

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE RIZOBACTÉRIAS PARA O BIOCONTROLE DE *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* AGENTE DA MURCHA BACTERIANA DO FEIJÃO

ROCHA, Dediel J. Amaral¹; CORRÊA, Bianca Obes²; BUSS, Renato Berwaldt³; MOURA, Andréa Bittencourt⁴.

¹Agronomia Bolsista PIBIC/CNPq ²Doutoranda Bolsista CAPES ³Agronomia Bolsista IT/ CNPq
⁴Departamento de Fitossanidade/FAEM/UFPEL. E-mail: dedielrocha@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

O Brasil se encontra entre os maiores produtores e consumidores mundiais de feijão, o qual representa a principal fonte de proteína vegetal na dieta alimentar de significativa parcela da população. Porém, a produtividade média brasileira é muito baixa, sendo a incidência de doenças um dos principais fatores que contribuem para o baixo rendimento da cultura.

O cultivo de feijão no Brasil tem sido afetado por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Cff), agente causal da doença conhecida como murcha-de-curtobacterium ou murcha bacteriana, que causa sérios danos à produção. A doença foi constatada pela primeira vez no estado de São Paulo, em 1995 por Maringoni e Rosa (1997), e a partir de 2001, ela foi observada em diferentes regiões produtoras dos Estados do Paraná, Santa Catarina, Goiás e no Distrito Federal (Uesugi et al, 2003). A colonização de Cff em feijão ocorre em vasos de xilema. Nas sementes, a bactéria fica alojada nas células paliádicas que formam a testa, sob condições de inoculação artificial, foi constatada a transmissão de até 52,5 % em sementes de feijão, além de seu efeito negativo sobre a germinação.

O controle químico para essa doença não é eficiente, porém uso de sementes de boa qualidade, emprego de cultivares resistentes, rotação de culturas contribuem para redução da doença. Algumas alternativas que visam obter melhores resultados e menos danos ao ambiente têm sido buscadas. Nesse sentido, o controle biológico demonstra resultados positivos com o uso de microrganismos antagonistas. O controle de doenças bacterianas vem sendo estudado por vários pesquisadores, e apesar do número de trabalhos serem menor do que aqueles visando ao controle de fungos, os resultados são promissores. As rizobactérias têm sido as mais utilizadas para o controle de um grande número de patógenos de plantas, sendo o tratamento de sementes uma das formas de aplicação mais empregadas (Moura e Romeiro, 2000).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial biocontrolador de isolados bacterianos sobre a murcha bacteriana em feijão.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os isolados biocontroladores (Tabela 1) utilizados neste ensaio fazem parte da coleção do Laboratório de Bacteriologia Vegetal do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas e foram previamente selecionados para biocontrole de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap) (Zanatta, 2007).

Tabela 1 - Descrição dos isolados utilizados no ensaio

Isolados	Identificação*	Habitat
DFs0093	<i>Bacillus cereus</i>	Solo
DFs0348	<i>Bacillus</i> sp.	Filoplano de Cebola
DFs0513	<i>Pseudomonas</i> sp.	Túnica de cebola
DFs0769	<i>Bacillus cereus</i>	Vagem de feijão
DFs0831	<i>Pseudomonas</i> sp.	Solo rizosférico de feijão
DFs0842	<i>Pseudomonas</i> sp.	Folha de feijão
DFs0843	<i>Rhodococcus fascians</i>	Folha de feijão
DFs0912	<i>Rhodococcus fascians</i>	Folha de feijão

2.1 Microbiolização das sementes e semeadura

Isolados bacterianos (Tabela 1) foram previamente cultivados em meio 523 de Kado e Heskett (1970) por 24 horas. Após, 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 alguns dos isolados foram constituídas por 20mL de suspensão de cada um dos isolados (DFs093+769+831; DFs093+769+842 e DFs769+348+831) cujas concentrações também foram individualmente ajustadas para $OD_{540}=0,50$, constituindo respectivamente, as combinações M01, M02 e M03. As combinações utilizadas foram avaliadas previamente e selecionadas para controle de Xap e promoção do crescimento de feijão (Santos, 2006).

