

ARTIGOS

VARIABILIDADE DE ISOLADOS DE *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* QUANTO A PATOGENICIDADE EM CULTIVARES DE *Phaseolus vulgaris*

C. A. RAVA¹ & R. S. ROMEIRO²

¹ EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP), C. Postal 179, 74000 - Goiânia - GO.

² Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa (UFV), 36570 - Viçosa - MG.

* Parte da tese apresentada pelo primeiro autor para obtenção do grau de Dr. em Fitopatologia, na Universidade Federal de Viçosa, MG.

Aceito para publicação em: 15/06/1990.

RESUMO

Quinze isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (SMITH) Dye (Xp), provenientes de sete diferentes estados do Brasil, foram comparados com o isolado padrão, Xp CNF 15, quanto à patogenicidade em cinco cultivares de feijoeiro comum. A avaliação de sintomas das cultivares-teste foi realizada nove dias após a inoculação, a qual foi realizada mediante incisão das folhas primárias com tesouras mergulhadas numa suspensão de 5.10^7 ufc/ml. Obtiveram-se diferenças altamente significativas entre as cultivares e os isolados. Embora a interação tenha sido significativa, a classe de reação das cultivares não mudou. As três cultivares resistentes (GN Jules, PI 207.262 e México 168) apresentaram aproximadamente metade da intensidade dos sintomas exibidos pelas suscetíveis (L-32 e Manteigão Fosco 11). Os 16 isolados foram separados em quatro grupos, em ordem decrescente de patogenicidade: 1) Xp CNF 28; 2) Xp CNF 15, 26, 27, 31, 32, 33 e 35; 3) Xp CNF 24, 25, 29, 36, 37 e 38; e 4) Xp CNF 30 e 34. A maior patogenicidade do isolado Xp CNF 28 indica a conveniência de incluí-lo como novo isolado-padrão em substituição ao Xp CNF 15.

Palavras-chave: *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*, feijoeiro.

ABSTRACT

VARIABILITY AMONG ISOLATES OF *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* IN RELATION TO THEIR PATHOGENICITY ON *Phaseolus vulgaris* CULTIVARS

Fifteen isolates of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (SMITH) Dye (Xp) from seven different states of Brazil were compared with the standard isolate Xp CNF 15 for pathogenicity in five common bean cultivars. Disease severity ratings were recorded nine days after inoculation of test-cultivars by clipping the unifoliate leaves with scissors dipped in an aqueous bacterial suspension of 5.10^7 ufc/ml. Highly significant differences were observed among cultivars and isolates in relation to resistance and pathogenicity, respectively. Although interaction was significant, the reaction class did not change among cultivars. Resistant cultivars (GN Jules, PI 207.262 and México 168) showed approximately half of disease intensity exhibited by the susceptible cultivars (L-32 and Manteigão Fosco 11). The 16 isolates were separated into four groups in decreasing order of pathogenicity: 1) Xp CNF 28; 2) Xp CNF 15, 26, 27, 31, 32, 33 and 35; 3) Xp CNF 24, 25, 29, 36, 37 and 38; 4) Xp CNF 30 and 34. The high degree of pathogenicity showed by isolate Xp CNF 28 suggested that it may be included as a new standard isolate to replace the existing Xp CNF 15.

Key words: *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*, bean.

INTRODUÇÃO

Nos primeiros trabalhos de inoculação com *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (SMITH) Dye (Xp), agente causal do crescimento bacteriano comum (CBC) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), foi constatada a perda de patogenicidade dos isolados quando mantidos em meio de cultura com repicagens sucessivas (BÜRKHOLDER, 1921; SMALE & WORLEY, 1956). Entretanto, a existência de variação na patogenicidade entre isolados provenientes de diferentes regiões geográficas só foi demonstrada no início da década de 1970, quase simultaneamente nos EUA (SCHUSTER & COYNE, 1971; SCHUSTER et al., 1973) e no Brasil (CAFATI & KIMATI, 1972).

