

***Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na Cultura da Soja: Importância e Manejo**

***Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in Soybean Culture: Importance and Management**

Jacqueline Dalbello Puia^{*a}; Adriano Thibes Hoshino^a; Leandro Camargo Borsato^b; Marcelo Giovanetti Canteri^a; Sandra Cristina Vigo^b

^aUniversidade Estadual de Londrina, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Fitossanidade. PR, Brasil.

^bInstituto de Desenvolvimento Rural do Paraná, IAPAR-EMATER. PR, Brasil.

*E-mail: jack_puia@hotmail.com

Resumo

A soja (*Glycine max* L.) é principal cultura do agronegócio brasileiro e tornou-se a mais expressiva economicamente no país, tanto pelo aumento da área cultivada quanto pelas novas tecnologias disponibilizadas aos produtores. As doenças podem ter origens fúngicas, bacterianas e viróticas e neste estudo destaca-se a murcha-de-*Curtobacterium*, causada pela bactéria gram-positiva *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. O sintoma é caracterizado por uma mancha bacteriana marrom nas folhas de soja. O objetivo do trabalho foi expor os aspectos do patógeno *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* na cultura da soja, discutindo as principais estratégias de controle para minimizar os problemas com a doença. Deve-se ressaltar que, ao obter conhecimento sobre os aspectos agronômicos e os fatores limitantes da cultura da soja em relação à bactéria e seus principais aspectos biológicos, será possível a adoção das melhores técnicas de manejo da doença. Conclui-se que a busca por cultivares resistentes é de extrema importância no manejo da doença, uma vez que outros métodos de controle são pouco eficientes. Para alcançar o controle da mancha bacteriana marrom na cultura da soja é necessário a adoção conjunta de todas as técnicas de controle empregadas de forma unificada (manejo integrado da doença) visando a manutenção da população de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em baixos níveis.

Palavras-chave: Mancha Bacteriana Marrom. Controle de Doenças. *Glycine max* L. Distribuição.

Abstract

Soybean (*Glycine max* L.), is the main crop of Brazilian agribusiness, it has become the most economically important in the country, both due to the increase in cultivated area and the new technologies available to farmers. Diseases can have several origins, including fungal, bacterial and virotic, but in this study, we will talk about *Curtobacterium* wilt, caused by a gram-positive bacterium *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, responsible for brown bacterial wilt on soybean plants. The objective of this work was to expose the aspects of the pathogen *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in soybean crops, discussing the main control strategies to minimize problems caused by this disease. It should be emphasized that gaining knowledge about the agronomic aspects and limiting factors of soybean crop in relation to the pathogen is necessary to reach the best management of the disease. We concluded that the search for resistant cultivars is extremely important for disease management, since other control methods are inefficient. To achieve the control of bacterial tan spot in soybean crop, it is necessary to joint adoption of all the control techniques used in a unified way (disease integrated management) aiming at maintaining the population of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* at low levels.

Keywords: Bacterial Tan Spot. Disease Control; *Glycine max* L. Distribution.

1 Introdução

A soja (*Glycine max* L.), pertence à classe *Dicotyledoneae*, subclasse *Rosidae*, ordem *Fabales*, família *Fabaceae*, subfamília *Papilionoides*, gênero *Glycine* e espécie cultivada *Glycine max* (L.) Merrill (CRONQUIST, 1988). O cultivo da soja teve início há mais de cinco mil anos, porém as plantas eram rasteiras e se desenvolviam na costa leste da Ásia, principalmente ao longo do rio Yangtzé, na China (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2017a). A evolução da forma cultivada da soja começou com o desenvolvimento de plantas oriundas de cruzamentos naturais entre espécies selvagens, tendo estas sido domesticadas e melhoradas pelos chineses (HYMOWITZ, 1970).

O sistema radicular da planta de soja é pivotante, com grande número de raízes secundárias, ricas em nódulos de bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico (SOUZA;

LORENZI, 2008). Estas plantas também apresentam uma grande variabilidade genética, diversidade de ciclos e são muito influenciadas pelo ambiente (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2010). Por exemplo, durante a fase vegetativa e em regiões ou épocas de fotoperíodo mais curto, a planta tende a florescer precocemente e apresentar, conseqüentemente, queda de produção (RITCHIE *et al.*, 1998).

A expansão territorial da soja para o Ocidente foi com as primeiras navegações europeias no final do século XV e início do século XVI (BONATO; BONATO, 1987). Nas Américas, a primeira citação sobre a cultura da soja foi nos EUA, em 1804, sendo considerada planta promissora como forrageira e para a produção de grãos (ILLINOIS SOYBEAN ASSOCIATION, 2017). O seu potencial agrícola foi reconhecido e o cultivo passou a ser recomendado a partir de 1880 (BONETTI, 1977).

A introdução da soja no Brasil foi influenciada por dois fatores principais. O trigo era a principal cultura de inverno no Sul do Brasil e a soja surgia como uma opção de cultura de verão, em sucessão ao trigo (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2016). Além disso, a produção animal passou a demandar farelo de soja (CARNEIRO, 2005). Assim, a produção comercial de soja passou a ser uma necessidade estratégica, com uma produção de cerca de 500 mil toneladas, em 1966 (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2017a).

