Controle do crestamento bacteriano comum por *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii* e óleo essencial de laranja em feijoeiro suscetível e moderadamente resistente

Maico Rodrigo Breunig Hoffmann¹; Odair José Kuhn¹; José Renato Stangarlin¹; André Gustavo Battistus¹; Jullian Luis Stülp¹; Cristiane Claudia Meinerz¹

Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, Curso de Agronomia. Rua Pernambuco n. 1777, CEP: 85.960-000, Centro. Marechal Cândido Rondon, PR.

maicobreunig@hotmail.com; ojkuhn@gmail.com; jrstangarlin@unioeste.com, andre_battistus@hotmail.com; jullianlius@msn.com, crismeinerz@hotmail.com

Resumo: O objetivo foi verificar a ocorrência de indução de resistência em feijoeiro suscetível e moderadamente resistente com o uso do indutor abiótico acibenzolar-S-metil (ASM) e bióticos (S. cerevisae, S. boulardii e Óleo de laranja) contra Xanthomonas anoxopodis pv. phaseoli em casa de vegetação e em campo. Utilizaram-se os tratamentos com óleo essencial de laranja (Orobor® 5 mL.L-1); Saccharomices cerevisiae (2 g.L-1); Saccharomices boulardii (2 g.L⁻¹), acibenzolar-S-metil (100 mg.i.a..L⁻¹) e água destilada. As aplicações dos tratamentos foram efetuadas sobre duas cultivares (resistente e suscetível) aos 14, 28 e 42 dias após a emergência. Em condições de campo não foi efetuada inoculação de X. anoxopodis pv. phaseoli, ao contrário da casa de vegetação. Foram observadas diferenças estatísticas entre tratamentos. As plantas tratadas com indutores bióticos bem como as plantas pré-tratadas com ASM, apresentaram maior produtividade, maior massa de grãos e menor severidade de doença. Plantas tratadas com leveduras reduzem a severidade do crestamento bacteriano comum do feijoeiro e aumentam sensivelmente a produtividade. Em condições de campo sob estresse hídrico, a aplicação de ASM proporciona custo metabólico, reduzindo a produtividade sem reduzir a severidade da doença. O óleo essencial de laranja não reduziu a severidade, porém, não interferiu nos parâmetros produtivos.

Palavras-chave: *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, controle alternativo, indução de resistência.

Control of the common bacterial blight by Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces boulardii and orange essential oil in susceptible and resistant bean plants

Abstract: The objective was to determine the occurrence of induced resistance in susceptible and moderately resistant bean using the abiotic inductor acibenzolar-S-methyl (ASM) and biotic inductor (*S. cerevisae*, *S. boulardii* and orange oil) against *Xanthomonas anoxopodis* pv. *phaseoli* in greenhouse and field. Was used treatments with orange oil essence (Orobor® 5 mL.L⁻¹); *Saccharomices cerevisiae* (2 g.L⁻¹); *Saccharomices boulardii* (2 g.L⁻¹), acibenzolar-S-metil (100 mg.i.a..L⁻¹) and distilled water. The applications of the treatments were performed on two cultivars (resistant and susceptible) at 14, 28 and 42 days after emergence. Under field conditions was not performed inoculation of *X. anoxopodis* pv. *phaseoli*, unlike greenhouse. Statistical differences were observed between treatments. Plants treated with inducers biotic and plants pretreated with ASM showed higher productivity, higher grain yield and lower disease severity. Plants treated with yeast reduce the severity of bacterial blight of bean and significantly increase productivity. Under field conditions, under water

stress, the application of ASM provides metabolic cost, reducing productivity without reducing disease severity. The orange essential oil did not reduce the severity, however, did not affect the production parameters.

Keywords: Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli, alternative control, induction of resistance.

Introdução

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é um alimento tradicional na dieta do brasileiro, pois é constituído de nutrientes essenciais ao ser humano, como proteínas, ferro, cálcio, magnésio, zinco, vitaminas, carboidratos e fibras (Barampama e Simard, 1993; Borém e Carneiro, 1998; Kutos *et al.*, 2003; Ribeiro *et al.*, 2008).

O Brasil está entre os principais produtores mundiais, ocupando anualmente uma área de 4,5 milhões de hectares (IBGE, 2011). Cultivada em regiões com diferentes condições edafoclimáticas, a cultura pode atingir um rendimento superior a 3.000 kg ha⁻¹ (Borém e Carneiro, 1998; Backes *et al.*, 2005).

O consumo per capita de feijão é de 16,3 kg por habitante ano, sendo uma cultura de grande importância, com cultivo em grande parte do território nacional, nas mais variadas condições, sejam elas climáticas ou tecnológicas (Pereira *et al.*, 2010).

Apesar do destaque na produção mundial de feijão, a produtividade brasileira é considerada baixa, com uma produção média de aproximadamente 900 kg ha⁻¹ (IBGE, 2011). Dentre os fatores que podem interferir no rendimento de grãos destacam-se os bióticos (pragas, doenças e plantas daninhas) e abióticos (disponibilidade de água no solo, clima e fertilidade do solo) (Borém e Carneiro, 1998).

