

SECA DOS PONTEIROS DA GOIABEIRA CAUSADA POR *ERWINIA PSIDII*: NÍVEIS DE INCIDÊNCIA E ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS¹

ABI SOARES ANJOS MARQUES², MARCUS VINÍCIUS SEGURADO COELHO³,
MARISA ÁLVARES SILVA VELLOSO FERREIRA⁴, JOANICE PEREIRA SANTOS DAMASCENO⁵,
ALEXANDRE PERON MENDES⁶, TATIANA MARTINS VIEIRA⁷

RESUMO – Um dos fatores limitantes ao cultivo da goiabeira no Brasil é a ‘seca dos ponteiros’, causada por *Erwinia psidii*, presente nas regiões Sudeste e Centro-Oeste, onde se concentram grandes áreas produtoras. Considerando a pequena disponibilidade de informações sobre a epidemiologia e níveis de incidência dessa bacteriose, este estudo teve como objetivos: confirmar a distribuição e verificar a dispersão da seca dos ponteiros da goiabeira no Distrito Federal; investigar o efeito da temperatura sobre a multiplicação *in vitro* de *E. psidii*; desenvolver um teste de patogenicidade prático e eficiente e avaliar a sobrevivência *in vitro* da bactéria em diferentes substratos. A doença foi identificada em 56% das propriedades produtoras avaliadas no DF, com 81,9% de correlação entre a presença de sintomas e o diagnóstico laboratorial. A melhor faixa de temperatura para multiplicação de *E. psidii* foi de 24 a 33 °C, e a bactéria permaneceu viável por até 120 dias em suspensão em água. A inoculação da bactéria em folhas ou hastes destacadas levou ao aparecimento de sintomas a partir do sétimo dia e mostrou-se eficiente como um teste rápido para se avaliar a patogenicidade de isolados.

Termos para indexação: *Psidium guajava*, bacteriose, sobrevivência *in vitro*, teste de patogenicidade.

GUAVA BACTERIAL BLIGHT DUE TO *ERWINIA PSIDII*: INCIDENCE LEVELS AND EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS

ABSTRACT- A major disease that affects guava is ‘bacterial blight’, caused by *Erwinia psidii*, which has been reported in Southeastern and Central Regions of Brazil where the major producing areas are located. Considering the lack of information on epidemiology and incidence levels of this disease, the objectives of this study were to confirm the presence and to verify the spread of the disease in Distrito Federal (DF); to determine optimal temperature for *in vitro* multiplication of *E. psidii*; to develop a simple and effective method for pathogenicity testing and to evaluate *in vitro* bacterial survival on different substrates. The disease was detected in 56% of producing orchards evaluated in DF, with a correlation of 81, 9% between presence of symptoms and positive laboratorial diagnosis. The best temperature range for *E. psidii* growth was from 24 to 33 °C, and the best method for short term preservation (up to 120 days) was in water suspension. Inoculation of the pathogen on detached leaves or stems allowed symptom development in seven days and it was shown to be a quick and suitable method for testing isolate pathogenicity.

Index terms: *Psidium guajava*, *in vitro* survival, pathogenicity test.

INTRODUÇÃO

Um dos fatores limitantes ao cultivo de goiabeira em algumas regiões brasileiras é a bacteriose ou seca dos ponteiros, causada por *Erwinia psidii* Rodrigues Neto, Robbs & Yamashiro, cujos sintomas são: a) murcha dos ramos e brotos seguida de seca, os quais adquirem coloração pardo-escura ou negra; b) amarelecimento das folhas, com manchas de aspecto encharcado próximo às nervuras; c) necrose de nervuras em brotações, e d) mumificação de flores e de frutos imaturos.

