

Controle do cretamento bacteriano comum na cultura do feijoeiro pelo uso de fertilizantes foliares

CLAIR APARECIDA VIECELLI^{1,2*}; TÂNIA MOERSCHBÄCHER¹

¹Faculdade Assis Gurgacz – FAG, Curso de Agronomia. Av. das Torres 500, CEP: 85.806-095, Bairro Santa Cruz, Cascavel/PR

²Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR, *Campus* Toledo, Curso de Agronomia. Av. da União 500, Jardim Coopagro, CEP 85902-532, Toledo/PR. E-mail: clair@fag.edu.br, clair.viecelli@pucpr.br, tania_nyna@yahoo.com.br. *Autor para correspondência

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é um dos mais importantes constituintes da dieta da população brasileira, possuindo excelente fonte proteica; porém, seu rendimento é baixo devido a doenças como o cretamento bacteriano comum, causado pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. O objetivo desse trabalho foi verificar a influência dos fertilizantes foliares CaB (Cálcio e Boro), Mn (Manganês) e Z (Zinco) na severidade da doença. Para tanto, plantas de feijoeiro foram cultivadas em casa de vegetação e, na fase vegetativa V2, aplicaram-se tratamentos com os fertilizantes foliares, além dos controles água, bactericida Agrimicina (50 mg i.a.L⁻¹) e acibenzolar-S-metil (75 mg i.a. L⁻¹), e três dias depois, inoculou-se o patógeno. A suspensão bacteriana foi inoculada na concentração de 5 x 10⁷ UFC mL⁻¹. Aos 17, 21 e 25 dias após a inoculação, avaliou-se a severidade com escala diagramática e os dados foram submetidos à ANOVA e ao teste de Tukey (p = 0,05) pelo programa SISVAR. Os resultados demonstram redução da severidade em até 47% comparados com os da testemunha quando aplicado manganês, tornando-o promissor para pesquisas relacionadas ao controle alternativo desse patossistema.

Palavras-chave: nutrição mineral, controle alternativo.

ABSTRACT

Control of the common bacterial blight in the bean crop by using foliar fertilizers

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is one of the most important constituents of the Brazilian's diet, being an excellent source of proteins; however, this crop presents low yield due to diseases such as the common bacterial blight, caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. This study aimed to examine the influence of foliar fertilizers CaB (Calcium and Boron), Mn (Manganese) and Z (Zinc) on disease severity. Therefore, bean plants were grown in a greenhouse and, in the vegetative phase V2, treatments with foliar fertilizers and the controls water, bactericidal Agrimicina (50 mg i.a.L⁻¹) and acibenzolar-S-methyl (75 mg i.a L⁻¹) were applied, and three days after, the pathogen was inoculated. The bacterial suspension was inoculated at a concentration of 5 x 10⁷ UFC mL⁻¹. At 17, 21 and 25 days after inoculation, disease severity was evaluated with diagrammatic scale and the data were submitted to ANOVA and Tukey's test (p = 0.05) through the software SISVAR. The results show reduction of severity up to 47% when compared to control with the application of Manganese, being promising for research related to alternative control of this pathosystem.

Keywords: mineral nutrition, alternative control.

SAP: 5907

DOI: 10.18188/1983-1471/sap.v12n1p66-72

Data do envio: 22/12/2011

Data do aceite: 05/10/2012

Scientia Agraria Paranaensis
Volume 12, número 1, p.66-72, 2013

INTRODUÇÃO

Considerada uma das mais importantes leguminosas comestíveis, o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) encontra-se distribuído desde os trópicos até as zonas temperadas, atingindo os cinco continentes, esta difusão deve-se ao seu valor nutritivo, constituindo-se na principal fonte protéica dos povos sul-americanos e centro – americanos (VIEIRA & HEMP, 1992).

O feijoeiro é uma planta bastante vulnerável a ação dos agentes de ambiente, seja de natureza abiótica (clima) ou de natureza biótica (microorganismos), caracterizada por acentuada instabilidade produtiva (BORÉM et al., 1997; KIMATI et al., 2005). Ademais, em função da expansão da área cultivada com feijão no Brasil, aliado ao seu cultivo sucessivo, ao longo do ano, em diversas regiões produtoras, tem contribuído para o aumento e a disseminação de patógenos. No âmbito agrônômico, a ocorrência de doenças representa relevante fator na lucratividade das culturas, principalmente quando consideradas algumas espécies características por extrema suscetibilidade a um significativo número de patógenos, como é caso do feijoeiro. Dentre as doenças provocadas por bactérias, o crestamento bacteriano comum é a mais importante e de ocorrência generalizada, sobretudo nas regiões úmidas e relativamente quentes (FANCELLI et al., 2007; PAULA JUNIOR et al., 2006).