As doenças são um dos principais fatores responsáveis da queda de produtividade no feijoeiro, podendo provocar perdas de até 100% da produção, resultando na diminuição das qualidades fisiológicas, nutricionais e sanitárias do produto colhido, afetando o preço e sua comercialização (Biazon, 2003). A cultura é afetada por um grande número de doenças cujos agentes causais são vírus, bactérias, fungos e nematóides (Rava, 2002; Bianchini *et al.*, 2005). Dentre as várias doenças que prejudicam o feijoeiro, o crestamento bacteriano comum (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*), que ocorre principalmente nas regiões úmidas e quentes, é considerado uma das doenças de maior importância desta cultura, podendo causar grande redução na produtividade (Vieira, 1998; Sartorato e Rava, 1994).

Em razão da ineficácia do controle químico da doença, e com o objetivo de causar baixo impacto ambiental, uma alternativa é o controle ecológico, que pode fazer uso das mesmas tecnologias adotadas para aplicação de fungicidas, porém, através do controle

biológico ou da indução de resistência em plantas com uso de microorganismos e produtos naturais com atividade antimicrobiana e/ou indutora de resistência. (Schwan-Estrada *et al.*, 2003; Bianchini *et al.*, 2005).

Considerando o exposto acima, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces boulardii* e óleo essencial de casca de laranja no controle do crestamento bacteriano comum em cultivares de feijoeiro suscetível e moderadamente resistente.

Material e Métodos

A bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, foi cultivada em placas de petri contendo meio de cultura nutriente-ágar (NA) e mantida a 25 °C. Para a inoculação, foi preparada suspensão bacteriana com concentração ajustada a 10⁸ ufc mL⁻¹, com base em curva de absorbância a 580 nm (Gonçalves *et al.*, 2007).

Células de *S. boulardii* foram obtidas a partir do produto comercial Floratil (Merck), bem como células de *S. cerevisiae* foram obtidas do fermento de panificação, marca Fleischmann[®]. Posteriormente, as leveduras foram cultivadas em meio YEPG, contendo 10 g de extrato de levedura, 20 g de peptona, 20 g de glicose, 20 g de ágar, 1000 mL de água e mantidas em constante agitação (100 rpm) por sete dias. Após esse período, os meios foram centrifugados a uma rotação de 2000 (rpm). Efetuou-se o descarte da parte sobrenadante e ajustou se a concentração com auxilio de espectofotômetro para 1 x 10⁵ células mL⁻¹, com base em curva de absorbância a 580 nm.

Em casa de vegetação, o experimento foi conduzido com cobertura plástica, na Estação de Horticultura e Cultivo Protegido "Professor Mário César Lopes", pertencente ao Núcleo de Estações Experimentais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, *Campus* de Marechal Cândido Rondon – PR. O município está localizado no extremo Oeste do Estado do Paraná sob as coordenadas geográficas 54° 22' W longitude, latitude 24° 46' S e altitude média de 420 metros.

O solo, matéria orgânica e areia foram misturados com auxílio de uma betoneira, misturando-se, na proporção de 2:2:1 respectivamente. Posteriormente, foi realizada análise química do solo (Tabela 1) e com base na interpretação dos resultados, incrementou-se 2 g dm⁻³ de fosforo e 5,3 g dm⁻³ de potássio, na forma de superfosfato triplo e cloreto de potássio, respectivamente.

Tabela 1 - Características químicas da mistura de solo utilizada como substrato

Ca ⁽²⁾	$\mathbf{Mg}^{(2)}$	$\mathbf{K}^{(1)}$	$Al^{(2)}$	H+Al ⁽³⁾	SB	CTC	$\mathbf{MO}^{(4)}$	V	m	$\mathbf{P}^{(1)}$	pН
****	**************cmol _c dm ⁻³ ***********						g dm ⁻³	****0/	****	mg/dm ⁻³	CaCl ₍₂₎
4,76	1,65	0,58	0,06	4,67	7,03	11,7	14,36	60,27	0,51	9,41	5,13

(1)Extrator Mehlich⁻¹; (2) Extrator KCl 1 mol L⁻¹; (3)pH SMP (7,5); (4)Método Walkey-Black. *Análise realizada pelo Laboratório de Química Agrícola e Ambiental da UNIOESTE.

A semeadura foi realizada no dia 16/09/2011, utilizando-se as cultivares de feijão IAPAR - 81 (suscetível) e IPR - 139 (moderadamente resistente). Foram semeadas seis sementes de feijão por vaso (8 dm³), sendo que nove dias após a germinação realizou-se desbaste deixando duas plantas por vaso.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com esquema fatorial (2x5) considerando duas cultivares (IAPAR 81 e IPR – 139), quatro repetições e cinco tratamentos que foram dispostos da seguinte maneira: Tratamento A – Óleo de Laranja (Orobor® 5 mL L⁻¹), Tratamento B – *Saccharomyces cerevisiae* (2g L⁻¹), Tratamento C – *Saccharomyces boulardii* (2g L⁻¹), Tratamento D - Acibenzolar-S-metil (100 mg i.a. L⁻¹) e Tratamento E - Água destilada. As aplicações dos tratamentos foram efetuadas aos 14, 28 e 42 dias após a emergência e, quatro dias após, realizou se a inoculação com suspensão bacteriana (*X. axonopodis* pv. *phaseoli*) nas plantas com pulverizador manual até o ponto de escorrimento.

