

## Estudo de mecanismos de biocontrole do cretamento bacteriano do feijoeiro por bactérias

Eliane Gonçalves da Silva<sup>1</sup>  
Andréa Bittencourt Moura<sup>2</sup>  
Carolina Cardoso Deuner<sup>3</sup>  
Daniel Rosa Farias<sup>2</sup>

### RESUMO

O uso de microrganismos visando ao biocontrole de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap) tem mostrado resultados animadores. Para avaliar prováveis mecanismos envolvidos no biocontrole, sementes de feijão (cv. BRS Valente) foram microbiolizadas por imersão em suspensão de cada um de seis isolados bacterianos (DFs93, DFs513, DFs769, DFs842, DFs843 e DFs912) com 48 h de crescimento ( $OD_{540} = 0,5$ ) para ensaio de biocontrole e em suspensões do isolado de *Pseudomonas* sp. DFs842 ( $OD_{540} = 0,1$  a  $1,0$ ) para ensaio de concentrações crescentes. As sementes foram semeadas em vasos contendo solo não esterilizado, utilizando-se quatro repetições por tratamento em ambos os ensaios, que foram conduzidos de forma inteiramente casualizada. A inoculação, na terceira folha verdadeira, foi feita por incisão realizada com tesoura imersa em suspensão de Xap ( $OD_{540} = 0,40$ ). Avaliaram-se a incidência e a severidade de doença utilizando-se nota 0 ou 1 (0 = ausência e 1 = presença de sintomas) e escala de notas variando quanto ao grau de intensidade de 0 a 6, respectivamente. A incidência da doença foi de 100%. O maior biocontrole foi observado utilizando-se o isolado DFs842, que reduziu em 39,1% a severidade da doença. Não foi verificado efeito de concentrações crescentes. No teste de antibiose dos seis isolados biocontroladores contra sete isolados de Xap o isolado DFs769 destacou-se, inibindo o crescimento de todos os isolados do patógeno. Os isolados DFs842, DFs843 e DFs912 não tiveram efeito inibitório contra Xap. Os resultados observados nos três ensaios sugerem que o isolado DFs842 de *Pseudomonas* atue na planta como um agente indutor de resistência.

**Palavras-chave:** Antibiose, controle biológico, resistência induzida, ISR, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*

### ABSTRACT

#### Study of biocontrol mechanisms of common bean blight by bacteria

The use of microorganisms to control *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap) has shown encouraging results. To evaluate the mechanisms probably involved in this biocontrol, bean seeds (cv BRS Valente) were microbiolized by immersion in suspension of each of six bacterial isolates (DFs93, DFs769, DFs842, DFs483 and DFs912) cultivated for 48 h ( $OD_{540} = 0.5$ ) for biocontrol essay. The *Pseudomonas* sp. isolate DFs842 was used in an assay with increasing concentrations ( $OD_{540} = 0,1$  to  $1,0$ ). Seeds were sown in pots containing non-sterilized soil, with four replications per treatment in both assays, which were arranged in a complete randomized experimental design. Inoculation, in the third true leaf, was carried out by incision with scissors immersed in a Xap suspension ( $OD_{540} = 0.40$ ). Incidence and severity of disease was evaluated by scores 0 or 1 (0= absence and 1=presence of symptoms) and by a scale (varying accordingly

Recebido para publicação em dezembro de 2007 e aprovado em julho de 2008

<sup>1</sup> Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP). Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, 13416-900. Piracicaba, SP. E-mail: elianegs@esalq.usp.br

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas. Departamento de Fitossanidade, Cx. P. 354, CEP 6010-900, Pelotas, RS. abmoura@ufpel.edu.br

<sup>3</sup> FUNDACEP, RS 342 Km 149, Cx. P. 10. 98100-970. Cruz Alta, RS.

to degree of intensity designated from 0 to 6), respectively. All inoculated plants showed 100% of incidence. The best biocontrol result was found for the isolate DFs842, which reduced severity by 39.1%. There was no effect of increasing concentrations. In the *in vitro* antibiosis assay, for these six biocontroller isolates used against seven pathogenic Xap isolates, the isolate DFs769 stood out inhibiting the growth of all pathogen isolates. DFs842, DFs843 and DFs912 had no effect against Xap. Results of the three assays suggested that *Pseudomonas* isolate DFs842 acts in plants as an inducer of resistance.

