

39279

ZILÁ RIBEIRO DE ÁVILA

COMPORTAMENTO DE CULTIVARES E LINHAGENS DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) À DIFERENTES ISOLADOS DE *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* E SUA VARIANTE *fuscans*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Mestrado em Agronomia, área de Concentração em Fitossanidade para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Ricardo Magela de Souza

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1995

FICHA CATALOGRÁFICA PREPARADA PELA SEÇÃO DE CATALOGAÇÃO
E CLASSIFICAÇÃO DA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFLA

Ávila, Zilá Ribeiro de

Comportamento de cultivares e linhagens de Feijão (*Phaseolus vulgaris*) a diferentes isolados de *Xanthomonas campestris* pv. phaseoli e sua variante fuscans. / Zilá Ribeiro de Ávila. -- Lavras : UFLA, 1995.

46p.: il.

Orientador: Ricardo Magela de Souza.

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Feijão. 2. Crestamento bacteriano. 3. Doença. 4. *Xanthomonas campestris* pv. -- phaseoli. 5. *Xanthomonas campestris* pv. phaseoli variante fuscans. 6. Bactéria fito-patogênica. 7. Resistência genética. 8. Variedade resistente. 9. Genética vegetal. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD- 632.32

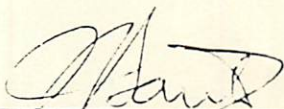
635.652932

ZILÁ RIBEIRO DE ÁVILA

COMPORTAMENTO DE CULTIVARES E LINHAGENS DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) À DIFERENTES ISOLADOS DE *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* E SUA VARIANTE *fuscans*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Mestrado em Agronomia, área de Concentração em Fitossanidade para obtenção do título de “Mestre”.

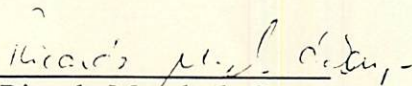
APROVADA: 31 de agosto de 1995



Prof. João Bosco dos Santos



Prof. Paulo Estevão de Souza



Prof. Ricardo Magela de Souza
(orientador)

DEDICO:

Àquele pelo qual foram feitas todas as coisas e sendo em forma de Deus, não teve por usurpação o ser igual a Deus, mas aniquilou-se a si mesmo, tomando forma de servo, fazendo-se semelhante aos homens; e achado na forma de homem humilhou-se a si mesmo, sendo obediente até a morte e morte de cruz. Pelo que também Deus o exaltou soberanamente e lhe deu um nome que é sobre todo nome, para que todo o joelho dos que estão nos céus e na terra se dobre:

JESUS CRISTO

**Aos meus sobrinhos:
Daniel, Pedro, Lanesca e Igor,
Ofereço.**

AGRADECIMENTOS:

A Deus pelo apóio constante;

Aos meus pais, Salvador e Marcolina, e a todos meus irmãos que sempre me incentivaram;

À Universidade Federal de Lavras em especial ao Departamento de Fitossanidade pela oportunidade oferecida para a realização deste curso;

À CAPES, pela concessão da Bolsa;

Ao Professor Ricardo Magela de Souza, pela orientação, incentivo e amizade;

Aos Professores Paulo Estevão de Souza e João Bosco dos Santos pelas valiosas sugestões dadas para o enriquecimento deste trabalho;

Ao Professor Hilário A. Castro, pelas sugestões na elaboração do projetos e pela amizade;

Aos demais Professores do Dpto. pelos valiosos ensinamentos;

Ao Professor Marcelo Silva Oliveira pelo auxílio nas análises estatísticas;

Aos funcionários do Departamento: Ana, Psida, Eliane, Augusto, Nazaré, Cleuza, Cléber, Agenor, Di Lourdes, Lisiane, Carlinhos, Antônio Carlos;

Aos funcionários da Biblioteca Central da UFLA;

Ao Carlinhos do DRCA, pela disposição em seu atendimento;

Um agradecimento especial à Eloisa A. Leite e Maria Sílvia, pela convivência, apóio, e carinho a mim dedicados;

Aos queridos amigos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho:

Adriane, Gina, Reisilane, Edson, J.Jorge, Dalmo, J. Hassuíke, Eduardo Alves, Leonardo, Mauro, Jamilson, Ângela, Hudson, Sônia, Murillo, Regina, Cristiane, Gracielle, M. de Lourdes Marcus, Geraldo Arquimedes, Wilson, Carlos Medeiros, Gilvânia, Samara, Luciano, Milton, Eduardo e Jaciara.

Aos meus amados irmãos na fé, das Igrejas Batistas de Buenópolis e de Lavras, pelas constantes orações e apóio nos momentos difíceis.

**“Que o Senhor vos abençoe e vos guarde!
Que Ele resplandeça o seu rosto sobre vós e
e vos dê a Paz!”**

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	vii
RESUMO	viii
SUMMARY	ix
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 O Crestamento Bacteriano Comum	4
2.2 Variabilidade patogênica	6
2.3 Métodos de inoculação e avaliações	8
2.4 Controle do CBC	15
2.5 Avaliação de germoplasmas de feijoeiro à Xcph e Xcphf.....	16
2.6 Resistência do feijoeiro a Xcph e a Xcphf.....	19
2.7 Materiais resistentes a Xcph	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 Local	21
3.2 Obtenção das cultivares e linhagens a serem testadas	21
3.3 Obtenção dos isolados de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> e var. <i>fuscans</i>	22
3.3.1 Isolamentos extraídos a partir de folhas	22

3.3.2 Isolamentos extraídos a partir de sementes	23
3.4 Preparo da suspensão para inoculação em plantas de feijoeiro	23
3.5 Procedimento experimental para avaliação em follhas.....	24
3.6 Procedimento experimental para avaliação em vagens	25
3.7 Avaliações	26
3.7.1 Avaliação dos sintomas observados nas folhas.....	26
3.7.2. Avaliação dos sintomas observados nas vagens.....	26
3.8 Análises Estatística e Genética.....	27
3.8.1 Análise da Variância.....	27
3.8.2 Estimativa da herdabilidade das reações de folhas e vagens.....	27
3.8.3 Estimativa dos coeficientes de correlação.....	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1 Reação à inoculação em folhas primárias	29
4.2 Reação à inoculação das vagens	31
4.3 Agressividade dos isolados.....	31
4.4 Estimativa da herdabilidade.....	34
4.5 Estimativa dos coeficientes de correlação fenotípica, ambiental e genética.....	35
5 CONCLUSÕES	37
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
7 ANEXO	45

LISTA DE TABELAS

TABELAS		página
1	Reação das cultivares e linhagens de feijão a isolados de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> e sua variante <i>fuscans</i> em folhas primárias e vagens	30
2	Patogenicidade dos isolados de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> e sua variante <i>fuscans</i> utilizados na inoculação das folhas primárias e vagens de feijoeiro.....	32

RESUMO

ÁVILA, Zilá Ribeiro de. **Comportamento de cultivares e linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) a diferentes isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e sua variante *fuscans*.** Lavras: UFLA, 1995. (Dissertação - Mestrado em Fitossanidade)* .

Avaliou-se em condições de casa de vegetação e de laboratório a reação de folhas e vagens de trinta linhagens e cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em relação a seis isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Xcph) e sua variante *fuscans* (Xcphf), provenientes do Estado de Minas Gerais. Para a inoculação das folhas primárias de plantas com 12 dias de idade, fez-se uso do método de incisão com tesoura previamente mergulhada em suspensão bacteriana, cuja absorvância a 600 nanômetros foi de 0,14 ($A_{600} = 0,14$). As vagens, aproximadamente 20 dias após o surgimento, foram colhidas, desinfetadas superficialmente, e inoculadas, por meio de perfurações com estilete em dois pontos distintos, sendo depositados em cada ponto, 10 μ l da suspensão bacteriana ($A_{600} = 0,14$). Após a inoculação, as vagens foram mantidas em placas de Petri, em condições de laboratório por 3 dias, recebendo luz adicional durante o dia por um período de 12 horas, a temperatura de 22 a 27°C. As avaliações foram feitas dez dias após a inoculação das folhas, mediante diagrama de notas variando de 1 a 5, e através de medições de dois diâmetros perpendiculares das lesões nas vagens, três dias após à inoculação. Com base nos resultados foi possível distinguir os genótipos resistentes

* Orientador: Prof. Ricardo Magela de Souza. Membros da Banca: Prof. Paulo Estevão de Souza e Prof. João Bosco dos Santos

(BAT-93, IAPAR-16, R-3) dos suscetíveis (CNF-10, T-16, R-161, P-180) para a reação foliar e de vagens. Foi verificada também variabilidade de patogenicidade em relação aos isolados utilizados, sendo que Xcph-CURV foi o mais agressivo para as folhas e Xcph-UFLA 2 para as vagens. O isolado de Guaxupé foi o de menor agressividade. Estimou-se a herdabilidade da reação à Xcph dos materiais testados, sendo que para as folhas foi obtido um valor de 91,49% e para as vagens de 63,73%, indicando que a reação do feijão à *Xanthomonas campestris* pv *phaseoli* é fácil de ser manipulada. Com base nos coeficientes de correlação obtidos, verificou-se que as reações de folhas e vagens estão geneticamente correlacionadas.

SUMMARY

BEHAVIOUR OF CULTIVARS AND LINES OF *Phaseolus vulgaris* L. TO DIFFERENTS ISOLATES OF *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* AND ITS VARIANT *fuscans*

The reaction of leaves and pods of 30 cultivars and lines of *Phaseolus vulgaris* to six isolates of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Xcph) and its variant *fuscans* (Xcphf) from the State of Minas Gerais, were evaluated under greenhouse and laboratory conditions. Leaf inoculation was done in plants with 12 days old by clipping with scissors dipped in an aqueous bacterial suspension with 0,14 absorbance in 600nm ($A_{600} = 0,14$). Twenty days pods, were disinfected and inoculated under laboratory conditions, by puncturing at the two sites, with a needle. Each site received 10 μ l of bacterial suspension ($A_{600} = 0,14$). The pods were kept in Petri dishes for three days, where they received additional lighting during the day for 12 hour period. Room temperature was maintained at 22-27°C during the days of incubation. The leaves reactions were evaluated ten days after inoculation, by giving notes from 1 to 5. Two perpendicular diameters of each lesion in a pod were measured the, 3 days after inoculation. The results showed that was possible to distinguish the resistant (BAT-93, IAPAR-16, R-3) and susceptible genotypes (CNF-10, T-16, R-161, P-180) based on reaction of leaves and pods.