A seca dos ponteiros foi descrita em 1982, nos municípios paulistas de Valinhos e Pindamonhangaba (Rodrigues Neto et al., 1987). Posteriormente, foi registrada em Minas Gerais (Romeiro et al., 1994), no Espírito Santo (Oliveira et al., 2000) e no Distrito Federal (Lima et al., 1999; Junqueira et al., 2001; Uesugi et al.,

2001) (Figura 1). A doença é favorecida por temperatura elevada e alta umidade relativa. Não foram encontrados relatos de resistência genética em *Psidium guajava* à bactéria, e as medidas de controle recomendadas são o corte e a destruição de ramos atacados. Deve-se evitar poda ou colheita quando a planta estiver umedecida e recomenda-se a pulverização com cúpricos após as podas e a partir da floração (Ribeiro et al., 1985). Essa estratégia, entretanto, não tem garantido um controle da doença (Romeiro et al., 1994), levando-se em conta que o uso de cúpricos pode provocar fitotoxicidade em frutos jovens (25 a 35 mm de diâmetro), inviabilizando-os para a comercialização destinada ao mercado de frutas frescas (Goes et al., 2004).

Não há registros da ocorrência da bacteriose em outros países e, apesar da sua importância para a cultura da goiabeira no

¹ (Trabalho 153-06). Recebido em 04-10-2006. Aceito para publicação em 13-07-2007.

² Eng^a Agr^a Dra. Pesquisadora Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Cx. Postal 02372, 70770-900 Brasília-DF. amarques@cenargen.embrapa.br

³ Eng^a Agr^a MSc Fiscal Agropecuário Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília-DF. marcuscoelho@agricultura.gov.br

⁴ Eng^a Agr^a Dra. Professora Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, 70910-900, Brasília- DF. marisavf@unb.br

⁵ Assistente de operações Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Cx. Postal 02372, 70770-900 Brasília-DF. joanice@cenargen.embrapa.br

⁶ Assistente de operações Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Cx. Postal 02372, 70770-900 Brasília-DF. aperon@cenargen.embrapa.br

⁷ Bióloga MSc Bolsista CNPq. tatvieira@yahoo.com.br

Brasil, não há estudos sobre sua biologia, características de distribuição e prevalência da doença nas áreas de cultivo. Os testes de patogenicidade existentes são longos e dispendiosos, considerando-se o tempo necessário à obtenção de mudas provenientes de sementes ou do enraizamento de estacas. *E. psidii* não sobrevive por muito tempo em cultura, sendo necessárias repicagens sucessivas que podem levar os isolados a perder a patogenicidade ou se tornarem atípicos.

Este trabalho foi realizado com os seguintes objetivos: a) investigar o efeito da temperatura sobre a multiplicação *in vitro* de *E. psidii*; b) avaliar a sobrevivência *in vitro* da bactéria em diferentes substratos; c) desenvolver um teste de patogenicidade prático e eficiente e, d) confirmar a dispersão da seca dos ponteiros da goiabeira no DF, gerando subsídios para as autoridades fitossanitárias locais, na tentativa de minimizar os efeitos negativos da bacteriose na cadeia produtiva da goiaba.

MATERIAL E MÉTODOS

Levantamento para verificar a incidência de *E. psidii* no DF

Foi realizado levantamento em 19 propriedades rurais de Brazlândia (35 km de Brasília), no período de março a setembro/2001 (Tabela 1). As propriedades foram selecionadas em função de resultados negativos para a presença de *E. psidii* obtidos em 2000. Nessa região, os pomares de goiaba ocupam em média 2,5 ha e foram formados, em sua maioria, com mudas provenientes do Estado de São Paulo. As variedades mais comumente plantadas são: Paluma, Pedro Sato, Ogawa, Australiana e a “Vermelha Comum”.

Os isolamentos foram realizados a partir de brotações e frutos com sintomas, por metodologia convencional. A identificação dos isolados foi feita através de testes fisiológicos, nutricionais e de patogenicidade. Uma lista mínima desses testes foi proposta, gerando um perfil que diferencia *E. psidii* das demais espécies do grupo (Tabela 2). Os isolados obtidos, após identificação, foram preservados em glicerol 20%, a -20 °C.