O crestamento bacteriano comum (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) foi pela primeira vez registrado no Brasil por Caldeira e Vieira, no estado do Pará, em publicação com data de 1938. A enfermidade de disseminação mundial pode causar prejuízos severos, sintomas da doença são manchas encharcadas nas folhas, que aumentam em tamanho e progridem para necróticas que podem apresentar um tênue halo amarelado, as lesões podem estar esparsas no limbo, bem como na parte marginal, progredindo para o centro dos folíolos (KIMATI et al., 2005; VIEIRA, 1992). É uma bacteriose que provoca redução na colheita de 10 a 70% em condições de ataque natural, e o agente pode ser transmitido por sementes com alta eficiência (DIAZ, 2000).

O controle químico de doenças de plantas é, em muitos casos, a única medida eficiente e economicamente viável de garantir alta produtividade e qualidade de produção (KIMATI, 1995). No entanto, o uso indiscriminado de tais produtos pode acarretar, em longo prazo, o surgimento de isolados dos fitopatógenos resistentes às substâncias químicas utilizadas, além do ressurgimento de pragas e efeitos negativos para a sociedade e ao meio ambiente (GHINI & KIMATI, 2000). No controle biológico a ação se dá sobre o patógeno, enquanto que na resistência induzida à ação é sobre a planta hospedeira, modificando a sua relação com a praga ou o patógeno. A prática de controle alternativo quer de pragas ou de doenças de plantas, não faz uso de defensivos agrícolas, embora possam estar associadas, de maneira integrada aos métodos tradicionais de controle químico e/ou práticas culturais a fim de aumentar a sua eficiência (MORAES, 1992).

Para o desenvolvimento normal, as plantas necessitam de muitos nutrientes, o suprimento inadequado de um elemento essencial resulta em um distúrbio nutricional que se manifesta por sintomas de deficiência característicos, desta forma aumenta a suscetibilidade ao ataque de patógenos, por isso a necessidade de estudar a indução de resistência e perceber sua relação com o equilíbrio nutricional da planta (TAIZ & ZEIGER, 2006). A nutrição mineral pode constituir um fator de predisposição das plantas ao ataque de patógenos, aumentando a capacidade de reação perante o microrganismo desafiante. No entanto, o excesso ou a deficiência destes elementos pode tornar as plantas predispostas á ação de agentes causais de doenças (KERBAUY, 2012). Além da influencia na produtividade, a nutrição de plantas também influi na qualidade dos produtos vegetais (FLOSS, 2006).

O presente trabalho teve como objetivo controlar o crestamento bacteriano comum no feijoeiro pela utilização dos fertilizantes foliares cálcio e boro, manganês e zinco.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e manutenção do patógeno

Foram coletadas folhas de feijoeiro que apresentavam lesões características provocadas pela bactéria *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, provenientes de cultivos comerciais no município de Cascavel, Paraná.

O isolamento foi realizado em meio de cultura caldo nutriente (extrato de carne: 3 g; peptona: 5 g; glicose: 15 g; água destilada: 1.000 mL) de acordo com a metodologia proposta por Mariano & Silveira (2000). Para tanto, foram cortados fragmentos da folha na área de transição tecido sadio e tecido doente, o qual foi imerso em álcool 50% por 30 segundos, em seguida em hipoclorito de sódio (três partes de água para uma parte de hipoclorito) por 1 min e, por fim, em água destilada esterilizada. Após esta desinfestação superficial foi realizada a maceração em solução salina (0,85% de NaCl) esterilizada. Com alça de platina, foi transferida uma alíquota do macerado para placas de Petri contendo meio ágar-nutriente realizando-se estrias compostas. Em seguida, as placas foram etiquetadas, invertidas e incubadas a 25 °C. Após 48 horas, repicou-se novamente para obtenção da cultura pura de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*.

