

## COMUNICAÇÃO

### IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA E AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* EM FEIJÃO-DE-VAGEM

#### Identification of resistance sources and evaluation of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* inoculation methods in snap bean

Willian Krause<sup>1</sup>, Rosana Rodrigues<sup>2</sup>, Nilton Rocha Leal<sup>3</sup>

#### RESUMO

A murcha-de-curtobacterium foi detectada no Brasil, pela primeira vez em 1995 no estado de São Paulo e, desde então, também tem sido identificada em outros Estados. Essa doença, cujo agente causal é a bactéria *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Cff) tem-se apresentado como ameaça às lavouras de feijoeiro. Objetivou-se, neste trabalho, avaliar a resistência de genótipos de feijão-de-vagem em relação à murcha-de-curtobacterium e definir o método de inoculação mais adequado para discriminar os genótipos resistentes e suscetíveis a Cff. Dois experimentos foram realizados, sendo o experimento 1 no período de dezembro de 2005 a fevereiro de 2006, no delineamento de blocos casualizados, seis repetições e 39 tratamentos. O experimento 2 foi conduzido no período de maio a julho de 2006, no delineamento de blocos ao acaso, com cinco repetições, oriundos de um arranjo em fatorial (três métodos de inoculação x 11 genótipos), visando comparar três métodos de inoculação utilizados para Cff. Os genótipos utilizados neste experimento foram os mais resistentes e o mais suscetível, identificados no experimento 1. As notas das avaliações foram utilizadas para calcular a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Os genótipos 'Novirex', 'IAC Carioca Tybatã' e 'Amarelo Baixo' foram identificados como resistentes. O método de 'palito de dente', além da boa discriminação entre os genótipos resistentes e suscetíveis, apresenta rapidez e facilidade na execução, sendo o método de inoculação mais indicado.

**Termos para indexação:** *Phaseolus vulgaris* L., murcha-de-curtobacterium, resistência genética a doenças.

#### ABSTRACT

The bacterial wilt of bean was first reported in Brazil in 1995, in São Paulo state and since then, this bacteria has also been identified in other states in Brazil. The disease is caused by *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Cff) and has become a serious problem in bean crop. The aims of this study were to evaluate the resistance of snap bean genotypes considering bacterial wilt and also to define the most accurate method to distinguish resistant and susceptible genotypes to Cff. Two experiments were carried out, one of them from December 2005 to February 2006, in a randomized block design, six replications and 39 treatments. The second experiment was carried out from May to July, 2006, in a randomized block design, with five replications, in a factorial arrangement (three inoculation methods x 11 genotypes), in order to compare three inoculation methods for Cff. The genotypes used in this test were the most resistant and susceptible according to the first experiment. The rates of evaluation were used to determine the area under disease progress curve (AUDPC). The genotypes Novirex, IAC Carioca Tybatã and Amarelo Baixo were considered resistant. The toothpick inoculation method allowed an efficient discrimination among resistant and susceptible genotypes and it was also faster and easier to perform than the other methods.

**Index terms:** *Phaseolus vulgaris* L., curtbacterium wilt, genetic disease resistance.

(Recebido em 15 de outubro de 2007 e aprovado em 27 de março de 2008)

A ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Cff), agente causal da murcha-de-curtobacterium do feijoeiro, somente foi relatada no Brasil em 1995 por Maringoni & Rosa (1997), em uma lavoura de feijoeiro no estado de São Paulo. Posteriormente, esse

patógeno foi constatado em várias localidades produtoras de feijão nos estados de São Paulo (MARINGONI, 2002), Paraná e Santa Catarina (LEITE JUNIOR et al., 2001), Goiás e no Distrito Federal (UESUGI et al., 2003).