It was verified differences in the pathogenicity of the isolates. Xcph-CURV isolate, was the most aggressive for the leaf reaction and Xcphf-UFLA-2 for the pods. The Guaxupé isolate was the less aggressive. The heritability estimates for leaf reaction and pods was 91,49% and 63,73% respectively, indicating that reaction of beans to *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* is easy to be genetically manipulated, and correlated.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil tem sido considerado o maior produtor de feijão, concentrando 25% da produção mundial (Hardy, 1993). Devido a este fato, muitos trabalhos de pesquisa vêm sendo desenvolvidos, objetivando a obtenção de plantas de melhor qualidade, tanto em relação à maior produção e tipo de grãos, como também em relação à resistência a doenças (Mohan e Mohan, 1983; Rava, 1984; Santos, Vencovsky e Ramalho, 1985; Santos e Vencovsky, 1986; Rava, Zimmermann e Romeiro, 1987; Araújo, Vieira e Chagas, 1989; Rava, Costa e Sartorato, 1992; Thung et al., 1993).

Dentre as várias doenças que ocorrem no feijão, merecem especial destaque o Crestamento Bacteriano Comum (CBC), cujo agente causal é *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Xcph) e o Crestamento Bacteriano Fosco causado por sua variante *fuscans* (Xcphf) (Rava e Sartorato, 1994). Estas bacterioses ocorrem em várias regiões do mundo, causando grandes perdas no rendimento (Serracin et al., 1991; Coyne et al., 1991; Myers, Hayes e Kolar, 1991; Park e Dhavantari, 1994). No Brasil, o CBC tem sido encontrado em quase todas regiões produtoras de feijão, apresentando grande importância nos Estados do Paraná, Rio de Janeiro, Brasil Central, e Zona da Mata de Minas Gerais (Araújo, Vieira e Chagas, 1989; Rava e Sartorato, 1994).

É facilmente disseminada por vários agentes, tais como, vento, água de chuva e de irrigação, insetos, e sementes, sendo que esta última é considerada o principal meio de sobrevivência e disseminação do patógeno.

O controle químico desta bacteriose há muito não tem sido eficiente (Mohamed, Arnaud-Santana, Coyne, 1993). Praticamente o seu controle, baseia-se em práticas culturais, tais com rotação de cultura, incorporação ou eliminação dos restos culturais, uso de sementes sadias e cultivares resistentes. O uso de sementes sadias tem apresentado limitações, uma vez que estas podem estar externamente sadias, porém infectadas, bem como pode existir inóculo na área de plantio. Diante disso, a medida que tem sido mais recomendada, é o uso de cultivares resistentes.

Muitos trabalhos vêm sendo realizados visando a obtenção de cultivares resistentes (Coyne e Schuster, 1973; Mohan e Mohan, 1983; Rava; Zimmermann e Romeiro, 1987; Scott e Michaels, 1992; Beaver, Steadman e Coyne, 1992). Entretanto, alguns entraves dificultam o sucesso destes trabalhos, como por exemplo, variabilidade patogênica, metodologia de inoculação e avaliações, os quais são muito variáveis, além da reação diferencial entre as folhas e vagens, podendo em uma mesma planta, ocorrer suscetibilidade nas vagens e resistência nas folhas, ou vice-versa (Rava, 1985). O ideal é que se obtenham plantas totalmente resistentes. Considerando os aspectos acima, objetivou-se com este trabalho:

a) Avaliar linhagens e cultivares de feijão em relação à seis isolados de *Xcph* e *Xcphf* de quatro localidades diferentes do Estado de Minas Gerais, através da observação dos sintomas em folhas e vagens:

b) Obter os coeficientes de correlação das reações das cultivares e linhagens mediante os sintomas observados nas folhas e vagens.;

c) Estimar a herdabilidade da reação do material testado;

d) Verificar a existência ou não de variação patogênica entre os diferentes isolados.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O Crestamento Bacteriano Comum (CBC)

O Crestamento bacteriano comum, causado por *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Xcph) e o fosco causado por sua variante *fuscans* são doenças de grande importância econômica na cultura do feijão, causando perdas no rendimento de 10 a 45% (Serracin et al., 1991). É uma bacteriose de ampla ocorrência, tendo sido encontrada em várias regiões do Brasil (Menezes, 1986; Araújo, Vieira e Chagas, 1989) e em outros países (Burkholder, 1921; Wallen e Sutton, 1965; Arnaud-Santana et al., 1991; Zapata et al., 1991; Serracin et al., 1991).

As condições ideais para o desenvolvimento da doença são alta umidade e temperaturas próximas de 28 a 30°C (Goss, 1940; Basu e Wallen, 1966; Arnaud-Santana et al. 1993). Uma vez existindo a fonte de inóculo na área de plantio do feijão, a bactéria, Xcph, pode ser disseminada por água de chuva ou irrigação, ventos, insetos. A sua penetração no tecido foliar se dá principalmente através dos estômatos, hidatódios e ferimentos (Kiraly, Klement e Vöros, 1974; Zaumeyer e Thomas, 1957, citados por Oleas-Arias, 1982). Posteriormente pode ocorrer infecção sistêmica, atingindo o sistema radicular, vagens e sementes (Burkholder, 1921; Saettler, 1971, Pompeu, 1977; Weller e Saettler, 1980).

Os sintomas nas folhas iniciam-se com pequenas áreas mostrando encharcamento seguido de clorose e murcha. Posteriormente, o tecido torna-se seco e

quebradiço circundado por um halo amarelado. Nas vagens, notam-se manchas com encharcamento, as quais gradualmente aumentam de diâmetro, formando-se lesões irregulares, cobertas pelo exsudato bacteriano. À medida que as lesões envelhecem, o tecido afetado perde a aparência de encharcamento, tornando-se seco, deprimido e de coloração avermelhada. Das vagens, a bactéria transloca para a semente. Se a infecção ocorre quando as vagens estão verdes e tenras, há o apodrecimento ou enrugamento das sementes. Na haste do feijão, vários tipos de lesões têm sido observadas. Nas plântulas, as lesões se apresentam como pequenas áreas encharcadas semelhantes às das vagens. Em plantas mais velhas, as lesões são avermelhadas estendendo-se longitudinalmente no caule, tornando-se deprimidas com fendilhamento na superfície (Burkholder, 1921).

A semente é considerada o principal meio de disseminação e sobrevivência da bactéria (Schuster e Coyne, 1974). A sobrevivência na semente é tão longa quanto a sua própria viabilidade podendo ser isolada a partir de lotes armazenados por até 15 anos (Zaumeyer e Thomas, (1957); Basu e Wallen, (1966); Schuster e Sayre, (1967) citados por Oleas-Arias (1982)). Poucas sementes infectadas podem resultar em desastrosas epidemias (Kimati, 1980). Em estudos epidemiológicos de campo no Canadá, ficou demonstrado que níveis de infecção de sementes de apenas 0,5% ocasionaram séria epidemia na cultura (Wallen e Sutton, 1965).

Além da infecção na semente, deve-se considerar a presença da bactéria sobre resíduos da cultura no solo. Sabet e Ishag (1969), verificaram a sobrevivência de *Xcph* e manutenção de patogenicidade em folhas secas infectadas, mantidas sob condições de temperatura ambiente, por 18 meses. Segundo Schuster (1970), citado por Olea-Arias (1982), a bactéria, quando presente, sobre a superfície do solo, na palha, sobreviveu por 10 meses,

sendo que esta sobrevivência foi menor, quando a palha foi incorporada a 20 cm de profundidade. Arnaud-Santana et al. (1991), conseguiram isolar Xcph de restos foliares mantidos sob o solo por 6 a 7 meses.

2.2 Variabilidade Patogênica

Muitos trabalhos foram realizados visando a comprovação da variabilidade entre isolados distintos de Xcph. Schuster, Coyne e Hoff (1973), trabalhando com quatro isolados da bactéria provenientes de localidades diferentes (XpC6 e XpC7 da Colômbia, XpS de Nebraska e XpU-2 de Uganda), constataram que os isolados da Colômbia e da Uganda foram mais patogênicos que o isolado padrão de Nebraska, em relação a oito cultivares diferentes de *Phaseolus* spp. Rava e Romeiro (1990), comparando 15 isolados de Xcph, provenientes de 7 estados do Brasil, quanto a patogenicidade em relação a cinco cultivares de feijoeiro comum, obtiveram diferenças altamente significativas entre cultivares e isolados, sendo que o isolado XpCNF-28 (de Pernambuco) superou o isolado CNF-15, usado como padrão.

Valladares-Sanchez, Coyne e Schuster (1979), estudando a reação diferencial de folhas e vagens, em condições de casa de vegetação, de linhas tolerantes de *P. vulgaris*, *P. coccineus*, *P. acutifolius* aos isolados de *X. phaseoli* provenientes das regiões de Nebraska, Michigan, Brasil e Uganda, verificaram que o isolado brasileiro foi o mais virulento em todas as linhas de *P. vulgaris*, no entanto, estas foram tolerantes aos isolados provenientes dos Estados Unidos. Em *P. coccineus*, os mesmos isolados apresentaram menor severidade nas folhas, do que nas vagens. Em relação as linhas de *P. acutifolius*, estes isolados foram menos severos tanto em folhas quanto em vagens, classificando-as como tolerantes. Schuster et al. (1983),

avaliando oito linhas resistentes de *P. vulgaris*, uma de *P. acutifolius*, e uma suscetível 'Dark Red Kidney' em relação a sete isolados provenientes da República Dominicana e um de Nebraska, verificaram que o isolado de Nebraska (EK-11) causou menor índice de severidade de sintomas nas vagens, sendo entretanto um dos mais severos nas folhas. O isolado DR-7 da República Dominicana foi mais severo nas vagens. De um modo geral foram verificadas diferenças entre os próprios isolados da República Dominicana. Rava (1984), em trabalho conduzido na Colômbia, comparando a patogenicidade de isolados de Xcph provenientes do Brasil, Colômbia, Uganda, Estados Unidos, Porto Rico sobre as linhagens L-32, PI 207262, Jules e P 597, separou os isolados em grupos diferentes de patogenicidade, sendo que os isolados do Brasil, com exceção do Xp CNF-17, permaneceram no grupo de maior patogenicidade.

Com referência à diferença de patogenicidade entre isolados de Xcph e sua variante *fuscans* (Xcphf), observa-se uma certa controvérsia entre vários autores. Wallen e Sutton (1965), em teste de patogenicidade de isolados de Xcph e Xcphf na cultivar Sanilac, verificaram que a variante *fuscans* causou maior hipertrofia no ponto de inoculação e uma maior descoloração nos nós e pecíolos das folhas e nas sementes. Ekpo e Saettler (1976) também relataram maior patogenicidade em seis cultivares de *P. vulgaris*, da variante *fuscans*. Webster, (1978) citado por Rava, (1984), relatou maior patogenicidade em Xcph. Arp (1971), Cafati e Kimati, (1972), citados por Rava (1984) não detectaram diferença de patogenicidade entre os dois agentes. Valladares-Sanchez, Coyne e Schuster (1979), utilizando um isolado da variante *fuscans* proveniente de Uganda e quatro isolados de Xcph (Nebraska, Michigan e Brasil), frente a diferentes espécies de *Phaseolus*, verificaram que Xcphf foi menos patogênico que o isolado do Brasil, mas foi mais patogênico que os isolados das outras regiões.