Os resultados referentes a diferenças de patogenicidade entre isolados pertencentes à Xp e à variante *fuscans* (Xpf) são contraditórios, tendo sido assinaladas tanto a maior patogenicidade de Xpf (EKPO, 1975; EKPO & SAETTLER, 1976; SAETTLER & EKPO, 1975), como a de Xp (WEBSTER, 1978), além da não existência de diferenças (ARP et al., 1971; CAFATI & KIMATI, 1972; SCHUSTER et al., 1973). Tais discrepâncias podem ter sido causadas pelas variações nas amostragens dos isolados empregados em cada estudo. Entretanto, de acordo com WEBSTER (1978), o aspecto mais relevante é que tanto os isolados pertencentes à Xp quanto à Xpf classificaram as cultivares de feijão, aproximadamente, na mesma ordem, independentemente de sua capacidade de produzir pigmento melanóide difusível. Portanto, do ponto de vista prático, a diferenciação entre Xp e Xpf parece ter pouca importância para o melhoramento do feijoeiro que visa à resistência ao CBC (WEBSTER, 1978).

Em geral, tem sido comprovada a maior patogenicidade dos isolados de Xp provenientes de regiões tropicais, quando comparados com os de zonas temperadas. Nos primeiros estudos da variabilidade do patógeno,

SCHUSTER & COYNE (1971) e SCHUSTER et al. (1973) constataram que os isolados Xp C-6, Xp C-7 (Colômbia) e Xp U-2 (Uganda) foram mais patogênicos do que o isolado-padrão, de Nebraska, Xp S. CAFATI & KIMATI (1972) obtiveram resultados semelhantes na comparação dos isolados X-1, X-3 e X-4, do Brasil (São Paulo) com o isolado X-2, do Chile. Posteriormente, esses resultados foram amplamente confirmados por numerosos trabalhos, que demonstraram a alta patogenicidade de isolados da Colômbia (EKPO, 1975; RAVA, 1984; SAETTLER & EKPO, 1975; WEBSTER, 1978; YOSHII et al., 1976), Guatemala (EKPO, 1975; SAETTLER & EKPO, 1975), do Brasil (CAFATI & KIMATI, 1972; RAVA, 1984; VALLADARES-SANCHES et al., 1979; YOSHII et al., 1976) e da República Dominicana (SCHUSTER, 1983; SCHUSTER & SMITH, 1983; SCHUSTER et al., 1984), os quais apresentaram maior patogenicidade do que os isolados norte-americanos.

Um aspecto ainda controverso e que apresenta grande importância, pois dele depende a estratégia a ser seguida no melhoramento da resistência do feijoeiro à Xp, refere-se à interação isolados x cultivares. Assim, os primeiros estudos da variabilidade do patógeno apresentaram fortes indícios da existência de interação (SAETTLER & EKPO, 1975; SCHUSTER & COYNE, 1971; SCHUSTER et al., 1973), embora a apresentação dos resultados, expressos pela classe de reação das cultivares, contribuisse para aumentar esse efeito. A existência dessa interação foi reiterada em trabalhos posteriores, não só no tocante à reação das folhas e das vagens (SCHUSTER, 1983; VALLADARES-SANCHES et al., 1979), como também com relação ao desenvolvimento de populações epífitas de diferentes isolados, em cultivares com diversos níveis de resistência (SCHUSTER et al., 1984). Entretanto, outras pesquisas não evidenciaram interação entre isolados e cultivares (ALBARRACIN et al., 1984; CAFATI & KIMATI, 1972) ou, quando

detectada, sua existência foi devida à reação homogênea apresentada pela cultivar resistente 'P 597' (WEBSTER, 1978) ou aos isolados de menor patogenicidade, os quais induziram uma intensidade de sintomas semelhantes nas cultivares resistentes e suscetíveis (RAVA, 1984).

Dentre as diversas estratégias a serem empregadas para o controle do CBC, a possibilidade de contar com cultivares comerciais com adequado nível de resistência proporcionaria uma proteção adicional, dentro de um sistema integrado de controle visando à redução das perdas ocasionadas pela doença. Portanto, o conhecimento da variabilidade do patógeno é aspecto básico para o desenvolvimento de cultivares resistentes, capazes de manter-se com essa característica por períodos prolongados.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório de fitopatologia e em casa de vegetação do Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP) - Goiás, em 1984.

Foi usado um fatorial com cinco cultivares e 16 isolados, cujos tratamentos foram dispostos em um delineamento de blocos completos, ao acaso, com cinco repetições e cada unidade experimental formada por um vaso com duas plantas.