<sup>1</sup>Engenheiro Agrônomo, Doutorando em Genética e Melhoramento de Plantas, Professor – Departamento de Agronomia/AGRO – Universidade do Estado de Mato Grosso/UNEMAT – Rodovia MT 358, Km 07 – Jardim Aeroporto – 78300-000 – Tangará da Serra, MT – krause@unemat.br

<sup>2</sup>Engenheira Agrônoma, Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, Professora – Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal/LMGV – Universidade Estadual do Norte Fluminense/UENF – Avenida Alberto Lamego, 2000 – Parque Califórnia – 28013-602 – Campos dos Goytacazes, RJ – rosana@uenf.br

<sup>3</sup>Engenheiro Agrônomo, PhD em Genética e Melhoramento de Plantas, Professor Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal/LMGV – Universidade Estadual do Norte Fluminense/UENF – Avenida Alberto Lamego, 2000 – Parque Califórnia – 28013-602 – Campos dos Goytacazes, RJ – nilton@uenf.br

Em feijão, os sintomas da doença são descritos como murcha gradual das folhas, aparecendo áreas amareladas e irregulares, iniciando-se na margem da folha e se estendendo para o interior, seguido de necrose do tecido parenquimático. Os sintomas são mais agudos nas plantas em períodos de estresse hídrico e temperaturas elevadas e em plantas jovens, até 5–8 cm de altura (TEGLI et al., 2002). Em geral, a planta inteira morre antes de apresentar o primeiro grupo de folhas trifoliadas totalmente desenvolvidas. Plantas mais velhas apresentam um desenvolvimento da doença menos drástico e, apenas alguns ramos e folhas apresentam murchas (AGRIOS, 1997). Os sintomas de murcha na parte aérea são devido à falha no transporte de seiva provocada pela colonização e degradação das paredes dos vasos de xilema (DINENSEM, 1978).

Essa doença tem-se apresentado como ameaça às lavouras de feijão comum e ao feijão-de-vagem, que pertence à mesma espécie botânica do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L). Leite Junior & Behlau (2001), avaliaram 19 leguminosas de espécies diferentes e constataram que, além do feijão comum, há outras leguminosas que são hospedeiras potenciais de *Cff*, como por exemplo, o feijão-de-vagem. Em feijoeiro, algumas medidas de controle são preconizadas para murcha-de-curtobacterium. O emprego de sementes sadias, visto que este patógeno sobrevive e é transmitido por sementes (SAETTLER & PERRY, 1972), tem sido adotado na maioria dos países, através da sua certificação sanitária. A rotação de culturas, com plantas não hospedeiras de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, é uma prática indicada no manejo de controle dessa doença (SAETTLER, 1991).

O uso de resistência genética é o método mais eficiente para controlar a ocorrência de doenças em plantas por apresentar menor custo, ser de fácil utilização, além de não apresentar riscos para o homem e o meio ambiente (FRY, 1982). Entretanto, inexistem relatos sobre o comportamento de cultivares de feijão-de-vagem a essa doença.

Objetivou-se, no presente trabalho, avaliar o nível de resistência de genótipos de feijão-de-vagem, em relação à murcha-de-curtobacterium e definir o método de inoculação mais adequado para discriminar os genótipos resistentes e suscetíveis a *Cff*.

Dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação na Unidade de Apoio à Pesquisa da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, no município de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, sendo um deles para identificar possíveis genótipos resistentes à murcha-de-curtobacterium e o outro para determinar um método de inoculação mais eficiente na

discriminação de plantas resistentes e suscetíveis.

O experimento 1 foi realizado no período de dezembro de 2005 a fevereiro de 2006. Os tratamentos foram constituídos de 39 genótipos, sendo 33 de feijão-de-vagem e seis de feijão comum, incluindo a cultivar 'IAC Carioca Tybatã', identificada previamente como resistente (SOUZA et al., 2006). As plantas de feijoeiro foram plantadas em potes, contendo o volume de aproximadamente 0,5 litro de terra, previamente autoclavada. O experimento foi conduzido no delineamento de blocos ao acaso, com seis repetições, cada parcela representada por uma planta por pote.