2.3 Métodos de Inoculação e Avaliação

Diversos métodos de inoculação têm sido utilizados para avaliar a reação de cultivares e linhagens de feijão a Xcph e Xcphf.

Wallen e Sutton (1965), verificando a patogenicidade de isolados extraídos de sementes de feijão, utilizaram a técnica da injeção de suspensão bacteriana no sistema vascular de plantas com 14 dias de idade, obtendo resultados os quais permitiram diferenciar o grau de patogenicidade entre os isolados.

Sabet e Ishag (1969), em estudos de disseminação e sobrevivência de Xcph, a partir de culturas bacterianas de 48 horas de idade realizaram a pulverização e fricção da superfície inferior da folha de plantas de feijoeiro, observando posteriormente a ocorrência de sintomas típicos da doença.

Schuster, Coyne e Hoff (1973), em estudos comparativos de virulência entre isolados provenientes de diferentes localidades, usou o método de encharcamento foliar, com uma suspensão de 10^8 cel/ml em plantas de *P. vulgaris*, *P. acutifolius*, *P. coccineus* com 4 semanas após plantio. A avaliação foi feita após 3 semanas, sendo que este método foi eficiente para distinguir os isolados em relação à menor ou maior patogenicidade.

Pompeu (1977), verificando diferenças no estabelecimento da bactéria em hastes de plantas de feijão resistentes e suscetíveis, de 4 dias de idade, utilizou o método de injeção do hipocótilo com uma concentração bacteriana de 5×10^8 cel./ml. A ocorrência de murcha das folhas primárias foi verificada após 72 horas nas suscetíveis, enquanto que as resistentes se desenvolveram normalmente sem nenhum sintoma da doença.

Yoshii, Galvez-E, e Alvarez-A (1978), selecionando germoplasmas tolerantes à Xcph em condições de casa de vegetação, realizaram inoculações através da introdução de palito previamente contaminado em colônias bacterianas de 2 dias de idade, no nó cotiledonar das plântulas de feijão. A avaliação foi feita após duas semanas. Em condições de campo, esses mesmos autores, realizaram a inoculação de plantas com cinco semanas após plantio, através do método de pulverização, sendo que foram feitas inoculações posteriores para facilitar a infecção secundária. A concentração do inóculo foi de 5×10^7 cel/ml. A avaliação foi feita 3 semanas após, tanto em folhas quanto em vagens. PI 169932 e Tepary Nebraska (linhas de *P. acutifolius*), apresentaram o maior grau de tolerância tanto em folhas quanto em vagens.

Cafati e Saettler (1980), verificando a transmissibilidade de Xcph em sementes de genótipos de feijão suscetíveis e resistentes a Xcph, em condições de casa de vegetação e campo, inocularam vagens verdes através do método de ferimento ao longo da sutura dorsal com seringa contendo suspensão bacteriana na concentração de $5,0 \times 10^7$ cel/ml. A avaliação foi feita quando as vagens atingiram a maturidade. As vagens dos genótipos resistentes e suscetíveis desenvolveram diferentes reações à doença, entretanto, as sementes de ambos com ou sem sintomas externos estavam infectadas.

Schuster et al. (1983), avaliando a reação de fontes resistentes à Xcph, utilizaram o método de agulhas múltiplas para inoculação foliar em plantas de 3 semanas de idade apresentando o primeiro trifólio completamente desenvolvido. A concentração da suspensão bacteriana utilizada foi de 10^7 cel/ml. As vagens foram inoculadas com culturas de 2 dias através de perfurações com agulha em três pontos entre os grãos em desenvolvimento. As reações tanto em vagens quanto em folhas foram determinadas 12 dias após à inoculação, verificando-se interação entre isolados e cultivares.

Mohan e Mohan (1983), visando a incorporação de resistência à Xcph realizaram o cruzamento entre cultivares comerciais de feijão suscetíveis (Carioca, Rosinha, Moruna, Tibagi, Iguaçu) com 'Great Northern Nebraska #1 sel. 27' que possui moderado grau de resistência. Para a inoculação das folhas foi utilizado o método de agulhas múltiplas. A concentração do inóculo foi de 10^7 ufc/ml. A avaliação foi feita quinze dias após a inoculação. No campo, as vagens foram inoculadas nas depressões entre os grãos, na fase de seu enchimento, com uma agulha mergulhada na cultura sólida da bactéria. A avaliação foi feita 7 dias após inoculação. Alguns dos cruzamentos resultantes produziram segregantes com grau de resistência superior à fonte utilizada. Rava (1984), Rava e Romeiro (1990), avaliando a patogenicidade de isolamentos de Xcph, utilizaram a técnica de incisão das folhas primárias de plantas com onze dias de idade, com tesoura previamente mergulhada em suspensão bacteriana. A avaliação foi realizada aos 5 e 7 dias após a inoculação. A concentração utilizada foi de 5×10^7 cel/ml. Os métodos de inoculação e avaliação dos sintomas permitiram estabelecer diferenças entre a patogenicidade dos isolados, e entre o grau de tolerância das cultivares.

Faria e Melo (1989), obtiveram resultados altamente satisfatórios em condições de campo inoculando plantas de feijão com o polvilhamento motorizado de areia, seguindo ou antecedendo a pulverização bacteriana, sendo que este método permitiu diferenciar cultivares com baixos graus de resistência entre si. Foram verificados níveis mínimos e máximos de 28 a 68% das folhas analisadas com sintomas contra 8 a 16% de incidência natural. As inoculações foram feitas em plantas com 15 dias de idade após o plantio, e a avaliação da severidade da doença foi feita mediante porcentagem de área foliar afetada.

Zapata, Freytag e Wilkinson (1985), avaliando a resistência do feijoeiro à Xcph, utilizaram vários métodos de inoculação em folhas e vagens destacadas. Para as folhas o melhor método foi o de agulhas múltiplas e para as vagens foi o de ferimento com agulhas paralelas.

Rava, Zimmermann e Romeiro (1987), estudando a reação de 60 populações provenientes de 10 cruzamentos de cultivares de feijão em relação a Xcph, inocularam vagens destacadas, através de seringa hipodérmica, sendo feita três perfurações por vagem. A concentração da suspensão bacteriana foi de 10^8 cel/ml. Os resultados foram obtidos após 3 dias de incubação.

Murillo et al. (1990), avaliaram a reação de 6 genótipos de *P. vulgaris*, à *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*, através de inoculação, pelo método de cortes paralelos dos folíolos com um par de lâminas ajustadas a uma haste de madeira. Os folíolos eram apoiados sobre uma esponja umedecida com a suspensão bacteriana no momento do corte. As vagens foram inoculadas mediante perfurações com agulha em três locais distintos entre os grãos. Tais métodos permitiram obter distinção entre os genótipos suscetíveis e resistentes.

Os esquemas de avaliação das doenças são muito variáveis, e são baseados na severidade dos sintomas apresentados. A seguir serão descritas algumas escalas normalmente utilizadas:

Pompeu e Crowder (1972):

Método de inoculação com agulhas múltiplas em folhas primárias.

1 - Ausência de sintomas na área inoculada; 2 - Amarelecimento da área inoculada; 3 - Murcha ou necrose em até 25% da área inoculada; 4 - Murcha ou necrose em até 50% da área; 5 - Murcha ou necrose em até 75%; 6 - Murcha ou necrose em 100% da área inoculada.

Pompeu e Crowder (1973):

Método de encharcamento foliar com Devibiss

1 - Sem morte do tecido na área inoculada; 2 - Morte do tecido da área inoculada; 3 - Pequeno halo amarelo ao redor da área inoculada; 4 - Halo amarelo de tamanho médio; 5 - Halo amarelo maior que do item 4; 6 - Amarelecimento total da folha.

Método de inoculação foliar com fricção com carborundum:

1 - Sem sintomas nas folhas; 2 - Poucas manchas necróticas; 3 - Necrose cobrindo mais de 25% da folha; 4 - Necrose em até 50%; 5 - Necrose em até 75%; 6 - Necrose em até 100%

Método de inoculação do hipocótilo com agulha hipodérmica

1 - Desenvolvimento normal sem sintomas nas folhas; 2 - Folhas primárias sem sintomas, mas as plântulas mostram crescimento retardado; 3 - Folhas primárias com encharcamento e plantas pequenas; 4 - Uma das folhas primárias murcha e o primeiro trifólio em início de murcha; o segundo com desenvolvimento normal; 5 - Folhas primárias murchas e o primeiro trifólio murcho; 6 - Morte da plântula.

Yoshii, Galvez-E e Alvarez-A (1978):

Método de inoculação: pulverização foliar

1 - Sem sintomas visíveis: (Altamente resistente); 2 - Pequenas lesões sobre 1 a 5% das folhas: (Tolerante); 3 - Moderado número de lesões de vários tamanhos com algumas folhas cloróticas: (Moderadamente suscetível); 4 - Muitas lesões grandes e severas em muitas folhas, evidenciando clorose e necrose: (Suscetível); 5 - Infecção muito severa, plantas cloróticas e necróticas e grande desfolhamento: (Muito suscetível);

Notas para as vagens: inoculação por pulverização

1 - Sem lesões: (Tolerante); 2 - Poucas lesões: (Intermediária); 3 - Grande número de lesões: (Suscetível)

Fernandez-Isaula (1982)

Método de inoculação foliar mediante corte com 2 lâminas paralelas:

1 - Ausência de sintomas: (Altamente Resistente); 2 - Pouca clorose ou necrose ao longo dos cortes: (Resistente); 3 - Clorose e/ou necrose ao longo dos dois cortes e nas margens das folhas: (Medianamente resistente); 4 - Clorose e/ou necrose com murcha em até 50% da área compreendida entre os cortes: (Suscetível); 5 - Clorose e/ou necrose em mais de 50% da área compreendida entre os cortes: (Altamente suscetível).

Rava (1984):

Método de incisão com tesoura das folhas primárias

0 - Ausência de sintomas; 1 - Clorose descontínua nos cortes; 2 - Clorose contínua no corte; 3 - Clorose nos cortes e murcha do bordo da folha compreendido entre os cortes sem entretanto ultrapassar a nervura lateral; 4 - Clorose e murcha que ultrapassam a nervura lateral; 5 - Clorose e murcha até o nível dos cortes; 6 - Clorose avançando em torno de 1 cm no interior da folha, e murcha da área cortada.

Aggour e Coyne (1989):

Método de inoculação foliar com agulhas múltiplas

1 - Sem clorose ou necrose: (Completamente resistente); 2 - 1 a 12,5% da área inoculada: (Altamente resistente); 3 - 13-25,5%: (Moderadamente resistente); 4 - 26-38,5%: (Baixa

resistência); 5 - 39-51,1% (Baixa suscetibilidade); 6 - 52-64,5%: (Moderadamente suscetível); 7 - 65-77,5%: (Altamente suscetível); 8 - 78-90,5%: (Muito suscetível); 9- $\geq 91\%$: (Severamente suscetível).