Obtenção para curva de crescimento bacteriano

A curva de crescimento bacteriano foi obtida pelo método de determinação da concentração do inóculo pela contagem em placas descrito por Mariano & Assis (2000). Foi preparada uma suspensão da bactéria teste a partir da cultura em placas. Foram ajustadas concentrações bacterianas para obter leituras de absorbância a 580 nm de 1,2; 1,0; 0,8; 0,6; 0,4; 0,2 e 0,0. Cada uma das suspensões foi submetida a uma série de diluições até 10^{-9} sendo utilizadas as três últimas.

Foi pipetado 0,1 mL de cada diluição e espalhado uniformemente com alça de vidro flambada e esfriada em placas de Petri com meio ágar-nutriente, preparando-se três placas para cada diluição, as quais foram invertidas e incubadas a 25 °C por 48 h. Posteriormente, foi obtida pelo menos uma série de placas contáveis (que apresentava entre 30 a 300 colônias) para cada absorbância. Os dados de unidades formadoras de colônia (UFC) foram transformados para uma mesma base de 10^{10} , obtendo-se, posteriormente uma equação de regressão.

Material vegetal

Cultivo em casa de vegetação

Os ensaios foram conduzidos em cultivo protegido na área pertencente ao Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CEDETEC) da Faculdade Assis Gurgacz, Cascavel, com altitude de 712 m, longitude 53° 30' 01" W e latitude 24° 56' 09" S.

As plantas de feijoeiro (IAPAR 81 – Carioca) foram cultivadas em vasos plásticos (capacidade para 5 L) contendo uma mistura de solo, areia e matéria orgânica (proporção 2:1:1). O plantio realizou-se no dia 27 de outubro de 2010 com 2 cm de profundidade, com seis repetições por tratamento, sendo que cada repetição correspondia a um vaso com 4 plantas.

Aplicação dos tratamentos em casa de vegetação

Para o teste de indução de resistência, utilizou-se os tratamentos com os fertilizantes foliares CaB (cálcio e boro), Mn (manganês) e Z (zinco), além dos controle água, bactericida Agrimicina (50 mg i.a.L⁻¹) e acibenzolar-S-metil (75 mg i.a. L⁻¹).

Os tratamentos foram aplicados na fase vegetativa V2, quando a 2ª folha trifoliolada do feijoeiro atingiu 50% de área foliar e três dias antes da inoculação do patógeno. A suspensão bacteriana foi inoculada na concentração de 5×10^7 UFC mL⁻¹.

Avaliação de severidade

A severidade da doença em casa de vegetação foi avaliada na 2ª folha tratada e inoculada, aos 17, 21 e 25 dias após a inoculação, com escala diagramática elaborada por Díaz et al. (2001).

Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância realizada através do programa estatístico SISVAR e quando houve diferenças significativas entre as médias, estas foram transformadas por $\sqrt{x+0,5}$ e comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira avaliação aos 17 dias após a inoculação, os tratamentos cálcio, boro e zinco apresentaram maior eficiência, reduzindo em 87,5% e 52,6% respectivamente a severidade do cretamento bacteriano comum no feijoeiro quando comparado com a testemunha água. Quando comparamos os tratamentos e testemunhas vemos que água, bactericida, acibenzolar-S-methyl e manganês não diferem entre si, já cálcio, boro e zinco apresentaram médias diferentes dos demais (Figura 01).

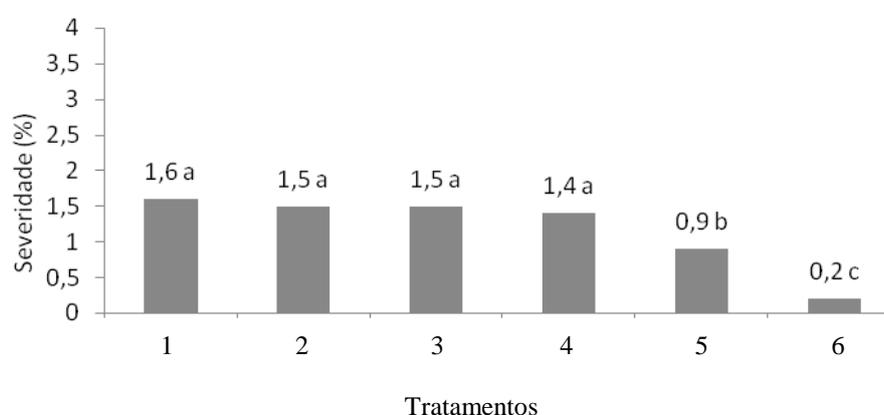


FIGURA 01 - Severidade do cretamento bacteriano comum aos 17 dias após a inoculação com *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, avaliada na segunda folha do feijoeiro, tratada três dias antes da inoculação com testemunha (1), bactericida (2), ASM (3), Manganês (4), Zinco (5), Cálcio e Boro (6).