Posteriormente, para cada isolado e as combinações, sementes da cultivar BRS Expedito foram imersas e submetidas à agitação pelo período de 5 horas a temperatura de 10°C. Como testemunhas, foram utilizadas semente s imersas em solução salina (NaCl 0,85%).

Após a microbiolização das sementes, para cada um dos tratamentos foram semeadas cinco sementes em vasos contendo 1 Kg de solo não esterilizado. As plantas foram mantidas em casa de vegetação até o surgimento das primeiras folhas trifolioladas, para inoculação do patógeno.

2.2 Inoculação do patógeno

As suspensões de células bacterianas dos isolados patogênicos de Cff foram obtidas em solução salina (NaCl 0,85%) de culturas crescida em meio 523 de Kado e Heskett (1970) por 24 horas, com concentração ajustada para $OD_{540}=0,20$. A inoculação

foi realizada a partir de punções no caule no estágio de desenvolvimento das primeiras folhas trifolioladas, realizados com agulhas entomológicas, imersas na suspensão bacteriana e posteriormente realizada câmara úmida. Doze dias após a inoculação foi realizada a avaliação dos sintomas utilizando uma escala de notas de zero a quatro (Maringoni e Souza, 2003).

2.3 Delineamento experimental

O ensaio constituiu-se de quatro repetições em um delineamento inteiramente casualizado. Para análise do potencial dos isolados no controle do patógeno, os dados obtidos, no ensaio, foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos proporcionaram médias de controle que variaram de 0 a 64% de redução da severidade da doença. No entanto, houve comportamento distinto entre os isolados patogênicos. Pois, todos os tratamentos proporcionaram controle da doença, para o isolado de Cff oriundo de Goiás, possibilitando médias de controle que variaram de 23 a 64% de controle da severidade da doença (Figura 1).

No entanto, para o isolado de Cff oriundo de São Paulo, não houve essa uniformidade, somente os tratamentos com DFs093, DFs843 e a combinação M03, possibilitaram reduções da doença de forma semelhante aos resultados encontrados para o isolado de Goiás.

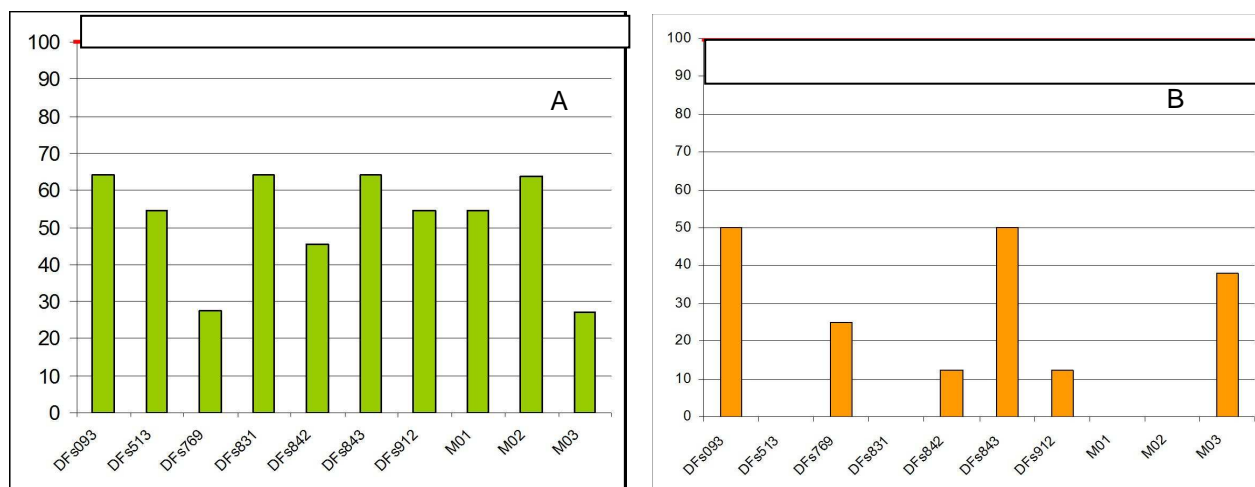


Figura 1. Porcentagem de redução da severidade da murcha bacteriana (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) em plantas de feijão originadas de sementes microbiolizadas com isolados bacterianos e combinações de alguns deles, inoculadas com isolado patogênico de Goiás (A) e de São Paulo (B) comparados com a testemunha considerada zero por cento.