Em 1980, a soja teve grande influência no desenvolvimento do Brasil Central, gerando progresso em regiões despovoadas e desvalorizadas (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2003). Da mesma maneira, está ocorrendo grande avanço na produção de soja nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, que têm se tornado uma nova fronteira agrícola (HIRAKURI; LAZZAROTTO, 2014). Esta região é denominada de Matopiba e compreende áreas de cerrado no sul dos estados do Maranhão e Piauí, no norte do Tocantins e no oeste da Bahia (FREITAS, 2011). A alta produtividade da soja nessas regiões ocorre em função das boas condições edafoclimáticas e da adoção de altas tecnologias no cultivo da cultura (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2010).

Dentre os grandes produtores mundiais, o Brasil apresenta a maior capacidade para multiplicar a atual produção de soja, tanto pelo aumento da produtividade, quanto pelo potencial de expansão da área cultivada (VENCATO *et al.*, 2010).

A mecanização e a criação de cultivares altamente produtivas adaptadas às diversas regiões brasileiras, o desenvolvimento de recomendações tecnológicas relacionadas ao manejo de solos, de adubação e calagem e do manejo de pragas e doenças estão entre essas tecnologias (HIRAKURI; LAZZAROTTO, 2014). Além disso, a identificação e solução para os principais fatores responsáveis por perdas no processo de colheita têm também contribuído seguramente para esses avanços (FREITAS, 2011).

O aumento no mercado mundial da soja pode ser atribuído a diversos fatores, tais como o elevado teor de óleo, por volta de 20 %, e de proteínas, em torno de 40 % (HIRAKURI; LAZZAROTTO, 2014). Devem ser consideradas também as excelentes qualidades encontradas no grão para diferentes finalidades, como consumo humano e animal (CARNEIRO, 2005). Consequentemente, o expressivo aumento da oferta de tecnologias de produção tem possibilitado ampliar significativamente a área cultivada e a produtividade desta oleaginosa (HIRAKURI; LAZZAROTTO, 2011).

Por outro lado, houve também um aumento no consumo mundial de soja, relacionado a outros fatores, destacando-se principalmente o crescente poder aquisitivo das populações dos países em desenvolvimento, o que tem levado à substituição do consumo de cereais por carne bovina, suína e de frango (HIRAKURI; LAZZAROTTO, 2014). Desta

maneira, isto tem resultado em uma maior demanda por soja, ingrediente que compõe 70 % das rações para esses animais (VENCATO *et al.*, 2010).

No Brasil, foi estabelecido por meio de normativas o vazio sanitário da soja, que é o período de no mínimo 60 dias sem a cultura e plantas voluntárias no campo. O Distrito Federal e mais doze estados (Tocantins, Pará, Rondônia, Maranhão, Bahia, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Paraná e Santa Catarina) cumprem a lei do vazio sanitário nas datas que variam de 15 de junho a 30 de novembro, dependendo da região (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2017b).

Entretanto, o vazio sanitário tem por objetivo diminuir fontes de inóculo de doenças que comprometem a produção da soja, e otimizar a aplicação de insumos agrícolas (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2017b).

As doenças que acometem a soja podem ter várias origens, entre elas fúngicas, bacterianas, nematoides e viróticas (Henning, 2014).

A presente revisão de literatura tem por objetivo expor os aspectos da doença causada pela bactéria *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, reportada em ocorrência natural nas lavouras de soja, causando a mancha bacteriana marrom na cultura da soja, além de compreender quais os danos e prejuízos essa doença pode causar em uma lavoura, e principais estratégias de controle da doença.

2 Desenvolvimento

2.1 Metodologia

O presente estudo é uma revisão sistemática de literatura a respeito da mancha bacteriana marrom na cultura da soja e sobre as principais estratégias de manejo, tendo como base a literatura publicada, como trabalhos científicos e livros. A identificação dos artigos foi realizada por meio de busca bibliográfica na base de dados Google Scholar, referente aos anos de 1964 a 2017. As palavras chaves utilizadas na busca foram: (Brown bacterial wilt) OR (Disease control) OR (*Glycine max* L.) OR (Aspects of the disease caused by the bacterium *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) OR (Damage and damage that the disease causes in a crop) OR (Key control strategies) OR (General characteristics of the bacterium) OR (Detection) OR (Control). A biblioteca virtual SciELO foi também utilizada, buscando-se as seguintes palavras-chaves: (curtobacterium) OR (danos e prejuízos) OR (etiologia) OR (mancha bacteriana marrom) OR (*C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*), referente ao mesmo período. A seleção dos artigos baseou-se na conformidade dos limites dos assuntos aos objetivos deste trabalho, utilizado como referência artigos científico publicados em periódicos nacionais e internacionais importantes para a área agrônômica, livros, circular técnica e anais de eventos nacionais e internacionais relacionados ao tema abordado.

