



Foto: C. H. Uesugi

Curtobacterium flaccumfaciens pv.
flaccumfaciens
Murcha bacteriana
do feijoeiro e da soja: alto risco de
disseminação no Brasil

Marcus Vinícius S. Coelho¹
Patrícia M. Guimarães²
Abi S. A. Marques³
Olinda Maria Martins⁴

Introdução

A murcha bacteriana do feijoeiro foi descrita nos anos 20, nos Estados Unidos, causando perdas de até 90% da produção (HEDGES, 1922). Nos anos subseqüentes foi considerada como uma das doenças mais importantes da cultura, ocasionando,

em alguns anos, perda total da produção (HEDGES, 1926). Causado pela bactéria *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, ataca diversas leguminosas e sua ocorrência se restringia às regiões temperadas, até ser descrita no Brasil, em 1997 (MARINGONI e ROSA, 1997) (Fig. 1).

¹ Eng. Agr., MSc., Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. E-mail: marcuscoelho@agricultura.gov.br

² Eng. Agr. PhD., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. E-mail: messenbe@cenargen.embrapa.br

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

⁴ Eng. Agr. PhD., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. E-mail: olinda@cenargen.embrapa.br

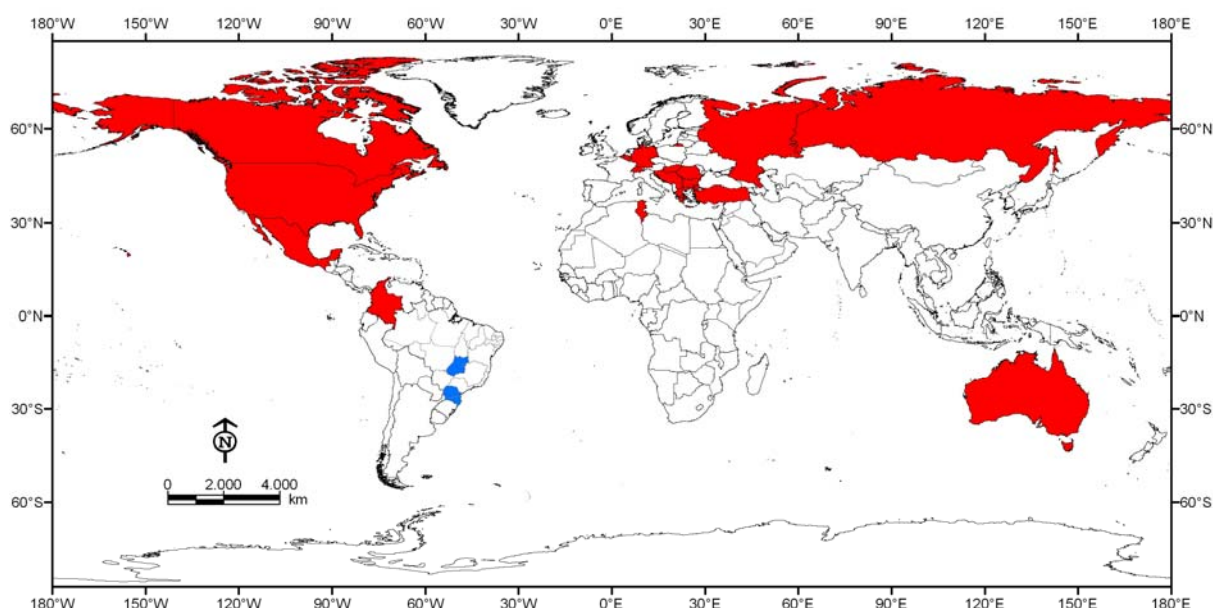


Fig. 1 – Distribuição geográfica de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*
(Fonte: BRADBURY, 1986; COMMONWEALTH..., 1992; MARINGONI e ROSA, 1997)

