

Foto: Abi Marques



Seca dos ponteiros da goiabeira causada por *Erwinia psidii*: levantamento e caracterização

Marcus Vinícius S. Coelho¹
Alexandre Peron Mendes²
Abi S. dos A. Marques³

Introdução

O Brasil é o maior produtor mundial de goiaba (*Psidium guajava* L.), sendo a área ocupada com esta cultura de aproximadamente 11.500 ha. Os principais estados produtores são Pernambuco e São Paulo, mas a cultura também é explorada de forma expressiva nos estados do Rio Grande do Sul, Minas Gerais e no Distrito Federal (Anuário, 2000).

Entre os fatores que limitam a produção de goiaba no país, está a ocorrência da bacteriose, também conhecida como seca dos ponteiros, causada por *Erwinia psidii* (Ribeiro et al., 1985). Esta doença foi descrita em 1982, nos municípios de Valinhos e Pindamonhangaba, estado de São Paulo (Rodrigues Neto et al., 1983 e 1987). Posteriormente, sua ocorrência foi relatada em Minas Gerais (Zona da Mata) (Romeiro et al., 1994), Espírito Santo (Oliveira et al., 2000), no Distrito Federal (Uesugi et al., 2001), no Paraná (Carlópolis) (J. Rodrigues Neto, *com. pes.*) e em Goiás (Luziânia) (dados não publicados) (Fig. 1).

A seca dos ponteiros é, atualmente, a principal doença da cultura no Distrito Federal. Embora restrita a órgãos jovens

da planta e aos frutos e não causar infecção sistêmica ou morte das plantas, a doença tem provocado perdas elevadas à cultura e prejudicado significativamente a sua exploração na região.

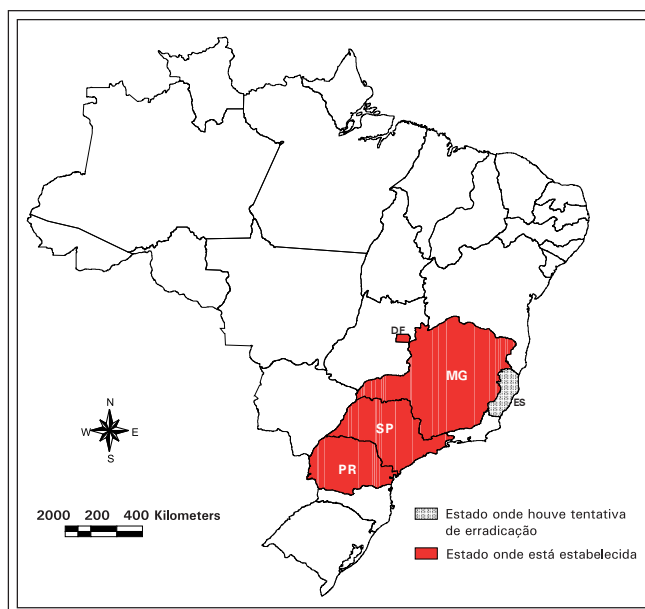


Fig. 1. Distribuição geográfica da seca dos ponteiros da goiabeira.

¹ Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biólogo, Bs, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng^o. Agr^o., PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. E-mail: amarques@cenargen.embrapa.br

Sintomas

Os sintomas característicos da seca dos ponteiros da goiabeira, descritos por (Rodrigues Neto et al., 1987), são: 1. seca de ramos e brotos, os quais murcham e adquirem coloração pardo-escura ou negra; 2. amarelecimento e lesão em folhas, apresentando, muitas vezes, tecidos com aspecto encharcado próximo às nervuras; 3. necrose e mumificação de flores e frutos imaturos (Fig. 2: A, B e C).

Foto: Abi Marques / Cláudio Bezerra



Fig. 2. Sintomas característicos de infecção por *Erwinia psidii* em goiabeira. A = Flores e frutos “mumificados”; B = Folhas com lesão na nervura central; C = Ramos secos.