2.2 *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*

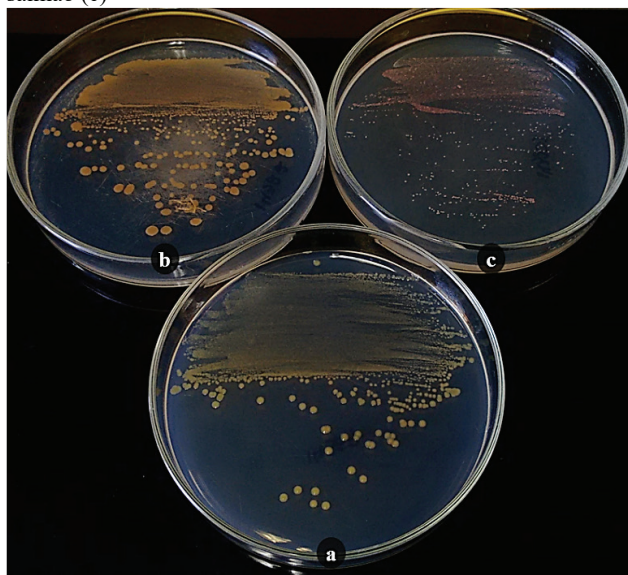
2.2.1 Características gerais da bactéria

A bactéria gram-positiva *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* coloniza os vasos do xilema das plantas e caracteriza-se por possuir células coriniformes, com tamanho de 0,3-0,6 x 0,3-0,5 µm, formato de bastonete curto, gram-positiva e com flagelo monotríquico (HALL, 1991).

A espécie é uma bactéria aeróbica obrigatória, com temperatura ideal de crescimento entre 24° e 27 °C e temperaturas máximas entre 35° e 37 °C, não se desenvolvendo em temperaturas abaixo de 4° e acima de 37° C (WEBER, 1973; BRADBURY, 1986; CHEN *et al.*, 2007). Ela também não produz esporos e não é oxidativa (WEBER, 1973; BRADBURY, 1986; CHEN *et al.*, 2007).

Em meio de cultura nutriente-glucose-ágar, as colônias de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* são brilhantes, circulares, de borda lisa, mais ou menos viscosas, com coloração variável, podendo ser amarelas, creme, laranja, salmão ou vermelhas, com três a quatro dias de crescimento (Figura 1) (WEBER, 1973; CONNER *et al.*, 2008; OSDAGHI *et al.*, 2016). A variação da coloração das colônias está relacionada à temperatura de incubação e a fatores nutricionais, principalmente a concentração de tiamina no meio de cultura (HARVERSON; VIDAVER, 2005).

Figura 1 - Colônias de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em meio de cultura nutriente-glucose-ágar, apresentando coloração de colônias amarela (a), laranja (b) e salmão (c)



Fonte: Puia (2017).

A bactéria é disseminada por sementes infectadas e/ou infestadas, sendo estas a principal fonte de inóculo inicial (VALENTINI *et al.*, 2010). Além disso, o patógeno pode infectar a planta via ferimentos ou mesmo por aberturas naturais (BEDENDO, 2011).

O gênero *Curtobacterium* é descrito com as seguintes características: bastonetes curtos, presença de células

coloidais em culturas antigas, gram-positividade perdida em células velhas, células geralmente móveis - sendo que as espécies móveis apresentam flagelação lateral, reprodução por divisão celular binária, aminoácido principal da parede celular ornitina, conteúdo de guanina-citosina no DNA entre 66 e 71 %, produção lenta de ácidos a partir de carboidratos e assimilação de vários tipos de ácidos orgânicos e amplamente distribuídos em materiais vegetais e solo (KOMAGATA; IIZUKA, 1964).

Collin e Jones (1983) propuseram uma reclassificação das espécies *Corynebacterium flaccumfaciens*, *C. betae*, *C. oorti* e *C. poinsettiae*, transferindo as mesmas para o gênero *Curtobacterium* (Yamada; Komagata) e dentro da espécie *Curtobacterium flaccumfaciens* (Hedges), com base em dados bioquímicos, químicos e genéticos. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Hedges) Collin e Jones (1983) foi definida como a responsável por causar murcha vascular em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (COLLIN; JONES, 1983).

Entre as características fisiológicas de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* estão: produzir ácido a partir de diversas fontes de carbono, alta tolerância a NaCl (7 e 9 %), requerer tiamina, biotina e pantotenato para crescimento. Produção de catalase, oxidase, tirosinase, uréase, indol e redução de nitrato a nitrito. Não produz aminoácido-descarboxilase ou fenilalanina deaminase. A produção de H₂S só ocorre a partir de cisteína (BRADBURY, 1986).

Isolados de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* obtidos de feijão apresentaram bastonete gram-positivo, produções de H₂S e de catalase, tolerância a NaCl 7 % e produção de ácidos a partir de adonitol, inositol glicerol, glicose, melizitose, maltose e sacarose (MARINGONI; ROSA, 1997).

2.3 Mancha bacteriana marrom em soja

No ano de 1975, foram encontradas no estado de Iowa, Estados Unidos, plantas de soja com manchas necróticas, sem sintomas de murcha. Após inoculações em feijão e soja com isolados provenientes das plantas doentes foram observadas manifestações de sintomas de mancha e murcha em feijão e sintomas de mancha foliar em plantas de soja. A doença em soja foi então denominada como “bacterial tan spot” (DUNLEAVY, 1983), causada pela bactéria *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. Em soja, a doença foi denominada mancha bacteriana marrom (DUNLEAVY, 1984).