A fertilização nitrogenada foi realizada aos em duas etapas: a primeira foi 22 dias após a emergência (estádio V3) e a segunda 28 dias após a emergência (estádio V4), as quais perfizeram um total de 10,7 g dm⁻³ de N adicionado como uréia (CO(NH₂)₂). Esta adubação foi realizada na forma liquida e diretamente em cada vaso, para facilitar e uniformizar a aplicação.

O controle da umidade do solo foi efetuado por um sistema auto-irrigante subsuperficial via capilaridade, onde a base dos vasos ficava imersa em uma lâmina de água, que permitia a reposição automática conforme a evapotranspiração da planta.

Ao final do ciclo do feijoeiro foram coletados dados como massa seca de parte aérea, raiz, vagens, grãos, altura de planta, comprimento de raiz, número de grãos por vagem e número de vagens por planta.

A massa seca foi obtida pela pesagem dos restos culturais de cada vaso após permanência do material em estufa de circulação forçada à 65 °C até peso constante.

A avaliação da severidade do crestamento bacteriano comum, não foi realizada neste experimento, pois as plantas não apresentaram sintomas da doença.

Este experimento foi conduzido entre 16 de setembro a 15 de dezembro de 2011.

Quanto às condições de campo, o experimento foi desenvolvido na fazenda experimental "Prof. Dr. Antonio Carlos dos Santos Pessoa", pertencente ao núcleo de estações experimentais do *Campus* Marechal Cândido Rondon, da Universidade Estadual do Oeste Paraná. O município de Marechal Cândido Rondon está localizado na região Oeste do Paraná, sob latitude 24° 33' 22" S e longitude 54° 03' 24" W, com altitude aproximada de 400 m. O clima local, classificado segundo Koppen, é do tipo Cfa, subtropical com chuvas bem distribuídas durante o ano e verões quentes (Rolim *et al.*, 2007).

Anteriormente a implantação do experimento, se fez necessário à dessecação da área com o herbicida Glifosato na dose de 3,0 L ha⁻¹.

O experimento foi implantado em um Latossolo Vermelho eutroférrico (EMBRAPA, 2006), com semeadura realizada no dia 22/09/2011, utilizando-se as cultivares de feijão IAPAR - 81 e IPR - 139.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com o arranjo fatorial de 5x2 (cinco tratamentos idem casa de vegetação e duas cultivares(idem casa de vegetação)) em quatro repetições, totalizando quarenta unidades experimentais.

Previamente à implantação do experimento, foi realizada análise de solo e, através da interpretação, constatou-se que não era necessária aplicação de corretivos ou fertilizantes agrícolas.

Semearam-se uniformemente, 14 sementes por metro linear, com espaçamento de 0,45 m entrelinhas, sendo a área útil do experimento constituída das três linhas centrais da parcela, desconsiderando 0,5 m da extremidade de cada linha, correspondendo a 5,4 m².

Através da análise de solo (Tabela 2), constatou-se que não era necessária aplicação de corretivos ou fertilizantes agrícolas.

Tabela 2 - Análise química do solo coletado na Fazenda Experimental "Prof^o Dr. Antonio Carlos dos Santos Pessoa" da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Campus de Marechal Cândido Rondon

Ca ⁽²⁾	$Mg^{(2)}$	$\mathbf{K}^{(1)}$	$Al^{(2)}$	$H+Al^{(3)}$	SB	CTC	$MO^{(4)}$	\mathbf{V}	m	$\mathbf{P}^{(1)}$	pН
**************cmol _c dm ⁻³ ***********						g dm ⁻³	****0/0	****	mg/dm ⁻³	CaCl ₍₂₎	
4,06	1,60	0,47	0,08	3,42	6,13	9.55	16,78	64,19	0,83	36,50	5,32

⁽¹⁾ Extrator Mehlich⁻¹; (2) Extrator KCl 1 mol L⁻¹; (3) pH SMP (7,5); (4) Método Walkey-Black. *Análise realizada pelo Laboratório de Química Agrícola e Ambiental da UNIOESTE.

Na adubação de semeadura foram aplicados 400 kg ha⁻¹ da formula 00-25-18, de forma a fornecer 90 kg ha⁻¹ de P_2O_5 e 60 kg ha⁻¹ de K_2O . Aos 25 dias após a emergência de plantas (estádio V4), foi realizada aplicação nitrogenada de cobertura com 100 kg ha⁻¹ de ureia ($CO(NH_2)_2$), de forma a fornecer 40 kg ha⁻¹ de N.