Posição taxonômica de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*

A bactéria causadora murcha bacteriana do feijoeiro, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (HEDGES, 1922) Collins e Jones, 1983, ocupa a seguinte posição taxonômica:

Classe: Firmicutes
Ordem: Actinomycetales
Família: Microbacteriaceae

Sinonímia

Na ocasião da descrição (1922), a bactéria foi denominada *Bacterium flaccumfaciens* Hedges 1922, tendo, posteriormente, recebido as seguintes denominações:

Phytomonas flaccumfaciens (HEDGES, 1922) Bergey et al. 1923
Pseudomonas flaccumfaciens (HEDGES, 1922) Stevens 1925

Corynebacterium flaccumfaciens (HEDGES, 1922) Dowson 1942
Corynebacterium flaccumfaciens pv. *flaccumfaciens* (HEDGES, 1922) Dowson 1942
Corynebacterium flaccumfaciens subsp. *flaccumfaciens* (HEDGES, 1922) Dowson 1942

Finalmente, baseando-se em estudos dos perfis de proteínas celulares através de eletroforese em gel de poliácridamida, a bactéria foi reclassificada dentro do novo gênero *Curtobacterium*, denominando-se *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (HEDGES, 1922) Collins e Jones, 1983 (CARLSON e VIDAVER, 1982; COLLINS e JONES, 1983; YOUNG et al., 1966).

Nomes da doença

A ‘murcha bacteriana do feijoeiro’ é conhecida em inglês como “bacterial wilt” e “bacterial tan spot” quando relatada em soja (HEDGES, 1922; DUNLEAVY, 1983).

Distribuição geográfica

A distribuição geográfica da bactéria causadora da murcha bacteriana do feijoeiro é bastante ampla. Existem registros de ocorrência da doença nos seguintes países: Canadá, Estados Unidos e México, na **América do Norte**; Brasil e Colômbia, na **América do Sul**; Tunísia e Turquia, na **Ásia**; Alemanha, Bélgica, Bulgária, Grécia, Hungria, Iugoslávia, Romênia, Rússia e Suíça, na **Europa**; Austrália, na **Oceania** (BRADBURY, 1986; COMMONWEALTH..., 1992; HEDGES, 1922; MARINGONI e ROSA, 1997; MIRANDA FILHO e UESUGI, 2004; NUNES, et al., 2004; RAVA et al., 2004; THEODORO e MARINGONI, 2004).

Sintomas

Em feijão, os sintomas mais agudos aparecem em plantas jovens, nas quais a doença inicia-se com o

escurecimento parcial das folhas, seguido de perda de turgor e murcha (Fig. 2). Em geral, a planta inteira morre antes de apresentar o primeiro grupo de folhas trifoliadas totalmente desenvolvido. Plantas mais velhas apresentam um desenvolvimento da doença menos drástico e, apenas alguns ramos e folhas apresentam murcha (AGRIOS, 1997)

Em soja, os sintomas são bem distintos daqueles do feijoeiro (Fig. 3), com as folhas apresentando clorose e lesões que se iniciam nas margens foliares e progridem para a região central (DUNLEAVY, 1983).

No caso de sementes contaminadas internamente, as mesmas podem apresentar coloração amarelada, laranja ou púrpura, como consequência do crescimento bacteriano e se tornarem enrugadas (TEGLI et al., 2002).



Fig. 2 – Plantas de feijão inoculadas, apresentando sintomas de murcha causada por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. (Foto gentilmente cedida pelo prof. Carlos H. Uesugi, UnB).



Fig. 3 – Plantas de soja inoculadas, apresentando clorose e lesões nas margens das folhas causadas por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. (Foto gentilmente cedida pelo prof. Carlos H. Uesugi, UnB).