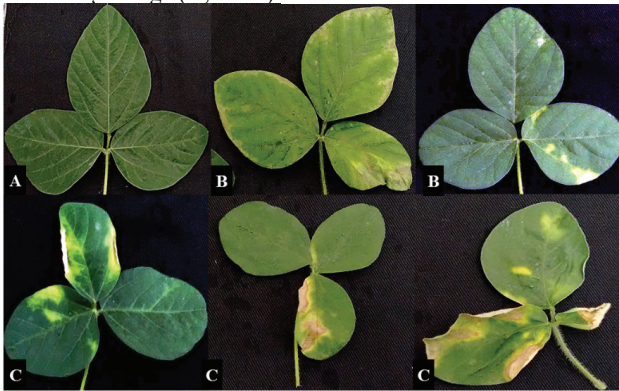
Na Alemanha, plantas de soja apresentando manchas amareladas que evoluíam para necrose foram também diagnosticadas com infecção por *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* e com manifestação de sintomas de mancha bacteriana marrom (SAMMER; REIHER, 2012).

Embora perdas significativas de produção causadas por *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* estejam ocorrendo somente para a cultura do feijão, a soja também se mostrou um hospedeiro em potencial para esta bactéria (BEHLAU; LEITE JÚNIOR, 2002). O primeiro relato da presença natural

de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em soja, no Brasil, causando a mancha bacteriana marrom, ocorreu em lavouras no estado do Paraná, na safra de 2011/2012 (SOARES *et al.*, 2013).

Os sintomas de mancha bacteriana marrom em soja envolvem o desenvolvimento de lesões cloróticas nos folíolos (Figura 2b), as quais após apresentarem secas na parte central adquirem coloração bege (Figura 2c), evoluindo para lesões necróticas (Figura 2c), (SOARES; BRACALE, 2014). A infecção em estágios jovens normalmente leva à morte das plântulas (SOARES; BRACALE, 2014). A bactéria é caracterizada por colonizar os tecidos vasculares, obstruindo o transporte de água e nutrientes, ocasionando murcha na planta (SOUZA *et al.*, 2008).

Figura 2 - Sintomas da mancha bacteriana marrom em folíolos de soja. Trifólio sem a presença da doença (A), folíolos com murchas (B) e lesões cloróticas (C), folíolos com lesões necróticas de coloração bege (D, E e F).



Fonte: Puia (2017).

Em plantas mais velhas a resistência ao ataque do patógeno é maior, porém o crescimento das plantas e a produtividade das lavouras são afetados (HENNING *et al.*, 2014). Sintomas típicos de murcha bacteriana raramente ocorrem em soja, porém esses sintomas podem ser observados sob condições de ocorrência natural da doença nessa espécie (HENNING *et al.*, 2014). *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* pode sobreviver em sementes (Figura 3), por longos períodos de tempo e no solo por até dois anos, dependendo das condições ambientais (TEGLI *et al.*, 2002). A bactéria também sobrevive em restos culturais de plantas infectadas (BIANCHINI *et al.*, 2005).

Figura 3 - Sementes de feijão infectadas com *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*.



Fonte: Puia (2017).

Os principais fatores que influenciam a sobrevivência da bactéria em restos culturais de feijão são a incorporação do material vegetal no solo e a intensidade de precipitações (GONÇALVES *et al.*, 2017). Cabe salientar que o período de sobrevivência de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* no solo também pode ser influenciado pelo tipo de solo, teor de umidade e temperatura; porém, quando não associado a restos de cultura, a bactéria apresenta baixa capacidade de sobrevivência (SILVA JÚNIOR *et al.*, 2012).

A gama de plantas hospedeiras da bactéria é ampla, envolvendo diversas espécies leguminosas (COELHO *et al.*, 2004) como tremço de jardim (*Lupinus polyphyllus*), caupi indiano (*Vigna unguiculata* subsp. *cylindrica*), feijão chicote (*V. unguiculata* subsp. *sesquipedalis*), ervilha (*Pisum sativum*), Lablab (*Dolichos lablab*), feijão mungo (*Phaseolus radiatus*), feijão do campo (*P. lathyroides*), feijão fava (*P. lunatus*), feijão vermelho (*P. calcaratus*) e feijão tepari (*P. acutifolius*) (SCHUSTER; SAYRE, 1967). Além disso, estas plantas apresentam sintomas de murcha, mostrando suscetibilidade à bactéria (SCHUSTER; SAYRE, 1967).

A sobrevivência de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em plantas voluntárias, como *Amaranthus retroflexus* e *Chenopodium album*, pode chegar a até 10 meses (SCHUSTER; SAYRE, 1967). Por outro lado, estirpes não virulentas da bactéria podem sobreviver por até 22 meses em algumas plantas hospedeiras suscetíveis, como ervilha (*Pisum sativum* L.), feijão caupi (*Vigna unguiculata* L.) e diversas outras espécies de leguminosas (BIANCHINI *et al.*, 2005).

2.4 Detecção

A detecção de bactérias fitopatogênicas é a constatação patogênica em órgãos vegetais, mesmo na ausência dos sintomas, e pode ser feita com o emprego de meios semisseletivos, métodos patogênicos, sorológicos e moleculares (MAFIA *et al.*, 2016).