A bactéria (isolado Feij – 2634, gentilmente cedido pelo Professor Antonio Carlos Maringoni da Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista), cresceu em placas de Petri, contendo meio Kado sólido (KADO & HESKETT, 1970), durante 96 horas, a 26°C, antes da inoculação. Todas as plantas foram inoculadas aos oito dias após a emergência, por meio da inserção de palito de dente, previamente autoclavados e umedecidos em colônias de *Cff*, na haste da planta, logo abaixo do par de folhas cotiledonares (LEITE JUNIOR & BEHLAU, 2001).

As avaliações foram feitas por meio de uma escala de notas descrita a seguir: 1,0 = até 10% da planta murcha; 2,0 = 10% até 25%; 3,0 = 25% até 50%; 4,0 = 50% até 75% e 5,0 = > 75%. Foram feitas nove avaliações da reação dos genótipos à doença, em intervalos de dois dias, sendo que a primeira avaliação foi realizada quatro dias após a inoculação.

O experimento 2 foi conduzido visando comparar três métodos de inoculação utilizados para *Cff*. Os genótipos utilizados nesse experimento foram os mais resistentes e o mais suscetível, identificados no experimento anterior e foram cultivados no período de maio a julho de 2006. As plantas de feijoeiro foram plantadas em vasos, contendo o volume de aproximadamente 2 litros de terra, previamente autoclavada. O experimento foi conduzido no delineamento de blocos ao acaso, com cinco repetições, oriundos de um arranjo em fatorial (três métodos de inoculação x 11 genótipos), cada parcela representada por uma planta por vaso.

O preparo do inóculo utilizado foi o mesmo do experimento 1. Todas as plantas foram inoculadas aos oito dias após a emergência. Foram comparados os seguintes métodos de inoculação:

a) palito de dente: as plantas foram inoculadas por meio da inserção do palito de dente na haste da planta, logo abaixo do par de folhas cotiledonares (LEITE JUNIOR & BEHLAU, 2001). Antes da inoculação das plantas, os palitos foram autoclavados e umedecidos em colônias de *Cff*. Todas as plantas foram inoculadas aos oito dias após a emergência;

b) hilo da semente: cada semente de cada genótipo recebeu uma picada de agulha estéril e previamente umedecida em colônias de *Cff* (HSIEH et al., 2005);

c) raízes *in situ*: foram realizados ferimentos nas raízes, seguidos da inoculação com 100 mL da suspensão de *Cff*, contendo aproximadamente  $10^8$  UFC/mL em cada vaso (MIRANDA FILHO & UESUGI, 2004). Todas as plantas foram inoculadas aos oito dias após a emergência.

A severidade da doença foi avaliada da mesma forma utilizada no experimento 1. Foram realizadas 11 avaliações da severidade da doença, em intervalos de dois dias, sendo a primeira quatro dias após a inoculação.

Esses dados foram utilizados para calcular a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), conforme Campbell & Madden (1990). Os dados foram transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$ . As análises estatísticas empregadas neste trabalho foram realizadas com o auxílio do programa GENES – Aplicativo Computacional em Genética e Estatística (CRUZ, 2001).

Todos os genótipos testados no experimento 1 apresentaram sintomas da murcha-de-curtobacterium. Na primeira avaliação, que foi realizada quatro dias após a inoculação, 19% das plantas apresentavam sintomas. Na quarta avaliação que se deu aos dez dias após a inoculação, os sintomas estavam presentes em 71% das plantas, demonstrando a alta capacidade da *Cff* em causar sintomas nas plantas inoculadas.

A temperatura máxima variou entre 27 e 33°C e a mínima entre 19 e 23°C no local durante o experimento 1, podendo ter influenciado no aumento da severidade da murcha-de-curtobacterium. Coyne et al. (1966) verificaram que, em condições de temperatura média ao redor de 21°C, as linhagens PI 165078 e PI 136725 se mostraram resistentes à murcha-de-curtobacterium, enquanto que, em condições de campo, com temperaturas em torno de 33 a 38°C na fase de formação de vagens, o genótipo PI 136725 foi suscetível.

