 23, p. 118-121, 1997.

Dry bean certified seeds (*Phaseolus vulgaris* L.) were evaluated for the presence of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and fungi in dry and winter crops of 1991 and 1993. *X. campestris* pv. *phaseoli* was detected by an indicator bean plant (cv. CNF 0010) and the fungi by the blotter test method. The bacterium was detected, in 5,3% and 30,6% of the samples, with

minimum incidence of 0,5% in 1991 and 1993, respectively. The main fungi detected in 1991 were *Colletotrichum lindemuthianum*, *Macrophomina phaseolina*, *Phaeoisariopsis griseola*, *Rhizoctonia solani* and *Alternaria* spp.. These fungi are under the tolerance levels of health standards.

The results showed a high contamination of seeds by *X.*

campestris pv. *phaseoli* and an increase of the inoculum in the seeds from 1991 to 1993. Greater seed infections occurred at the

districts of Paraguaçu Paulista, São José do Rio Preto, Santo Anastácio and Presidente Prudente.

Additional keywords: Seed pathology, *Phaseolus vulgaris*.

A semente é o meio mais eficiente de disseminação e sobrevivência de patógenos como *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e *Colletotrichum lindemuthianum*, considerados agentes das mais importantes doenças do feijoeiro, crestamento bacteriano e antracnose, respectivamente. As plantas oriundas de sementes portadoras destes patógenos podem constituir-se em fontes de inóculo primário dos mesmos e gerar novos focos de infecção. Sob condições climáticas favoráveis, devido ao rápido desenvolvimento do crestamento bacteriano, o plantio de lotes com apenas 0,5% de sementes portadoras de *X.campestris* pv. *phaseoli* é suficiente para iniciar uma epidemia na lavoura (7, 19). Além de *C. lindemuthianum*, diversos fungos são transmissíveis por sementes de feijão, tais como, *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani* (15). Portanto, a produção de sementes com elevado padrão de sanidade, em regiões de clima desfavorável ao desenvolvimento desses patógenos, é considerada uma das melhores medidas na obtenção de lavouras sadias de feijoeiro (1).

Para detecção dos principais fungos transmissíveis por sementes de feijão, existem métodos, como o do papel de filtro (12) já empregados rotineiramente. *X. campestris* pv. *phaseoli* não é detectada rotineiramente em sementes no Brasil, principalmente devido à falta de equipamento e treinamento dos técnicos de laboratórios de análise de sementes e ao alto custo dos métodos disponíveis, como técnicas serológicas e meios seletivos e semi-seletivos. Foi desenvolvido o método baseado no uso de planta indicadora de feijoeiro, que apresenta custo relativamente baixo, especificidade, sensibilidade de 0,1%, sendo potencialmente viável para testes de rotina (16). Através deste método, VALARINI & MENTEN, 1992 verificaram a presença de *X. campestris* pv. *phaseoli* em grande número de lotes de sementes certificadas produzidas no Estado de São Paulo, nos cultivos de seca e de inverno de 1988 e das águas de 1988/1989. As sementes apresentaram índices suficientes (0,1% a 1,0%) para causarem epidemias em campo, sob condições climáticas favoráveis à doença (7, 17, 19). Com relação aos danos, VALARINI et al., 1996 verificaram que níveis a partir de 10% de incidência na semente afetaram significativamente a produção de grãos (cv EMGOPA 201-ouro) (18).

Como o crestamento bacteriano apresenta importância crescente nas principais regiões produtoras no Estado de São Paulo, e outras doenças fúngicas frequentemente provocam prejuízos consideráveis na cultura, realizou-se este trabalho com o objetivo de verificar a ocorrência de *X. campestris* pv. *phaseoli* e fungos em sementes de feijão produzidas em diversas regiões deste Estado, pela Secretaria da Agricultura, durante os anos de 1991 e 1993.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de sementes de feijão produzidas pela Secretaria da Agricultura nas principais regiões produtoras