A observação de plântulas pode ser uma forma de detecção da bactéria (*C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) em condições ambientais favoráveis. Observa-se que as plântulas morrem devido à obstrução do sistema vascular no caule pela colonização do patógeno, logo após a emergência das plântulas (COELHO *et al.*, 2004). O teste de patogenicidade é comprovado através dos Postulados de Koch (AMORIM *et al.*, 2011).

Os meios semisseletivos contêm substâncias para estimular a produção de pigmentos, substâncias que podem ser utilizadas somente por certas bactérias, inibindo bactérias indesejáveis (BADEL *et al.*, 2016). No Brasil, existem dois meios semisseletivos mais utilizados para *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*: CNS modificado (Corynebacterium Nebraskense Selective Medium) (BEHLAU; LEITE JR., 2006) e meio de cultura semi-seletivo para *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* – MSCFF (Semi-selective culture medium for *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) (MARINGONI *et al.*, 2006).

O CNS modificado é composto por 4,0 ml de caldo nutriente; 1,0 g de extrato de levedura; 1,0 g de K_2HPO_4 ; 5,0 g de LiCl; 7,5 g de ágar; 418 ml de água destilada. Após autoclavagem, é realizado a adição de 1,25 ml de solução estoque de ácido nalidíxico (0,1 g/ 7 ml de água destilada deionizada + 3 ml NaOH 1 N); 0,8 ml de solução estoque de sulfato de polimixina b (0,1 g/ 10 ml de água destilada deionizada) e 30 ml de solução estoque do fungicida Dacostar 500 (0,6 ml/ 29,4 ml de água destilada deionizada). As soluções estoque devem ser filtradas e armazenadas a 4 °C. Em seguida, é adicionado 2,5 g de glicose e 62 mg de sulfato de magnésio anidro, previamente diluídos em 25 ml de água destilada e autoclavados separadamente (BEHLAU; LEITE JR., 2006).

A composição do meio MSCFF para 1 litro de solução em água destilada é 5 g de peptona; 3 g de extrato de carne; 5 g de sacarose; 15 g de ágar. Após autoclavagem, adição de 5 g de leite em pó desnatado; 0,05 g de Congo vermelho; 0,01 g clorotalonil; 0,01 g de tiofanato de metilo; 0,01g de ácido nalidíxico; 0,01 g de nitrofurantóina; 0,001 g de oxacilina; 0,001 g de azida de sódio (MARINGONI *et al.*, 2006).

Os métodos moleculares para detecção de bactérias se baseiam na variabilidade na sequência de nucleotídeos em regiões específicas do genoma, a técnica da PCR (Reação da Polimerase em Cadeia) é de fácil e simples execução, e muito difundida na detecção de bactérias fitopatogênicas como a *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (BADEL *et al.*, 2016). Outra técnica molecular que pode ser utilizada na identificação é o sequenciamento de DNA, sua disponibilidade rápida associada a grandes bases de dados, como NCBI, proporciona conhecimento da taxonomia bacteriana (BULL; KOIKE, 2015).

A técnica de PCR se baseia na síntese enzimática *in vitro* de milhões de cópias de um segmento específico de DNA na presença da enzima DNA polimerase (SAIKI *et al.*, 1985). A reação de PCR específica consiste no pareamento e extensão enzimática de um par de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) que delimitam a sequência de DNA de fita dupla alvo da amplificação, estes *primers* são sintetizados artificialmente de maneira que suas sequências de nucleotídeos sejam complementares às sequências específicas, necessitando-se, portanto, de um par de *primers* para cada sequência que se deseja amplificar (MULLIS; FALLONA, 1987).

Guimarães *et al.* (2001) clonou e sequenciou um fragmento de 198 pb, observando que não existia similaridade com outra sequência depositada em banco de dados, sendo assim após vários testes os primers CF4 e CF5 mostraram-se altamente específicos para *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, sem reação cruzada com isolados de qualquer outra bactéria testada.

2.5 Controle

C. flaccumfaciens pv. *flaccumfaciens* é uma importante

praga quarentenária em muitas regiões do mundo, incluindo o continente americano (AGARKOVA *et al.*, 2012), Europa (EPPO, 2011) e Oriente Médio (ALIPOUR, 2013). No Brasil, medidas quarentenárias foram estabelecidas em função da bioecologia do patógeno e da epidemiologia da doença, como sua principal forma de disseminação e as condições que favorecem seu estabelecimento e metodologia de certificação de material de propagação (COELHO *et al.*, 2004).

Segundo Uesugi *et al.* (2003), a identificação da murcha de *Curtobacterium* em território brasileiro sofreu interferência da murcha de *Fusarium*, devido a semelhança existente entre os sintomas, favorecendo assim a disseminação da murcha de *Curtobacterium* em diferentes regiões, levando a adaptação desta e consequentemente a maior variabilidade genética.

O controle de doenças causadas por *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* está centrado em medidas preventivas, como a utilização de sementes sadias. Esta é uma medida básica na prevenção e controle dessas doenças (BIANCHINI *et al.*, 2000; ABI *et al.*, 2005).

Entre os métodos de tratamento de semente, a termoterapia é um dos mais citados para erradicação de fitobactérias localizadas interna ou externamente nas sementes. A termoterapia pode ser aplicada via calor úmido, sendo água quente ou vapor e por calor seco. O calor seco apresenta menor capacidade térmica, no entanto, é mais simples e mais acessível aos produtores, não havendo o rompimento do tegumento ou extravasamento de substâncias das sementes, além de causar menos danos às sementes (MENTEN, 1995).