Segundo Malavolta (2006) e Taiz & Zeiger (2006) o cálcio é essencial para manter a integridade estrutural e funcional das membranas e da parede celular, aumentando a resistência da parede. Sua deficiência provoca alterações como menor resposta aos estímulos representados pelo ataque do patógeno. O cálcio faz parte na armazenagem de energia ou na integridade estrutural, os íons de cálcio (Ca^{2+}) são utilizados na síntese de novas paredes celulares, em particular a lamela média, que separa células em divisão, no fuso mitótico durante a divisão celular e no funcionamento normal das membranas vegetais, é o mensageiro secundário em várias respostas da planta, tanto em sinais ambientais quanto hormonais, juntamente com o P, é necessário ao desenvolvimento, ao funcionamento das raízes e ao pegamento das floradas.

A importância do cálcio para a resistência de plantas a doenças também é relatada por Garcia Junior et al. (2003), os quais verificaram que a área abaixo da curva de progresso de incidência de *Cercospora coffeicola* em cafeeiro decresceu linearmente com o aumento das doses de Ca. Segundo os autores, a presença de cátions Ca^{2+} no tecido foliar inibe drasticamente a ação de enzimas pectolíticas produzidas por muitos parasitas de etiologia fúngica, cuja função é dissolver a lamela média da parede celular.

O boro está envolvido na divisão celular, no crescimento e na formação e estabilização da parede celular, na síntese de proteínas, no transporte e na fosforilação dos carboidratos. Ele desempenha funções no alongamento celular, síntese de ácidos nucléicos, respostas hormonais e funcionamento de membrana e diferenciação do xilema e no transporte de sacarose através da

membrana celular. Tem também importante função na lignificação, o que deixa a célula mais resistente impedindo a entrada do patógeno (PAULA JUNIOR et al., 2006; KERBAUY, 2004; TAIZ & ZEIGER, 2006). A deficiência de zinco esta ligada a perda da integridade da membrana o que contribui para aumentar a susceptibilidade da planta às doenças fúngicas (KERBAUY, 2004). Nesta primeira avaliação, quando comparados aos demais tratamentos cálcio, boro e zinco, o manganês foi o menos eficiente reduzindo em 12,5%, aos 17 DAI, a severidade do cretamento bacteriano comum no feijoeiro quando comparado com a testemunha água.

Conforme a Figura 02 verifica-se que aos 21 dias após a inoculação, o tratamento manganês apresentou maior eficiência reduzindo em 43,6% a severidade do cretamento bacteriano comum no feijoeiro quando comparado com a testemunha água. O manganês quando comparado com as demais testemunhas, bactericida e acibenzolar-S-methyl reduziu a severidade do cretamento bacteriano comum em 34,4% e 21,6% respectivamente, sendo que não diferiu estatisticamente do indutor de resistência comercial: acibenzolar-S-metil. O zinco não diferiu dos controles e o cálcio e boro favoreceram o desenvolvimento da doença.