Vale ressaltar ainda que isolados como DFs093 e DFs843, parecem apresentar amplo espectro de ação, pois possibilitam o controle de diferentes isolados patogênicos.

Poucos são os trabalhos que visam à ação de agentes de biocontrole sobre diferentes isolados de um mesmo patógeno. No entanto, Naik e Sen (1993) estudaram a interação de um isolado bacteriano antagonista (B1) sobre nove isolados de *Fusarium oxysporum* e *F. solani*, e verificaram que houve variação do controle entre as diferentes estirpes de um mesmo patógeno, para as duas espécies estudadas. Esses autores atribuíram o fato à variabilidade de virulência entre os isolados, o que também foi

observado no presente trabalho. Pois os tratamentos apresentaram variações nas médias de controle.

Outro fato relevante é que os gêneros de bactérias que se destacaram neste ensaio, *Bacillus* e *Pseudomonas*, são reconhecidos pelo potencial de biocontrole de diferentes doenças para diversas espécies vegetais, como feijão (Corrêa, 2007), tomate (Naue, 2009), beterraba (Kristek et. al.,2006) citros (Amorim e Melo, 2002), entre outras espécies vegetais. Além disso, o uso de combinações desses microrganismos aumenta a efetividade do controle biológico sobre várias estirpes do mesmo patógeno, bem como outros agentes fitopatogênicos, por haver a expressão de diferentes mecanismos de ação.

4. CONCLUSÕES

Os isolados DFs093 e DFs843 apresentam potencial de uso para o biocotrole de diferentes isolados de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, quando utilizados na microbiolização de sementes de feijão.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMORIN, E.P.R.; MELO, I.S. Ação antagônica de rizobactérias contra *Phytophthora parasitica* e *P. citrophthora* e seu efeito no desenvolvimento de plântulas de citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, p.565-568, 2002.
- CORRÊA, B.O. **Microbiolização com bactérias no controle do crestamento bacteriano comum e da antracnose na cultura do feijão**. 2007. 82f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Departamento de Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas. RS, 2007.
- KADO, C.J.; HESKETT, M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology** v. 60, p.969-976, 1970.
- KRISTEK, S.; KRISTEK, A.; GUBERAC, V.; GLAVAS TOKIC, R.; PAVLOVIC, H. Influence of sugar beet seed treatment with *Pseudomonas fluorescens* and low fungicide doses on infection with *Pythium* and plant yield and quality. **Journal Phytopathology**, v.154, p.622-625, 2006.
- MARINGONI, A.C.; SOUZA, E.L.C. Reação de cultivares de soja a isolado de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, proveniente de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 6, p. 777-781, 2003.
- MARINGONI, A.C. ROSA, E.F. Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v.23, n.2, p.160-162,1997.
- MOURA AB; ROMEIRO RS. Actinomicetos pré-selecionados para controle de *Ralstonia solanaearum* como promotores de crescimento em tomateiro. **Revista Ceres**, v. 47, n.1, p. 613-626, 2000.
- NAIK, M.K.; SEN, B. Effectiveness of biocontrol agents against a spectrum of *Fusarium* isolates causing wilt of watermelon. **Indian Journal of Plant Protection**, v. 21, n. 1, p. 19-22, 1993.
- NAUE, C.R. **Rizobactérias no controle de patógenos, promoção de crescimento e reflexos na qualidade do fruto do tomateiro**. 2009. 84f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade)–Departamento de Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas. RS, 2009.
- 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.

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

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**, v.28, n.3, p.324, 2003.