A sensibilidade das células bacterianas ao calor varia com a idade da cultura ou das células bacterianas presentes (GRONDEAU; SAMSON, 1994). A termoterapia pode ser empregada na erradicação do patógeno, por meio do tratamento das sementes naturalmente infectadas, consistindo em duas horas de embebição das sementes em água por três horas a 60 °C ou com produto químico a base de sulfato de cobre com adição de oxitetraciclina (ESTEFANI *et al.*, 2007).

A utilização de microrganismos no controle biológico de sementes?? tem aumentado significativamente por dois motivos: o primeiro é por serem impulsionados por organizações não governamentais, políticas públicas e o segundo motivo é a demanda de consumidores preocupados com altos níveis de resíduos encontrado em seus alimentos (VAN LENTEREN *et al.*, 2017). Os produtos biológicos que tem como principais componentes organismos benéficos como, *Bacillus* spp. Seu grande destaque está nos resultados promissores em controlar patógenos como: *Rhizoctonia solani* (PENG *et al.*, 2014), *Fusarium oxysporum* (XU *et al.*, 2014), *Sclerotinia sclerotiorum* (GAO *et al.*, 2014) e *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (LEÃO *et al.*, 2016).

O controle biológico pode ser realizado nas sementes de soja pelo tratamento com as rizobactérias, como *Bacillus subtilis*, que na presença de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* bloqueia o desenvolvimento de respostas de

defesa de plantas suscetíveis (MARTINS *et al.*, 2013).

Além do tratamento preventivo de sementes, há uma série de medidas que devem ser adotadas para o manejo da mancha bacteriana em soja. Dentre elas, podemos citar...

Outra medida de controle que deve ser incluída no manejo da doença é a rotação de cultura com plantas não hospedeiras do patógeno e a incorporação de restos culturais infectados no solo (MARINGONI, 2002; BIANCHINI *et al.*, 2005).

A prática de adubação equilibrada nas lavouras também contribui para o controle das doenças (THEODORO; MARINGONI, 2006).

A adoção destas práticas de manejo mostrou-se eficiente para erradicação do patógeno em áreas cultivadas com feijão ou até mesmo para manutenção da população de *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em níveis baixos (HAVERSON *et al.*, 2015).

Outra medida de controle que pode ser empregada é a resistência genética por meio de cultivares resistentes à mancha bacteriana marrom. 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.

3 Conclusão

A mancha bacteriana marrom em soja tem se tornado importante para a cultura, devido aos danos causados pelo patógeno que interfere diretamente no enchimento de grãos, diminuindo a produtividade.

Para alcançar o controle da doença é necessário a adoção conjunta de técnicas de controle empregadas de forma unificada (manejo integrado da doença) visando a manutenção da população de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em baixos níveis. Trata-se de um patógeno recentemente descrito na cultura da soja e mais pesquisas são necessárias para ampliar o conhecimento sobre a doença.

Referências

AGARKOVA, I.V. *et al.* Genetic diversity among *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* populations in the American High Plains. *Canadian J. Microbiol.*, v.58, n.6, p.788-801, 2012. doi: 10.1139/w2012-052

ALIPOUR, Y. *A guide for diagnosis and detection of quarantine pests.* Ministry of Jihad-e-Agriculture, Plant Protection Organization, 2013.

AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. *Manual de fitopatologia. princípios e conceitos.* Piracicaba, 2011.

BADEL, J.L. *et al.* Detecção e identificação de bactérias fitopatogênicas. In: ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. *Métodos em fitopatologia.* Viçosa: UFV, 2016. p.423-467.

BEDENDO, I.P. Bactérias fitopatogênicas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. *Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos.* Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. p.207-225.

BEHLAU, F.; LEITE JÚNIOR, R. P. Ocorrência de agente causal da murcha bacteriana em feijoeiro e outras leguminosas. In: *CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO*, Viçosa: UFV, p. 133-135, 2002.

BEHLAU, F.; NUNES, L.M.; LEITE JÚNIOR, R.P. Semi-selective medium for detection of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in soil and on bean seeds. *Summa Phytopathol.*, v.32, n.4, p.394-396, 2006.

BIANCHINI, A.; CARNEIRO, S.T.P.G.; LEITE JÚNIOR, R.P. *Feijão: tecnologia de produção.* Londrina: IAPAR, 2000..

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. *Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas.* São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p.185-196.

BONATO, E.R.; BONATO, A.L.V. *A soja no Brasil: história e estatística.* Londrina: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1987. (EMBRAPA-CNPSO. Documentos, 21).

BONETTI, L.P. Distribuição da soja no mundo. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J.C. *A soja no Brasil.* Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1977. p.1-6.

BRADBURY, J.F. *Guide to plant pathogenic bacteria.* Wallingford: CAB International, 1986.

BULL, C. T.; KOIKE, S. T. Practical benefits of knowing the enemy: modern molecular tools for diagnosing the etiology of bacterial diseases and understanding the taxonomy and diversity of plant-pathogenic bacteria. *Ann. Rev. Phytopathol.*, v.53, p.157-80, 2015.