Morfologia, Metabolismo Celular e Variabilidade

Curtobacterium flaccumfaciens pv. *flaccumfaciens* é uma bactéria Gram positiva, em forma de bastonetes ligeiramente curvados ou ponteagudos. Ocorrem, em geral, na forma de células únicas, mas também podem ocorrer em arranjos nas formas de V e Y. As colônias crescidas em meio de levedura-glucose-agar apresentam, após três a quatro dias de crescimento, 2,0-4,0 mm de diâmetro e aparência lisa, inteira, convexa, não viscosa e semi-fluida. Essas colônias podem ser pigmentadas em nuances de amarelo, laranja ou rosa, com algumas estirpes apresentando pigmentos solúveis nas colorações azul e roxa.

É uma bactéria aeróbica obrigatória, com temperatura ideal de crescimento entre 24 e 27 °C e temperaturas máximas entre 35 a 37 °C, não produz esporos e não é oxidativa. *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* apresenta alta tolerância a sal (NaCl, 7 a 9%) e requer tiamina, biotina e pantotenato para crescimento. Produz ácido a partir de arabinose, celobiose, frutose, galactose, glucose, glicerol, inositol, maltose, manose, melobiose, rafinose, sacarose e xilose e, usualmente, a partir de inositol e melozitol. É catalase positiva, mas oxidase, tirosinase, uréase e indol negativa. Não reduz nitrato a nitrito ou produz amônia a partir de peptona, mas produz H₂S a partir de cisteína. Não produz aminoácido-decarboxilases ou fenilalaninas deaminases (BRADBURY, 1986).

Perfis de DNA gerados a partir de PCR utilizando seqüências repetitivas do genoma (rep-PCR) ou de fragmentos de restrição (analisados em eletroforese de campo pulsado, PFGE), demonstraram a existência de ampla variabilidade genética dentro do patovar *flaccumfaciens* (PARENTE et al., [1999?]).

Bioecologia

A principal forma de transmissão da bactéria é através de sementes contaminadas, as quais podem apresentar contaminação sistêmica ou interna e/ou apenas superficial (HEDGES, 1926). A bactéria pode sobreviver nas sementes, no solo, por até dois anos ou tanto quanto for a

sobrevivência da semente armazenada em condições ótimas (TEGLI et al., 2002).

C. flaccumfaciens pv. *flaccumfaciens* também pode sobrevir no solo, servindo de inóculo por períodos de até 10 meses. Além disso, a bactéria virulenta sobrevive em plantas não hospedeiras como *Amaranthus retroflexus* e *Chenopodium album*, por até 10 meses, enquanto estirpes não virulentas sobrevivem por até 22 meses (SCHUSTER, 1967).

Epidemiologia

O ciclo de hospedeiras é amplo, mas restrito a leguminosas (Tabela 1).

Tabela 1: Hospedeiros de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*

Hospedeiras naturais	Referência
Caupi (<i>Vigna unguiculata</i> L.)	Bradbury, 1986
Ervilha (<i>Pisum sativum</i>)	Zaumeyer & Thomas, 1957
Feijão asiático Adzuki [<i>Vigna angularis</i> (Willd.)]	Bradbury, 1986
Feijão comum (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	Bradbury, 1986
Feijão da Espanha (<i>Phaseolus coccineus</i> L.)	Bradbury, 1986
Feijão de Lima (<i>Phaseolus lunatus</i> L.)	Bradbury, 1986
Feijão Mungo (<i>Vigna radiata</i> L.)	Bradbury, 1986
<i>Lablab purpureus</i>	Bradbury, 1986
Soja (<i>Glycine max</i>)	Dunleavy, 1983
<i>Zornia</i> spp.	Bradbury, 1986