As cinco cultivares de *P. vulgaris* incluídas neste ensaio de inoculação foram: 'GN Jules', 'PI 207.262', 'L-32', 'México 168' e 'Manteigão Fosco 11'. As três primeiras já haviam sido utilizadas como cultivares-teste em um estudo anterior (RAVA, 1984). As duas últimas foram escolhidas pelas suas reações, respectivamente, de resistência e suscetibilidade à inoculação com o isolado-padrão, Xp CNF 15, em casa de vegetação (SARTORATO & RAVA-SEIJAS, 1981). A origem, a procedência e as demais informações dos 16 isolados de Xp utilizados encontram-se relacionadas no Quadro 1.

As suspensões bacterianas dos diferentes isolados foram obtidas a partir de culturas com 48 horas de crescimento em meio de BDA (batata-dextrose-ágar), a 28°C, sendo ajustadas, ao espectrofotômetro ($A_{445} = 0,05$), para uma concentração de 5.10^7 ufc/ml (RAVA, 1984; WEBSTER, 1978).

A inoculação foi realizada 11 dias após o plantio, pelo método de incisão das folhas primárias, através do corte com uma tesoura mergulhada na suspensão bacteriana (EKPO, 1975; RAVA, 1984; SARTORATO & RAVA-SEIJAS, 1981; WEBSTER, 1978). Durante o período de tempo decorrido entre a inoculação e a avaliação dos sintomas, a temperatura da casa de vegetação oscilou entre 28 e 30°C, à tarde, e entre 20 e 22°C, durante a noite.

A avaliação dos sintomas foi realizada nove dias após a inoculação, utilizando-se uma escala de notas que variou de 0 a 6, descrita por RAVA (1984). Os valores finais para cada parcela representam as médias das avaliações obtidas para cada uma das oito metades de folhas de duas plantas, valores que foram submetidos à análise de variância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da inoculação das cultivares de *P. vulgaris* com os isolados de Xp são apresentados na Figura 1. A análise de variância revelou a existência de diferenças altamente significativas entre isolados e cultivares e entre a interação isolados x cultivares.

Os isolados de Xp diferiram em sua capacidade de induzir sintomas nas cinco cultivares-teste, tendo sido separados em quatro grupos em ordem decrescente de patogenicidade, a saber: 1) integrado pelo isolado Xp CNF 28, originário de Caruaru-PE, que foi o mais patogênico, diferindo, inclusive, de Xp CNF 15, o qual havia integrado o grupo de maior patogenicidade, quando comparado com isolados da Colômbia, Porto Rico, Uganda e EUA (RAVA, 1984); 2) um grupo,