CARNEIRO, H.S. Comida e sociedade: significados sociais na história da alimentação. *História: Questões Debates*, v.42, n.1, p.71-80, 2005.

CHEN, Y.F. *et al.* *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *beticola*, a new pathovar of pathogens in sugar beet. *Plant Disease*, v.91, n.6, p.677-684, 2007.

COELHO, M. V. S. *et al.* *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* murcha bacteriana do feijoeiro e da soja: alto risco de disseminação no Brasil. *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)*, 2004.

COLLINS, M.D.; JONES, D. Reclassification of *Corynebacterium flaccumfaciens*, *Corynebacterium betae*, *Corynebacterium oortii* and *Corynebacterium poinsettiae* in the genus *Curtobacterium*, as *Curtobacterium flaccumfaciens* comb. *J. General Microbiol.*, v.129, n.11, p. 3545-3548, 1983.

CONNER, R.L. *et al.* Bacterial wilt resistance in kidney beans. *Canadian J. Plant Sci.*, v.88, n.6, p.1109-1113, 2008.

CRONQUIST, A. *The evolution and classification of flowering plants.* New York: The New York Botanical Garden. 1988.

DUNLEAVY, J. M. Bacterial tan spot, a new foliar disease of soybeans. *Crop Science*, v. 23, n. 3, p. 473-476, 1983.

DUNLEAVY, J.M. Yield losses in soybeans caused by bacterial tan spot. *Plant Disease*, v. 68, n. 9, p. 774-776, 1984