Bioecologia do patógeno

A seca dos ponteiros da goiabeira pode ser introduzida em uma nova área ou propriedade por meio de mudas contaminadas. O desenvolvimento e a severidade da doença são influenciados por inúmeros fatores, entre os quais as características climáticas da região de cultivo e o sistema de produção empregado (Romeiro et al., 1994). Não há medidas fitossanitárias eficientes para o controle desta bacteriose no campo, sendo necessário, no atual estágio de conhecimento da doença, admitir a convivência com a bactéria nos pomares.

A bactéria *E. psidii* pode penetrar e se estabelecer na planta através de aberturas naturais ou por ferimentos provocados pelas operações de poda ou colheita (Ribeiro et al., 1985). Os sintomas de infecção podem ser observados em folhas, hastes, brotações, botões florais e frutos jovens ou maduros (Rodrigues Neto et al., 1987). A bactéria aparentemente está restrita a órgãos jovens da planta e não há evidência de morte das árvores.

O mecanismo de patogenicidade de *E. psidii* não está totalmente esclarecido, mas sabe-se que a bactéria pode ocupar os vasos condutores da planta, o que talvez seja um dos fatores que condicionam o sintoma de seca em hastes e brotações.

A dispersão do patógeno planta a planta pode ocorrer por meio das operações de poda e colheita e é favorecida quando estas práticas são realizadas em condições de elevada umidade (Ribeiro et al., 1985). Outras formas possíveis de dispersão ainda não foram investigadas.

Não existem relatos de resistência genética de *P. guajava* a *E. psidii*, no entanto, observações de campo sugerem que algumas cultivares são mais suscetíveis ao patógeno que outras. Testes de patogenicidade com inoculação artificial, realizados por Rodrigues Neto et al., 1987 em outras espécies de Myrtaceas, demonstraram que a bactéria é capaz de infectar também araquê (*Psidium cattleianum*), jambo-vermelho (*Eugenia jambolana*) e melaleuca (*Melaleuca viridiflora*).

A longevidade de *E. psidii* em restos de cultura infectados e a sua possível sobrevivência no solo ou associada a plantas hospedeiras alternativas ainda não são conhecidas.

Levantamento da ocorrência da bacteriose em Brazlândia, DF

Brazlândia está localizada a cerca de 35 km de Brasília e é uma das principais regiões agrícolas do Distrito Federal. Nesta região concentra-se a produção de goiaba do Distrito Federal e predominam propriedades rurais pequenas, de agricultura familiar, com produção diversificada e boa infra-estrutura. Os pomares de goiaba ocupam em média 2,5 ha e foram formados, em sua maioria, com mudas provenientes do estado de São Paulo. As variedades mais comumente plantadas em Brazlândia são: Paluma, Pedro Sato, Ogawa, Australiana e uma variedade de polpa vermelha classificada pelos produtores como “vermelha comum”.

Com o objetivo de confirmar a distribuição da doença na região e avaliar a atual situação da doença no DF, foram realizadas visitas a 19 propriedades rurais de Brazlândia, no período de março a setembro de 2001, onde foram coletadas amostras de plantas com suspeita de infecção por *E. psidii*. Em cada pomar visitado, foram coletadas as seguintes informações que trarão subsídios para os estudos epidemiológicos da doença: 1. identificação do pomar; 2. data da visita e coleta, 3. tamanho da propriedade e número de plantas; 4. idade do pomar; 5. cultivar(es) plantada(s); 6. procedência das mudas; 7. método e frequência de irrigação; 8. produtividade média; 9. histórico da área; 10. tratos culturais;

11. principais pragas e doenças; 12. histórico da ocorrência da bacteriose na área.

As visitas às propriedades mencionadas na Tabela 1 foram realizadas em cooperação com os engenheiros agrônomos e técnicos da EMATER (escritórios de Brazlândia e Incra-8). Estes pomares foram selecionados em função de resultados negativos para a presença de *E. psidii* no levantamento anterior coordenado pela Secretaria de Agricultura do DF e Universidade de Brasília. Nessas propriedades, amostras das plantas suspeitas de infecção foram coletadas, identificadas e conduzidas à unidade de Bacteriologia do Laboratório de Quarentena Vegetal – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen), para processamento e análise.