**Key words:** antibiosis, biological control, induced resistance, ISR, *Xanthomonas axonopodis* pv. *Phaseoli*

## INTRODUÇÃO

O crestamento bacteriano comum (CBC), incitado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap), provoca baixo rendimento na produção de feijão, principalmente em regiões de alta umidade e temperatura elevada. Os sintomas do CBC manifestam-se em toda parte aérea da planta, afetando folhas, vagens e sementes. Nas folhas, as lesões inicialmente são pequenas áreas encharcadas, que aumentam gradualmente, tornando-se flácidas e, posteriormente, necróticas e quebradiças, freqüentemente margeadas por uma pequena zona de tecido amarelo-limão (Rava & Sartorato, 1994).

A doença é encontrada em todas as regiões produtoras do Brasil e o controle químico não costuma ser eficiente e economicamente viável (Maringoni, 1990). Algumas medidas como o uso de sementes de boa qualidade (Coppeland *et al.*, 1975), emprego de cultivares resistentes (Webster *et al.*, 1980), rotação de culturas, eliminação de plantas daninhas, incorporação ou eliminação de restos culturais contribuem para o controle da doença (Rava & Sartorato, 1994). Algumas alternativas que visam obter melhores resultados e menos danos ao ambiente têm sido buscadas. Nesse sentido, o controle biológico demonstra resultados positivos.

O uso de microrganismos antagonistas no controle de doenças bacterianas vem sendo estudado por vários autores, e apesar do número de trabalhos ser infinitamente menor do que aqueles visando ao controle de fungos, os resultados são animadores. As rizobactérias têm sido as mais utilizadas para o controle de um grande número de patógenos de plantas (Kloepper, 1983; Moura & Romeiro, 2000; Siddiqui & Ehteshamul, 2001; Zhang *et al.*, 2002)

sendo o tratamento de sementes uma das formas de aplicação mais empregadas.

Os estudos realizados "*in vitro*" apresentam-se como um passo importante para conhecer o comportamento e prováveis mecanismos de ação dos biocontroladores frente aos patógenos desafiantes. Como por exemplo, tem-se a produção de compostos com atividade antimicrobiana sobre o patógeno (antibiose) ou sua atuação como agente indutor de resistência, sem apresentar efeito diretamente sobre um microrganismo patogênico, ou ainda, sem efeito de doses. Estas últimas, dentre outras, são características apresentadas quando as plantas estão protegidas pelo mecanismo de ativação de resistência (Steiner & Shonbeck, 1995).

Zanatta *et al* (2007) selecionaram seis isolados bacterianos com potencial de biocontrole de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, porém não estabeleceram o(s) mecanismo(s) pelo qual(is) o controle é alcançado. Visando preencher, pelo menos em parte, esta lacuna, foram realizados três ensaios com o objetivo de determinar os possíveis mecanismos de ação destes biocontroladores.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Isolados utilizados*

Os isolados bacterianos biocontroladores, pertencentes à coleção de microrganismos do Laboratório de Bacteriologia Vegetal do Departamento de Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, foram obtidos de diferentes habitats pelo método de diluição em placas de Petri contendo meio 523 (Kado & Heskett, 1970), acrescido de ciclo eximida (100 µg mL<sup>-1</sup>) (Tabela 01).

Foram utilizados sete isolados de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* listados na Tabela 2.

**Tabela 1.** Isolados bacteriano, obtidos de diferentes habitats, utilizados para microbiolização das sementes de feijão cultivar BRS Valente e para avaliação de antibiose por pareamento de culturas

Habitat	Isolados bacterianos*
Solo	<i>Bacillus cereus</i> (DFs93)
Túnica de cebola	<i>Pseudomonas veronii</i> (DFs513)
Vagens de feijão	<i>B. cereus</i> (DFs769)
Folhas de feijão	<i>Pseudomonas</i> sp. (DFs842), <i>Rhodococcus</i> sp. (DFs843 e DFs912)

\*Determinados por sequenciamento do gene 16S rDNA (dados não publicados).

### Biocontrole em casa de vegetação

Sementes de feijão cultivar BRS Valente foram imersas durante cinco horas (Zanatta, 2004) sob agitação a 10 °C, em solução salina (0,85% NaCl) de cada isolado bacteriano com 24 horas de crescimento em meio 523 (Kado & Heskett, 1970), cuja concentração foi ajustada para  $OD_{540} = 0,5$ . As sementes imersas em solução salina (0,85% NaCl) foram usadas como testemunha.