Pela análise de variância da nota aos 19 dias após a inoculação (DAI) e AACPD constataram-se diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) entre os genótipos demonstrando que ocorreu variabilidade genética para a característica estudada.

Pelo teste de agrupamento de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, os genótipos de feijão-de-vagem mais resistentes a *Cff*, ou seja, com menores notas foram ‘Hab 39’, ‘Cota’, ‘Manteiga Baixo’, ‘Ueg 01’, ‘Alessa’, ‘Novirex’, ‘Beawhild’, ‘IAC Carioca Pyatã’, ‘IAC Carioca Aruã’, ‘Uenf 1467’, ‘Macarrão Rasteiro’, ‘IAC Carioca Tybatã’, ‘Uel 1’, ‘Amarelo Baixo’ e ‘Zigane’. Esses genótipos também obtiveram valores baixos para AACPD, exceto ‘IAC Carioca Aruã’, ‘Uenf 1467’ e ‘UEL (Tabela 1).

Maringoni (2002), analisando o comportamento varietal de quarenta genótipos de feijoeiro, sob condições de inoculação artificial em casa de vegetação, constatou resistência nas cultivares ‘IAC Carioca Akytã’, ‘IAC Carioca Aruã’ e ‘IAC Carioca Pyatã’. Plantas desses genótipos apresentaram menores reduções da matéria seca da parte aérea e de teores de macronutrientes quando comparadas com os genótipos suscetíveis ‘Pérola’ e ‘IAC Carioca’ (MARINGONI, 2003). Leite Junior & Behlau (2001) avaliaram, também em casa de vegetação, 22 genótipos de feijoeiro de importância comercial e linhagens promissoras. Todos os genótipos testados apresentaram sintomas de murcha-de-curtobacterium. Os genótipos ‘Iapar 31’, ‘Iapar 14’ e ‘IAC Tybatã’ apresentaram bom nível de resistência.

O experimento 2 foi conduzido visando comparar três métodos de inoculação utilizados para *Cff*. Não houve interação significativa entre métodos e genótipos. Esse resultado indica que a reação dos genótipos à *Cff* não foi influenciada pelo método de inoculação utilizado. Um bom método de inoculação deve levar em consideração alguns critérios, como a boa discriminação entre genótipos resistentes e suscetíveis, a rapidez e a uniformidade nas reações das plantas inoculadas, a repetibilidade, além de ser de fácil execução, a inexistência de escape e a possibilidade de que a infecção possa ser avaliada quantitativamente (SANTOS, 2000; TORRES & MARINGONI, 1999). Na análise de variância individual para cada método, apenas o método ‘palito de dente’ conseguiu discriminar genótipos resistentes e suscetíveis. O método ‘hilo da semente’, além de não conseguir discriminar genótipos resistentes e suscetíveis, foi muito drástico não permitindo a germinação de muitas sementes. Os métodos de inoculação ‘hilo da semente’ e ‘raízes *in situ*’ proporcionaram notas de reação dos genótipos à murcha-de-curtobacterium mais baixas.

Considerando o método de inoculação ‘palito de dente’ (Tabela 2), somente aos 16 DAI houve discriminação entre os genótipos resistentes e suscetíveis, sendo observado que ‘Novirex’, ‘IAC Carioca Tybatã’, ‘Ueg 01’ e ‘Amarelo Baixo’ apresentaram baixa severidade. Porém, na última avaliação, aos 24 DAI o genótipo ‘Ueg 01’ mostrou suscetibilidade à murcha-de-curtobacterium. Os demais genótipos permaneceram com nota baixa de severidade, sendo identificados como resistentes. Esse comportamento indica a presença de algum mecanismo de resistência que dificultou a colonização da *Cff*, não promovendo a doença. Contudo, segundo Bergamin Filho et al. (1984) e Theodoro & Maringoni (2006), o período de incubação não deve ser considerado um componente da resistência, por não afetar diretamente a taxa reprodutiva do patógeno. A severidade da murcha-de-curtobacterium no experimento 2 foi menor em relação ao experimento 1.