Os isolamentos foram realizados a partir de partes da planta, como brotações, ramos e frutos infectados. No laboratório, os sintomas observados no material foram devidamente anotados, procedendo-se, em seguida, ao isolamento convencional para tecidos supostamente contaminados por bactérias fitopatogênicas (Mariano & Silveira, 2000; Romeiro, 2001).

- Desinfestação do material pela imersão em solução de detergente neutro e lavagem com água corrente.
- Preparo do macerado pelo esmagamento de fragmentos dos bordos das lesões em lâmina de vidro estéril, numa gota d'água.

- Isolamento da bactéria pelo plaqueamento do macerado em estrias ou riscas sobre meio de cultura sólido 523 (Kado & Heskett, 1970), seguido de incubação a 28 °C.
- Repicagem das colônias individualizadas com aspecto semelhante ao descrito para *E. psidii*, 48 horas após o plaqueamento.
- Identificação dos isolados selecionados através da realização de testes fisiológicos, nutricionais e de patogenicidade.

Aqueles isolados cujas reações a estes testes corresponderam ao perfil esperado para *E. psidii* foram considerados como diagnóstico positivo. Os isolados de *E. psidii* obtidos foram preservados em glicerol 20% à temperatura de -20 °C.

Das 19 propriedades inspecionadas, 10 apresentaram sintomas da doença no campo e diagnóstico laboratorial positivo (Tabela 1). A severidade da doença variou entre as propriedades e os principais sintomas observados foram: brotações novas com folíolos negros e secos (Fig. 3); hastes novas com epiderme ligeiramente escurecida (Fig. 4) ou totalmente seca (Fig. 5); botões florais secos (Fig. 6) e frutos jovens “mumificados” (Fig. 7); frutos maduros com área negra e firme (Fig. 8). Alguns destes sintomas podem ser confundidos com aspectos da planta de natureza diversa à doença. Um exemplo disso é o escurecimento natural das hastes, à medida que estas se tornam lenhosas (Fig. 9).

Tabela 1. Locais de produção de goiaba em Brazlândia, DF, e diagnóstico para a presença de *Erwinia psidii*.

Data de coleta (Ano 2001)	Propriedade*	Local	Diagnóstico	Identificação laboratorial do isolado
01.03	1	INCRA-8	+	Emb. A 18-7
01.03	2	Reserva A	+	Emb. A 18-4
05.04	3	Sítio Novo DF – 180	+	Emb. B 66-2 e 67-1
05.04	4	Brazlândia	-	-
11.04	5	INCRA-6	+	Emb. B 75-1
11.04	6	INCRA-6	+	Emb. B 74-1
11.04	7	Cascalheira	-	-
12.07	8	INCRA-6	+	Emb. B 169-2, 4 e 5
19.07	9	INCRA-8	-	-
19.07	10	INCRA-6	+	Emb. B 182-1 a 9
16.08	11	Reserva A	-	-
16.08	12	Reserva A	+	Emb. B 188-1 e 2
24.08	13	Arcag (A. Gusmão)	-	-
24.08	14	INCRA-6	+	Emb. B 236-2 e 5
24.08	15	INCRA-6	-	-
03.09	16	INCRA-6	-	-
03.09	17	Reserva A	-	-
03.09	18	Reserva G INCRA 7	-	-
03.09	19	Arcag	+	Emb. B 244-1, 2 e 4

(+*) Plantas com sintomas e diagnóstico laboratorial positivo.

(-) Diagnóstico laboratorial negativo.

(*) Identificação fictícia.

Foto: Abi Marques



Fig. 3. Primórdio foliar de goiabeira infectado por *E. psidii*.

Foto: Marcus Coelho



Fig. 6. Botões florais com sintoma de infecção por *E. psidii*.

