

XVIII

CIC

XI ENPOS  
I MOSTRA CIENTÍFICA



Evoluir sem extinguir:  
por uma ciência do dever



## AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO CONTROLE BIOLÓGICO DE *Phaeoisariopsis griseola* POR ISOLADOS BACTERIANOS

Campesato, Cibeli Bastos Marques<sup>1</sup>, Corrêa, Bianca Obes<sup>2</sup>, Buss, Renato Berwaldt<sup>3</sup>, Moura, Andréa Bittencourt<sup>4</sup>

Universidade Federal de Pelotas-FAEM. CP. 354-96010-900

<sup>1</sup>Biologia Bolsista CNPq/ITIA, <sup>2</sup>Doutoranda Bolsista CAPES, <sup>3</sup>Agronomia Bolsista CNPq/ITIA,

<sup>4</sup>Departamento de Fitossanidade. E-mail: cibimc@hotmail.com

### INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) apresenta alto valor protéico e energético constituindo-se no alimento básico para população. O Brasil ocupa as primeiras posições como produtor e consumidor de feijão e grande parte desta produção é obtida por pequenos agricultores. No entanto, um dos maiores problemas é a incidência de doenças tanto bacterianas quanto fúngicas (DIAZ et al., 2001).

Dentre os principais patógenos fúngicos, destaca-se o fungo *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc) Ferrari que apresenta dificuldade de controle por apresentar grande variabilidade genética. As medidas de controle recomendadas são: rotação de culturas, utilização de sementes saudáveis, e controle químico (BIANCHINI et al., 2000). O uso de cultivares resistentes, tem se apresentado como melhor alternativa (OLIVEIRA et al. 2004), porém, muitas vezes essa medida se torna inviável devido ao surgimento de novas raças do patógeno.

Por esse motivo, a busca por métodos alternativos, como o caso do controle biológico, surge como uma opção eficaz e viável, que já tem mostrado resultados promissores em várias pesquisas contra diferentes patógenos na cultura do feijão, quando se observou que a introdução de agentes de controle biológico proporcionou redução de doenças causadas tanto por bactérias (SBALCHEIRO et al., 2009; ZANATTA et al. 2007) quanto por fungos (MARTINS et al., 2003; CORRÊA et al., 2008).

Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar isolados bacterianos selecionados para o controle de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, isolados e em combinações, para o controle de *Phaeoisariopsis griseola*.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### Microbiolização e semeadura

Foram utilizados os isolados bacterianos: DFs093 *Bacillus cereus*, DFs513 *Pseudomonas* sp., DFs769 *Bacillus cereus*, DFs831 *Pseudomonas* sp., DFs842 *Pseudomonas* sp., DFs843 *Rhodococcus fascians* e DFs912 *Rhodococcus fascians*. Estes isolados foram selecionados para o biocontrole

de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap) (ZANATTA et al., 2007) e as combinações: M01 (DFs093 + DFs769 + DFs831), M02 (DFs093 + DFs769 + DFs842) e M03 (DFs348 + DFs769 + DFs831) pré-selecionadas para biocontrole de Xap (SANTOS, 2006) e *Colletotrichum lindemuthianum* (CORRÊA et. al., 2008).

Os isolados bacterianos foram cultivados em meio 523 de KADO e HESKETT (1970) por 24 horas. Então, foram preparadas suspensões com solução salina (NaCl 0,85%) para cada um dos isolados sendo as suas concentrações ajustadas para  $A_{540} = 0,50$ . As combinações de alguns dos isolados foram preparadas com 20 mL de suspensão de cada isolado, cujas concentrações também foram individualmente ajustadas para  $A_{540} = 0,50$ , constituindo as combinações: M01, M02 e M03. Como testemunhas, foram utilizadas sementes imersas em solução salina (NaCl 0,85%).

As sementes foram colocadas em agitação, por quatro horas juntamente com os tratamentos bacterianos. A seguir foram semeadas em solo não esterilizado e as plantas originadas, conduzidas em casa de vegetação até atingirem o tamanho adequado à inoculação, neste caso até que desenvolvessem a primeira folha verdadeira.

O patógeno foi crescido em meio V8, por 21 dias a 23°C no escuro. Posteriormente preparou-se uma suspensão de  $10^4$  conídios/mL, ajustada em câmara de Neubauer. Essa suspensão foi inoculada nas primeiras folhas trifolioladas por aspersão e logo após realizada câmara úmida por 24 horas para o desenvolvimento da doença, em casa de vegetação. As plantas foram observadas, e após o surgimento dos primeiros sintomas, foram aplicadas notas referentes a severidade dos sintomas aos 10, 12, 14 e 16 dias após a inoculação, utilizando-se escala de notas proposta por CANTERI et al. (1999).

Após as avaliações os resultados foram submetidos à análise variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 0,5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os 11 tratamentos estabelecidos, foi possível observar que o melhor desempenho foi obtido pelos tratamentos em DFs769, M01 e M02 (Tabela 1). Estes isolados demonstraram uma tendência a reduzir a severidade da doença, sem, contudo diferenciar da testemunha. Um dos motivos que pode ter interferido nestes resultados, são as condições de temperatura e umidade muito elevadas, na época referente às últimas avaliações.