Na segunda etapa (ano de 2002), a incidência da seca dos ponteiros foi avaliada pela correlação entre plantas sintomáticas e o isolamento da bactéria, verificando-se a proporção de plantas infectadas por propriedade. Foram avaliadas 17 propriedades (16.193 plantas), coletando-se amostras de até 20 plantas, com diferentes sintomas, por propriedade (Tabela 3). Após os isolamentos, colônias típicas da bactéria foram identificadas pelos testes nutricionais (Tabela 2) e sorológicos (Mendes et al., 2002).

Avaliação do efeito da temperatura sobre a multiplicação

in vitro de *E. psidii* - Foi realizado ensaio em meio líquido (523 de Kado & Heskett, 1970), sob oito regimes de temperatura (15; 18; 21; 24; 27; 30; 33 e 36 °C), com cinco repetições por tratamento. As temperaturas foram definidas visando a conhecer a faixa de multiplicação da bactéria e seus extremos. A população inicial foi aquela contida em 0,5 ml de suspensão bacteriana, a 10⁶ ufc/ml, para 50 ml de meio líquido. A avaliação foi realizada após 16 horas de incubação sob agitação, a 140 rpm (Agitador PsychoTherm, New Brunswick Scientific Co., Inc.), em função do crescimento populacional da bactéria, medido pela absorbância (590 nm) do meio e pela contagem do número de colônias sobre meio sólido. A

análise de variância foi realizada conforme delineamento inteiramente casualizado, e as médias, comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Houve necessidade de se transformarem os dados [$\log(x+2)$], para ajustá-los à distribuição normal. Foi também efetuada a análise de resíduos, a fim de se verificarem eventuais valores discrepantes dentro dos tratamentos. O programa utilizado foi o SAS (SAS Institute, 1998).

Desenvolvimento do teste de patogenicidade para *E. psidii*

- **Hastes**, com 20 cm de comprimento, foram destacadas da extremidade de galhos de plantas adultas e colocadas em frascos contendo água destilada, imergindo-se 5 a 8 cm da base das mesmas. As inoculações foram feitas na axila de uma das folhas do último par completamente expandido, depositando-se 10 µl de suspensão bacteriana, a 10⁸ ufc/ml, sobre ferimento provocado por microagulha e de água destilada estéril na testemunha. O conjunto foi coberto com plástico transparente, por 48 h, para formação de câmara úmida, e o ensaio, mantido à temperatura e luminosidade ambientes, em laboratório. A evolução dos sintomas foi observada diariamente.

Metodologia similar foi avaliada em folhas destacadas do último par completamente expandido, as quais foram acondicionadas em frascos de vidro (5 cm de diâmetro x 12 cm de altura), contendo camada de 1,0 cm de agar-água, ou em placas de Petri de 9,0 x 2,0 cm com o mesmo meio. Em ambos os casos, o pecíolo das folhas foi levemente forçado a perfurar o meio. As inoculações foram feitas por ferimento com microagulha seguida de depósito de suspensão bacteriana (condições descritas acima), ou por ferimento com palito contendo massa bacteriana. Inoculações com água destilada estéril foram feitas como controle. O ensaio foi mantido nas mesmas condições acima descritas. Foi realizado reisolamento sete dias depois da inoculação, em ambas as situações.

Avaliação da sobrevivência *in vitro* de *E. psidii* em dois substratos

- A preservação em água destilada estéril foi comparada com o meio de cultura 523, para a manutenção dos isolados a curto prazo. Culturas dos isolados Emb.A18-7 e IBSBF 435 de *E. psidii* foram repicadas para tubos com meio de cultura sólido (523) inclinado, incubadas em estufa a 28 °C (±2), e a sobrevivência, avaliada por repicagem aos 5; 6; 10; 15 e 20 dias. Suspensões dos mesmos isolados em água destilada estéril, na concentração de 2,0x10⁷ ufc/ml, foram distribuídas em microtubos (1,5 ml por tubo), que foram mantidos à temperatura ambiente e avaliados aos 30, 60, 90 e 120 dias, em função da observação visual de crescimento bacteriano, com quatro repetições por tratamento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Incidência de *E. psidii* no DF - Considerando-se o diagnóstico positivo quando os isolados apresentaram perfil idêntico ao esperado para a espécie *E. psidii* (Tabela 2), foi confirmada a presença do patógeno em 10 das 19 propriedades inspecionadas em 2001 (52,6%). Levando-se em conta esse resultado e o levantamento realizado em 2000 pela Secretaria de Agricultura e Universidade de Brasília (Uesugi et al., 2001), estima-se em 56% a taxa de pomares infectados em Brazlândia-DF. A

