

## MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES DE FEIJÃO PARA O BIOCONTROLE DE PODRIDÃO CINZENTA DO CAULE (*Macrophomina phaseolina*)\*

**COSTA, Márcio Wissmann<sup>1</sup>, CORRÊA, Bianca Obes<sup>2</sup>, SCHAFER, Jaqueline Tavares<sup>3</sup>, BENEDETI, Paulo Ricardo<sup>1</sup>, MOURA, Andréa Bittencourt<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Graduando em Agronomia Bolsista CNPq ITI A, <sup>2</sup>Doutoranda em Fitossanidade Bolsista CAPES, <sup>3</sup>Mestranda em Fitossanidade Bolsista CAPES, <sup>4</sup>Professora Departamento de Fitossanidade Bolsista CNPq Produtividade em Pesquisa FAEM, UFPel, CEP 96010-970, Pelotas, RS, Brasil. E-mail: [marcio84costa@hotmail.com](mailto:marcio84costa@hotmail.com) \* Projeto com executado com recursos do CNPq, processo 574838/2008-2

### 1 INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é cultivado em cerca de 100 países, destacando-se Brasil, Índia, China, Estados Unidos e México, responsáveis por cerca de 63% do total produzido (IBGE, 1996). O Brasil é o maior produtor mundial e também um dos maiores consumidores de feijão com 17,5 Kg<sup>-1</sup>. hab<sup>-1</sup>. ano<sup>-1</sup> em 2005 (Wander, 2007). Sua produção em 2005/2006 foi estimada em 3.471 milhões de toneladas, obtida em 4.226 milhões de hectares, cujo rendimento médio é de 822 kg ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2007). O Brasil

A cultura do feijão poderia ser mais expressiva do que mostram os dados encontrados. Uma das razões para esta situação, entre outras, é alta incidência de doenças com potencial de danos de até 60% (NETO & FANCELLI, 2000).

Dentre as principais doenças fúngicas está a podridão cinzenta do caule do feijão, causada por *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, que apresenta grande dificuldade de controle e pode causar perdas elevadas na produção. O fungo forma escleródios como estrutura de resistência e sobrevive por mais de um ano no solo (KIMATI, 1980).

A natureza minifundiária da cultura exige que o controle de doenças seja realizado dando preferência à adoção de medidas culturais, utilizando cultivares com resistência às principais doenças, e empregando o controle químico apenas no caso de lavouras com um nível de produção que justifique a adoção desta prática de controle. Neste caso, o controle de doenças deve basear-se em um plano de controle integrado, considerando o patógeno que se deseja controlar, a cultivar utilizada, o nível tecnológico da lavoura e condições ambientais.

Dentro de um contexto de manejo integrado de doenças, onde se prioriza maior produtividade e redução dos custos de produção, o controle biológico tem ganhado destaque, complementando as medidas já empregadas (ROMEIRO et al., 2000; ZAMBOLIM, 2001; MADER et al., 2002; BETTIOL & GHINI, 2003).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial de isolados biocontroladores de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Smith) Dye (ZANATAA et al., 2007) e de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc & Magn.) (CORRÊA et al., 2008), isolados e em combinação, para o controle da podridão cinzenta do caule a partir da microbiolização de sementes de feijão.

### 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados os isolados DFs0093 e DFs0769 (*Bacillus cereus*) Frankland & Frankland, DFs0348 (*Bacillus* sp) Cohn, DFs0513 (*Pseudomonas veronii*) Elomari, DFs0831 e DFs0842 (*Pseudomonas fluorescens*) Migula, e DFs0843 e DFs0912 (*Rhodococcus fascians*) Goodfellow ex. Tilford, que fazem parte da coleção do Laboratório de Bacteriologia Vegetal do Departamento de Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas.

### 3 MICROBIOLIZAÇÃO DAS SEMENTES

Os isolados biocontroladores foram previamente cultivados em meio 523 de Kado e Heskett (1970) por 24 horas. A partir destes, foram preparadas suspensões com solução salina (NaCl 0,85%) para cada um dos isolados e as concentrações ajustadas para  $A_{540} = 0,50$ .

As combinações de bactérias foram obtidas por mistura de suspensões preparadas individualmente, com concentração ajustada para  $A_{540} = 0,50$ . Foram estabelecidas as combinações C01, C02 e C03 a partir dos isolados DFs093+DFs769+DFs831, DFs093+DFs769+DFs842 e DFs769+DFs348+DFs831, respectivamente.

Na sequência, em cada tratamento, sementes da cultivar BRS Valente foram imersas e submetidas à agitação por 5 horas a temperatura de 10°C. Como testemunhas, foram utilizadas sementes imersas em solução salina (NaCl 0,85%).

Os ensaios foram conduzidos em dois plantios, onde as sementes foram semeadas em vasos com 2kg de solo não esterilizado. Após a emergência, o desbaste foi realizado deixando-se uma planta por vaso.

O inóculo de *M. phaseolina* foi obtido a partir da adição de quatro discos de meio de cultura colonizados ao substrato composto de 50g de sementes de arroz e 50mL de água destilada previamente autoclavados. O fungo foi incubado a 30°C por 10 dias. O solo foi infestado antes da semeadura com 2g deste inóculo em cada vaso.

A avaliação da severidade da doença foi realizada, após o surgimento dos primeiros sintomas, de acordo com escala de notas de 1-9, descrita por Abawi e Pastor-cCrrales (1990) onde: 1- sem sintomas; 3- lesões limitadas às folhas cotiledonares; 5- lesões progredindo das folhas cotiledonares a 2 cm do caule; 7- lesões extensivas, presença de clorose e necrose nas folhas e caule; 9- presença de picnídios no caule e morte das plantas.