As aplicações dos tratamentos foram efetuadas ao entardecer, com intuito de promover uma melhor condição de aplicação e menor fotodegradação dos tratamentos, realizou-se a aplicação aos 14, 28 e 42 dias após a emergência. Utilizou-se um pulverizador manual, com volume de calda de 200 L ha⁻¹.

Não foi efetuada inoculação de patógenos, pois em condições de campo é comum a ocorrência de crestamento bacteriano (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) na região Oeste do Paraná (Torres *et al.*, 2009).

Durante o cultivo do feijoeiro, houve a necessidade de controle de plantas daninhas, cujo método adotado foram duas capinas manuais, aos 14 e 28 dias após a emergência. Também se fez necessário o controle da larva minadora (*Liriomyza huidobrensis*) e percevejo marron (*Euschistus heros*) com aplicação de lambda-cialotrina (piretróide) + tiametoxam (neonicotinóide) na dose de 200 ml ha⁻¹. Por outro lado, a lavoura foi prejudicada por veranicos no final de ciclo (primeira quinzena de dezembro) (Figura 1), interferindo na produtividade da cultura e também, possivelmente, interferindo na ação dos tratamentos sobre a cultura.

Os dados climáticos referentes ao período experimental (Figura 1) foram obtidos em estação meteorológica do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná — *Campus* Marechal Cândido Rondon, distante cerca de 600 metros da área experimental.

A doença do feijoeiro foi avaliada a partir de escalas diagramáticas para crestamento bacteriano comum a partir da escala proposta por Diaz *et al.* (2001).

Após a colheita de cada parcela foi avaliada a massa de mil grãos e produtividade da cultura do feijão. A massa de mil grãos foi obtida a partir de valores médios de quatro subamostras de 100 sementes de cada parcela experimental. A produção de cada parcela teve a umidade corrigida para 13% em base úmida e os resultados expressos em kg ha⁻¹.

Os dados de severidade do experimento para constatar indução de resistência sistêmica foram avaliados por análise de variância geral e teste de Tukey (5%) para distinguir os tratamentos com auxílio do programa computacional Sisvar v. 4.6 (Ferreira, 2002).

A partir dos valores gerados pelos programas, foram construídos gráficos e tabelas com o auxílio dos programas computacionais Excel v. 7 e Word v. 7 (Microsoft, 2007), com objetivo de um melhor entendimento do efeito dos tratamentos em estudo.

Resultados e Discussão

Em casa de vegetação, não foi possível realizar as avaliações de severidade, pois as plantas não apresentaram quaisquer sintomas da doença.

Adubação equilibrada, controle da temperatura, umidade relativa do ar baixa, umidade do solo próxima à capacidade de campo, ausência de molhamento foliar e ausência de pragas foram fatores responsáveis para uma ótima condição de desenvolvimento da cultura, resultando em plantas sadias e vigorosas, que podem ter oferecido resistência ao estabelecimento do patógeno, tanto na cultivar suscetível (IAPAR-81) bem como na cultivar moderamente resistente (IPR-139).

De acordo com Chaboussou (1999), este fato pode ser explicado pela Teoria da Trofobiose, que defende a idéia de que o organismo vegetal só será atacado por algum inseto, ácaro, nematóide, fungos ou bactérias, quando estiver desequilibrado em seu metabolismo, disponibilizando em sua seiva o alimento que eles necessitam, principalmente aminoácidos. Estando em equilíbrio, o vegetal dificilmente será atacado. O autor ainda salienta que a utilização de agrotóxicos no sistema convencional provocaria algum desequilíbrio na planta, contribuindo assim para o aumento do número de patógenos.

A resistência das plantas a pragas e doenças pode ser induzida pelo efeito da nutrição mineral, causando alterações sobre as estruturas anatômicas, como células epidérmicas e cutículas, parede celular e seu grau de silicificação, suberização e lignificação. Além disso, a nutrição pode afetar as propriedades bioquímicas, como redução de compostos fenólicos que atuam como inibidores do desenvolvimento de pragas e doenças ou acúmulo de compostos orgânicos de baixo peso molecular, como glicose, sacarose e aminoácidos, resultado da maior atividade de enzimas decompositoras como amilase, celulase, protease e sacarase (Perrenoud, 1990; Marschner, 1986). Com base nessas afirmações, a doença pode não ter ocorrido devido à cultura estar sendo suprida com uma adubação equilibrada.

Ainda, segundo Bergamim Filho *et al.* (1995) o uso em excesso de adubos químicos pode favorecer o patógeno, por aumentar a suculência de tecidos e retardar a maturação dos mesmos, prolongando a duração do período vegetativo. Tecidos suculentos apresentam menor resistência à penetração e à colonização por agentes patogênicos.

Como no experimento em casa de vegetação recebeu adubação equilibrada, foi possível o pleno funcionamento dos processos da planta, sem interferir no crescimento (Malavolta, 2006). Sendo assim, se a ativação de defesa demanda da síntese de proteínas, oriundas da absorção eficiente de nutrientes, a planta não precisa deixar de investir em crescimento e reprodução para investir em defesa.