presença da bacteriose em pomares que se apresentaram sadios no levantamento do ano anterior, pode ser resultado da introdução do patógeno na região através de mudas contaminadas. É necessário também considerar a possibilidade da dispersão entre pomares, pois os produtores utilizam maquinário em comum. Outras formas possíveis de transmissão da bactéria ainda não foram investigadas, como a transmissão por insetos vetores, ventos, granizo, entre outros.

Na segunda etapa de avaliação, foi verificada a proporção de plantas infectadas nos pomares, pela correlação entre plantas sintomáticas e o isolamento da bactéria. Os resultados indicaram que, de 309 plantas coletadas, 290 apresentaram frutos mumificados, das quais 242 (83,4%) resultaram em diagnóstico laboratorial positivo; 289 plantas apresentaram seca de ponteiros, com 239 (82,7%) de diagnóstico positivo; em 99 das plantas, havia necrose de nervuras, das quais 79 (79,8%) resultaram em diagnóstico positivo. Das 88 plantas que apresentaram os três sintomas concomitantemente, foi identificada a presença de *E. psidii* em 72 (81,9%) das mesmas (Tabela 3). A discrepância entre esses dois parâmetros pode ser devida ao fato de que alguns sintomas podem ser confundidos com descolorações naturais da planta ou deformações de natureza diversa à doença (Coelho et al., 2002). Pode também haver escape nos procedimentos de isolamento da bactéria, que é dependente da quantidade de células-alvo presentes na amostra (Lepoivre, 2003). Entretanto, mesmo havendo sintomas semelhantes aos da bacteriose causados por outros fatores, o isolamento em meio de cultura permite diagnosticar a situação dos pomares em relação à seca dos ponteiros com nível de segurança de 81,9%. Esse resultado também indica a necessidade do desenvolvimento de métodos mais sensíveis, que permitam o monitoramento preciso da dispersão de *E. psidii* numa determinada região.

Efeito da temperatura sobre o desenvolvimento *in vitro* de *E. psidii* – Nas condições do experimento, *E. psidii* foi capaz de se multiplicar, *in vitro*, numa ampla faixa de temperatura. A 33 °C, a população bacteriana passou de um patamar inicial de 10³ ufc/ml para 10⁸ ufc/ml, em 16 horas (Figura 2), resultado que diferiu significativamente dos demais, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Não houve diferença significativa entre as médias obtidas a 24; 27 e 30 °C, sendo que esse grupo também diferiu significativamente das temperaturas a 15; 18; 21 e 36 °C, nas quais o crescimento populacional foi menor (Figura 2). A 15 °C e 36 °C, não houve crescimento bacteriano detectável pela espectrofotometria, embora as células permanecessem viáveis após o período de incubação, pois foi possível contar a população em meio sólido. A pequena multiplicação da bactéria a 36 °C coincide com os dados apresentados na descrição de *E. psidii* (Rodrigues Neto et al., 1987). Esses autores relatam que a bactéria não apresentou crescimento nessa temperatura. Por outro lado, considerando a presença da doença em regiões mais frias, será necessário realizar estudos de campo, pois a temperatura mais favorável para o crescimento bacteriano *in vitro* pode não ser necessariamente a mesma para a atividade bacteriana durante os processos de infecção e colonização da planta hospedeira.