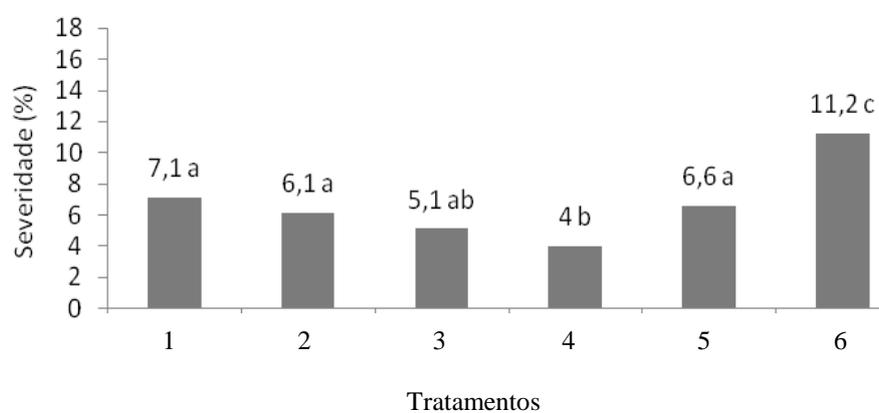


FIGURA 02 - Severidade do cretamento bacteriano comum aos 21 dias após a inoculação com *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, avaliada na segunda folha do feijoeiro, tratada três dias antes da inoculação com testemunha (1), bactericida (2), ASM (3), Manganês (4), Zinco (5), Cálcio e Boro (6).

O manganês exerce funções importantes na vida da planta: faz parte de uma proteína, a manganina, e participa da decomposição da água na fotossíntese, toma parte na formação de clorofila, de algumas gorduras, da membrana dos cloroplastos, da síntese das proteínas e dos ácidos nucléicos, e do controle hormonal (MALAVOLTA et al., 2002). Os íons de manganês ativam várias enzimas nas células vegetais. As descarboxilases e desidrogenases envolvidas no ciclo dos ácidos tricarbóxicos (ciclo de krebs) são especificamente ativadas pelo manganês, além de participar da quebra da molécula da água na reação fotossintética, originando oxigênio, prótons e elétrons (TAIZ & ZEIGER, 2006).

Com a deficiência de manganês caem a fotossíntese e a exsudação de carboidratos pelas raízes, os quais são fonte de alimento para a microflora do solo competidora dos patógenos (MALAVOLTA, 2006). Verifica-se que o manganês aumenta a resistência da planta a doenças (MALAVOLTA et al., 2002).

Analisando a Figura 03 aos 25 dias após a inoculação, o tratamento com manganês apresentou maior eficiência reduzindo em 46,6; 36,8 e 25% a severidade do cretamento bacteriano comum no feijoeiro quando comparado com a testemunha água, bactericida e acibenzolar-S-methyl respectivamente.

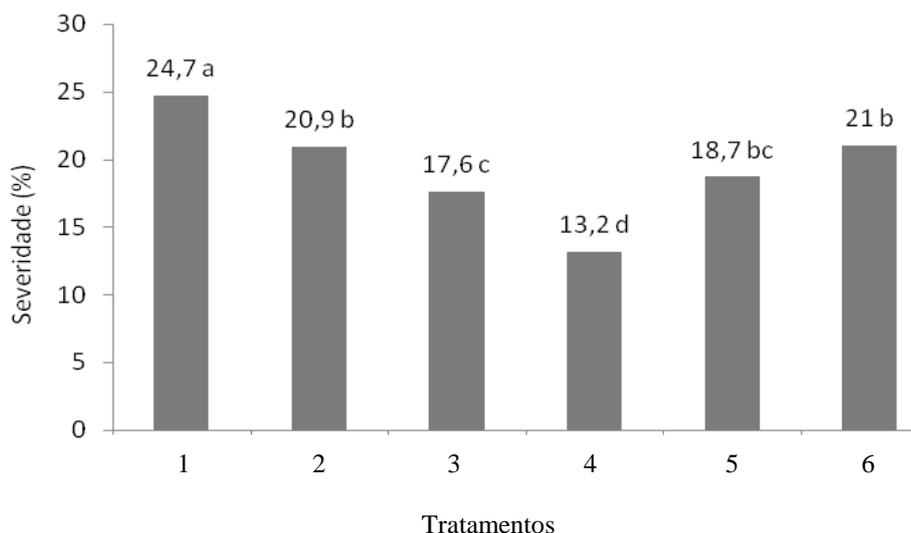


FIGURA 03 - Severidade do cretamento bacteriano comum aos 25 dias após a inoculação com *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, avaliada na segunda folha do feijoeiro, tratada três dias antes da inoculação com testemunha (1), bactericida (2), ASM (3), Manganês (4), Zinco (5), Cálcio e Boro (6).