Foto: Marcus Coelho

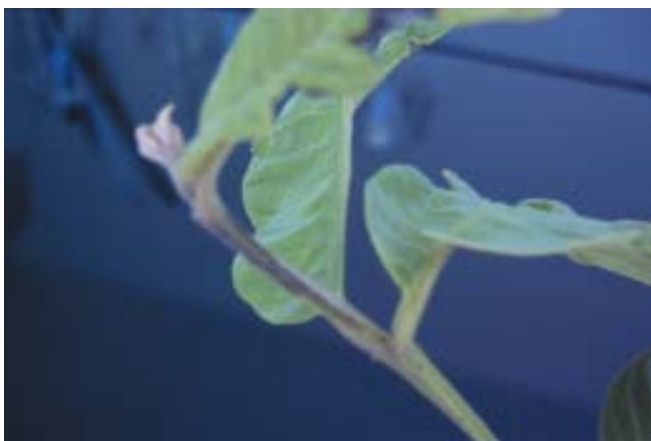


Fig. 4. Haste de goiabeira infectada por *E. psidii* apresentando epiderme enegrecida.

Foto: Abi Marques



Fig. 7. Frutos jovens infectados por *E. psidii* apresentando aspecto "mumificado".

Foto: Marcus Coelho



Fig. 5. Ramo de goiabeira com sintoma de infecção por *E. psidii*.

Foto: Abi Marques



Fig. 8. Fruto maduro infectado por *E. psidii* apresentando podridões localizadas e firmes.

Foto: Marcus Coelho



Fig. 9. Escurecimento natural da haste de goiabeira.

A diferença entre este quadro fisiológico e o sintomático é que, nesse último, o escurecimento da haste é acompanhado da seca de folhas e brotações e escurecimento dos vasos.

A partir deste levantamento não foi possível determinar diferenças de susceptibilidade entre as cultivares comumente plantadas na região. Entretanto, observou-se que a variedade Australiana, aparentemente, é mais tolerante à infecção pela bactéria que as demais.

A comprovação de ocorrência em apenas 10 das 19 propriedades visitadas neste levantamento pode estar relacionada, em parte, às condições climáticas predominantes durante o período (temperaturas elevadas e clima evoluindo do fim do período chuvoso a seco) e à coincidência com o período de poda em alguns pomares. Considerando estes resultados e o levantamento realizado no ano de 2000 pelos técnicos da Secretaria de Agricultura e Universidade de Brasília (Carlos Uesugi, *comunicação pessoal*), estima-se que a proporção de pomares infectados no DF seja de 56 %.

Durante as inspeções, observou-se que as práticas de manejo da doença recomendadas pela assistência técnica local, que consistem na eliminação de partes doentes da planta e assepsia de instrumentos de poda com hipoclorito ou álcool, são negligenciadas pela maioria dos produtores, o que tem favorecido a incidência da doença. Outra observação comum é que pomares com plantas muito vigorosas e submetidas à irrigação por aspersão frequente apresentam maior severidade da doença que pomares onde a aplicação de insumos ou água é reduzida. Isso sugere uma relação entre o estado nutricional e hídrico da planta e a sua suscetibilidade à doença.

Estas informações, entretanto, necessitam ainda de comprovação experimental.

O conhecimento da exata distribuição da doença na região e as características particulares de sua ocorrência são determinantes para a proposição de medidas de controle oficial ativo.

Caracterização bioquímica

Classificada como pertencendo ao grupo das Erwinias não pectolíticas ("non soft rot") ou "grupo amylovora" (Rodrigues Neto et al., 1987), *E. psidii* forma colônias de coloração esbranquiçada em meios de cultura não seletivos e apresenta reação negativa aos testes de hipersensibilidade em folhas de fumo e podridão em batata. É uma bactéria móvel que possui flagelos peritríquios e que se assemelha, em valores de concentração de GC do DNA (52%), a *E. tracheiphila* e *E. rubrifaciens*, ambas pertencentes ao "grupo amylovora". *E. psidii* se diferencia de *E. rubrifaciens* pela redução de substâncias a partir da sacarose e pela não produção de enzimas pectolíticas. Diferencia-se de *E. tracheiphila* por requerer fatores de crescimento e pela utilização diferenciada de carboidratos para produção de ácidos (Rodrigues Neto et al., 1987).