Teste de patogenicidade para *E. psidii* em hastes e folhas destacadas - Houve reprodução de sintomas típicos da bacteriose

tanto na inoculação em hastes quanto em folhas destacadas, provenientes de plantas adultas. Nas hastes, os sintomas evoluíram a partir do ponto de inoculação, causando o enegrecimento de nervuras e, posteriormente, do limbo das folhas, a morte dos ponteiros e exsudação bacteriana muito freqüente (Figura 3A). A evolução dos sintomas nas folhas foi semelhante e não houve alteração nas testemunhas inoculadas com água estéril (Figura 3B1 e B2). As culturas obtidas nos reisolamentos foram submetidas aos testes bioquímicos estabelecidos (Tabela 2) e responderam aos resultados esperados. Considera-se que esse tipo de teste atenda à finalidade de avaliar a patogenicidade de isolados, embora alguns autores não considerem o uso de partes destacadas das plantas como um teste de patogenicidade, pela hipótese de que organismos saprófitas possam interferir nos resultados (Romeiro, 2001). Entretanto, em diversas situações, diferentes órgãos vegetais têm sido utilizados para essa finalidade, como vagens imaturas de feijão para avaliar a patogenicidade de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* e *P. syringae* pv. *syringae*, podendo-se inclusive observar diferenças nos sintomas causados individualmente pelas bactérias (Marques et al., 2000); folhas destacadas de fortuna (*Kalanchoe tubiflora*) para *Agrobacterium tumefaciens* (Romeiro et al., 1999); frutos imaturos de maçã ou pêra para *Erwinia amylovora*; frutos de nozes para *X. campestris* pv. *juglandis*; frutos verdes de pepino para *P. syringae* pv. *lachrymans* (Lelliot & Stead, 1987), e pecíolos de folhas de melão para *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Melo et al., 2003).

Sobrevivência *in vitro* de *E. psidii* - A sobrevivência de *E. psidii* em meio de cultura foi menor que 10 dias, sendo que, aos seis dias, havia células viáveis em três e quatro das cinco repetições, para os isolados IBSBF 435 e Emb.A18-7, respectivamente. Aos dez dias, já não foram identificadas células viáveis. Em suspensão aquosa, células de *E. psidii* permaneceram viáveis por até 120 dias, sendo necessário continuar o experimento por um período mais longo. Tem sido observado que o tempo de sobrevivência é variável entre as espécies bacterianas, o que também depende do método escolhido (Lelliot & Stead, 1987). A preservação em suspensão aquosa é um método muito utilizado para *Ralstonia solanacearum*, que perde facilmente a patogenicidade sob outras formas (Hayward, 1964).

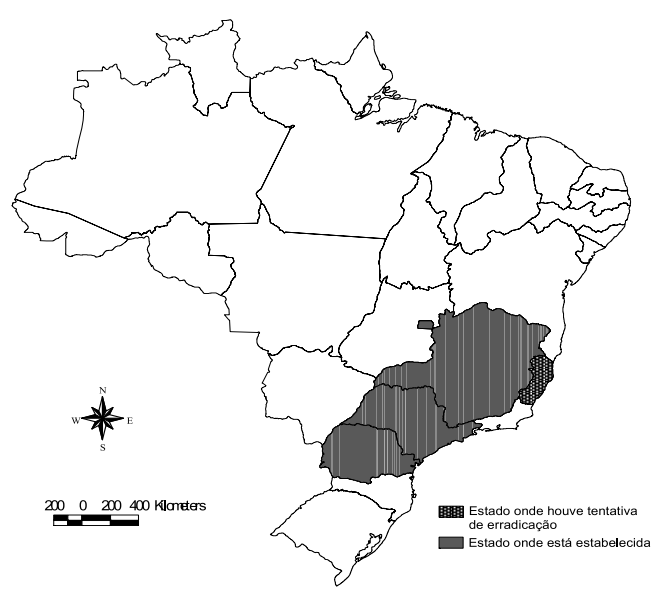


FIGURA 1 – Distribuição geográfica de *Erwinia psidii*.