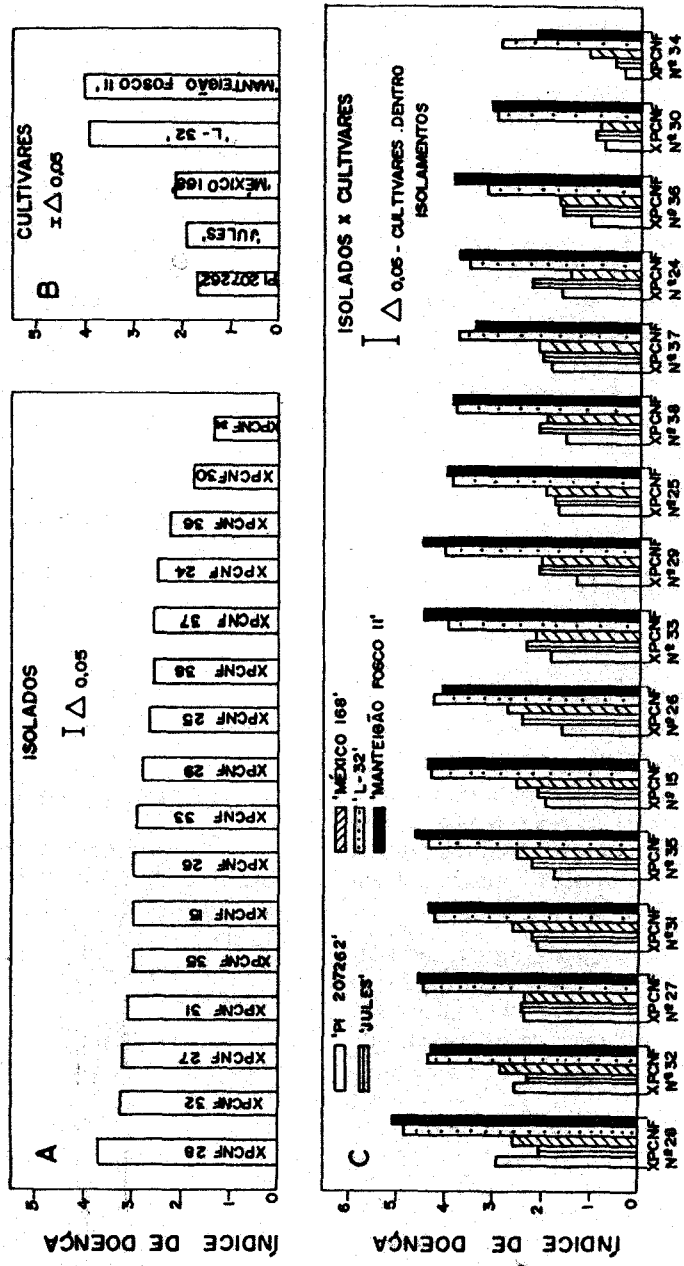


Figura 1 - Patogenicidade de 16 isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* em cinco cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. A - isolados; B - cultivares; C - isolados x cultivares.

Quadro 1. Origem dos isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e cultivares ou linhagens de *Phaseolus vulgaris* das quais foram coletados.

Isolamento	Data de coleta	Procedência	Cultivar ou Linhagem
Xp CNF 15	09/02/76	CPAC - DF	Rico 23
Xp CNF 24	16/03/83	Siqueira Campos - PR	Carioca
Xp CNF 25	17/05/84	Jaguari - ES	Carioca 80
Xp CNF 26	16/06/84	Santana do Ipanema - AL	A - 327
Xp CNF 27	16/06/84	Santana do Ipanema - AL	A - 301
Xp CNF 28	18/06/84	Caruaru - PE	CNF 0167
Xp CNF 29	18/06/84	Caruaru - PE	A - 274
Xp CNF 30	18/06/84	São Bento do Una - PE	Vi 1010
Xp CNF 31	19/06/84	São Bento do Una - PE	IPA 7419
Xp CNF 32	19/06/84	São Bento do Una - PE	Linha 86
Xp CNF 33	22/06/84	Lagoa Seca - PB	EPR - 65
Xp CNF 34	31/07/84	CNPAF - GO	82 PVX 1636
Xp CNF 35	19/09/84	CNPAF - GO	LM 10088
Xp CNF 36	19/09/84	CNPAF - GO	LM 10089
Xp CNF 37	19/09/84	CNPAF - GO	LM 10363
Xp CNF 38	19/09/84	CNPAF - GO	LM 30013

também altamente patogênico, constituído pelos isolados Xp CNF 15, 26, 27, 31, 32, 33 e 35; 3) um grupo intermediário, formado pelos isolados Xp CNF 24, 25, 29, 36, 37 e 38; 4) finalmente, um grupo de baixa patogenicidade, composto pelos isolados Xp CNF 30 e 34.

A variação contínua na patogenicidade dos isolados dificultou o estabelecimento dos limites do grupo intermediário (Quadro 2); entretanto, a sua subdivisão não acarretaria nenhuma vantagem do ponto de vista prático.

A maior patogenicidade do isolado Xp CNF 28, embora não modifique a classificação das cultivares em resistentes ou suscetíveis, indica a conveniência de incluí-lo como novo isolado-padrão, em substituição ao Xp CNF 15, para futuros trabalhos de inoculação para avaliação de resistência.

Considerando a procedência dos isolados (Quadro 1), constatou-se maior patogenicidade dos provenientes dos estados do Nordeste (PE, AL e PB), pois, com a única exceção de

Xp CNF 30, de PE, os demais integraram os dois grupos de maior patogenicidade (Figura 1A).

Com referência às cultivares (Figura 1B), as três resistentes, embora significativamente diferentes entre si, apresentaram uma intensidade de sintomas que foi aproximadamente a metade da exibida pelas cultivares suscetíveis, as quais não diferiram entre si. Este resultado confirma referências anteriores da resistência das cultivares GN Jules (OLEAS ARIAS, 1982; RAVA, 1984; SARTORATO & RAVA-SEIJAS, 1981; VALLADARES-SANCHES et al., 1979), PI 207.262 (SCHUSTER & COYNE, 1971) e México 168 (SARTORATO & RAVA-SEIJAS, 1981) distinguindo essas cultivares como altamente promissoras para uso no país, como fontes de resistência ao CBC.