Método de inoculação das vagens por ferimentos com agulha (comprimento da lesão)

1 - Sem sintoma visível; (Completamente resistente); 2 - lesões com comprimento entre 0,5 e 1,0 mm: (Altamente resistente); 3 - lesões com comprimento entre 1,0 e 2,0 mm: (Moderadamente resistente); 4 - lesões entre 2,0 e 3,0 mm: (Baixa resistência); 5 - lesões entre 3,0 e 4,0 mm: (Baixa suscetibilidade); 6 - lesões entre 4,0 e 5,0 mm: (Moderada suscetibilidade); 7 - lesões entre 5,0 e 6,0 mm: (Alta suscetibilidade); 8 - lesões entre 6,0 e 7,0 mm: (Muito suscetível); 9 - lesões maiores que 7 mm: (Severamente suscetível).

Zapata et al (1991):

Método de inoculação foliar com agulhas múltiplas

1 - Ausência de sintomas: (Resistente); 2 - Pouco desenvolvimento da doença com poucas lesões cloróticas e pequenas necroses: (Levemente suscetível); 3 - Necrose em 1/4 do tecido afetado: (Moderadamente suscetível); 4 - Necrose em 50% do tecido: (Suscetível); 5 - 100% do tecido foliar afetado: (Altamente suscetível).

Arnaud-Santana, et al(1993):

Método de inoculação foliar através de corte com lâmina

1 - 1,0 mm de lesão; 2 - 1,1 a 2,0 mm; 3 - 2,1 a 3,0 mm; 4 - 3,1 a 4,0 mm; 5 - $> 4,0$ mm.

2.4 Controle do CBC

O tratamento químico para esta bacteriose não tem sido muito eficiente, principalmente devido ao fato do surgimento de mutantes resistentes aos produtos usados (Ralph, 1977). Algumas medidas de controle recomendadas são o uso de sementes sadias, rotação de cultura, eliminação de restos culturais que se constituem em fonte de inóculo, e o uso de cultivares resistentes (Webster, Temple e Schwartz, 1980; Zapata, 1985).

O uso de sementes sadias por si só, não garante o controle, da doença pois o patógeno pode sobreviver nos restos de cultura e em plantas hospedeiras sendo posteriormente disseminado na cultura, (Kimati, 1980). Além disto, o uso de sementes certificadas pode não ser uma medida muito eficiente, pois nas inspeções de campo, feitas por observação dos sintomas nas plantas, pode ocorrer que a bactéria esteja presente, porém sem manifestar sintomas devido a condição ambiental desfavorável ao seu desenvolvimento. Já nas inspeções feitas na fase de maturidade da cultura, podem ocorrer dificuldades em distinguir a infecção nas folhas mais velhas devido a senescência normal do tecido, e o mascaramento dos sintomas por outros patógenos. Na fase de colheita, as folhas infectadas podem contaminar as sementes, e baixos níveis de infecção podem não ser detectados em testes de laboratório. Posteriormente se estas sementes são semeadas, em condições favoráveis resultam em severa infecção na cultura (Copeland, Adams e Bell, 1975; Ralph, 1977). Mesmo em sementes certificadas, a presença de Xcph, já foi detectada (Schnathorst, 1954; Contreras de Velasquez e Trujillo 1984).

A curto prazo, um bom nível de controle pode ser conseguido com a utilização de sementes sadias, em locais livres de inóculo do patógeno. Contudo, a medida que tem sido mais recomendada é a utilização de cultivares resistentes.

2.5 Avaliação de Germoplasmas de feijão à Xcph e Xcphf

Sendo a utilização de plantas de feijão resistentes ao CBC, considerada a medida de controle mais efetiva, muitos trabalhos têm sido realizados em várias regiões do mundo, objetivando a obtenção de material resistente a esta bacteriose.

Coyne e Schuster (1973) avaliando em diferentes anos a reação de germoplasmas de *Phaseolus vulgaris*, *P. coccineus*, *P. acutifolius* a estirpes de Xcph em condições de campo, através da observação de sintomas até o final do ciclo da cultura, classificaram as seguintes linhas com alto grau de tolerância: PI 16972, PI 207262, PI197687, PI 157399, PI 163117, Guali e 'Great Northern Nebraska# 1 sel. 27' (linhas de *Phaseolus vulgaris*), 'Tepary buff' (*P. acutifolius*), sendo que esta apresentou o maior grau de tolerância e não mostrou sintomas, e 'Barteldes Lima' (cultivar de *P. coccineus*). Estes autores verificaram também que a tolerância ao CBC, estava sempre associada com a maturidade tardia de *P. vulgaris*. Em 1974, Coyne e Schuster, confirmaram a tolerância de 'G. N. Nebraska# 1 sel. 27' e 'PI 207262' à Xcph.

Mohan (1981), estudando a relação entre dias de floração e resistência ao CBC, em algumas cultivares (Iguaçu, Moruna e Carioca) e linhagens resistentes a esta bacteriose, obtidas do cruzamento destas cultivares comerciais com 'G.N. Nebraska # 1 sel. 27', verificaram que as comerciais foram suscetíveis ao CBC, enquanto os cruzamentos dessas, resultaram em segregantes com nível de resistência superior ao dos progenitores, e de maneira geral mantiveram o período de floração semelhante ao das comerciais. Entretanto algumas segregantes foram precoces ou tardias na floração e tolerantes a bacteriose.

Mohan e Mohan (1983), visando a incorporação de resistência ao CBC, realizaram cruzamentos entre cultivares comerciais suscetíveis (Carioca, Rosinha, Moruna, Rio Tibagi e Iguazu) e 'G.N. Nebraska # 1 sel. 27', (resistente), obtendo novamente segregantes com grau de resistência superior à fonte utilizada. Novos cruzamentos destas linhagens entre si, e com outra fonte de resistência PI 207262, resultaram em linhagens com alto grau de resistência foliar, acompanhado em alguns casos por resistência das vagens e características agronômicas desejáveis. Rava, Sartorato e Romeiro (1990), avaliando sessenta cultivares de feijão inoculadas com o isolado de Xcph, XpCNF-15, em condições de campo e casa de vegetação, obtiveram um coeficiente de correlação altamente significativo ($r = 0,66$), entre os dois ambientes. Baseados nos resultados dos dois experimentos, puderam classificar, 'P597', 'Feijão 60 dias', 'GN Jules', 'PI 207262', 'Coleccion 10 B', 'México 240' e 'Desconhecido Amarelo', como resistentes; 65(B) 'Retinto Santa Rosa', 'Retinto Dulce', 'Col. 736652,S-67', 'México 29' e 'Sacavem' como moderadamente resistente.

Zapata et al. (1991), combinando diferentes fontes de resistência ao CBC, conseguiram incorporar com sucesso, genes de resistência de plantas de feijão de crescimento indeterminado em plantas de crescimento determinado, através do método de retrocruzamento modificado.

Scott e Michaels (1992), obtiveram linhas resistentes a partir do cruzamento interespecífico de *P. vulgaris* e *P. acutifolius*, verificando também que a redução na produção de sementes destas linhas foi muito baixa ou quase nula, em relação às linhas suscetíveis que apresentaram uma redução de 25%.

Beaver, Steademan e Coyne (1992) verificaram a reação de 25 genótipos do feijão 'Red Mottled' a Xcph em Porto Rico por dois anos e constataram que a média da

severidade de sintomas foi sempre semelhante. Os genótipos de hábito determinado apresentaram quase o dobro de doença ocorrida nos de hábito indeterminado. Os tamanhos das zonas cloróticas ao redor das lesões variaram entre as estações de crescimento, mostrando que as condições ambientais podem influenciar a expressão de sintomas.

Rava, Costa e Sartorato (1992), utilizando o método genealógico após o cruzamento entre as cultivares de feijoeiro comum PI 207262 e Aroana obtiveram 16 linhagens que apresentaram reação foliar inferior ou igual ao progenitor resistente. Também foram avaliadas 539 linhagens AN provenientes do programa para resistência a antracnose do CNPAF, 1232 introduções do CIAT e 132 materiais provenientes de coleta de germoplasma no Brasil, obtendo-se respectivamente, 29, 16, 2, linhagens com resistência de campo ao CBC e a raça alfa-Brasil de *Colletotrichum*.

Mmbaga, et al. (1992), trabalhando com 34 linhas derivadas do feijão 'Pompador' e três linhas provenientes da República Dominicana, co-inocularam em folhas separadas, culturas de *Uromyces appendiculatus* e Xcph, verificando que as linhas K, A E, R, e M apresentaram resistência moderada a Xcph e resistência ou resistência moderada a *Uromyces appendiculatus*, podendo ser usadas como novas fontes de germoplasma para resistência a múltiplas doenças.

Mohamed, Arnaud-Santana e Coyne (1993), utilizando o método de enraizamento de folhas destacadas de feijoeiro, para investigar a reação deste, à Xcph, verificaram que as reações das folhas enraizadas foram semelhantes às das folhas não destacadas, indicando a eficiência deste método na utilização da seleção de linhas resistentes a múltiplas doenças.

2.6 Resistência do feijoeiro a *Xcph* e *Xcphf*

Pompeu e Crowder (1972), realizando cruzamentos entre linhas de feijão resistente (7272-1) x resistente (7299-2), resistente (7272-1) x suscetível (Rk-1 e BTS-1), e suscetível (RK-1) x suscetível (BTS-1), visando estudos de herança, verificaram que a resistência nestas linhas a *Xcph* era condicionada por poucos genes, cujo efeito médio é de dominância parcial. Este caráter foi quantitativo e altamente herdável. No sentido amplo, a herdabilidade foi de 79 a 91%, e no sentido restrito foi de 45 a 88%. Foi observada segregação transgressiva em todos os cruzamentos, mostrando que o nível de resistência a esta bactéria pode ser aumentado através de cruzamentos entre linhagens resistentes ou entre pais resistentes e suscetíveis.