O manganês é muito estudado no desenvolvimento da resistência da planta a doenças fúngicas das raízes e das folhas, estudos feitos mostram que doenças como: sarna da batatinha (*Streptomyces* sp.), mal-do-pé de trigo (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*), escaldadura da folha do arroz (*Gerlachia oryzae*), podridão da raiz do abacateiro (*Phytophthora* sp.), míldio do nabo e do sorgo (*Peronosclerospora* sp.), nematóide do cisto de cereais (*Heterodera* sp.), oídio da soja (*Erysiphe* sp.), ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*), apresentaram menor incidência quando aplicado manganês via foliar entre 200 e 300 ppm. Isto por que o manganês participa da síntese de lignina, principalmente na raiz, constituindo barreira física a entrada do patógeno que implica na resistência da planta a doenças. O manganês está envolvido na biossíntese de fenóis e de lignina que são consideradas as defesas primárias contra a infecção por fungos. Estudos comprovam que nas folhas sadias do cacaueteiro tem 3-4 vezes mais manganês, (450 mg kg^{-1}), do que as infectadas pelo fungo da “vassoura de bruxa” (*Moniliophthora* sp.), o que pode causar maior produção de fenóis e garantir maior resistência a doença. Participa na inibição direta onde a exigência de Mn do fungo é cem vezes menor que a da planta e, por isso, concentrações adequadas na célula podem ser tóxicas para o patógeno, o fungo pode promover a oxidação do Mn na rizosfera induzindo deficiência na planta, por outro lado, uma planta que exsuda fontes de energia para microrganismos redutores na zona das raízes pode provocar toxidez para o fungo (MALAVOLTA, 2006).

CONCLUSÕES

Conclui-se que o tratamento manganês apresentou maior eficiência, reduzindo severidade do cretamento bacteriano comum no feijoeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORÉM, A.; PETERNELLI, L.A. **Hibridização artificial em soja e feijão**. Viçosa: Editora UFV, 1997. 43p.

DIAZ, C.G. **Avaliação de danos causados por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)** 2000. 79p. (Tese de Doutorado) - Piracicaba. Universidade de São Paulo, ESALQ, 2000.

FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. **Produção de feijão**. São Paulo: Editora USP, 2007. 56p.

FLOSS, E.L. **Fisiologia das plantas cultivadas: o estudo do que esta por trás do que se vê**. Passo Fundo: Elmar Luiz Floss. 3ª ed., 2006, 751p.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78p.

GARCIA JÚNIOR, D.; POZZA E.A.; POZZA A.A.A.; SOUZA, P.E.; CARVALHO J.C.; BALIEIRO, A.C. Incidência e severidade da cercosporiose do cafeeiro em função do suprimento de potássio e cálcio em solução nutritiva. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, n.3, p.286-290, 2003.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**. 2ª edição, Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A, 2012, 431p.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de fitopatologia Doenças das plantas cultivadas**. Vol.2, São Paulo: Editora Ceres, 2005. 275p.

MALAVOLTA, E. **Manual de Nutrição Mineral de Plantas**. Piracicaba: Editora Ceres, 2006, 223-360p.

MALAVOLTA, E.; PIMENTEL, G.F.; ALCARDE, J.C. **Adubos e Adubações**. São Paulo: Editora Nobel, 2002, 14p.

MARIANO, R.L.R.; ASSIS, S.M.P. Quantificação de inóculo de bactérias fitopatogênicas, In: MARIANO, R.L.R. **Manual de práticas em fitobacteriologia**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2000. p.49-52.

MARIANO, R.L.R.; SILVEIRA, E.B. Isolamento de bactérias fitopatogênicas. **Manual de práticas em fitobacteriologia**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2000. p.27-35.

MORAES, W.B.C. Controle alternativo de fitopatógenos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.27, p.175-190. 1992.

PAULA JUNIOR, T.J.; FARIA VIEIRA, R., CHAGAS, M.C., SOUZA CARNEIRO, J.E., ANDRADE ARAUJO, G.A., VENZON, M.; PATTO RAMALHO, M.A.; BARBOSA ABREU, A.F.; BASTOS ANDRADE, M.J. **101 Culturas, Feijão**. Viçosa: Editora Livrocere, 2006. 43p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 4ª ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2006, 794p.

VIEIRA, L.C.; HEMP, S.; NADAL, R. **A cultura do Feijão em Santa Catarina**. Florianópolis: Editora EPAGRI – Empresa de Pesquisa Agropecuária e Difusão Tecnológica de Santa Catarina S.A., 1992. 67p.