Para a identificação de *E. psidii* a partir das amostras coletadas em Brazlândia e recebidas de outras localidades, a seguinte lista mínima de testes nutricionais e fisiológicos foi utilizada: Gram, oxidação-fermentação, produção de catalase, inoculação em hospedeira (*P. guajava*), degradação de pectato, indução de hipersensibilidade em folhas de fumo, produção de ácido a partir de manitol e rafinose, redução de nitrato a nitrito e produção de urease. Os protocolos para os testes bioquímicos foram utilizados de acordo com Schaad et al., 2000.

Caracterização molecular

O processo de caracterização molecular e análise da variabilidade intra-específica em *E. psidii* foi iniciado pela otimização de protocolos a serem usados na amplificação por PCR de seqüências repetitivas do genoma (rep-PCR) (Louws et al., 1994, 1999). Os produtos das reações de rep-PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5% e a análise dos padrões eletroforéticos revelou algum poliformismo entre os isolados avaliados (Fig. 10). É necessária, para continuação do estudo, a comparação entre os diversos isolados coletados no DF, o isolado tipo de *E. psidii*, bem como com isolados procedentes de outros estados onde a doença já foi relatada (Minas Gerais, Espírito Santo e São Paulo), através do cálculo de coeficientes de similaridade.

Será também avaliada a necessidade de extração do DNA dos isolados (Ausubel et al., 1992), contra a simples lise das células bacterianas, procedimento este adotado nessa fase inicial de caracterização.

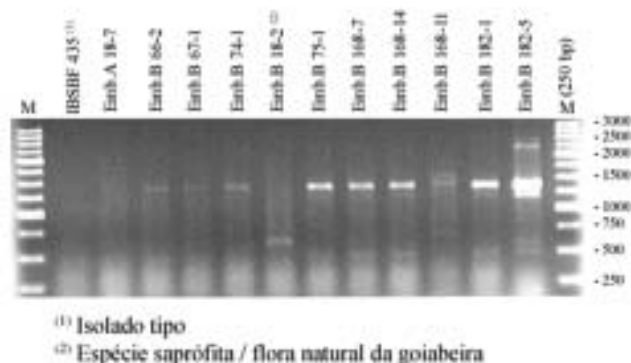


Fig. 10. Perfil de isolados de *E. psidii* em gel de agarose, após a amplificação genômica por REP-PCR. O isolado 18.2 é uma bactéria não patogênica isolada do filoplano.

Avaliação de patogenicidade

No início do levantamento, os isolados obtidos foram submetidos ao teste de patogenicidade em mudas de goiabeira. Este teste foi realizado em condições de casa de vegetação através da inoculação de mudas jovens e sadias de goiabeira de variedade suscetível (Ogawa e Pedro Sato). O método de inoculação empregado foi a deposição de alíquotas de uma suspensão bacteriana (10^7 ufc/mL) na axila da folha após fermento superficial com agulha. A patogenicidade dos isolados foi avaliada sete dias após a inoculação em função da presença de sintomas e do reisolamento da bactéria.

Sorologia

A sorologia é largamente utilizada para a detecção de bactérias fitopatogênicas (Barzic & Trigalet, 1982). As técnicas sorológicas utilizam o princípio do reconhecimento específico antígeno-anticorpo. Esta reação é visualizada, seja direta (Imunodifusão, Ouchterlony, 1958), seja indiretamente, graças a um anticorpo secundário acoplado a uma molécula fluorescente (Imunofluorescência, Coleno, 1968; Trigalet & Bidaud, 1978; Van Vuurde et al., 1983), ou a uma enzima (ELISA, Avrameas, 1969).