Coyne e Schuster (1974), em programa de melhoramento desenvolvido para obtenção de variedades tolerantes à *Pseudomonas phaseolicola*, *Xcph*, e *Corynebacterium flaccumfaciens*, verificaram que a reação a *Xcph* era herdada quantitativamente por genes diferentes. Finke, Coyne, e Steadman (1986), em estudos de herança, relataram que a distribuição contínua à reação a *Xcph* nas famílias F_2 indicava herança quantitativa. Para a família F_2 do cruzamento P_1 (Pompadour Checa) x P_2 (GN. Tara) houve dominância da susceptibilidade, e para a família F_2 do cruzamento P_1 x P_3 (Cornell 79-1953- N Nebr. sel. W-4) houve dominância para resistência. A herdabilidade calculada no sentido restrito foi baixa (4 a 22%). Rava, Zimmermann e Romeiro (1987), estudando 60 populações de 10 cruzamentos entre cultivares de feijão com diferentes graus de suscetibilidade a *Xcph*, constataram através de modelos de ação gênica, a existência de efeito gênico aditivo para resistência da reação em folhas e vagens, obtendo altas estimativas da herdabilidade no sentido amplo e restrito em

relação a reação foliar. Zapata et al. (1991) verificaram também que a herança do feijão a Xcph era controlada por genes modificadores os quais aparentemente agem de maneira aditiva. Park e Dhavantari (1994), trabalhando com o germoplasma HR 45 observaram novamente a resistência devido a genes aditivos e dominantes.

2.7 Materiais resistentes à Xcph

Muitos materiais tem sido liberados como resistentes a Xcph. Mohan e Mohan (1983), obtiveram as linhagens IAPAR-Bac-4, IAPAR-Bac-6, IAPAR-Bac-20, IAPAR-Bac-1, IAPAR-Bac-9, e IAPAR-Bac-2, com alto grau de resistência ao CBC. Estas linhagens foram resultantes do cruzamento de G.N. Nebraska # 1 sel 27 (resistente) com as cultivares Carioca, Rosinha e Moruna (suscetíveis), e subsequentes cruzamentos entre si com PI 207-262. Rava, Sartorato e Romeiro (1990), avaliando cultivares de feijoeiro à Xcph, classificaram, 'Feijão 60 dias', 'Desconhecido Amarelo', como resistentes. Oliari et al. (1987), citados por Rava, Costa e Sartorato (1992), obtiveram as cultivares IAPAR-14 e IAPAR-16, como resistente ao CBC, utilizando como fonte de resistência, GN Nebraska # 1 sel 27. Em outros países, alguns materiais também foram desenvolvidos apresentando resistência ao CBC, tais como, 'UI722', LRS92-1, 'Sirius', e HR- 45 (Myers, Hayes e Kolar, 1991; Saidon et al., 1993; Redden, 1993; Park e Dhavantari, 1994).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

O presente trabalho foi realizado em condições de casa de vegetação e no laboratório de Bacteriologia do Departamento de Fitossanidade da Universidade Federal de Lavras (UFLA). A cidade de Lavras, está localizada na região Sul do Estado de Minas Gerais, situando-se a uma altitude de 918 m e, a 21°14' de latitude Sul e 45°00' de longitude Oeste (Brasil, 1969).

3.2 Obtenção das cultivares e linhagens a serem testadas

Foram utilizados 30 cultivares e linhagens de feijão usadas no Programa de Melhoramento do Departamento de Biologia da UFLA incluindo os padrões suscetíveis (CORNELL, CNF-10), as resistentes (IAPAR-14, IAPAR-16), e BAT-93 (resistente), obtida do CNPAF/ EMBRAPA (Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão).

3.3 Obtenção dos isolados de *Xantomonas campestris* pv. *phaseoli* e var. *fuscans*

3.3.1 Isolamentos a partir de folhas

Folhas de plantas de feijoeiro apresentando sintomas de crestamento bacteriano comum (CBC), foram coletadas no Campus da Unversidade Federal de Lavras.

Inicialmente procedeu-se o teste de exsudação em gotas para confirmação da presença da bactéria na lesão. Para isso recortaram-se dos bordos das lesões, pequenas seções (3 a 4 mm²). Após confirmação, procedeu-se a desinfecção superficial das folhas, a fim de evitar a contaminação por organismos saprófitas. Para tanto, as folhas foram lavadas com a água de torneira, sendo recortados pequenos fragmentos entre região de transição de tecido sadio e doente, de aproximadamente 0,5 cm², sendo então levados para câmara de fluxo laminar, onde foram imersos por 30 segundos em álcool 50%, em hipoclorito de sódio a 2% por 1 minuto e finalmente lavadas por três vezes em água destilada esterilizada. Após a desinfecção superficial, os fragmentos foram colocados em placa de Petri esterilizada, depositando-se sobre os mesmos uma gota de água destilada esterilizada, e com auxílio de um bastão de vidro previamente flambado, procedeu-se a maceração dos fragmentos. O macerado obtido, foi transferido com o auxílio de uma alça de platina para placas de Petri contendo o meio EPGA (Valarini, 1990). Em seguida, as placas foram incubadas a uma temperatura de 28°C por 72 horas. Após o crescimento, foram observadas a pureza e a morfologia das colônias sendo então posteriormente repicadas para tubos de ensaio contendo o meio EPGA. Para a identificação da espécie, fez-se o uso do teste de hidrólise de amido, específico para o gênero *Xanthomonas* (Starr, 1983, citado por Maringoni, et al., 1993) e teste de patogenicidade em

plantas de feijoeiro, o qual consistiu na inoculação dos isolados mediante a técnica de incisão das folhas trifolioladas com tesoura previamente mergulhada no inóculo, e posterior verificação dos sintomas e reisolamento.

Os isolados obtidos foram Xcphf UFLA-2, Xcph UFLA-3, Xcph UFLA-4.

3.3.2 Isolamentos a partir de sementes

Amostras de sementes de feijoeiro provenientes do Estado de Minas Gerais, dos municípios de Curvelo (Centro Norte), Guaxupé (Sul), Unai (Noroeste), Montes Claros (Norte), Sete Lagoas (Centro Norte), Varginha (Sul), Paracatu (Noroeste), Lassance (Norte), Lavras (Sul), foram utilizadas para a extração da bactéria.

De cada amostra, foram retirados 200 g de sementes. Estas foram lavadas em água de torneira por 3 a 5 vezes, para a eliminação de resíduos de impurezas. Posteriormente foram levadas para câmara de fluxo laminar, onde foram transferidas para recipientes esterilizados no qual se adicionaram 250 ml de água destilada esterilizada, passando por um período de incubação de 24 horas à uma temperatura de 5 a 10°C. Após este período, as amostras retornaram para a câmara de fluxo laminar, onde de cada recipiente foi retirado 1 ml do extrato para posteriores diluições de -1 a -5, em tubos contendo água destilada esterilizada. Aliquotas de 0,1 ml de cada tubo foram pipetadas e transferidas para placas, contendo o meio EPGA e espalhadas com alça de Drigalsky, sendo incubadas a 28°C por 72 horas. Para a identificação da espécie, utilizou-se o mesmo procedimento do item 3.3.1. os isolados obtidos foram : Xcph CURV (Curvelo), Xcphf GUAX (Guaxupé), Xcph UNAI (Unai).

3.4 Preparo da suspensão para inoculação em plantas de feijão

Os isolados obtidos de folhas e sementes foram repicados, pelo método de estrias, em placas de Petri, contendo o meio EPGA e incubados à temperatura de 28°C por 48 horas. Após a incubação foi preparada a suspensão bacteriana pela adição de solução salina (0,85% de cloreto de sódio) esterilizada, nas placas; a homogeneização com auxílio de alça de Drigalsky e posterior filtração em gase. A seguir a concentração foi ajustada em espectrofotômetro para $A_{600} = 0,14$, correspondendo a $5,0 \times 10^7$ cel/ml.

3.5 Procedimentos experimentais para avaliação em folhas

O delineamento experimental utilizado para a inoculação das folhas foi o de blocos casualizados com parcela subdividida, sendo que a parcela foi representada pelos isolados e a subparcela pelos cultivares. Foram utilizadas 4 repetições, onde cada subparcela experimental consistiu de 1 vaso com 3 plantas. O substrato utilizado foi obtido fazendo-se a mistura de terra, esterco e areia na proporção de 2:1:1 e em seguida fumigado com brometo de metila. Utilizou-se para a adubação NPK (4-14-8), na dosagem de 2,5g/vaso e sulfato de amônio (0,07g/vaso), para adubação de cobertura sendo que cada vaso recebeu 2,5 kg de mistura.

A inoculação nas folhas foi realizada aos 12 dias após a semeadura, pelo método de incisão das folhas primárias de cada planta, com tesoura previamente imersa na suspensão. Foram realizados dois cortes perpendiculares à nervura central, sem atingí-la, distanciados 2 cm um do outro, em uma das metades da folha. Após a inoculação, as plantas foram mantidas em

câmara úmida por 24 horas, sendo em seguida levadas para casa de vegetação. Os vasos foram colocados sobre folhas de jornal no chão, as quais eram diariamente umedecidas com água corrente para favorecer o desenvolvimento dos sintomas. Durante o período de execução do experimento os valores máximos e mínimos de temperatura variaram de 23 a 34,5°C e 11 a 19°C respectivamente.

3.6 Procedimentos experimentais para avaliação em vagens

O delineamento experimental utilizado para verificar a reação das vagens foi o de blocos casualizados, em esquema fatorial, com quatro repetições. A unidade experimental consistiu de uma placa contendo 3 vagens por tratamento.

Aproximadamente 20 dias depois do surgimento das vagens, elas foram colhidas ainda verdes, levadas para o laboratório, e lavadas em água de torneira. A seguir, em câmara de fluxo laminar, procedeu-se a desinfecção superficial mediante duas passagens em álcool 70%, 2 em hipoclorito a 0,5% e por 2 vezes em água destilada esterilizada. Posteriormente foram colocadas sobre papel de filtro esterilizado para a retirada do excesso de umidade. Em seguida as vagens foram colocadas em placas de Petri esterilizadas contendo, cada uma 2 chumaços de algodão umedecidos com água destilada esterilizada, proporcionando um ambiente úmido. Para a inoculação, foram feitas 2 perfurações em cada vagem com a ponta de um estilete, previamente desinfetado em álcool, em dois pontos distintos, próximos às duas extremidades de um dos lados da vagem. À medida que se fazia a perfuração, antes de se retirar o estilete, depositavam-se 10 µl de suspensão bacteriana com o auxílio de micropipeta, sendo que o estilete era retirado lentamente favorecendo a penetração da gota. Posteriormente as vagens

foram incubadas por três dias em bancadas de laboratório sob um regime de 12 horas/luz e escuro. A temperatura variou de 22 a 27°C durante o período de incubação.

3.7 Avaliações

3.7.1 Avaliação dos sintomas observados nas folhas

As avaliações dos sintomas nas folhas foram feitas 10 dias após a inoculação mediante diagrama de notas utilizado pelo CIAT (Fernandez-Isaula, 1982), constituída por 5 níveis de reações:

1. Ausência de sintomas (altamente resistente).
2. Pouca clorose ou necrose ao longo dos cortes (resistente).
3. Clorose e/ou necrose ao longo dos 2 cortes e nas margens das folhas (medianamente resistente).
4. Clorose e/ou necrose com murcha em até 50% da área compreendida entre os cortes (suscetível).
5. Clorose e/ou necrose em mais de 50% da área compreendida entre os cortes (altamente suscetível).