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA -

- EMBRAPA. *História da Soja*. Londrina, 2017a. <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/historia>>
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. *Sucessão trigo-soja produz mais grãos*. Notícias - Portal Embrapa, 2016.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. *Tecnologias de produção de soja: região central do Brasil 2011*. Londrina: Embrapa Soja, 2010. (
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. *Tecnologias de produção de soja: região central do Brasil 2004*. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Agropecuária Oeste: Embrapa Cerrados: EPAMIG: Fundação Triângulo, 2003.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. *Tecnologias de produção de soja: região central do Brasil 2011*. Londrina: Embrapa Soja, 2010
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. *Vazio sanitário e calendarização da semeadura da soja*. Londrina, 2017b.
- 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.
- EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION - EPPO. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. *Bulletin OEPP/EPPO*, [S.l.], v.41, p.320-328, 2011.
- FREITAS, M.C.M. A cultura da soja no Brasil: o crescimento da produção brasileira e o surgimento de uma nova fronteira agrícola. *Enciclopédia Biosfera*, v. 7, n. 12, p. 1-12, 2011.
- GAO, X., GONG, Y., HUO, Y., HAN, Q., KANG, Z., HUANG, L., 2015. Endophytic *Bacillus subtilis* strain E1R-J is a promising biocontrol agent for wheat powdery mildew. *Biomed Res. Int.* 20, 1-8.
- GONÇALVES, R.M. et al. Alternative hosts of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, causal agent of bean bacterial wilt. *European Journal of Plant Pathology*, New York, v. 148, n. 2, p. 357-365, 2017.
- GRONDEAU, C.; SAMSON, R. A review of thermotherapy to free plant materials from pathogens, especially seeds from bacteria. *Critical Reviews in Plant Sciences* 13:57-75. 1994. doi: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07352689409701908>
- GUIMARÃES, P. M. et al. *Development of a PCR test for detection of Curtobacterium flaccumfaciens pv. flaccumfaciens*. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 80, n. 1, p. 1-10, 2001.
- HALL, R. *Compendium of bean diseases*. Saint Paul: American Phytopathological Society, 1991.
- HARVERSON, R.M.; VIDAVER, A.K.; SCHWARTZ, H.F. *Bacterial wilt of dry beans in western Nebraska*. NebGuide, C-51, np, 2005.
- HARVERSON, R.M. et al. Bacterial wilt of dry-edible beans in the central high plains of the US: past, present, and future. *Plant Disease*, Saint Paul, v. 99, n. 12, p. 1665-1677, 2015. doi: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/full/10.1094/PDIS-03-15-0299-FE>
- HEDGES, F. A bacterial wilt of the bean caused by *Bacterium flaccumfaciens* nov. sp. *Science (Washington)*, v. 55, p. 433-434, 1922.
- HENNING, A. A. et al. *Manual de identificação de doenças de soja*. Embrapa Soja- Documentos (INFOTECA-E), 2014.
- HENNING, A.A. et al. Manual de identificação de doenças de soja. *Embrapa Soja-Documentos*. 2014. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/991687>
- HIRAKURI, M.H.; LAZZAROTTO, J.J. *Evolução e perspectivas de desempenho econômico associadas com a produção de soja nos contextos mundial e brasileiro*. Londrina: Embrapa Soja, 2011. (
- HIRAKURI, M.H.; LAZZAROTTO, J.J. *O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro*. Londrina: Embrapa Soja, 2014. (
- HYMOWITZ, T. On the domestication of the soybean. *Economic Botany*, v. 24, n. 4, p. 408-421, 1970. doi: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02860745>
- ILLINOIS SOYBEAN ASSOCIATION - ISA. *Soybean history at a glance*. Bloomington, Illinois, USA, 2017. <https://www.ilsoy.org/>
- KOMAGATA, K.; IIZUKA, H. New species of *Brevibacterium* isolated from rice. *Journal of the Agricultural Chemical Society Japan*, Tokyo, v. 38, p. 496-502, 1964.
- LEÃO, E.U. et al. Potencial in vitro de *Bacillus* spp. no controle de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro-comum. *Summa phytopathol.* 42, 360-362, 2016
- MAFIA, R.G. et al. Detecção, isolamento e inoculação de bactérias fitopatogênicas. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. (Ed.) *Métodos em fitopatologia*. Viçosa: UFV, 2016. p.423-467. 2016.
- MARINGONI, A. C. et al. Semi-selective culture medium for *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* isolation from bean seeds. *Seed Scie. Technol.*, v. 34, n. 1, p. 117-124, 2006.
- MARINGONI, A. C.; KUROSZAWA, C. Tipificação de isolados de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* por bacteriocinas. *Pesq. Agropec. Bras.*, v. 37, n. 9, p. 1339-1346, 2002.
- MARINGONI, A.C.; ROSA, E.F. Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro no Estado de São Paulo. *Summa Phytopathol.*, v.23, p.160-162, 1997.
- MARINGONI, A.C.; SOUZA, E.L.C. Reação de cultivares de soja a isolado de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, proveniente de feijoeiro. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.38, n.6, p.777-781, 2003.
- MARTINS, S. J. et al. Biological control of bacterial wilt of common bean by plant growth-promoting rhizobacteria. *Biol. Control*, v.66, n.1, p.65-71, 2013.
- MENTEN, J.O.M. *Patógenos em sementes, detecção, danos e controle químico*. São Paulo. Ciba Agro. 1995.
- MULLIS, K. B.; FALOONA, F. A. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.*, v.155, p.335-350, 1987.
- OSDAGHI, E. et al. Occurrence and characterization of a new red-pigmented variant of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, the causal agent of bacterial wilt of edible dry beans in Iran. *Euro. J. Plant Pathol.*, v.146, n.1, p.129-145, 2016. doi: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10658-016-0900-3>
- PENG, D. et al. Integrated biological and chemical control of rice sheath blight by *Bacillus subtilis* NJ-18 and jinggangmycin. *Pest Manag. Sci.* v.70, p.258-263, 2014. doi: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ps.3551>
- RAVA, C. A.; COSTA, J. G. C. *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.
- RITCHIE, S. W. *Como a planta de soja se desenvolve*. POTAFOS, 1998.
- SAIKI, K. *et al.* Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, v. 20, n. 230 (4732), p. 1350-1354, 1985.
- SAMMER, U. F.; REIHER, K. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* on Soybean in Germany - a threat for farming. *J. Phytopathol.*, v.160, n.6, p.314-316, 2012. doi: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1439-0434.2012.01902.x>
- SCHUSTER, M.L.; SAYRE, R.M. A coryneform bacterium induces purple-colored seed and leaf hypertrophy of *Phaseolus vulgaris* and other leguminosae. *Phytopathology*, v.57, n.10, p.1064-1066, 1967.
- SILVA JÚNIOR, T.A.F. *et al.* Survival of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in soil and bean crop debris. *J. Plant Pathol.*, v.94, n.2, p.331-337, 2012. doi: <https://www.jstor.org/stable/45156042>
- SOARES, R. M. *et al.* First report of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* on soybean in Brazil. *Trop. Plant Pathol.*, v.38, n.5, p.452-454, 2013.
- SOARES, R.M.; BRACALE, M.F. Reação de cultivares de soja a *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 47. Londrina. Anais... Londrina: Sociedade Brasileira de Fitopatologia. CD-ROM, 2014.
- 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 Phytopathol.*, v.28, p.41-45, 2002.
- SOUZA, V. L. *et al.* Genetic variability in *Curtobacterium flaccumfaciens* isolates. *Summa Phytopathol.*, v. 32, n. 2, p. 170-176, 2008.
- TEGLI, S.; SERENI, A.; SURICO, G. PCR-based assay for the detection of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in bean seeds. *Lett. Appl. Microbiol.*, v.35, n.4, p.331-337, 2002. doi: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1472-765X.2002.01187.x>
- THEODORO, G. F.; MARINGONI, A.C. Effect of nitrogen levels in the severity of bacterial wilt in common bean cultivars. *Summa Phytopathol.*, v.32, n.2, p.131-138, 2006.
- UESUGI, C. F.; *et al.* Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em Goiás e no Distrito Federal. *Fitopatol. Bras.*, v.28, n.3, p.324, 2003.
- VALENTINI, G. *et al.* *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*: etiologia, detecção e medidas de controle. *Biotemas*, v.23, n.4, p.1-8, 2010.
- VAN LENTEREN, J.C. *et al.* Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *Bio Control*, 2017. doi: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-017-9801-4>
- VENCATO, A. *et al.* *Anuário brasileiro da soja 2010*. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz do Sul, 2010.
- WEBER, G.F. Bacterial and fungal diseases plants in the tropics. Gainesville: *University of Florida Press*, 1973.
- XU, Z. *et al.* Enhanced control of cucumber wilt disease by *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 by altering the regulation of its DegU phosphorylation. *App. Environ. Microbiol.*, v.80, p.2941-2950, 2014.