O antissoro específico para *E. psidii* foi produzido através de injeção intravenosa da suspensão bacteriana (10^8 ufc/mL) do isolado tipo da bactéria, fixada com formol na proporção de 0,5%, em coelhos adultos da raça Nova Zelândia. Duas injeções semanais foram feitas na veia marginal da orelha dos coelhos. Seis dias após a última injeção, uma alíquota de sangue foi retirada para avaliação do título do antissoro, o qual foi considerado satisfatório. Após esta avaliação, fez-se a coleta e o soro foi separado da fração sólida do sangue por decantação e centrifugação. Este antissoro foi avaliado quanto à sua eficiência pela detecção da bactéria em estudo, sobre uma gama de diluições. A especificidade está sendo avaliada sobre uma

coleção de isolados bacterianos que inclua outras espécies do mesmo gênero e grupo, outros gêneros e isolados de bactérias saprófitas da flora natural da goiabeira.

No caso de ocorrerem reações cruzadas por bactérias que possuam epitopos em comum com *E. psidii*, o antissoro será absorvido pelo contato com essas bactérias, de modo a eliminar essas reações cruzadas.

Influência da temperatura sobre o desenvolvimento populacional de *E. psidii*

A temperatura tem influência sobre os processos de infecção e crescimento populacional de bactérias fitopatogênicas (Agris, 1999). Para investigar o efeito da temperatura sobre o desenvolvimento in vitro de *E. psidii*, foi realizado um ensaio no qual se avaliou a multiplicação da bactéria sob diferentes temperaturas. O ensaio foi conduzido em meio líquido 523 (Kado & Heskett, 1970), sendo um volume de 50 ml em Erlenmeyer por repetição. Foram estabelecidas cinco repetições por temperatura e a população inicial constou da adição de 0,5 ml de uma suspensão bacteriana de 10^6 ufc/ml para 50 ml de meio. As leituras foram realizadas após incubação sob agitação às temperaturas de 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 e 36° C, por período de 16 horas.

O crescimento populacional da bactéria após o período de incubação foi avaliado pela medida de absorbância (590nm) do meio e também pela enumeração da população sobre meio sólido, 48 horas após o plaqueamento. Os valores de absorbância lidos foram submetidos a uma equação de regressão, para a determinação da população final.

Os resultados obtidos revelaram que, nas condições do experimento, *E. psidii* foi capaz de se multiplicar numa ampla faixa de temperatura, mas a temperatura ótima para o crescimento está em torno de 33° C (Fig. 11). Aos 15 e 36° C não houve crescimento bacteriano significativo, embora as células permanecessem ainda viáveis após o período de incubação. O crescimento da bactéria a 33° C diverge do trabalho original de caracterização de *E. psidii* realizado por Rodrigues Neto et al. (1987), no qual a bactéria não apresentou crescimento à temperatura de 32° C.

Estes resultados preliminares são importantes para o conhecimento do patossistema, mas deve-se mencionar que a temperatura ótima para o crescimento bacteriano in vitro pode não ser necessariamente a temperatura ótima para a atividade bacteriana durante os processos de infecção e desenvolvimento na planta hospedeira.

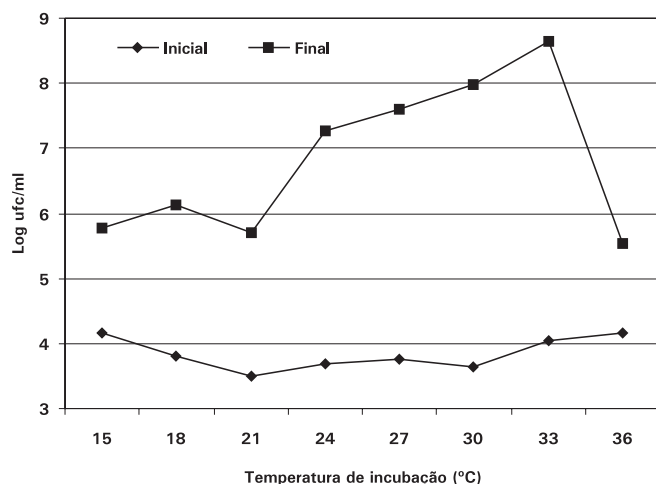


Fig. 11. Efeito da temperatura de incubação sobre o crescimento populacional *in vitro* de *Erwinia psidii*.