Todas unidades experimentais, não apresentaram diferença significativa em nenhum dos parâmetros avaliados (altura de planta, comprimento de raiz, número de grãos por vagem, número de vagens por planta, massa seca de raiz, massa seca de parte aérea, massa seca de vagens e massa seca de grãos), contrariando as descrições feitas por Kuhn (2007) e Faulin (2010).

Na Tabela 3 pode-se observar que não houve diferença significativa para nenhuma variável avaliada, porém, observa-se uma nítida tendência do favorecimento aos parâmetros de produção nos tratamentos com indutores bióticos.

Tabela 3 – Altura de planta; comprimento de raiz; número de grãos por vagem; número de vagens por planta, massa seca de raiz, massa seca de parte aérea, massa seca de vagens e massa seca de grãos em função dos tratamentos Óleo de Laranja (5 mL L⁻¹), *Saccharomyces cerevisiae* (2 g L⁻¹), *Saccharomyces boulardii* (2 g L⁻¹), Acibenzolar-S-Metil (100 mg i.a. L⁻¹), água nas cultivares IPR-139 e IAPAR-81

Tratamentos	Altura planta (cm)	Comp. Raiz (cm)	Nº grãos/ vagem	Nº vagens /planta	Massa Seca Raiz (g)	Massa seca parte aérea (g)	Massa seca vagens (g)	Massa seca grãos (g)
Óleo de Laranja	131,0 a	31,2 a	4,3 a	37,8 a	5,0 a	13,5 a	10,1 a	27,2 a
H_2O	134,2 a	26,8 a	4,4 a	36,5 a	4,8 a	13,4 a	10,4 a	26,6 a
S. cerevisiae	130,6 a	30,5 a	4,3 a	37,0 a	5,3 a	14,5 a	11,8 a	30,4 a
S. boulardii	129,8 a	33,2 a	3,9 a	37,5 a	6,0 a	13,0 a	11,2 a	29,4 a
ASM	124,2 a	34,6 a	4,3 a	30,0 a	4,6 a	10,0 a	8,7 a	26,1 a
CULTIVARES								
IPR – 139	133,5 a	31,8 a	4,2 a	36,2 a	5,0 a	13,5 a	10,1 a	28,6 a
IAPAR - 81	126,5 a	30,8 a	4,3 a	35,3 a	5,3 a	12,3 a	10,8 a	27,4 a
EFEITO								
Tratamento	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*
Cultivar	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*
Tratamento x Cultivar	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*
Coeficiente de variação CV (%)	4,62	15,11	7,20	11,36	24,78	18,55	14,39	15,4

Letras iguais não diferem entre si nos diferentes tratamentos, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. ns*: Dado não significativo.

As plantas mantêm latentes os mecanismos de resistência, com intuito de poupar energia para a reprodução até a eventual chegada do patógeno (Heil, 2002; Bostock, 2005). O custo de maior importância está nesse período, visto que, o custo para proteger a planta, quando um patógeno ataca as mesmas, deve valer a pena, e, as plantas induzidas serem beneficiadas (Coley *et al.*, 1985). Se energia é alocada para proteção, onde não há condições para a ocorrência da doença, o investimento pode não valer a pena e o custo ser muito maior do que simplesmente o valor de aplicação de um indutor.

Nas plantas conduzidas no experimento à campo, tratadas com os produtos bióticos (Óleo de laranja, *S. boulardii*, *S. cerevisiae*), foi possível observar a redução na severidade da doença em relação ao controle (Água), tanto para cultivar moderadamente resistente à doença (IPR-139) bem como a suscetível (IAPAR-81) (Figura 3).

É possivel verificar que os tratamentos alternativos foram superiores à testemunha e ocasionaram efeito positivo para redução da doença (Figura 1), massa de mil grãos (Figura 3) e produtividade (Figura 4).

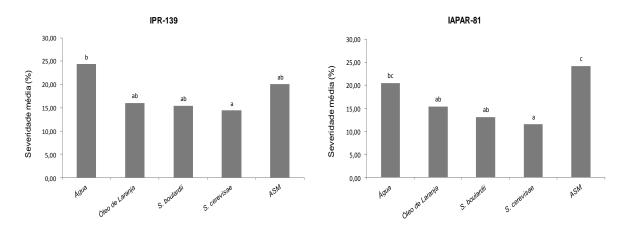


Figura 1 - Avaliação da severidade do crestamento bacteriano comum causado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em plantas de feijão cv. IPR-139 (CV(%)=9,97) e IAPAR-81(17,87). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatísticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%. Dados transformados por $\sqrt{(x + 0.5)}$.

Não foi constatada diferença significativa para doenças entre as cultivares avaliadas. Observou-se uma menor severidade da doença para os indutores biológicos, destacando-se *S. boulardii* e *S. cerevisiae*, que não diferiram estatisticamente entre si.