Na Figura 1C, pode-se verificar que a significância encontrada para a interação entre isolados e cultivares foi causada por pequenas diferenças no comportamento das cultivares

Quadro 2. Patogenicidade de 16 isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* em cinco cultivares de *Phaseolus vulgaris* L.¹

Cultivares	Isolados																Médias de Cultivares		
	Xp CNF Nº 28	Xp CNF Nº 32	Xp CNF Nº 27	Xp CNF Nº 31	Xp CNF Nº 35	Xp CNF Nº 15	Xp CNF Nº 26	Xp CNF Nº 33	Xp CNF Nº 29	Xp CNF Nº 25	Xp CNF Nº 38	Xp CNF Nº 37	Xp CNF Nº 24	Xp CNF Nº 36	Xp CNF Nº 30	Xp CNF Nº 34			
'PI 207 622'	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	AB	A	A	A	1,71 d
	2,98	2,55	2,35	2,08	1,75	1,98	1,60	1,83	1,30	1,70	1,55	1,85	1,68	1,03	0,78	0,33	A		
	a	a-b	b-c	b-d	d-e	c-d	d-e	c-e	c-g	d-e	d-f	c-d	d-e	f-g	g-h	h			
'GN Jules'	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	1,96 c
	2,05	2,28	2,43	2,20	2,20	2,10	2,43	2,33	2,13	1,75	2,10	2,03	2,28	1,63	0,93	0,53			
	a-c	a-b	a	a-b	a-b	a-c	a	a	a-c	b-c	a-c	a-c	a-b	c	d	d			
'Mexico 168'	B	A	A	A	A	A	B	A	AB	A	A	A	A	A	A	A	A	A	2,15 b
	3,63	2,88	2,38	2,63	2,50	2,50	2,73	2,15	2,05	1,98	1,93	2,07	1,48	1,65	0,85	1,08			
	a	b	b-c	b-c	b-d	b-d	b	c-f	d-f	d-g	c-g	d-f	g-h	f-g	i	h-i			
'L-32'	C	B	B	B	B	B	C	B	C	B	B	B	C	B	B	B	B	B	3,92 a
	4,85	4,38	4,48	4,20	4,30	4,28	4,25	3,95	4,03	3,88	3,80	3,75	3,53	3,18	2,98	2,88			
	a	a-c	a-b	b-e	b-d	b-e	b-e	b-f	b-f	c-f	d-f	c-f	f-g	g-h	h	h			
'M. Fosco II'	C	B	B	B	B	B	C	B	C	B	B	B	C	B	B	B	B	B	4,00 a
	5,08	4,33	4,55	4,33	4,55	4,35	4,05	4,48	4,48	3,98	3,83	3,40	3,73	3,83	3,05	2,13			
	a	b-d	a-b	b-d	a-b	b-d	b-e	b-c	b-c	c-e	d-f	f-g	c-f	d-f	g	h			
Médias de Isolamentos	3,72	3,28	3,24	3,09	3,06	3,04	3,01	2,95	2,80	2,66	2,64	2,62	2,54	2,26	1,72	1,39			2,75
	a	b	b	b-c	b-d	b-e	b-e	b-f	c-f	c-g	d-g	e-g	f	g	h	h			

¹ Comparação de médias pelo teste Tukey a nível de 5% de probabilidade. Cultivares: DMS = 0,19; Isolamentos: DMS = 0,43; Cultivares dentro de isolados: DMS = 0,77 (letras maiúsculas).

Média Geral

resistentes entre si, quando inoculadas com os diferentes isolados de Xp, o mesmo ocorrendo no caso das cultivares suscetíveis. Entretanto, todos os isolados diferenciaram claramente as cultivares resistentes das suscetíveis. Não tendo sido constatado nenhum caso de mudança da classe de reação das cultivares, concluiu-se que essa interação apresenta escassa significação prática. São coincidentes os resultados obtidos com aqueles de trabalhos anteriores sobre a variabilidade patogênica de isolados brasileiros (CAFATI & KIMATI, 1972; OLEAS ARIAS, 1982; RAVA, 1984).