Para determinar o efeito da temperatura sobre estes processos, ensaios em condições controladas serão realizados com mudas de goiabeira inoculadas e submetidas a diferentes temperaturas. O parâmetro avaliado poderá ser o período de incubação, compreendido entre o tempo de inoculação e o aparecimento dos primeiros sintomas na planta. Esta informação poderá fornecer subsídio para a tomada de decisão quanto ao momento de implementar medidas de controle da bacteriose.

Medidas quarentenárias

O Laboratório de Quarentena Vegetal do Cenargen, além da sua atribuição legalmente estabelecida de análise de germoplasma vegetal importado pelo Brasil, tem procurado, nos últimos anos, atender a uma outra demanda surgida no país que é a pesquisa direcionada àquelas pragas quarentenárias denominadas internacionalmente de "Pragas A2" e que compreendem, conceitualmente, aquelas pragas que ocorrem no país, mas são de distribuição restrita a áreas limitadas e estão sobre controle ativo. A exata delimitação das áreas de ocorrência da doença no país e também o conhecimento do patossistema são informações fundamentais para a inclusão de uma determinada praga na categoria de Praga Quarentenária A2.

Dada a importância da cultura da goiaba para a sobrevivência de pequenas propriedades rurais e seu potencial para exportação; dada a severidade da doença e sua distribuição ainda restrita a algumas das regiões produtoras do Brasil, este Laboratório está, a pedido do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), reunindo informações que subsidiarão a inclusão de *Erwinia psidii* como Praga Quarentenária A2 para o país.

Agradecimentos

A Wesley Rodrigues de Souza pela montagem das fotos e a Sérgio Eustáquio de Noronha pela confecção do mapa.

Referências Bibliográficas

- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DA AGRICULTURA BRASILEIRA. São Paulo: Argos Comunicação, 1999. 439 p.
- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**, 4th ed. San Diego: Academic Press, 1999, 650 p.
- AUSUBEL, F. M.; BRENT, R.; KINGSTON, R. E.; MOORE, D. D.; SEIDMAN, J. G. SMITH, J. A.; STRUHL, K. **Current protocols in molecular biology**. New York: Greene Wiley Interscience, 1992. v. 1.
- AVRAMEAS, S. Coupling of enzymes to proteins with glutaraldehyde, use of the conjugates for the detection of antigens and antibodies. **Immunochemistry**, v. 6, p. 43-52, 1969.
- BARZIC, M. R.; TRIGALET, A. Détection de *Pseudomonas phaseolicola* (Burkh.) Dowson par la technique ELISA. **Agronomie**, Paris, v. 2, p. 389-398, 1982.
- COLÉNO, A. Utilisation de la technique d'immunofluorescence pour le dépistage de *Pseudomonas phaseolicola* (Burkh.) Dowson dans les lots de semences de haricot contaminés. **C. R. Acad. Sci. Agric.**, Paris, v. 18, p. 1016-1020, 1968.
- KADO, C. E. ; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of Agrobacterium, Corynebacterium, Erwinia, Pseudomonas and Xanthomonas. **Phytopathology**, St. Paul, v. 60, p. 969-976, 1970.
- LOUWS, F. J.; FULBRIGHT, D. W.; STEPHENS, C. T.; de BRUIJN, F. J. Specific genomic fingerprints of phytopathogenic Xanthomonas and Pseudomonas pathovars and strains generated with repetitive sequences and PCR. **Applied an Environmental Microbiology**, Washington, D. C., v. 60, n. 7, p. 2286-2295, 1994.
- LOUWS, F. J.; RADEMAKER, J. L. W; de BRUIJN, F. J. The three Ds of PCR based genomic analysis of phyto bacteria: diversity, detection and disease diagnosis. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 37, p. 81-125, 1999.
- MARIANO, R. L. R. ; SILVEIRA, E. B. Isolamento de bactérias fitopatogênicas. In: MARIANO, R. L. R. (Coord).