do Estado de São Paulo. Avaliou-se a presença de *X. campestris* pv. *phaseoli* nos anos de 1991 e 1993. No primeiro ano, foram analisadas 188 amostras provenientes das regiões de Araçatuba, Fernandópolis, Marília, Paraguaçu Paulista, Presidente Prudente, Ribeirão Preto, São José do Rio Preto, Santo Anastácio e Tatuí. Analisaram-se, em 1993, 124 amostras das regiões de Araçatuba, Baurú, Fernandópolis, Lucélia, Marília, Paraguaçu Paulista, Presidente Prudente, Ribeirão Preto, Santo Anastácio e São José do Rio Preto. Procedeu-se à análise para detecção de fungos em 147 amostras, provenientes das regiões de Aguai, Araçatuba, Avaré, Bauru, Fernandópolis, Lucélia, Marília e Paraguaçu Paulista no ano de 1991, sendo que todas as amostras coletadas são da cultivar IAC carioca (Quadro 1).

Quadro 1. Número de amostras analisadas para a detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e fungos em sementes de feijão, produzidas em diversas regiões do Estado de São Paulo, nos anos de 1991 e 1993.

Região	Nº de Amostras analisadas para detecção de <i>X. campestris</i> pv. <i>phaseoli</i>		Nº de Amostras analisadas para detecção de fungos 1991
	1991	1993	
Aguai	-	-	06
Araçatuba	12	16	30
Avaré	-	-	04
Bauru	-	10	09
Fernandópolis	12	12	24
Lucélia	-	06	18
Marília	21	07	39
Paraguaçu Paulista	22	16	17
Presidente Prudente	27	15	-
Ribeirão Preto	17	12	-
São José do Rio Preto	52	15	-
Santo Anastácio	15	15	-
Tatuí	10	-	-
Total	188	124	147

(-) não foi avaliada por falta de amostras de sementes.

Para a detecção da bactéria nas sementes, foi empregado o método quantitativo com sensibilidade de 0,1%, que consiste na extração da bactéria e posterior inoculação em planta indicadora de feijoeiro (16). Devido ao pequeno número de sementes disponíveis, para a extração da bactéria, 500 sementes de cada amostra foram colocadas em imersão em 180 ml de água destilada esterilizada, durante 24 horas, à temperatura de 5° C. Após este período, o extrato foi inoculado em plantas sadias de feijão cultivar CNF 0010. Para cada amostra, foram preparados 3 vasos com solo esterilizado, contendo 5 plantas por vaso. Inocularam-se as plantas apresentando as folhas

primárias bem expandidas (10 dias após emergência) através da técnica de incisão com tesoura (13). Esta inoculação consistiu em 2 cortes/folha com tesoura previamente esterilizada e mergulhada no inóculo, sendo o primeiro, de 1,5 cm, feito na área compreendida entre o bordo do limbo foliar e a primeira nervura lateral. O segundo corte, paralelo ao primeiro, foi feito a uma distância de 2 cm deste. Cortes semelhantes foram efetuados com água destilada esterilizada em plantas utilizadas como testemunhas. Através deste método, foram também inoculadas plantas com um isolado patogênico de *X. campestris* pv. *phaseoli*, tratamento considerado como testemunha positivo. Efetuou-se a avaliação, 8 a 10 dias após a inoculação e incubação à temperatura ao redor de 30° C e elevada umidade (> 90%), através da observação da presença ou ausência de sintomas. Uma plântula com sintomas nas folhas foi suficiente para indicar resultado positivo. No caso de resultados positivos, considerou-se que a incidência era de no mínimo 0,5%, visto que pelo menos uma semente dentre as 500 examinadas apresentaram infecção pela bactéria.

Os fungos foram detectados através do método do papel de filtro (12). Analisaram-se duzentas sementes de cada amostra, distribuindo-se 10 sementes, equidistantes, por placa de plástico transparente, contendo 3 discos de papel de filtro (80,0 g/m²), previamente embebidos em água destilada. As