Os valores finais de cada unidade experimental consistiram nas médias das notas atribuídas às seis folhas individualmente por cultivar.

3.7.2 Avaliação dos sintomas observados nas vagens

As avaliações dos sintomas nas vagens foram feitas mediante medições das lesões, após três dias de incubação. Foram feitas medições de dois diâmetros perpendiculares

de cada lesão por vagem, utilizando-se de um paquímetro. Os valores finais de cada unidade experimental consistiram nas médias dos dois diâmetros das duas lesões das três vagens de cada placa.

3.8 Análises Estatística e Genética

3.8.1 Análise de Variância

Procedeu-se a análise de variância para os dados obtidos da avaliação em folhas e em vagens.

3.8.2 Estimativa da herdabilidade das reações de folhas e vagens

A estimativa da herdabilidade no sentido amplo (h_a^2), relativa às reações das cultivares avaliadas nas folhas e vagens, foi calculada com base nos dados obtidos pela análise de variância, conforme fórmula descrita abaixo:

$$h_a^2 = (\sigma_G^2 / \sigma_F^2) \times 100, \text{ onde, } \sigma_F^2 = QM_C / ra$$

$$\sigma_G^2 = (QM_C - QM_{\text{erro}}) / ra$$

σ_G^2 = variância genética

σ_F^2 = variância fenotípica

QM_C = quadrado médio da cultivar

QM_e = quadrado médio do erro, sendo $\sigma_E^2 = QM_e/r$

r = número de repetições

a = número de isolados

3.8.3 Estimativas dos coeficientes de correlação

Os coeficientes de correlação ambiental ($r_E(f,v)$), fenotípica ($r_F(f,v)$) e genética ($r_G(f,v)$) das reações das cultivares nas folhas e vagens foram estimados de acordo com as seguintes expressões:

$$r_E(f,v) = \text{COVe}(f,v) / \sqrt{\sigma_E^2(f) \times \sigma_E^2(v)}$$

$$r_F(f,v) = \text{COVf}(f,v) / \sqrt{\sigma_F^2(f) \times \sigma_F^2(v)}$$

$$r_G(f,v) = \text{COVg}(f,v) / \sqrt{\sigma_G^2(f) \times \sigma_G^2(v)}$$

onde: $\text{COV} = (\text{QM}(f+v) - (\text{QM}(f) + \text{QM}(v))/2)$, segundo Kempthorne (1973). As covariâncias fenotípicas (COVf), genética (COVg) e ambiental (COVe) foram estimadas de forma semelhante às variâncias fenotípicas (σ_F^2), genética (σ_G^2) e ambiental (σ_E^2).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Reação à inoculação em folhas primárias

De acordo com os dados da análise de variância observados nas Tabelas 1A e 2A, verificaram-se diferenças significativas entre os isolados e cultivares/linhagens quanto a reação de folhas e vagens, permitindo uma distinção entre cultivares/linhagens resistentes, moderadamente resistentes e suscetíveis (Tabela 1). Com base nestes resultados pode-se dizer que o método de inoculação e avaliação e a concentração foram eficientes.

As cultivares e linhagens que obtiveram nota $> 3,5$, foram consideradas como suscetíveis; de 2,8 a 3,5 de resistência intermediária e $< 2,8$ resistência elevada. Entre os materiais testados, CNF-10, foi o mais suscetível, sendo o que permitiu melhor visualização dos sintomas. Este resultado confirma os de outros autores, os quais utilizaram o CNF-10 como padrão de suscetibilidade (Rava, 1985 e Valarini, 1990). As linhagens T-16, R-161, P-180, não diferiram estatisticamente do padrão CNF-10. BAT-93, IAPAR-16, se comportaram como as mais resistentes, concordando com os resultados obtidos por Maringoni, et al., (1993); Maringoni, (1993); Schuster et al., (1983); Fernandez-Isaula, 1982; Murillo, Guzman e Munoz, 1990).

TABELA 1. Reações das cultivares e linhagens de feijão à isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e sua variante *fuscans* observados em folhas primárias e vagens, expressas em notas de 1 a 5.

Cultivares/linhagens	Reação em folha ¹	Reação em vagens ¹
CNF-10	4.10a	2.83ab
T-16	3.70ab	2.35 bcd
R-161	3.63abc	2.68abc
P-180	3.61abc	2.73abc
CORNELL	3.49 bcd	2.59abcd
R-18	3.47 bcd	3.02a
MILIONÁRIO	3.42 bcde	2.85ab
D-245	3.39 bcde	2.47abcd
P-38	3.38 bcde	2.29 bcd
D-186	3.38 bcde	2.34 bcd
D-26	3.36 bcde	2.38abcd
P-106	3.35 bcde	2.46abcd
T-71	3.31 bcde	2.48abcd
H-92	3.27 bcdef	2.57abcd
PINTADO	3.25 bcdef	1.99 d
R-27	3.25 bcdef	2.46abcd
IAPAR-14	3.25 bcdef	2.67abc
R-34	3.20 bcdef	2.43abcd
H-4	3.19 bcdef	2.57abcd
R-10	3.18 cdef	2.75abc
CARIOCA M.G.	3.18 cdef	2.47abcd
OURO NEGRO	3.14 cdef	2.69abc
JALO	3.14 cdef	2.69abc
R 1	3.13 cdef	2.83ab
R 29	3.04 def	2.61abcd
P-70	3.04 def	2.72abc
H-15	2.95 ef	2.61abcd
R-3	2.77 fg	2.14 cd
IAPAR-16	2.34 g	2.21 bcd
BAT-93	2.28 g	2.28 bcd

1) Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade (Teste de Tukey).

A linhagem R3, que não diferiu estatisticamente de BAT-93 e de IAPAR-16 pode ser considerada como resistente. As demais linhagens e cultivares apresentaram-se como intermediárias para suscetibilidade e resistência. A cultivar IAPAR-14 que é considerada resistente (Maringoni, et al. 1993), nas condições do presente trabalho, se comportou como moderadamente resistente. BAT-93, embora seja considerada resistente por outros autores (Schuster et al, 1983 e Fernandez-Isaula, 1982), foi tida como suscetível por Schuster, Smith e Ziegelbeim, 1985. Estas diferenças nos resultados podem estar relacionadas com os diferentes métodos de inoculação e avaliação usados, e também à idade da planta na época da inoculação.

4.2 Reação à Inoculação das Vagens

A reação em relação à inoculação das vagens encontra-se nas Tabelas 1 e 2A. A cultivar Pintado apresentou-se como a mais resistente seguida de R-3, BAT-93, P-38, IAPAR-16, D-186. A linhagem R-18, foi a mais suscetível, não diferindo estatisticamente de Milionário, CNF-10, R-10, P-180, P-70, Ouro Negro, Jalo, R-161, IAPAR-14. As demais apresentaram comportamento intermediário.

4.3 Agressividade dos isolados

Diferenças significativas foram observadas em relação à agressividade dos isolados (Tabelas 1A e 2). Em observações feitas nas folhas, Xcp CURV, mostrou-se como o mais agressivo, embora não diferisse de Xcphf-UFLA2 e Xcph-UFLA3. O isolado Xcphf-GUAX, foi o de menor agressividade, seguido de Xcph-UFLA4 e Xcph-UNAÍ. O

comportamento diferencial entre isolados também tem sido observado por outros autores (Valladares-Sanchez, Coyne, Schuster, 1979; Rava e Romeiro, 1990; Rava, 1984). Estes dados mostram a importância da utilização de vários isolados de Xcph no programa de melhoramento do feijoeiro em relação ao CBC.

TABELA 2. Patogenicidade dos isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e sua variante *fuscans* utilizados na inoculação das folhas primárias e vagens de feijoeiro.

Isolados	Médias das folhas	Médias das vagens
Xcph-CURV	3.78a	2.52 bc
Xcphf-UFLA-2	3.53ab	2.93a
Xcph-UFLA-3	3.27abc	-
Xcph-UNAÍ	3.22 bcd	2.64 b
Xcph-UFLA-4	2.94 cd	2.36 cd
Xcphf-GUAX	2.70 d	2.24 d

1 Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade (Teste de Tukey).

Em observações feitas nas vagens, também foram notadas diferenças significativas em relação à agressividade dos isolados (Tabelas 2A e 2). O isolado Xcphf-UFLA-2, foi o mais agressivo; seguido por Xcph-UNAÍ, que não diferiu de Xcph-CURV. Xcphf-GUAX, apresentou-se como o de menor agressividade, sendo estatisticamente igual ao Xcph-UFLA-4. O isolado Xcph-UFLA-3, não foi considerado na avaliação devido a perda de sua patogenicidade. Este fato pode ser explicado devido as sucessivas repicagens as quais foram submetidos os isolados. Com base nestes dados observa-se um comportamento diferencial dos isolados em relação às folhas e vagens. Este fato também foi relatado por Schuster et al. (1983), Mmbaga, et al. (1992).

De acordo com as tabelas 1A e 2A, não foi verificada a ocorrência de interação de cultivares por isolados, ou seja, todos os isolados permitiram classificar as cultivares e linhagens sempre em uma mesma ordem. A ausência de interação, confirma a resistência horizontal do feijoeiro em relação à Xcph. Oleas-Arias, (1982); Aggour, Coyne e Vidaver (1989), obtiveram resultados semelhantes a este. Já Schuster, Smith e Ziegelbein (1985), verificaram a ocorrência de interação significativa entre cultivares e isolados. A ocorrência de interação diferencial entre isolados e cultivares não é desejável quando se tem em mente a seleção de material resistente. O ideal é que não ocorra interação pois isto facilita o trabalho do melhorista que ao selecionar material resistente, poderá utilizar um isolado de maior agressividade para verificar o comportamento das cultivares em estudo.

A reação diferencial do feijoeiro à Xcph pode ser afetada pelo genótipo do hospedeiro, método de inoculação e avaliação, isolado bacteriano, concentração do inóculo, e fatores ambientais. Estes aspectos são de grande importância para avaliação da resistência de plantas, podendo alterar completamente o comportamento destas, mediante variações dos mesmos. Scharem, citado por Pompeu e Crowder (1973), não conseguiu distinguir cultivares resistentes das suscetíveis, quando utilizou uma concentração de 10^6 cel/ml de Xcph, com o método de encharcamento pois todas tiveram o seu tecido foliar destruído, entretanto utilizando uma concentração de 10^4 cel/ml foi possível fazer tal distinção. Pompeu e Crowder (1973), observaram que ao utilizarem o método de inoculação com agulhas múltiplas a uma concentração de 10^4 cel/ml não foi possível distinguir entre cultivares resistentes e suscetíveis, porém quando usadas concentrações de 10^6 e 10^8 , tornou-se possível identificar os dois níveis. Aggour, Coyne e Vidaver (1989), também obtiveram resultados semelhantes. Coyne, Schuster e Hill (1973), relataram que a suscetibilidade ou tolerância do feijoeiro ao CBC, depende

grandemente do estágio de desenvolvimento das plantas, sendo que no estágio reprodutivo, são mais suscetíveis que no vegetativo. Arnaud-Santana, et al. (1993) verificaram que a reação da doença nas cultivares foi mais severa quando submetidas a um curto fotoperíodo e sob temperaturas mais altas. A diversidade de diagramas de avaliações, também se constitui em problema na realização de trabalhos.