Tabela 1 – Nota aos 19 dias após a inoculação (DAI) e a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) obtida em relação à severidade da murcha-de-curtobacterium causada por *Cff*, em 39 genótipos de *Phaseolus vulgaris* L. Campos dos Goytacazes, 2006.

Genótipos	Tipo	19 DAI	AACPD
HAB 39	Vagem	2,83 a <sup>1/</sup>	20,83 a
COTA	Vagem	3,17 a	21,08 a
MANTEIGA BAIXO	Vagem	3,17 a	22,08 a
UEG 01	Vagem	3,33 a	24,08 a
ALESSA	Vagem	3,33 a	27,33 a
NOVIREX	Vagem	3,50 a	25,17 a
BEAWHILD	Vagem	3,60 a	20,62 a
IAC CARIOCA PYATÃ	Comum	3,67 a	27,08 a
IAC CARIOCA ARUÃ	Comum	3,67 a	31,58 b
UENF 1467	Vagem	3,67 a	30,00 b
MACARRÃO RASTEIRO	Vagem	3,67 a	22,08 a
IAC CARIOCA TYBATÃ	Comum	3,80 a	24,92 a
UEL-1	Vagem	3,83 a	30,25 b
AMARELO BAIXO	Vagem	3,83 a	25,67 a
ZIGANE	Vagem	3,83 a	22,92 a
PURPLE KING	Vagem	4,17 b	27,00 a
UENF 1466	Vagem	4,17 b	29,67 b
UENF 1480	Vagem	4,17 b	34,08 b
UEL-2	Vagem	4,33 b	27,67 a
UEG 13	Vagem	4,33 b	21,17 a
MACARRÃO BAIXO	Vagem	4,33 b	27,67 a
UENF 1579	Vagem	4,35 b	30,22 b
UEG 46	Vagem	4,50 b	36,25 b
EEA 0554	Vagem	4,50 b	33,75 b
UENF 1469	Vagem	4,50 b	28,25 a
ANDRA	Vagem	4,50 b	32,67 b
GEN 96A98-15-3-52-1	Comum	4,67 b	30,83 b
IAC CARIOCA AKYTÃ	Comum	4,67 b	33,33 b
UEG 19	Vagem	4,67 b	31,92 b
UEG 638	Vagem	4,67 b	30,25 b
UENF 1453	Vagem	4,67 b	30,08 b
CORALINA	Vagem	4,68 b	46,32 c
TURMALINA	Vagem	4,80 b	32,84 b
GEN 96A98-13-1-52-1	Comum	4,83 b	32,50 b
MACARRÃO BRAGANÇA	Vagem	4,83 b	35,33 b
UEG 43	Vagem	4,83 b	33,42 b
NECKGOLD 01	Vagem	5,00 b	38,08 b
UEG 26	Vagem	5,00 b	45,42 c
UEG 27	Vagem	5,00 b	45,67 c
Média		4,18	30,0

<sup>1/</sup>Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 2 – Nota aos oito, 16 e 24 dias após a inoculação (DAI) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) obtida em relação à severidade da murcha-de-curtobacterium causada por *Cff* em 11 genótipos de feijão para o método palito de dente no Experimento 2. Campos dos Goytacazes, 2006.

Genótipos	16 DAI	24 DAI	AACPD
NOVIREX	1,40 a	1,40 a	16,40 a
IAC CARIOCA TYBATÃ	1,60 a	1,60 a	18,20 a
UEG 01	2,00 a	2,36 b	22,89 a
AMARELO BAIXO	1,80 a	1,80 a	25,00 a
ZIGANE	2,53 b	2,81 b	28,99 b
UENF 1480	2,80 b	3,40 b	30,70 b
MANTEIGA BAIXO	2,80 b	3,40 b	30,30 b
MACARRÃO BAIXO	2,80 b	3,20 b	31,40 b
HAB 39	2,53 b	3,31 b	31,24 b
MACARRÃO RASTEIRO	2,80 b	3,60 b	32,40 b
COTA	2,80 b	3,20 b	32,40 b
Média	2,35	2,71	27,14

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Um dos fatores que, provavelmente, pode ter influenciado na redução foi a temperatura, visto que a temperatura máxima variou entre 21 e 30°C e a mínima entre 12 e 18°C, sendo menor no local, durante o experimento 2.