sementes assim preparadas, foram incubadas a 22±2° C. durante 7 dias, sob alternância de luz e escuro de 12 horas, a uma distância de 40 cm da fonte luminosa. A luz foi fornecida por lâmpadas fluorescentes, de 40 watts. Após esse período, as sementes foram analisadas em microscópios estereoscópio e composto.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Quadro 2, encontram-se os resultados obtidos para detecção de *X. campestris* pv. *phaseoli*. Observa-se que na safra de 1991, somente 3 regiões, Araçatuba, Paraguaçu Paulista e São José do Rio Preto, apresentaram sementes com *X. campestris* pv. *phaseoli* (5,3% das amostras). Na safra de 1993, a bactéria foi detectada em todo Estado de São Paulo, em 38 amostras (30,6% do total de 128 amostras avaliadas) provenientes de 34 campos de produção, sendo mais frequente e com maior infecção das sementes nas regiões de Paraguaçu Paulista, Santo Anastácio, Presidente Prudente e São José do Rio Preto. Comparando os resultados obtidos em 1991 e 1993, verifica-se que exceto para região de Araçatuba, a bactéria foi detectada com maior frequência no ano de 1993 em todo o Estado, provavelmente devido às condições climáticas favoráveis durante este ano.

Quadro 2. Número e porcentagem de amostras portadoras de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*, produzidas em diversas regiões do Estado de São Paulo, nos anos de 1991 e 1993.

Região	Nº de Amostras com <i>X. campestris</i> pv. <i>phaseoli</i>	% de Amostras com <i>X. campestris</i> pv. <i>phaseoli</i>	Nº de Amostras com <i>X. campestris</i> pv. <i>phaseoli</i>	% de Amostras com <i>X. campestris</i> pv. <i>phaseoli</i>
Araçatuba	2	16,7	1	6,3
Bauru	-	-	2	20,0
Fernandópolis	0	0	2	16,7
Lucélia	-	-	2	33,3
Marília	0	0	1	12,5
Paraguaçu Paulista	4	18,2	8	50,0
Presidente Prudente	0	0	4	46,7
Ribeirão Preto	0	0	2	16,7
São José do Rio Preto	4	7,7	6	40,0
Santo Anastácio	0	0	10	66,7
Tatui	0	0	-	-
Total	10	5,3	38	30,6

(-) não foi avaliada por falta de amostras de sementes.

Os resultados obtidos neste trabalho e por outros autores, mostram que a bactéria encontra-se disseminada em todas as regiões produtoras do Estado de São Paulo e do Paraná, onde o nível de tolerância de plantas infectadas em campo de produção de sementes é de 20% (2,11), indicando a necessidade de complementar as inspeções de campo com testes para detecção de *X. campestris* pv. *phaseoli* em laboratório (10,17). Este trabalho demonstra a possibilidade de implantação do teste utilizando planta indicadora, como rotina, para o controle de qualidade de sementes de feijão, e fornece subsídios para que as Comissões Estaduais de Sementes e Mudanças estabeleçam padrões de sanidade para este patógeno, já que a incidência de 0,5% detectada, é suficiente para iniciar severas epidemias sob condições climáticas favoráveis.

Dentre os fungos detectados nas sementes da safra de 1991

(Quadro 3), os principais foram *Colletotrichum lindemuthianum*, *Macrophomina phaseolina*, *Phaeoisariopsis griseola*, *Rhizoctonia solani* e *Alternaria* spp, frequentemente encontrados em amostras de sementes de feijão (4, 5, 6, 14, 20). Os dados do Quadro 3 indicam que as sementes de feijão produzidas no ano de 1991 apresentaram baixo número de amostras com incidência de fungos patogênicos. A incidência máxima de *Colletotrichum lindemuthianum* (0,5%) encontra-se abaixo do nível de tolerância aceito no Estado de São Paulo e os índices dos demais fungos estão dentro dos limites máximos de tolerância sugeridos pelo COPASEM (3, 8, 11).

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que há necessidade de complementação das inspeções de campo e das análises em laboratório com testes de sanidade de patógenos veiculados pela semente.

QUADRO 3. Porcentagem de amostras e média da incidência dos fungos *Colletotrichum lindemuthianum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* e *Alternaria* spp., em sementes produzidas em diversas regiões do Estado de São Paulo no ano de 1991. Detecção através do método do papel de filtro.