Diante disso, nota-se que há necessidade de padronizar as condições em que serão realizadas as pesquisas, a fim de possibilitar a comparação de resultados obtidos por diversos autores, visando uma uniformização na classificação das cultivares quanto a reação ao patógeno em questão. Acrescenta-se ainda, a realização de trabalhos no campo visando obter dados relativos à redução no rendimento dos grãos, para julgar se a avaliação precoce em vagens ou folhas é mais informativa.

4.4 Estimativa da herdabilidade

Os valores da herdabilidade no sentido amplo obtidos para as folhas e vagens foram respectivamente 91,49% e 63,73%. Estes valores são semelhantes aos obtidos por Rava, Zimmermann e Romeiro (1985), e superiores aos obtidos por Pompeu e Crowder (1972). Estes resultados de herdabilidade (h^2), confirmam que as cultivares são geneticamente diferentes quanto a reação à bactéria. Como foram utilizadas cultivares e linhagens homozigóticas, a h^2_a (sentido amplo) é praticamente igual a herdabilidade no sentido restrito, isto é, indicam a proporção da variação fenotípica devida a variação genética aditiva. A ocorrência de variação genética aditiva é importante pois mostra que a resistência pode ser fixada em indivíduos homozigóticos, em gerações avançadas. Rava (1985); Silva (1989); Rava, Zimmermann e

Romeiro (1987), encontraram efeito gênico aditivo para reação tanto em folhas quanto em vagens de feijão à Xcph, em vários cruzamentos realizados. Do mesmo modo Zapata et al (1991), Park e Dhavantari (1994), encontraram também o efeito gênico aditivo sobre a herança da reação. Com base nos resultados obtidos, a predominância da variação aditiva e a magnitude da h^2 indicam que a reação do feijão à bactéria é fácil de ser manipulada e para isso podem ser consideradas apenas as médias das cultivares relacionadas nas tabelas 1 e 2.

4.5 Coeficientes de correlação fenotípica, ambiental e genética

O coeficiente de correlação fenotípica ($r_F(f,v) = 0,44^{***}$), permite dizer que houve associação dos sintomas nas folhas com os sintomas nas vagens e que tal associação é principalmente de origem genética ($r_G(f,v) = 0,54$), uma vez que a correlação ambiental foi proporcionalmente menor ($r_e(f,v) = 0,13$). Rava, Zimmermann, Romeiro (1985); Silva (1988), citado por Beebe e Corrales (1991), Fernandez-Isaula (1982), também encontraram altos valores de correlação entre folhas e vagens (0,19 a 0,49 e 0,78, respectivamente). Estes resultados são diferentes daqueles obtidos por vários autores, os quais encontraram reação diferencial entre folhas e vagens (Coyne e Schuster, 1974; Schuster, et al, 1983; Schuster, Smith, Ziegelbein, 1985; Murillo, Guzman e Munoz, 1990). Este tipo de comportamento pode estar relacionado com a presença de genes diferentes agindo nas folhas e vagens, enfatizando a importância de testar folhas e vagens de plantas com diferentes isolados, no sentido de desenvolver resistência ao patógeno.

Os valores de correlação fenotípica e genética aqui obtidos apesar de serem significativos, não foram máximos. Assim podem haver sistemas genéticos diferentes

controlando as reações nas folhas e vagem, conforme já mencionado anteriormente. Consequentemente, no melhoramento visando obter cultivares resistentes, é necessário procurar incorporar resistência à bactéria em toda a planta.

5 CONCLUSÕES

De acordo com as condições que este trabalho foi realizado pode-se concluir:

- a) Dentre os materiais testados, BAT-93, IAPAR-16, R-3, se comportaram como resistentes tanto em folhas quanto em vagens.
- b) CNF-10, P-180, R-161, foram suscetíveis tanto em folhas quanto em vagens.
- c) Os isolados utilizados apresentaram diferenças em seu grau de agressividade nas folhas e vagens.
- d) As reações das cultivares à Xcph, nas folhas e vagens foram geneticamente correlacionadas;
- e) Diante dos altos valores de herdabilidades estimados para folhas e vagens, 91,49% e 63,73%, respectivamente, há grandes possibilidades se de obter cultivares resistentes com a utilização destes materiais em trabalhos de melhoramento.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGGOUR, A.R.; COYNE, D.P. Heritability, phenotypic correlations, and associations of the common blight disease reaction in beans. **Journal American Society Horticultural Science**, Mount, v.114, n.5, p.828-833, 1989.
- AGGOUR, A.R.; COYNE, D.P.; VIDAVER, A.K. Comparison of leaf pod disease reactions of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculated by different methods with strains of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (smith) Dye. **Euphytica**, Wageningen v.43, p.143-152, 1989.
- ARAÚJO, G.A.; VIEIRA, C.; CHAGAS, J.M. Comportamento de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) na Zona da Mata de Minas Gerais. **Revista Ceres**, Viçosa, v.36, p.382-390, 1989.
- ARNAUD-SANTANA, E.; COYNE, D.P.; BEAVER, J.S.; ZAITER, H.Z. Effect of photoperiod and temperature on common blight disease of common beans (*Phaseolus vulgaris*). **Euphytica**, Wageningen, v.66, p.211-216, 1993.
- ARNAUD-SANTANA, E.; PENA-MATTOS; COYNE, D.P.; VIDAVER, A.K. Longevity of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* in naturally infested dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) debris. **Plant disease**, Washington, v.75, n.9, p.952-953, 1991.
- BASU, P.K.; WALLEN, V.R. Influence of temperature on the viability, virulence, and physiologic characteristics of *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* in vivo and in vitro. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.44, p.1239-1245, 1966.
- BEAVER, J.S.; STEADMAN, J.R.; COYNE, D.P. Field reaction of landrace components of Red Mottled Beans to Common bacterial blight. **Hortscience**, Alexandria, v.27, n.1, p.50-51, 1992.
- BEEBE, S.E.; PASTOR-CORRALES, M. Breeding for disease resistance. In: VAN SCHOONHOVEN, A. **Common Beans: Research for Crop Improvement**. Walling Ford, Commonwealth Agricultural, 1991. 561p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Escritório de Meteorologia. **Normas climatológicas** (Minas Gerais - Espírito Santo - Rio de Janeiro - Guanabara). Rio de Janeiro, 1969. 99p.

- BURKHOLDER, W.H. The bacterial blight of bean: A systemic disease. **Phytopathology**, Saint Paul, v.1, n.2, p.61-69, 1921.
- CAFATI, C.R.; SAETTLER, A.W. Transmission of *Xanthomonas phaseoli* in seed of resistant and susceptible *Phaseolus* genotypes. **Phytopathology**, Saint Paul, v.70, n.7, p.638-640, 1980.
- CONTRERAS DE VELASQUEZ, N. e TRUJILLO, G.E. Evaluacion de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye, en lotes de semilla de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) mediante la tecnica combinada del medio semi-selectivo e inmunodifusion em agar. **Agronomia Tropical**, v.34, n.4/6, p.59-67, 1984.
- COPELAND, L.O.; ADAMS, M.W.; BELL, D.C. An improved seed programme for maintaining disease-free seed of field beans (*Phaseolus vulgaris*). **Seed Science & Technology**, New Delhi, v.3, p.719-724, 1975.
- COYNE, D.P.; SCHUSTER, M.L. Breeding and genetic studies of tolerance to several bean (*Phaseolus vulgaris* L.) bacterial pathogens. **Euphytica**, Wageningen, v.23, p.651-656, 1974.
- COYNE, D.P.; SCHUSTER, M.L. *Phaseolus* germplasm tolerant to common blight bacterium (*Xanthomonas phaseoli*). **Plant Disease Reporter**, Washington, v.57, n.2, p.111-114, 1973.
- COYNE, D.P.; SCHUSTER, M.L.; HILL, K. Genetic control of reaction to common blight bacterium in bean (*Phaseolus vulgaris*) as influenced by plant age and bacterial multiplication. **Journal American Society Horticultural Science**, Mount, v.98, n.1, p. 94-99, 1973.
- COYNE, D.P.; STEADMAN, J.R.; LINDGREN, D.T.; NULAND, D.S. "Starlight"- Great Northern Dry Bean. **Hortscience**, Alexandria, v.26, n.4, p.441-442, 1991.
- EKPO, E.J.A.; SAETTLER, A.W. Pathogenic variation in *Xanthomonas phaseoli* e *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans*. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.60, n.1, p.80-83, 1976.
- FARIA, J.C.; MELO, P.E. Inoculação do feijoeiro com *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* em condições de campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.24, n.8, p.987-990, 1989.
- FERNANDEZ-ISAULA, H. Reações de folhas e vagens de *Phaseolus vulgaris* a *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (E.F. Smith) Dye e Wilkie. Viçosa: UFV, 1982. 41 p. (Tese - Mestrado em Fitopatologia).

- FINKE, M.L.; COYNE, D.P.; STEADMAN, J.R. The inheritance and association of resistance to rust, common bacterial blight, plant habit and foliar abnormalities in *Phaseolus vulgaris* L. **Euphytica**, Wageningen, v. 35, p. 969-982, 1986.
- GOSS, R.W. The relation of temperature to common and halo blight of beans. **Phytopathology**, Saint Paul, v.30, p.258-264, 1940.
- HARDY, B. Campos sembrados con oro: Frijol Dorado para los pobres de Brasil. **CIAT INTERNACIONAL**, v.12, n.2, p.7-8, 1993.
- KEMPTHORNE, O. An introduction a genetics statistics. Ames: Iowa State University Press, 1973. 545p.
- KIMATI, H. Doença do feijoeiro. In: GALLI, F. (Coord.). **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Ceres, 1980. v.2, cap. 19, p.297-318.
- KIRALY, Z.; KLEMENT, Z.; VÓROS, J.F.S. **Methods in plant pathology, with special reference to breeding for disease resistance**. New York: Elsevier, 1974. 509p.
- MARINGONI, A.C. **Detecção de *Xanthomonas campestris* pv *phaseoli* (Smith) Dye em sementes de feijoeiro e consequências epidemiológicas**. Piracicaba: ESALQ, 1993. 132p. (Tese - Doutorado em Fitopatologia).
- MARINGONI, A.C.; FREGONESE, L.H.; TOFÓLI, J.G.; KUROZAWA, K. Reação foliar e da vagem de feijoeiro à *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e transmissão da bactéria pelas sementes. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, n.3, p.412-415, 1993.
- MENEZES, J.R.; Inspeção de campo visando sanidade de sementes de feijão. In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES**, 2, Campinas, 1986. Palestras do Simpósio Brasileiro de Patologia. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.69-72.
- MMBAGA, M.T.; ARNAUD-SANTANA, E.; STEADMAN, J.R.; COYNE, D.P. New sources of nonspecific resistance to rust and common bacterial blight in dry bean landrace Pompadour. **Euphytica**, Wageningen, v.61, p.135-144, 1992.
- MOHAMED, F.M.; ARNAUD-SANTANA, E.; COYNE, D.P. Rooting of bean leaves use in germplasm evaluation for common bacterial blight resistance. **Euphytica**, Wageningen, v.65, p.161-166, 1993.
- MOHAN, S.T. Breeding dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) for common bacterial blight resistance: relation of "days to flowering" to blight reaction. **Turrialba**, Turrialba, v.31, n.2, p.109-112, 1981.