Com exceção da aplicação de ASM para a cultivar Iapar 81, observou-se, em todos os produtos testados, efeito na redução do crestamento bacteriano. Nota-se que, estatisticamente,

a menor severidade da doença, para ambas as cultivares, ocorreu com pulverizações de *Saccharomyces cerevisiae*, seguido por *Saccharomyces boulardii*. O extrato da levedura contém vários componentes que podem eliciar respostas de defesa, como quitina, oligômeros de N-acetilglucosamina, beta-glucanas, glicopeptídeos e ergosterol (Boller, 1995).

Diversos trabalhos mostraram o potencial de compostos eliciadores de células da levedura *S. cerevisiae*, na ativação de repostas de defesa contra fitopatógenos e no controle de doenças em plantas de milho, sorgo, eucalipto e maracujá (Pascholati, 1998).

Zanardo *et al.* (2009) concluiram que a levedura comercial *S. cerevisiae* contém frações indutoras de resistência conta a antracnose.

Bonaldo (2005) verificaram que preparações de *S. cerevisiae* (fermento biológico) induziram o acúmulo de fitoalexinas em mesocótilos do sorgo.

Stangarlin *et al.* (2010) verificaram que *S. boulardii* e derivados, como filtrado de cultura e produto comercial à base de células desta levedura, induzem a síntese das fitoalexinas gliceolina em soja e deoxiantocianidinas em sorgo.

Boava *et al.* (2010), em estudos sobre o efeito de *Saccharomyces cerevisiae* na ativação de defesa do eucalipto contra ferrugem, observaram maiores níveis de atividade da enzima peroxidase, evidenciando uma promissora alternativa para o controle da doença através da indução de resistência, provocando expressivo aumento na atividade de quitinases.

A produtividade foi seriamente afetada a campo especialmente pelo estresse hídrico (Figura 2) a partir do enchimento de grãos (estádio R8), resultando na produtividade média no experimento de 647,24 kg ha⁻¹ para cultivar IAPAR-81 e 787,98 kg ha⁻¹ para IPR-139, sendo a produtividade maior se comparado ao tratamento controle (água), cujas cifras médias resultam em 647,24 kg ha⁻¹ (IAPAR-81) e 787,98 kg ha⁻¹ (IPR-139).

A aplicação dos indutores bióticos (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii* e óleo de laranja) resultou na produtividade de 888,9; 782,4 e 750 kg ha⁻¹, respectiavamente, para cultivar IAPAR-81. Por outro lado, para cultivar IPR-139, a produtividade média situou-se em 976,8; 958,4 e 907,4 kg ha⁻¹, respectivamente para *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii* e óleo de laranja.

Quanto à aplicação do ASM, a produtividade média se situou em 338 kg ha⁻¹ para IAPAR-81 e 356,5 kg ha⁻¹para IPR-139, não diferindo estatisticamente do tratamento controle (água).

Cascavel, v.5, n.4, p.8-23, 2012

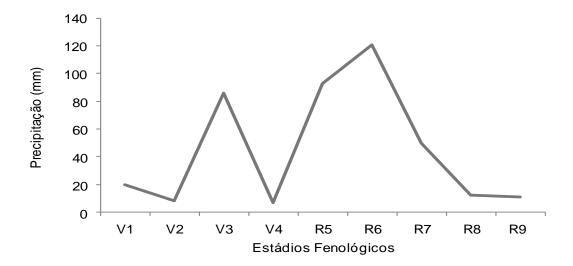


Figura 2 – Precipitação pluvial durante a condução do experimento (22 de setembro a 15 de dezembro de 2011).

Não houve diferença estatística em relação à massa de mil grãos (Figura 3) e produtividade (Figura 4) entre cultivares, porém, numericamente, se observou uma leve tendência de maiores cifras em favor a cultivar IPR-139.

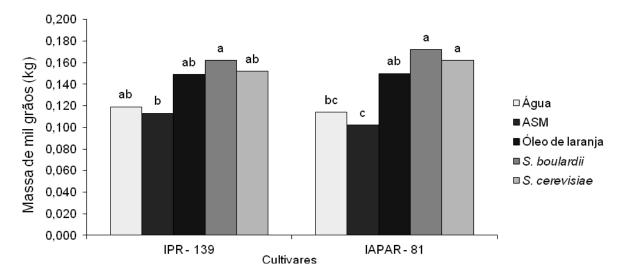


Figura 3 - Massa de mil grãos das cultivares de feijoeiro IPR-139 e IAPAR-81, tratadas com Óleo de Laranja (Orobor[®] 5 mL L⁻¹), *Saccharomyces cerevisiae* (2 g L⁻¹), *Saccharomyces boulardii* (2 g L⁻¹), Acibenzolar-S-metil (Bion[®] 100 mg i.a. L⁻¹) e Água destilada (200 L ha⁻¹). Aplicação de tratamentos realizada aos 14, 28 e 42 dias após a emergência. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatísticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