REGIÃO	<i>C. lindemuthianum</i>		<i>M. phaseolina</i>		<i>R. solani</i>		<i>Alternaria</i> spp	
	Porcentagem amostras	Incidência média em %	Porcentagem amostras	Incidência média em %	Porcentagem amostras	Incidência média em %	Porcentagem amostras	Incidência média em %
Aguai	0	0	0	0	16,6	0,08	33,3	0,25
Araçatuba	3,3	0	10,7	10,7	28,6	0,22	3,6	0,02
Avaré	25,0	0,06	0	0	25,0	0,13	75,0	1,00
Bauru	0	0	0	0	50,0	0,11	0,0	0,00
Fernandópolis	0	0	4,3	0,02	8,7	0,04	0,0	0,00
Lucélia	5,5	0,01	5,5	0,03	27,0	0,14	44,4	0,44
Marília	0	0	2,5	0,01	7,5	0,04	0,0	0,00
Paraguaçu Paulista	0	0	0	0	0,0	0,00	5,9	0,03

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BULISANI, E.A., ALMEIDA, L.A., ROSTON, A.J.A. A cultura do feijoeiro no Estado de São Paulo. In: BULISANI, E.A. (Coord.). Feijão: fatores de produção e qualidade. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 29-38.
- COORDENADORIA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA INTEGRAL. Guia de inspeção de campo e padrões de certificação de sementes. Campinas, 1988. n.p.
- COPASEM. Padrão de sanidade de semente. Informativo ABRATES, v.2, n. 3, p. 21, 1992.
- DUDIENAS, C., CASTRO, J.L., ITO, M.F., SOAVE, J., MAEDA, J.A. Efeito de fungicidas na produção, sanidade e qualidade fisiológica de sementes de feijão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, p. 20-24, 1990.
- ELLIS, M.A., GALVEZ, G.E. Patologia de la semilla. In: SCHWARTZ, F., GALVEZ, G.E. eds. Problemas de producción del frijol, enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de *Phaseolus vulgaris*. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1980. p.301-314.
- ITO, M.F., DUDIENAS, C., CASTRO, J.L., SOAVE, J., MAEDA, J.A. Efeitos de fungicidas aplicados na parte aérea, sobre a qualidade de sementes de feijão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 11, p. 627, 1986.
- KIMATI, H. Doenças do feijoeiro. In: GALLI, F. (Ed.) Manual de fitopatologia. 2. ed. São Paulo: Ceres, 1980. v. 2, cap. 19, p. 297-318, 1980.
- MACHADO, J.C. Padrões de tolerância de patógenos associados a sementes. **Revisão Anual de Patologia de plantas**, Passo Fundo, v. 2, p. 229-263, 1994.
- MARINGONI, A.C., FREGONESE, L.H., TÓFOLI, J.G., KUROSAWA, 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. 412-415, 1993.
- MARINGONI, A.C., KOMORI, N. Levantamento das bacterioses do feijoeiro no Estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 14, p. 241-244, 1989.
- MEHTA, Y.R. Estabelecimento de padrões de tolerância para sanidade no campo e na semente. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 2, 1986, Campinas. **Resumos...** Campinas: Fundação Cargill, 1986. p. 41-47.
- NEERGAARD, P. The blotter test. In: SCHARTZ, H.F., MORALES, F.J. Seed pathology. London: The Mac Millan Press, 1977. v. 1. p. 739-743.
- RAVA, C.A. Patogenicidade de isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 19, n 4, p. 445-448, 1984.
- SARTORATO, A. Principais doenças da parte aérea do feijoeiro comum e seus controles. In: FANCELLI, A. L., DOURADO NETO, D. (Ed). Feijão irrigado. Piracicaba:ESALQ/USP, 1991. p.71-85.
- SCHARTZ, H.F., MORALES, F.J. Seed pathology. In: SCHARTZ, H.F., PASTOR-CORRALES, M.A. (Ed.) Bean production and problem in the tropics. 2.ed. Cali: CIAT, 1989. p.413-431.
- VALARINI, P.J. Método para detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* em sementes de feijão. Piracicaba, 1990. 167p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura: Luiz de Queiroz, Universidade São Paulo.
- VALARINI, P.J., MENTEN, J.O.M. *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* em sementes de feijão: detecção por inoculação em planta indicadora. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 14, n. 2, p.171-179, 1992.
- 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, p. 261-267, 1996.
- WALLEN, V.R., SUTTON, M.D. *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* var. *fuscans* (Bukh) Ston & Burkh. on field bean in Ontario. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 43, p. 437-446, 1965.
- ZAUMEYER, W.E., THOMAS, H.R. A monographic of bean diseases and methods for their control. Washington: USDA, 1957 (Technical Bulletin, 686)