- MOHAN, S.T.; MOHAN, S.K. Novas linhagens do feijoeiro resistentes ao cretamento bacteriano comum. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Rio de Janeiro, v.18, n.10, p.1117-1120, 1983.
- MURILLO, R.J.E.; PABLO GUZMAN, V. JAIME EDUARDO MUNOZ, F. Reaccion en hojas y vainas de seis genotipos de frijol a *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*. *Acta Agronomica*, Columbia, v.40, n.1/2, p.64-73, 1990.
- MYERS, J.R.; HAYES, R.E.; KOLAR, J.J. Registration of 'UI722' Dark Red Kidney Bean. *Crop Science*, Madison, v.31, p.1709, 1991.
- OLEAS-ARIAS, A.R. **Correlação entre resistência foliar e infecção de sementes em variedades de feijoeiro inoculadas com *Xanthomonas phaseoli* (E.F. SM) Dye, 1939.** Piracicaba: ESALQ, 1982. 81p. (Tese - Mestrado em Fitopatologia).
- PARK, S.J.; DHAVANTARI, B.N. Registration of common bean blight - resistant germplasm HR45. *Crop Science*, Madison, v.34, p.548, 1994.
- POMPEU, A.S. Examination for the presence of *Xanthomonas phaseoli*. Downs in the hypocotyl tissues of resistant and susceptible dry beans lines (*Phaseolus vulgaris* L.) and its relationship to wilting and death of susceptible line. *Summa Phytopatologica*, Piracicaba, v.3, p.289-293, out./nov. 1977.
- POMPEU, A.S.; CROWDER, L.V. Inheritance of resistance of *Phaseolus vulgaris* L. (Dry Beans) to *Xanthomonas phaseoli* Dows. (common blight). *Ciência e Cultura*, São Paulo, v.24, n.11, p.1055-1063, 1972.
- POMPEU, A.S.; CROWDER, L.V. Methods of inoculation and bacterial concentration of *Xanthomonas phaseoli* Dows. for the inheritance of Disease reaction in *Phaseolus vulgaris* L. crosses (Dry Beans), under growth conditions. *Ciência e Cultura*, São Paulo, v.25, n.11, 1973.
- RALPH, W. Problems in testing and control of seed-borne bacterial pathogens: a critical evaluation. *Seed Science & Technology*, New Delhi, v.5, p.735-752, 1977.
- RAVA, A.C. **Fontes de resistência, variabilidade do patógeno e hereditariedade da reação à *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye em *Phaseolus vulgaris* L.** Viçosa, M.G: UFV, 1985. 145p. (Tese - Doutorado em Fitopatologia).
- RAVA, A.C. Patogenicidade de isolamento de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Rio de Janeiro, v.19, n.4, p.445-448, 1984.

- RAVA, A.C.; COSTA, J.G.G.; SARTORATO, A. Obtenção e seleção de linhagens de *Phaseolus vulgaris* resistentes a *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e a raça alfa - Brasil de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Ciência e Prática**, Lavras, v.16, n.3, p.383-388, 1992.
- RAVA, A.C.; ROMEIRO, R.S. Variabilidade de isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* quanto a patogenicidade em cultivares de *Phaseolus vulgaris*. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.16, n.3/4, p.225-232, 1990.
- RAVA, A.C.; SARTORATO, A. Crestamento bacteriano comum. In: **Principais doenças do feijoeiro e seu controle**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 300p.
- RAVA, A.C.; SARTORATO, A.; ROMEIRO, R.S. Avaliação de cultivares de feijoeiro quanto a resistência a *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* em condições de campo e de casa de vegetação. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.16, p.83-91, abr./jun. 1990.
- RAVA, A.C.; ZIMMERMANN, M.J.; ROMEIRO, R.S. Inheritance of resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye in *Phaseolus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.10, n.4, p.709-727, 1987.
- REDDEN, R.J. Register of Australian grain legume cultivars. *Phaseolus vulgaris* L. (Navy Beans) cv. Sirius. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Victoria, v.33, p.669, 1993.
- SABET, K.A.; ISHAG, F. Studies on the bacterial diseases of Sudan Crops. VIII. Survival and dissemination of *Xanthomonas phaseoli*. **Annals of Applied Biology**, London, v.64, p.65-74, 1969.
- SAETTLER, A.W. Seedling injection as an aid in identifying Bean blight bacteria. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.55, n.8, p.703-706, 1971.
- SAIDON, G.; HUANG, H.C.; MUNDEL, H. e KEMP, G.A. Registration of an upright common bean germplasm line LRS92-1. **Crop Science**, Madison, v.33, p.353, 1993.
- SANTOS, J.B.; VENCOSKY, R. Controle genético de alguns componentes do porte da planta em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.21, n.9, p.957-963, 1986.
- SANTOS, J.B.; VENCOSKY, R.; RAMALHO, M.A.P. Controle genético da produção de grãos de seus componentes primários em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.20, n.10, p.1203-1211, 1985.
- SCHNATHORST, W.C. Bacteria and fungi em seeds and plants of certified bean varieties. **Phytopathology**, Saint Paul, v.44, p.588, 1954.

- SCHUSTER, M.L.; COYNE, D.P. Survival mechanisms of phytopathogenic bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.12, p.199-221, 1974.
- SCHUSTER, M.L.; COYNE, D.P.; BEHRE, T. e LEYNA, H. Sources of *Phaseolus* species resistance and leaf and pod differential reactions to common blight. **Hortscience**, Alexandria, v.18, n.6, p.901-903, 1983.
- SCHUSTER, M.L.; COYNE, D.P.; HOFF, B. Comparative virulence of *Xanthomonas phaseoli* strains from Uganda, Colômbia and Nebraska. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.57, p.74-75, 1973.
- SCHUSTER, M.L.; SMITH, C.C.; ZIEGELBEIN, M.; SALAC, S. S.; Reaction of CIAT *Phaseolus vulgaris* to *Xanthomonas phaseoli* strains from Dominican Republic. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.10, p.433, 441, 1985.
- SCOTT, M. E.; MICHAELS, T. E. *Xanthomonas* Resistance of *Phaseolus* interspecific cross Selections confirmed by Fiel performace. **Hortscience**, Alexandria v. 27, n. 4, p. 348-350, 1992.
- SERRANCIN. J.; YOUNG, R. A.; ROSAS, J. C.; CÁCERES, J. Dãnos causados por *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* y su efecto en el rendimiento del frijol común (Habichuela, *Phaseolus vulgaris*). **Journal of University of Puerto Rico**, Rio Piedras, v. 75, n. 4, p. 353-361, 1991.
- SILVA, L. O. Herança e ganho genético da resistência à *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (smith) Dye em *Phaseolus vulgaris* L. com a utilização de diferentes métodos de inoculação. Viçosa, M.G: UFV, 1989, 87p. (Tese de Mestrado em Genética e Melhoramento).
- THUNG, M.; FERREIRA, R. M.; MIRANDA, P. et al. Perfomance in Brasil and Colombia of common bean lines fron second selection cycle. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.16, n.1, p.115-127, 1993.
- VALARINI, P.J. Método para detecção de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* em sementes de feijão. Piracicaba: ESALQ, 1990. 167p. (Tese - Doutorado em Fitopatologia)
- VALLADARES-SANCHEZ, N.E.; COYNE, D.P.; SCHUSTERS, M.L. Differential reaction of leaves and pod of *Phaseolus vulgaris* L. and Transgressive segregation for tolerance from crosses of suscetible germplasm. **Journal American Society Horticultural Science**, Mount, v.104, n.5, p.648-654, 1979.
- WALLEN, V.R.; SUTTON, D.M. *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* (Burkh.) Starr; Burk. ond field beans in Ontario. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.43, p.437-446, 1965.

- WEBSTER, D.M.; TEMPLE, S.R.; SCHWARTZ, H.F. Selection for resistance to *Xanthomonas phaseoli* in dry beans. **Crop Science**, Madison, v.20, p.519-522, 1980.
- WELLER, D.M.; SAETTLER, A.W. Evaluation of seedborne *Xanthomonas phaseoli* var *fuscans* as primary inocula in bean blights. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 70, p. 148-152, 1980.
- YOSHII, K.; GALVEZ-E, G.E.; ALVAREZ-A, G. Screening bean germplasm for tolerance to common blight caused by *Xanthomonas phaseoli* and the importance of pathogenic variation to varietal improvement. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.62, n.4, p.343-347, 1978.
- ZAPATA, M. FREYTAG, G.F.; WILKSON, R.; Evaluation for bacterial blight resistance in beans. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 75, p. 1032- 1039, 1985.
- ZAPATA, M.; WILKSON, R.; FREYTAG, G.F.; VÉLEZ, H.; ORTIZ, F.H.; LÓPEZ-ROSA. Incorporating resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* into bean using the latent period as resistance marker. **Journal of Agricultural of University of Puerto Rico**, Rio Piedras, v.75, n.4, p.346-352, 1991.

7 ANEXO

TABELA 1A Resumo da análise de variância relativa às reações de cultivares e linhagens aos isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e *fuscans* em folhas primárias de feijoeiro.

Causas da Variação	G.L.	Q.M.
Blocos	3	49,55
Isolado	5	18,31**
Erro(A)	15	1,97
Parcelas	23	
Cultivar	29	3,01**
Iso* Cult.	145	0,30
Erro(B)	522	0,25
Total	719	

Média Geral = 3,24; C.V.(A) = 7,8%; C.V. (B) = 15,6%

TABELA 2A Resumo da análise de variância relativa às reações de cultivares e linhagens aos isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e *fuscans* em vagens destacadas de feijoeiro.

Causas da Variação	G.L.	Q.M.
Cultivar	29	0,97**
Isolado	4	8,46**
Cult. *Iso	116	0,33
Erro	450	0,35
Total	599	

Média geral = 2,54; C.V. = 23,35%