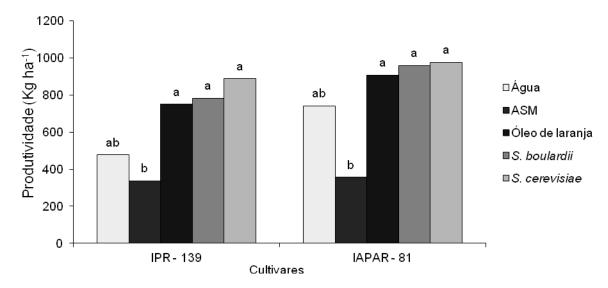


Figura 4 - Produtividade das cultivares de feijoeiro IPR-139 e IAPAR-81, tratadas com Óleo de Laranja (Orobor[®] 5 mL L⁻¹), *Saccharomyces cerevisiae* (2 g L⁻¹), *Saccharomyces boulardii* (2 g L⁻¹), Acibenzolar-S-metil (Bion[®] 100 mg i.a. L⁻¹) e Água destilada (200 L há⁻¹). Aplicação de tratamentos realizada aos 14, 28 e 42 dias após a emergência. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatísticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Também foi possível observar que a massa de mil grãos teve um comportamento semelhante à produtividade, apresentando valores superiores para grãos provenientes de plantas tratadas com leveduras e óleo de laranja e inferiores para plantas grãos oriundos de plantas tratadas com ASM (Figura 3).

Desta forma os tratamentos bióticos diferiram significativamente tanto para massa de mil grãos (Figura 3), bem como para produtividade (Figura4) do tratamento com ASM, para ambas as cultivares.

Faulin (2010) observou a redução no peso de grãos em plantas que receberam aplicações sucessivas de ASM. Kuhn (2007) verificou que a produtividade do feijoeiro com resistência induzida por ASM foi reduzida na medida em que se aumentava o número de aplicações. Com redução na massa de grãos, consequentemente, houve redução da produtividade em plantas tratadas com ASM.

Iriti e Faoro (2003) observaram uma pequena diferença na produtividade devido a um menor número de vagens e menor massa grãos de plantas de feijão tratadas com ASM.

A menor produtividade de plantas tratadas com ASM pode ser atribuída principalmente pelo custo metabólico da alteração nos processos bioquímicos da planta, que ocorre em maior intensidade em condições de estresse, principalmente no que diz respeito à nutrição nitrogenada (Dietrich *et al.*, 2004).

Por outro lado, as leveduras não causaram custo metabólico. Evidenciado nestes resultados, o que de acordo com Kuhn *et al.*, (2006) não foi encontrado nenhum trabalho na literatura com uso de microorganismos que mostrasse a evidencia de custo metabólico.

Conclusões

Plantas tratadas com leveduras reduzem a severidade do crestamento bacteriano comum do feijoeiro e aumentam sensivelmente a produtividade.

Em condições de campo sob estresse hídrico, a aplicação de ASM proporciona custo metabólico e reduz a produtividade.

ASM não reduziu a severidade do crestamento bacteriano comum.

Óleo essencial de laranja não reduziu a severidade do crestamento bacteriano comum, porém, não interferiu nos parâmetros de produção.

Referências

BACKES, R.L. *et al.* Adaptabilidade e estabilidade de genótipos de feijoeiro no estado de Santa Catarina. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.27, n.2, p.309-314, 2005.

BARAMPAMA, Z; SIMARD, R.E. Nutrient composition, protein quality and antinutritional factors of some varieties of dry beans (Phaseolus vulgaris) grown in Burundi. **Food Chemistry**, Barking, v.47, n.2, p.159-167, 1993.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de fitopatologia:** doenças das plantas cultivadas. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2, p.333, 2005.

BIAZON, V.L. **Crestamento bacteriano comum do feijoeiro:** efeito da adubação nitrogenada e potássica e aspectos bioquímicos relacionados à doença. Tese (Doutorado em Agronomia) – Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 172 p., 2003.

BOAVA, L.P. *et al*. Efeito de indutores bióticos e abióticos na atividade de quitinase e peroxidase e no controle da ferrugem causada por Puccinia psidii em eucalipto. **Summa phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 2, Jun 2010. Dísponivel em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S01004052010000200012&lng=en-&nrm=iso>. Acesso em 02 de maio de 2012.

BOLLER, T. Chemoperception of microbial signals in plant cells. **Plant Molecular Biology**, v.46, p.189-214, 1995.

BONALDO, S. M. Efeito de Saccharomyces cerevisiae na síntese de fitoalexinas em sorgo, na germinação e formação de apressórios por fungos fitopatogênicos e na proteção de pepino a Colletotrichum lagenarium e sorgo a Colletotrichum sublineolum. Piracicaba, 2005. 150p. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

BORÉM, A.; CARNEIRO, J.E.S. A cultura. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T.J.; BORÉM, A. **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. Viçosa: UFV, p.13-17, 1998.