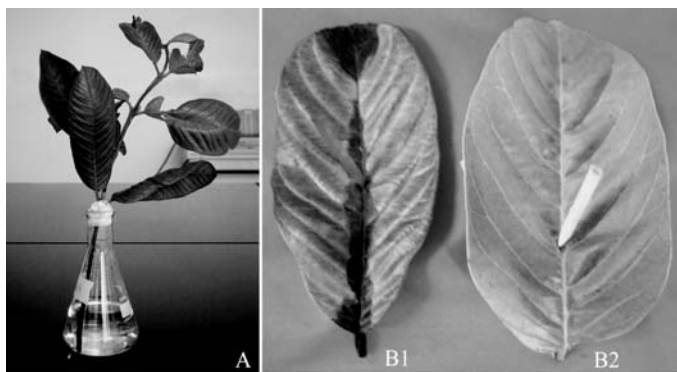


FIGURA 3 – Ilustração do método de inoculação de *Erwinia psidii* em hastes destacadas de goiabeira (A) e reprodução de sintomas da bacteriose em folhas destacadas (B): B1 – inoculada com a bactéria; B2 – testemunha (inoculadas com água estéril).

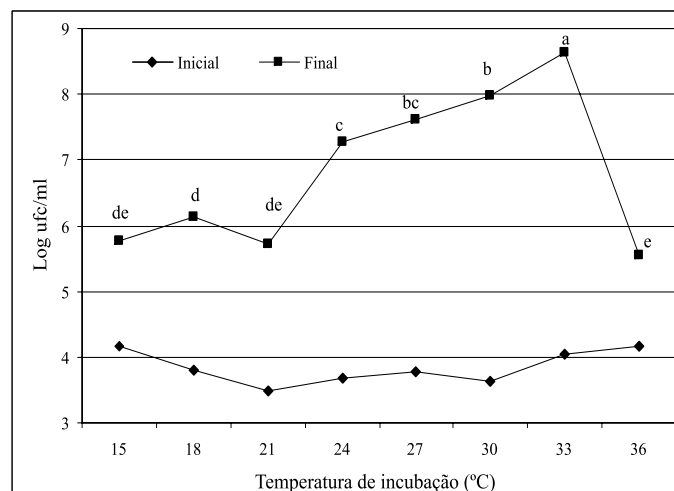


FIGURA 2 – Efeito da temperatura de incubação sobre o crescimento populacional *in vitro* de *Erwinia psidii*. Cada ponto representa a média de cinco repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

TABELA 1 - Levantamento da presença de *Erwinia psidii* em propriedades produtoras de goiaba em Brazlândia (DF), realizado no ano de 2001.

Data de coleta (Ano 2001)	Propriedade*	Local	Diagnóstico	Denominação do isolado
01/03	3/345	INCRA-8	+	Emb. A 18-7
01/03	2/029	Reserva A	+	Emb. A 18-4
05/04		Sítio Novo DF – 180	+	Emb. B 66-2 e 67-1
05/04	275	Brazlândia	-	
11/04	2/232	INCRA-6	+	Emb. B 75-1
11/04	2/223	INCRA-6	+	Emb. B 74-1
11/04	Rec. Imp Ch. 31 A	Cascalheira	-	
12/07	2/210	INCRA-6	+	Emb. B 169-2, 4 e 5
19/07	3/331	INCRA-8	-	
19/07	2/228	INCRA-6	+	Emb. B 182-1 a 9
16/08	2/203	Reserva A	-	
16/08	2/084	Reserva A	+	Emb. B 188-1 e 2
24/08	2/110	Arcag (A. Gusmão)	-	
24/08	2/224	INCRA-6	+	Emb. B 236-2 e 5
24/08	2/254	INCRA-6	-	
03/09	Ch2/210	INCRA-6	-	
03/09	2/069	Reserva A	-	
03/09	Ch 94	Reserva G INCRA 7	-	
03/09	2/117	Arcag	+	Emb. B 244-1, 2 e 4

(+) Plantas com sintomas e diagnóstico laboratorial positivo.

(-) Diagnóstico laboratorial negativo.

* Pomares que não apresentaram sintomas da bacteriose em levantamento realizado no ano de 2000.

TABELA 2 - Lista mínima de testes nutricionais e fisiológicos gerando um perfil de reações que diferencia *Erwinia psidii* das demais espécies do “grupo amylovora”.