Tabela 1. Médias da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) oriundos das notas de severidade dada as plantas oriundas dos tratamentos utilizados na microbiolização de sementes de feijão.

TRATAMENTOS	AACPD
Testemunha	6,6 bc
DFs093	10,3 ab
DFs513	5,4 bc
DFs769	2,5 c
DFs831	5,7 bc
DFs842	10,3 ab

DFs843	8,4 b
DFs912	14,6 a
M01	2,9 c
M02	1,7 c
M03	14,9 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 0,5% de probabilidade.

É importante ressaltar que os mesmos tratamentos que chamam a atenção no controle de *P. griseola*, também se destacaram em outros ensaios para o controle de *Colletotrichum lindemuthianum* quando avaliada a transmissão das sementes para as plantas, proporcionando médias de controle de até 60% para as combinações M01 e M02 (CORRÊA et al., 2008). Além disso, a combinação M01 também promoveu a redução da incidência e da severidade de 16 isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em plantas de feijão, oriundas de sementes microbiolizadas com esse tratamento (CORRÊA, 2007).

Esse fato nos leva a acreditar que existe um potencial promissor do uso das combinações de microrganismos, devido ao fato de que utilizam diferentes mecanismos de ação. Na literatura a utilização de isolados bacterianos em combinação, é um fato explorado. A mistura de agentes de biocontrole é uma opção com características de maior estabilidade, devido ao espectro de ação destes isolados tornar-se maior (BOER et al., 2003; GUETSKY et al., 2002; ELAD et al., 1994).

## CONCLUSÃO

Os tratamentos com DFs769 e as combinações M01 e M02, apresentam características, dentro das condições proporcionadas no experimento, que possibilitam o seu uso em programas de controle biológico aplicados ao controle de *Phaeoisariopsis griseola*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.PG. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (eds.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3ed. São Paulo: Ceres, 1997. v.2, p.376-399.
- BOER, M.; BOM, P.; KINDT, F.; KEURENTJES, J. J.B.; SLUIS, I.; VAN LOON, L. C. BAKKER, P. A. H. M. Control of *Fusarium* wilt of radish by combining *Pseudomonas putida* strains that have different disease suppression mechanisms. **Phytopathology**, v.93, n.5, p.626-632, 2003.
- CANTERI, M. G.; DALLA PRIA, M.; SILVA, O. C. (eds). **Principais doenças fúngicas do feijoeiro: orientações para manejo econômico e ecológico**. Ponta Grossa: UEPG, 178p. 1999.
- CORRÊA, B.O.; MOURA, A.B.; DENARDIN, N.A.; SOARES, V.N.; SCHAFER, J.T.; LUDWIG, J. Influência da microbiolização de sementes de feijão sobre a transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* (Saac e Magn.). **Revista Brasileira de Sementes**. v.30, n.2, p. 156-163. 2008.
- DÍAZ, C. G.; BASSANEZI, R. B.; GODOY, C. V.; LOPES, D. B.; BERGAMIN FILHO, A. Quantificação do efeito do cretamento bacteriano comum na

eficiência fotossintética e na produção do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**. v. 26 n.1, 2001. p. 71-76.

ELAD, Y.; KÖHL, J.; FOKKEMA, N. J. Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic yeasts. **Phytopathology**, v. 84, p.1193-1199, 1994.

GUETSKY, R.; SHTIENBERG, D., ELAD, Y.; DINOOR A. Improving biological control by combining biocontrol agents each with several mechanisms of disease suppression. **Phytopathology**, v. 92, n. 9, p.976-985, 2002.

HERVÁZ, A.; LANDA, B.; DATNOFF, L. E. R.; JIMÉNEZ-DÍAZ, M. Effects of commercial and indigenous microorganisms on *Fusarium* wilt development in chickpea. **Biological Control**, v. 13, p. 166-176, 1998.

KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**. v.60, p. 24-30, 1970.

MARTINS, A.; KIMURA, O.; RIBEIRO, R. de L. D.; BALDANI, J. I. Efeito da microbiolização de sementes com rizobactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* sobre a “murcha fusariana” do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) **Agronomia**, v.37, n 1, p. 69 - 75, 2003.

OLIVEIRA, E. J.; ALZATE MARIM, A L.; BORÉM, A.; MELO, C. L. P.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A.; Reação de cultivares de feijoeiro comum a quatro raças de *Phaeoisariopsis griseola*. **Fitopatologia Brasileira** v. 29, p.220-223, 2004.

SANTOS, A. S. **Biocontrole de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* e promoção do crescimento de plantas de feijão pela microbiolização de sementes com bactérias**. 2006. 41 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade)–Departamento de Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas. RS, 2006.

SBALCHEIRO, C.C.; DENARDIN, N.D.; BRAMMER, S.P. Alterações de isoenzimas peroxidases em plantas de feijoeiro tratadas com biocontrolador do cretamento bacteriano comum. **Tropical Plant Pathology**. v. 34, n. 1, p029-037. 2009.

ZANATTA, Z.G.C.; MOURA, A.B.; MAIA, L.C.; SANTOS, A.S. Bioassay for selection of biocontroller bacteria against bean common blight (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*). **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, p. 511–515, 2007.