Os valores da AACPD variaram de 16,4 a 32,4 e os genótipos ‘Novirex’, ‘IAC Carioca Tybatã’ e ‘Ueg 01’ apresentaram as menores áreas, indicando maior resistência à doença (Tabela 2). O genótipo ‘Ueg 01’, apesar de ter sido suscetível a *Cff*, teve o valor da AACPD baixo, proporcionado pela baixa severidade da doença até os 16 DAI.

Rickard & Walker (1965) testaram vários métodos de inoculação para *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. A inoculação na região cotiledonar por punção de agulha infestada, foi o método mais eficiente nas duas épocas avaliadas, aos 12 e 26 dias após o transplante. A inoculação da folha primária com injúrias por imersão em inóculo por 20 segundos, foi quase tão eficiente quanto a punção aos 12 dias, mas bem inferior aos 26 dias. As inoculações de folhas sob pressão e por rega do inóculo, após ferimentos nas raízes, não foram eficientes em nenhuma das épocas.

Inoculações por punção no caule e infiltração na folha foram testadas por Diatloff & Imrie (2000), para induzir sintomas de murcha vascular e queima da folha, respectivamente. Os autores verificaram pequena correlação entre os dois testes para reação à doença e que a queima da folha ocorreu pela falta d’água ao invés de invasão do patógeno. Assim, concluíram que o método de

inoculação de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* por punção no caule foi o mais apropriado.

No presente estudo, o método de ‘palito de dente’, além da boa discriminação entre os genótipos resistentes e suscetíveis, mostrou-se preferível também devido a sua rapidez e à facilidade na execução, sendo o método de inoculação mais indicado para futuros trabalhos.

Até o momento não foram verificados na literatura trabalhos sobre o comportamento de genótipos nacionais de feijão-de-vagem, em relação à murcha-de-curtobacterium. Os genótipos identificados como resistentes podem ser recomendados aos produtores e/ou incorporados em programas de melhoramento que visem a obtenção de cultivares resistentes.

Os genótipos ‘Novirex’, ‘IAC Carioca Tybatã’ e ‘Amarelo Baixo’ foram identificados com os maiores níveis de resistentes.

O método de ‘palito de dente’, além da boa discriminação entre os genótipos resistentes e suscetíveis, apresenta rapidez e facilidade na execução, sendo o método de inoculação mais indicado.