Espécie	Gram*	OF*	Catalase*	Urease	Redução de nitrato	Degradação de pectato	Mobilidade	HR	Ácido a partir de Manitol	Teste de patogenicidade em goiaba	Ácido a partir de Rafinose
<i>Erwinia psidii</i>	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
<i>E. amylovora</i>	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-
<i>E. malotivora</i>	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+
<i>E. nalandii</i>	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
<i>E. rubrifaciens</i>	-	+	+	-	-	-	+	nd	-	-	-
<i>E. salicis</i>	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-
<i>E. stewartii**</i>	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	nd
<i>E. tracheiphila</i>	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
<i>E. quercina</i>	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+
<i>E. nigrifluens</i>	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+

Anotação das diferenças: * Gram, OF, Catalase – Caracterização do gênero *Erwinia*, Urease – separa *E. nigrifluens*, Redução de nitrato – separa *E. quercina*, Degradação de pectato – separa *E. tracheiphila*, Mobilidade – separa *E. stewartii* (que não apresenta mobilidade), HR – separa *E. salicis*, Ácido a partir de manitol – separa *E. rubrifaciens*, Teste de patogenicidade – separa *E. nalandii*, Ácido a partir de rafinose – separa *E. malotivora*, HR e teste de patogenicidade – separa *E. amylovora*
 ** *Pantoea stewartii*. subsp. *stewartii*.

TABELA 3 - Nível de incidência da seca dos ponteiros da goiabeira em 17 propriedades na região de Brazlândia (DF): correlação entre plantas sintomáticas e isolamento de *Erwinia psidii*, realizado no ano de 2002.

Propriedades	Nº de plantas	Amostra (nº de plantas)	Frutos mumificados (A)		Seca dos ponteiros (B)		Necrose de nervuras (C)		A, B e C concomitantemente	
			Plantas com sintomas	Diagnóstico positivo	Plantas com sintomas	Diagnóstico positivo	Plantas com sintomas	Diagnóstico positivo	Plantas com sintomas	Diagnóstico positivo
Ch. M. Novo	2.500	20	18	15	17	14	6	5	6	5
Ch 116	1.280	18	18	17	18	17	18	17	18	17
Ch. 2/225	1.280	20	20	20	20	20	1	1	1	1
Ch. 233	1.200	20	20	15	20	15	0	0	0	0
Ch. 223	1.120	19	19	11	12	7	19	11	13	7
Ch. 246	1.100	19	18	17	19	18	8	8	8	8
Ch. 2/238	1.100	20	19	8	14	5	8	2	7	7
Ch. 237	1.100	18	18	16	18	16	8	7	7	2
Ch. 228	1.000	13	13	11	13	11	11	10	11	10
Ch. 90	1.000	19	6	3	17	7	2	0	1	0
Ch. 2/210	960	14	14	13	14	13	0	0	0	0
Ch. 89	700	17	15	15	17	17	0	0	0	0
Ch 110	646	18	18	15	18	15	0	0	0	0
Ch. 69	468	16	16	12	16	12	0	0	0	0
Gl. 3/279	380	20	20	18	20	18	0	0	0	0
Ch. 230 A	200	19	19	19	17	17	18	18	16	15
Ch. 2/224	159	19	19	17	19	17	0	0	0	0
Total	16.193	309	290	242	289	239	99	79	88	72

CONCLUSÕES

1- A seca dos ponteiros da goiabeira encontra-se amplamente distribuída na principal região produtora de goiaba do Distrito Federal.

2 - A faixa de temperatura favorável para a multiplicação *in vitro* de *E. psidii* encontra-se entre 24 e 33 °C.

3- A patogenicidade de isolados pode ser confirmada através da inoculação em hastes e folhas destacadas de plantas adultas.

4- A preservação de *E. psidii* pode ser feita na forma de suspensão em água destilada estéril, à temperatura ambiente por até 120 dias.