AGRADECIMENTOS

Os autores expressam seu reconhecimento aos Técnicos Agrícolas João Donizeti Puríssimo e Élcio de Oliveira Alves, às Auxiliares de Laboratório Edilamar de Souza e Maria de Lourdes Soares e ao Sr. Juracy de Oliveria, pela sua valiosa colaboração.

LITERATURA CITADA

1. ALBARRACIN, M.; BORGES, O.; TRUJILLO, G. Variability in the pathogen-host relationship of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* Dye and black bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). **Annual Report. Bean Improvement Cooperative**, 27:162-163, 1984.
2. ARP, G.; COYNE, D.P.; SCHUSTER, M.L. Disease reaction of bean varieties to *Xanthomonas phaseoli* and *X. phaseoli* var. *fuscans* using two inoculation methods. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, 55:577-579, 1971.
3. BURKHOLDER, W.H. The bacterial blight of bean: a systemic disease. **Phytopathology**, St. Paul, 11:61-69, 1921.
4. CAFATI, C.R. & KIMATI, H. Reacción de variedades de frejol a *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Sm.) y *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* (Burk) Starr y Burk. **Agricultura Técnica**, Santiago, 32:153-159, 1972.
5. EKPO, E.J.A. Pathogenic variation in common (*Xanthomonas phaseoli*) and *fuscans* (*Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans*) bacterial blights of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). East Lansing, Michigan State University, 1975. 127p. (Tese Doutorado).
6. EKPO, E.J.A. & SAETTLER, A.W. Pathogenic variation in *Xanthomonas phaseoli* and *X. phaseoli* var. *fuscans*. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, 60:80-83, 1976.
7. OLEAS ARIAS, A.R. Correlação entre resistência foliar e infecção de sementes em variedades de feijoeiro inoculadas com *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Sm.) Dows, 1939. Piracicaba, ESALQ/USP, 1982. 81p. (Tese Mestrado).
8. RAVA, C.A. Patogenicidade de isolamentos de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 19:445-448, 1984.
9. SAETTLER, A.W. & EKPO, E.J.A. Pathogenic variation in *Xanthomonas phaseoli* and *X. phaseoli* var. *fuscans*. **Annual Report. Bean Improvement Cooperative**, 18:67-70, 1975.
10. SARTORATO, A. & RAVA SEIJAS, C.A. New tolerance sources to common bacterial blight of beans in Brazil. **Annual Report. Bean Improvement Cooperative**, 24:11-12, 1981.
11. SCHUSTER, M.L. Variability in virulence of Dominican Republic *Xanthomonas phaseoli* in CIAT *Phaseolus vulgaris* cultivars. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, 8:339-345, 1983.
12. SCHUSTER, M.L. & COYNE, D.P. New virulent strains of *Xanthomonas phaseoli*. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, 55:505-506, 1971.
13. SCHUSTER, M.L.; COYNE, D.P.; HOFF, B. Comparative virulence of *Xanthomonas phaseoli* strains from Uganda, Colômbia and Nebraska. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, 57:74-75, 1973.
14. SCHUSTER, M.L. & SMITH, C.C. Variability of *Xanthomonas phaseoli* from Dominican Republic. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, 8:409-414, 1983.
15. SCHUSTER, M.L.; SMITH, C.C.; SALAC, S.S. Epiphytic populations and virulence of *Xanthomonas phaseoli* strains on *Phaseolus* genotypes. **Annual Report. Bean Improvement Cooperative**, 27:182-183, 1984.

16. SMALE, B.C. & WORLEY, J.F. Evaluation of 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride for obtaining pathogenic types from stock cultures of halo blight and common blight organisms. *Plant Disease Reporter*, Beltsville, 40:628, 1956.
17. VALLADARES-SANCHES, N.E.; COYNE, D.P.; SCHUSTER, M.L. Differential reaction of leaves and pods of *Phaseolus* germplasm to strains of *Xanthomonas phaseoli* and transgressive segregation for tolerance from crosses of susceptible germplasm. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Mount Vernon, 104:648-654. 1979.
18. WEBSTER, D.M. Evaluation of resistance in beans (*Phaseolus vulgaris*) to *Xanthomonas phaseoli*. Madison, University of Wisconsin, 1978. 117p. (Tese Doutorado).
19. YOSHII, K.; GALVEZ, G.E.; ALVAREZ, G. Highly virulente strains of *Xanthomonas phaseoli* from Colômbia. *Proceedings of the American Phytopathological Society*, St. Paul, 3:299, 1976.