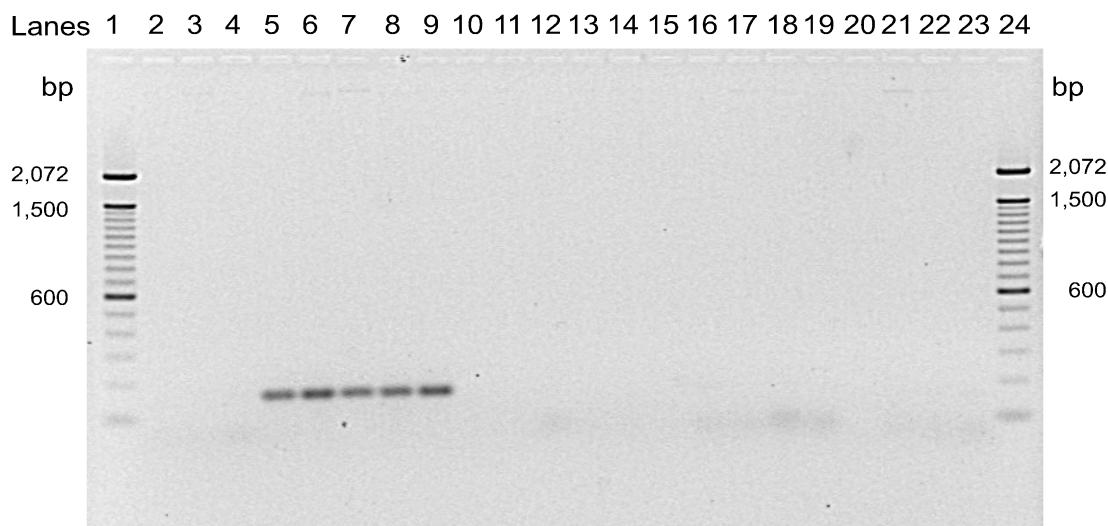
a) Procedimentos de inspeção e detecção

Observação de plântulas: Em condições ambientais favoráveis as plântulas são mortas pela obstrução do sistema vascular nos caules, logo após a emergência de plântulas.

Detecção pela técnica sorológica: Uso de antissoros policlonais associados à técnica de imunofluorescência (IF) possibilita a detecção do organismo numa concentração mínima de 10^7 ufc/mL (CALZOLARI et al., 1987). O uso de antissoros monoclonais aumenta a sensibilidade do método, mas aumenta também o risco de escape devido ao fato de existirem estirpes do patógeno sorologicamente não relacionadas (MIZUNO et al., 1995).

Detecção pela técnica molecular, utilizando PCR: A utilização de uma sonda de DNA marcada com digoxigenina e de primers específicos para o patógeno, possibilitam a detecção de até 200 ng de DNA da bactéria, com alta especificidade (Fig. 4), (GUIMARÃES et al., 2001).

Fig. 4 – Amplificação por PCR de bactérias usando os “primers” CF4 & CF5. Pistas 1 e 24, 100 bp ladder (GibcoBRL); 2 a 4, *Cl.m.michiganensis*, 347332, 347345, 350455; 5 a 9,



C.f.flaccumfaciens, 358451, 358455, 367329, 367331, 367337; 10 a 12, *C.f.poinsettiae*, 358452, 367343, 367349; 13 a 15, *C.f.oorti*, 367341, 350461, 358464; 16 e 17, *C.f.betae*, 347349, 367323; 18, *C.luteum*, 359424; 19, *C.pusillum*, 359425; 20, *C.plantarum*, 359426; 21, *C.citreum*, 359423; 22. *C.albidum*, 359422; 23. Controle (água).

b) Controle

Os métodos de controle recomendados são o uso de variedades resistentes, o controle da sanidade das sementes e o manejo adequado da irrigação. Essas práticas têm limitado a ocorrência da doença a pequenos surtos, em áreas geográficas distintas (VENETTE et al., 1995).

Embora nenhum cultivar tenha sido encontrado imune à bactéria, vários apresentam diferentes graus de tolerância ou resistência. Efetivamente, o uso de sementes sadias ainda parece ser o método de controle mais efetivo (BEAN...,2004). Sementes produzidas em áreas secas, geralmente apresentam menores taxas de contaminação e, portanto, são mais indicadas para plantio (QUARANTINE..., 2000). No entanto, testes de sanidade devem ser aplicados até mesmo nessas amostras, já que o patógeno pode ser isolado de sementes aparentemente sadias (THOMAS e GRAHAM, 1952).