AGRADECIMENTOS

A Sérgio Eustáquio de Noronha, pela montagem do mapa, e a Wesley Rodrigues de Souza, pela edição das imagens. Aos engenheiros agrônomos da Emater-DF, Marcelo Pereira, Escritório de Brazlândia e Paulo César Tarchetti, Escritório de Alexandre Gusmão-Incra 8; Álvaro E. Caldas Filho, Thomé L. Guth e estagiários da Secretaria de Agricultura do DF, pelo auxílio na coleta das amostras, facilitando o contato com os produtores. A Eduardo Leonardez Neto e Maria Aldete J. da Fonseca Ferreira, pelo auxílio na análise estatística.

REFERÊNCIAS

COELHO, M.V.S.; MENDES, A.P.; MARQUES, A.S.A. **Seca dos ponteiros da goiabeira causada por *Erwinia psidii*: levantamento e caracterização**. Brasília: Embrapa – SPI, 2002. 8p. (Comunicado Técnico, 59)

GOES, A.; MARTINS, R.D.; REIS, R.F. Efeito de fungicidas cúpricos, aplicados isoladamente ou em combinação com mancozeb, na expressão de sintomas de fitotoxicidade e controle da ferrugem causada por *Puccinia psidii* em goiabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 237-240, 2004.

HAYWARD, A.C. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v.27, p.265-277. 1964.
JUNQUEIRA, N.T.V.; ANDRADE, L.R.M.; PEREIRA, M.; LIMA, M.M.; CHAVES, R.C. **Doenças da goiabeira no cerrado**. Planaltina: Embrapa – SPI, 2001. 25 p. (Circular Técnica, 15)

KADO, C.E.; HESKETT, M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, St Paul, v.60, p. 969-976, 1970.

LELLIOTT, R.A.; STEAD, D.E. **Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1987. 216 p.

LEPOIVRE, P. **Phytopathologie – bases moléculaires et biologiques des pathosytèmes et fondamentes des stratégies de lutte**. Bruxelas: De Boeck & Larcier, 2003. 427 p.

LIMA, M.M.; JUNQUEIRA, N.T.V.; YAMANISH, O.K.; MACHADO FILHO, J.A.; BOAVENTURA, S.B. Cultura da Goiabeira. In: OCDF/COOLABORA (Ed.) **Incentivo à fruticultura no Distrito Federal**: manual de fruticultura. Brasília, 1999. p.53-63.

MARQUES, A.S.A.; CORBIÈRE, R.; GARDAN, L.; TOURTE, C.; MANCEAU, C.; TAYLOR, J.D.; SAMSON, R. Multiphasic approach for the identification of the different classification levels of *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.106, p.715-734, 2000.

MELO, L.A.; VIEIRA, T.M.; MARQUES, A.S.A. Comparação de métodos para o estabelecimento de um teste de patogenicidade para *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v.28, p.240. 2003.

MENDES, A.P.; SANTOS, J.P.; VIEIRA, T.M.; COELHO, M.V.S.; MARQUES, A.S.A. Produção e avaliação de antissoro policlonal contra *Erwinia psidii*, agente causal da seca dos ponteiros da goiabeira. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v.27, p.64. 2002.

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

RIBEIRO, I.J.A.; SUGIMORI, M.H.; RODRIGUES NETO, J.; YAMASHIRO, T.; PIZA JÚNIOR, C.T.; PRATES, H.S. FREDIANI, A.J.A. **A bacteriose da goiabeira**. Campinas: Secretaria da Agricultura e Abastecimento, CATI, 1985. 13 p.

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

ROMEIRO R.S.; SILVA, H.S.A.; BERIAM, L.O.S.; RODRIGUES NETO, J.; CARVALHO, M.G.A. Bioassay for detection of *Agrobacterium tumefaciens* from soil and plant material. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.25, p.109-112, 1999.

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

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

SAS Institute. **Statistical analysis system**. Release 8.02, Cary, NC. 1998.

UESUGI, C.H.; MELO FILHO, P.A.; LIMA, M.L.P.; MORAES, C.A.; TOMITA, C.K.; CAFÉ FILHO, A.C.; UENO, B. Ocorrência de *Erwinia psidii* em goiabeira no Distrito Federal. In: CONGRESSO PAULISTADE FITOPATOLOGIA, 24., 2001. Piracicaba. **Anais...** p 118.