- CHABOUSSOU, F. **Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos**: a teoria da trofobiose. 2. ed. Porto Alegre: L&PM, 272 p., 1999.
- COLEY, P.D.; BRYANT, J.P.; CHAPIN, F.S. Resource availability and plant antiherbivore defense. **Science**, Washington, v. 230, p. 895-899. 1985.
- DÍAZ, C.G.; BASSANEZI, R.B.; GODOY, C.V.; LOPES, D.B.; BERGAMIN FILHO, A. Quantificação do efeito do crestamento bacteriano comum na eficiência fotossintética e na produção do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, p.71-76, 2001.
- DIETRICH, R.; PLOSS, K.; HEIL, M. Constitutive and induced resistance to pathogens in Arabidopsis thaliana depends on nitrogen supply. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 27, n. 7, p. 896-906, 2004.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro, 306 p., 2006.
- FAULIN, M. S. A. R. Indução de resistência em feijoeiro (Phaseolus vulgaris) por acibenzolar-S-metil contra *Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli*: parâmetros bioquímicos e da produção. 2010.147 p. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2010.
- FERREIRA, D. F. **Sisvar**: Sistemas de análises de variância para dados balanceados: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos. Versão 4.3. Lavras: UFLA. 2002.
- GONÇALVES, R.C.; ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. Armazenamento de microrganismos em cultura com ênfase em fungos fitopatogênicos. In: ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: Editora UFV, p. 91-102, 2007.
- HEIL, M.; BOSTOCK, M.R. Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defences. **Annals of Botany**, v.89, p.503-512, 2002.
- HE, C.Y.; HSIANG, T.; WOLYN D.J.; Induction of systemic disease resistance and pathogen defense responses in *Asparagus officinalis* inoculated with nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. **Plant Pathology**. v. 51, n.2, p. 225-230, 2002.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola. 2011.** Disponível em:http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1068&id_pagina=1 >. Acesso em: 2 jan. de 2012.

KUHN, O.J. Indução de resistência em feijoeiro (Phaseolus vulgaris) por acibenzolar-S-metil e Baccillus cereus: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção. 2007. 140 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

KUTOS, T. *et al.* Dietary fibre content of dry and processed beans. **Food Chem.**, United Kingdom, v. 80, n. 2, p. 231-235, 2003.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**, São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2006. 631p.

MARSCHNER, **H. Mineral nutrition of higher plants.** London: Academic Press, 1986. p.369-90: Relationship between mineral nutrition and plant disease and pests

Microsoft® Office 2007, www.microsoft.com, acessada em Janeiro 2012.

PASCHOLATI, S.F. Potencial de Saccharomyces cerevisiae e outros agentes bióticos na proteção de plantas contra patógenos. Tese (Livre Docência) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

PEREIRA, H. S. *et al.* Indicação de cultivares de feijoeiro-comum baseada na avaliação conjunta de diferentes épocas de semeadura. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 45, n. 6, p. 571-578, 2010.

PERRENOUD, S. Potassium and plant health. 2. ed. **Berne:** International Potash Institute, 1990. 363p.

RAVA, C.A. Influência de fungicidas no controle da antracnose e da mancha angular em feijoeiro comum. **Summa Phytopathologica.** v. 28, p.65-69, 2002.

RIBEIRO, N. D.; JOST, E.; CERUTTI, T.; MAZIERO, S. D.; POERSCH, N. L. Composição de microminerais em cultivares de feijão e aplicações para o melhoramento genético. **Bragantia**, v. 67, n. 2, p. 267-273, 2008.

ROLIM, G. S.; CAMARGO, M. B. P. DE; LANIA, D. G; MORAES, J. F. de. Classificação climática de Köppen e de Thornthwaite e sua aplicabilidade na determinação de zonas agroclimáticas para o Estado de São Paulo. **Bragantia**, v.66, p.711-720, 2007.

ROMEIRO, R.S. Métodos em bacteriologia de Plantas. Viçosa: UFV, 279 p., 2001.

SARTORATO, A.; RAVA, C.A. Mancha angular. In:. (Ed.). **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília. EMBRAPA, SPI, p. 41-68, 1994.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F., STANGARLIN, J.R. & CRUZ, M.E.S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 554-556, 2003.

STANGARLIN, J.R.; SCHULZ, D.G.; FRANZENER, G.; ASSI, L.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; KUHN, O. J.; Indução de fitoalexinas em soja e sorgo por preparações de *Saccharomyces boulardii*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.1, p.91-98, 2010.

G 1 5 4 0.22.2012

TORRES, J.P.; SILVA JUNIOR, T.A. da; MARINGONI, A.C. Detecção de Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli em sementes de feijoeiro provenientes do estado do Paraná, Brasil. **Summa phytopathologica.**, Botucatu, v. 35, n. 2, June 2009. Dísponivel a partir de: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010054052009000200010&lng=en-&nrm=iso. Accesso em: 30 de abril de 2012.

VIEIRA, C. B.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. Feijão: aspectos gerais e cultura no estado de Minas. Universidade Federal de Viçosa, 596 p., Viçosa, 1998.

ZANARDO, N.M.T.; PASCHOLATI, S.F.; FIALHO, M.B. Resistência de plântulas de pepineiro a *Colletotrichum lagenarium* induzida por frações de extrato de *Saccharomyces cerevisiae*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.1499-1503, 2009.