Manual de práticas em fitobacteriologia, Recife, PE: UFPE, 2000. p. 27-36.

OLIVEIRA, J. R.; VENTURA, J. A.; SILVA, I. T. ; COSTA, H. Ocorrência da bacteriose da goiabeira causada por *Erwinia psidii* no estado do Espírito Santo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, p. 328, 2000. Suplemento.

OUCHTERLONY, O. Diffusion-in-gel methods for immunological analysis. **Prog. Allergy**, v. 5, p. 1-78, 1958.

RIBEIRO, I. J. A.; SUGIMORI, M. H.; RODRIGUES NETO, J.; YAMASHIRO, T.; PIZA JÚNIOR, C. de T.; PRATES, H. S. FREDIANI, A. J. A. **A bacteriose da goiabeira**. Campinas: CATI, 1985. 13 p. (CATI. Instruções Práticas, 231).

RODRIGUES NETO, J.; ROBBS, C. F.; YAMASHIRO, T. Uma doença bacteriana da goiabeira (*Psidium guajava* L.). **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 9, p. 4, 1983.

RODRIGUES NETO, J.; ROBBS, C. F.; YAMASHIRO, T. A bacterial disease of guava (*Psidium guajava*) caused by *Erwinia psidii* sp. nov. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 12, p. 345-350, 1987.

ROMEIRO, R. S. **Métodos em bacteriologia de plantas**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 279 p.

ROMEIRO, R. S.; OLIVEIRA J. R.; POMELLA, A. W. V.; BARBOSA, J. G.; COUTO, F. A. A. Situação e perspectivas de controle da morte das pontas da goiabeira (*Erwinia psidii*) em Minas Gerais, Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, p. 309, 1994. Suplemento.

SCHAAD, N. W.; JONES, J. B.; CHUN, W. **Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria**. St. Paul, Minnesota: APS Press. 2000.

TRIGALET A.; BIDAUD, P. Some aspects of epidemiology of bean halo blight. In : INTERNATIONAL CONFERENCE ON PLANT PATHOGENIC BACTERIA, 4., 1978, Angers, France. **Proceedings**. Angers, France: [s. n.], 1978. p. 895-902.

UESUGI, C. H.; MELO FILHO, P. A.; LIMA, M. L. P.; MORAES, C. A.; TOMITA, C. K.; CAFÉ FILHO, A. C. ; UENO, B. Ocorrência de *Erwinia psidii* em goiabeira no Distrito Federal. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 24., 2001, Piracicaba, SP. **Anais...** [S. l.: s.n.], 2001.

VAN VUURDE, J. W. L., VAN DEN BOVENKAMP G. W., BIRNBAUM Y. Immunofluorescence detection of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* and *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* in bean seed. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 11, p. 547-559, 1983.

Comunicado Técnico, 59

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Serviço de Atendimento ao Cidadão
Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) -
Brasília, DF. CEP 70.770-900 - Caixa Postal 02372
PABX: (61) 448-4600 Fax: (61) 340-3624
<http://www.cenargen.embrapa.br>
e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

1ª edição
1ª impressão (2002): 150 unidades

Comitê de publicações

Presidente: José Manuel Cabral de Sousa Dias
Secretário-Executivo: Miraci de Arruda Câmara Pontual
Membros: Antônio Costa Allem
Marcos Rodrigues de Faria
Marta Aguiar Sabo Mendes
Sueli Correa Marques de Mello
Vera Tavares Campos Carneiro

Expediente

Revisor Gramatical: Felisberto de Almeida
Supervisor editorial: Miraci de Arruda Câmara Pontual
Normalização Bibliográfica: Maria Alice Bianchi
Priscila Rocha Silveira
Editoração eletrônica: Alysson Messias da Silva