A partir das notas de severidade da doença foi calculada a curva de progresso da podridão cinzenta pelo programa Gwbasic (MAFFIA, 1995). Os resultados foram submetidos à análise de variância, e as médias de cada tratamento, comparadas entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade utilizando-se o programa SASM-Agri (CANTERI et al., 2001).

### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De forma geral, os tratamentos proporcionaram controle do patógeno, quando no primeiro plantio, oito dos dez tratamentos foram significativamente eficientes, e, no segundo plantio, seis. No primeiro plantio pode-se observar que os tratamentos DFs842 e DFs843, proporcionaram os menores valores da área de progresso da severidade em relação à testemunha, com uma média de 58,8% de controle da doença (Tab.1). Os mesmos mantiveram-se eficazes contra a doença nos dois plantios. Esse acontecimento mostra estabilidade de controle sobre a doença, como verificado também por LUDWIG et al. (2008), que verificaram que dentre as bactérias utilizadas, o isolado DFs306 resultou em controle de *Gerlachia oryzae* e de *Bipolaris oryzae*, em duas épocas diferentes para o cultivo do arroz. Parte desta estabilidade talvez possa ser explicada pela indução de resistência, uma vez que isolado DFs842 aumentou expressivamente a concentração de proteínas solúveis totais e da atividade de enzimas relacionadas à resistência plantas de feijão inoculadas com *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (SILVA et al., 2009).

Ficou evidente que os tratamentos DFs769 e DFs912 não atuaram no controle do patógeno em ambos os plantios, sendo que no segundo plantio os mesmo resultaram em aumento da severidade da doença. Mas se verifica que DFs769 em combinação com outras bactérias (C01, C02 e C03) pode ter influenciado na diminuição da severidade da doença.

Quando foram analisados os resultados com relação às combinações, nota-se que as mesmas não apresentaram redução expressiva como alguns tratamentos isolados, como o DFs842 e DFs843.

Tabela 1 - Área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPD) da podridão cinzenta do caule em plantas de feijão oriundas de sementes microbiolizadas com tratamentos bacterianos em dois plantios conduzidos em casa de vegetação

Tratamentos	AACPD	
	1° plantio	2° plantio
DFs093	61,2 c	52,5 c
DFs513	45,0 e	50,0 cd
DFs769	85,0 a	72,5 a
DFs831	52,5 d	55,0 bc
DFs842	35,0 f	50,0 cd
DFs843	35,0 f	45,0 d
DFs912	85,0 a	73,5 a
C01*	52,5 d	52,5 c
C02*	68,7 b	55,0 bc
C03*	50,0 d	52,5 c
Testemunha	85,0 a	61,2 b
CV (%)	4,9	7,8

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

\*C01(DFs093+DFs769+DFs831);C02(DFs093+DFs769+DFs842);C03(DFs769+DFs348+DFs831).

## 5 CONCLUSÕES

As bactérias estudadas possuem potencial de controle da doença.

Os tratamentos DFs842 e DFs843 constituído pelas bactérias *Pseudomonas fluorescens* e *Rhodococcus fascians* respectivamente, apresentam grande capacidade para serem usadas como biontroladores.

## REFERÊNCIAS

ABAWI, G.S.; PASTOR CORRALES, M.A. **Root rots of beans in Latin America and Africa; diagnosis, research methodologies and management strategies**. CIAT: Cali, Colômbia, 114 p. 1990.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. In: CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. (eds.) **Métodos alternativos de controle fitossanitário**, Jaguariúna; Embrapa Meio Ambiente, 2003. p.79-96.

CANTERI, M. G.; ALTHAUS, R. A.; VIRGENS FILHO, J. S.; GIGLIOTI, E. A.; GODOY, C. V. SASM - Agr : Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v.1, n.2, p.18-24, 2001.

CORRÊA, B.O. **Microbiolização com bactérias no controle do crestamento bacteriano comum e da antracnose na cultura do feijão**. 2007. 81f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Departamento de Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas. 2007.

IBGE. 1990 A 2002. Levantamento sistemático da produção agrícola. Rio de Janeiro, página variável.

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

KIMATI, H.; MASCARENHAS, H.A.A. Incidência de doenças em ensaios de variedades de feijoeiro na cultura das águas no Estado de São Paulo. **Bragantia**, Campinas, v.26, p.XVII-XXV, 1967.

MADER, P.; FLIEBACK, A.; DUBOIS, D.; GUNST, L.; FRIED, P.; NIGGLI, U. Soil fertility and biodiversity in organic farming. **Science**, v. 296, n.5573, p. 1694-1697, 2002.

MAFFIA, L.A. **Programa para cálculo de área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) GW-BASIC 3.20**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa – Departamento de Fitopatologia, 1995.

NETO, D. D.; FANCELLI, A. L. **Produção de feijão**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 385p.

ROMEIRO, R.S.; NEVES, D. M. S. CARVALHO, M. G. ; CARRER-FILHO, R. Seleção de bactérias residentes de filoplano de tomateiro como agentes de biocontrole de enfermidades da parte aérea da cultura. **Summa Phytopathologica**, v.26, p.220-224, 2000.

WANDER, A. E. Produção e consumo de feijão no Brasil, 1975-2005. **Informações Econômicas**, v.37, n.2, 2007.

ZAMBOLIM, L. (ed.). **Manejo integrado fitossanidade: cultivo protegido, pivô central e plantio direto**. Viçosa: Departamento de Fitopatologia, 2001.722p.

ZANATTA, Z.G.C.N.; 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.