Medidas quarentenárias

C. flaccumfaciens pv. *flaccumfaciens* foi mantida sob regulamentação pela legislação fitossanitária brasileira, pelo seu potencial de dano e pela importância da cultura do feijão para o país. Da mesma forma que para *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*, o recente relato de sua ocorrência de no Brasil deve, não deve somente provocar sua exclusão da Lista A1 de pragas quarentenárias, mas exige que medidas de contenção da dispersão para as demais áreas produtoras sejam prontamente adotadas. É necessário que sejam feitos levantamentos em regiões produtoras para se conhecer a real distribuição da doença no país, para a

adoção de medidas que possam evitar sua disseminação. Essas medidas seriam estabelecidas em função da bioecologia do patógeno e da epidemiologia da doença, como sua principal forma de disseminação, condições que favoreçam seu estabelecimento e metodologia de certificação de material de propagação.

Uma vez estabelecidos os parâmetros para o “controle oficial ativo” dessa bacteriose, *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* deverá ser incluída na Lista A2 de pragas quarentenárias, continuando assim a ser regulamentada, minimizando dessa forma o risco de acarretar mais um sério problema à cultura do feijoeiro no Brasil.

Agradecimentos

Ao prof. Carlos H. Uesugi da Universidade de Brasília, pela cessão das fotos. A Sérgio Eustáquio de Noronha, pela confecção do mapa.

Referências Bibliográficas

- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 4th. ed. San Diego: Academic Press, 1997. 635 p.
- BEAN diseases and their control: importance in Canada. Disponível em: <www.agr.gc.ca/cal/epub/1758e/1758-0012>. Acesso em: 14 set. 2004.
- BRADBURY, J. F. **Guide to plant pathogenic bacteria**. Ferry Lane, Inglaterra: International Mycological Institute, 1986. 332 p. CAB.
- CALZOLARI, A.; TOMESANI, M.; MAZZUCCHI, U. Comparison of immunofluorescence staining and

indirect isolation for the detection of *Corynebacterium flaccumfaciens* in bean seeds. **EPPO Bulletin**, Paris, v. 17, p. 157-163, 1987.

CARLSON, R. R.; VIDAVER, A. K. Taxonomy of *Corynebacterium* plant pathogens, including a new pathogen of wheat, based on polyacrylamide gel electrophoresis of cellular proteins. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 32, p. 315-326, 1982.

COLLINS, M. D.; JONES, D. Reclassification of *Corynebacterium flaccumfaciens*, *Corynebacterium betae*, *Corynebacterium oorti* and *Corynebacterium poinsettiae* in the genus *Curtobacterium*, as *Curtobacterium flaccumfaciens* comb. nov. **Journal of General Microbiology**, London, v. 129, p. 3545-3548, 1983.

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE. **Distribution maps of plant diseases**: map n. 85. 5. ed. Farnham Royal, UK, 1992.

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

GUIMARÃES, P. M.; PALMANO, S.; SMITH, J. J.; GROSSI DE SÁ, M. F.; SADDLER, G. S. Development of a PCR test for the detection of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. **Antonie Van Leeuwen**, v. 80, p. 1-10, 2001.

HEDGES, F. A bacterial wilt of bean caused by *Bacterium flaccumfaciens* nov. sp. **Science**, Washington, v. 55, p. 433-434, 1922.

HEDGES, F. Bacterial wilt of beans (*Bacterium flaccumfaciens* Hedges) including comparisons with *Bacterium*

phaseoli. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 16, p. 1-21, 1926.