#### AGRADECIMENTOS

Aos Professores Antonio Carlos Maringoni (UNESP/Botucatu) e Carlos Uesugi (UnB), pelo envio de isolados bacterianos, ao Professor Nei Peixoto (UEG) e ao pesquisador Alisson Fernando Chiorato (IAC), pelo envio de sementes de feijão-de-vagem e comum.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 4. ed. San Diego: Academic, 1997. 635 p.
- BERGAMIN FILHO, A.; MENTEN, J. O. M.; MENDES, B. M. J. Avaliação de resistência a fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 10, p. 137-154, 1984.
- CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. Monitoring epidemics diseases. In: \_\_\_\_\_. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: J. Wiley, 1990. p. 107-128.
- COYNE, D. P.; SCHUSTER, M. L.; ESTES, L. W. Effect of maturity and environment on the genetic control or reaction to wilt bacterium in *Phaseolus vulgaris* L. **American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 88, n. 6, p. 393-399, Nov./Dec. 1966.
- CRUZ, C. D. **Programa GENES**: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 2001. 648 p.
- DIATLOFF, A.; IMRIE, B. C. Inoculation techniques for evaluating resistance to *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in mungbean cultivars. **Australasian Plant Pathology**, Austrália, v. 29, n. 1, p. 24-28, Jan./Feb. 2000.
- DINESEN, I. G. The movement of *Corynebacterium flaccumfaciens* in bean plant. In: PROCEEDINGS INTERNATIONAL CONFERENCE ON PLANT PATHOGENIC BACTERIA, 4., 1978, Washington. **Anais...** Washington: INRA, 1978. p. 929-933.
- FRY, W. E. **Principles of plant disease management**. New York: Academic, 1982. 378 p.
- HSIEH, T. F.; HUANG, H. C.; MUNDEL, H. H.; CONNER, R. L.; ERICKSON, R. S.; BALAUBRAMANIAN, P. M. Resistance of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to bacterial wilt caused by *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. **Journal Phytopathology**, Berlin, v. 153, p. 245-249, 2005.
- KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of Agrobacterium, Corynebacterium, Erwinia, Pseudomonas and Xanthomonas. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 60, n. 60, p. 969-976, June 1970.
- LEITE JÚNIOR, R. P.; BEHLAU, F. Caracterização da murcha do feijoeiro no Paraná. In: REUNIÃO SUL-BRASILEIRA DE FEIJÃO, 5., 2001, Londrina. **Anais...** Londrina: IAPAR, 2001. p. 50-54.
- LEITE JÚNIOR, R. P.; MENEGHIM, L.; BEHLAU, F.; RODRIGUES, S. R.; BIANCHINI, A. Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro no Paraná e Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 303-304, 2001. Suplemento.
- MARINGONI, A. C. Comportamento de cultivares de feijoeiro comum à murcha-de-curtobacterium. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 157-162, mar./abr. 2002.
- MARINGONI, A. C. Alterações nos teores de macronutrientes em plantas de feijoeiro infectadas por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 1, p. 217-222, 2003.
- MARINGONI, A. C.; ROSA, E. F. Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 23, n. 2, p. 160-162, 1997.
- MIRANDA FILHO, R. J.; UESUGI, C. H. Comportamento de diferentes espécies vegetais em relação à *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* isolada de feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 92, 2004. Suplemento.
- RICKARD, S. F.; WALKER, J. C. Mode of inoculation and host nutrition in relation to bacterial wilt of bean. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 55, n. 5, p. 174-178, 1965.
- SAETTLER, A. W. Diseases caused by bacteria. In: HALL, R. **Compendium of bean diseases**. Saint Paul: APS, 1991. p. 29-32.
- SAETTLER, A. W.; PERRY, S. K. Seed-transmitted bacterial diseases in Michigan navy (pea) beans. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 56, n. 16, p. 378-381, 1972.
- SANTOS, A. S. **Marcadores de DNA no melhoramento genético do feijoeiro (Phaseolus vulgaris) visando resistência à Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli**. 2000. 140 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2000.

- SOUZA, U. L.; MARINGONI, A. C.; CARBONELL, S. A. M.; ITO, M. F. Resistência genética em genótipos de feijoeiro a *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 4, p. 339-344, 2006.
- TEGLI, S.; SERENI, A.; SURICO, G. PCR-based assay for the detection of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in bean seeds. **The Society for Applied Microbiology**, Italy, v. 35, n. 9, p. 331-337, 2002.
- THEODORO, G. F.; MARINGONI, A. C. Murcha-de-curtobacterium do feijoeiro no Estado de Santa Catarina e reação de genótipos a *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 1, p. 34-41, 2006.
- TORRES, J. P.; MARINGONI, A. C. Métodos de inoculação, estádios de desenvolvimento fenológico da planta e reação de cultivares de feijoeiro a *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 1, p. 124-129, 1999.
- UESUGI, C. H.; FREITAS, M. A.; MENEZES, J. R. Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro, em Goiás e no Distrito Federal. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 3, p. 303-304, maio/jun. 2003.