MARINGONI, A. C.; ROSA, E. F. Occurrence of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* on bean in the State of São Paulo, Brazil. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 160-162, 1997.

MIRANDA FILHO, R. J.; UESUGI, C. H. Comportamento de diferentes espécies vegetais em relação a *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* isolada de feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 92, 2004. Suplemento.

MIZUNO, A.; NOZU, Y.; KADOTA, I.; NISHIYAMA, K. The monoclonal antibodies against protein complex derived from *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**, Tokyo, n. 61, p. 69-74, 1995.

NUNES, L. M.; BEHLAU, F.; LEITE JUNIOR, R. P. Especificidade de primers para identificação e detecção de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* por PCR. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 243, 2004. Suplemento.

PARENTE, P. M. G.; SMITH, J.; SADDLER, G. S. **Detection and characterization of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens***. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF BACTERIOLOGY AND APPLIED BACTERIOLOGY, 9., 1999, Sydney, Austrália. **Annals...** [S.l.: s. n.], [1999?].

QUARANTINE pests for Europe: data sheets on quarantine pests for the European Communities and for the European and Mediterranean Plant Protection Organization. Wallingford: CABI: EPPO, 2000.

RAVA, C. A.; COSTA, J. G. C.; ZIMMERMANN, F. J. P. Variabilidade da reação em plantas da cultivar pérola de feijoeiro comum inoculadas com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 63, 2004. Suplemento.

SCHUSTER, M. L. Survival of bean bacterial pathogens in the field and greenhouse under different environmental conditions. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 57, p. 830, 1967.

TEGLI, S.; SERENI, A.; SURICO, G. PCR-based assay for the detection of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in bean seeds. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 35, p. 331-337, 2002.

THEODORO, G. F.; MARINGONI, A. C. Distribuição de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em lavouras de feijoeiro comum no Estado de Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 37, 2004. Suplemento.

THOMAS, W. D.; GRAHAM, R. W. Bacteria in apparently healthy pinto beans. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 42, p. 214, 1952.

VENETTE, J. R.; LAMPA, R. S.; GROSS, P. L. First report of bean bacterial wilt caused by *Curtobacterium flaccumfaciens* subsp. *flaccumfaciens* in North Dakota. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 79, p. 966, 1995.

YOUNG, J. M.; SADDLER, G. S.; TAKIKAWA, Y.; DE BOER, S. H.; VAUTERIN, L.; GARDAN, L.; GVOZDYAK, R. I.; STEAD, D. E. Names of Plant Pathogenic Bacteria 1864-1995. **Review of Plant Pathology, Survey**, v. 75, p. 721-763, 1966.

ZAUMEYER, W. J.; THOMAS, H. R. **A monographic study of bean diseases and methods for their control**. Washington: USDA, 1957. 255 p. (USDA. Technical Bulletin, 868).

<p>Comunicado Técnico, 117</p> <p>Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento</p>	<p>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 70770-900 – Caixa Postal 02372 PABX: (61) 448-4600 Fax: (61) 340-3624 http://www.cenargen.embrapa.br e-mail:sac@cenargen.embrapa.br</p> <p>1ª edição 1ª impressão (2004): 150 unidades</p>	<p>Comitê de Publicações</p> <p>Expediente</p>	<p>Presidente: Maria Isabel de Oliveira Penteado Secretário-Executivo: Maria da Graça Simões Pires Negrão Membros: Arthur da Silva Mariente Maria Alice Bianchi Maria da Graça S. P. Negrão Maria de Fátima Batista Maria Isabel de O. Penteado Maurício Machain Franco Regina Maria Dechechi Carneiro Sueli Correa Marques de Mello Vera Tavares de Campos Carneiro Supervisor editorial: Maria da Graça S. P. Negrão Normalização Bibliográfica: Maria Alice Bianchi e Maria Iara Pereira Machado Editoração eletrônica: Maria da Graça Simões Pires Negrão</p>
---	--	--	---