As sementes microbiolizadas foram plantadas em vasos com capacidade para 2 litros, contendo uma mistura de solo não esterilizado, areia e esterco bovino na proporção 3:1:1. Foram feitas quatro repetições por tratamento, e mantidas duas plantas por parcela. O ensaio foi conduzido em casa de vegetação de forma inteiramente casualizada.

O inóculo consistiu de suspensão bacteriana de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap28) preparada a partir de cultura com 24 horas de crescimento em meio 523 de Kado & Heskett, (1970), incubada a 28 °C com concentração determinada em espectrofotômetro para  $OD_{540} = 0,4$ .

A inoculação foi realizada na terceira folha verdadeira, quando essa se encontrava plenamente desenvolvida. Utilizou-se o método de incisão, realizada por tesoura imersa em suspensão do patógeno, fazendo-se um corte em cada lado do folíolo, num total de seis cortes por planta.

As plantas foram mantidas em câmara úmida, constituída de uma armação plástica fechada sobre as bancadas, nas quais estavam dispostos os vasos, por períodos de 24 horas antes e após a inoculação. Nessa câmara, manteve-se alta umidade, pulverizando-se água várias vezes ao dia.

As avaliações quanto à incidência e severidade foram realizadas aos 15, 17, 21 e 25 dias após a inoculação do patógeno. Para a incidência, observou-se a ocorrência ou não dos sintomas típicos da doença nas folhas inoculadas, conferindo-se notas 0 ou 1, em que, 0 = ausência e 1 = presença de sintomas, desconsiderando-se a intensidade dos sintomas.

A avaliação da severidade da doença foi feita utilizando-se escala de notas descrita por Rava (1984), que varia de zero a seis quanto ao grau de intensidade, em que: 0 corresponde à ausência de sintomas, 1 a clorose descontínua nos cortes, 2 à clorose contínua nos cortes, 3 à clorose nos cortes e murcha do bordo da folha compreendido entre os cortes, sem ultrapassar a nervura lateral, 4 à clorose e murcha que ultrapassam a nervura lateral, 5 à clorose e murcha até o nível interno dos cortes e 6 à clorose avançada em torno de 1 cm no interior da folha e à murcha da área cortada.

A área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) foi calculada utilizando-se o programa GW-BASIC 3.20 desenvolvido por Maffia (1986). Os dados de severidade, bem como da AACPD foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Duncan.

### Antibiose

Os isolados biocontroladores foram semeados, em pontos equidistantes, em placas de Petri contendo meio 523 (Kado & Heskett, 1970), que posteriormente foram incubadas durante 72 horas a 28 °C. Após o crescimento, foi feita a limpeza das placas, utilizando-se algodão esterilizado para retirar o crescimento bacteriano. Adicionalmente, foi feita a inativação das células bacterianas restantes por meio de 2 horas de exposição à luz ultravioleta e por igual período ao clorofórmio. Foram, então, acrescidos 100 µL de suspensão contendo o patógeno deixado crescer por 24 horas, os quais foram distribuídos com alça de Drigalsky. As placas foram, então, incubadas por 72 horas a 28 °C.

Utilizaram-se quatro repetições para cada um dos sete isolados patogênicos de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (Tabela 2). As avaliações foram feitas medindo-se os halos de inibição.

**Tabela 2.** Origem dos isolados patogênicos de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* utilizados para inoculação de folhas do feijão ou para avaliação de antibiose por pareamento de culturas

Isolados patogênicos	Origem
Xap 28 e Xap 36	Embrapa - Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado (EMBRAPA - CPACT), RS
Xap 01 Coimbra MG	Universidade Federal de Viçosa, MG, cedido pelo Dr. Reginaldo da Silva Romeiro
Xap fuscans (Roxo) e Xap fuscans (Valente)	Universidade Federal de Lavras, MG, cedidos pelo Dr. Ricardo Magela de Souza
Xap 01 e Xap 16	Universidade Estadual Paulista (UNESP Botucatu, SP), cedidos pelo Dr. Antônio Carlos Maringoni

### Efeito de concentrações crescentes do isolado DFs842

Sementes de feijão cultivar BRS Valente foram microbiolizadas por imersão em suspensões de *Pseudomonas* (DFs842) preparadas de forma similar àquela descrita no item 2. Os tratamentos constituíram-se de concentrações crescentes de suspensão do isolado DFs842, medidas em espectrofotômetro, ajustadas para densidade ótica (540 nm) de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; e 1,0 nm.

Esse ensaio foi conduzido em casa de vegetação, conforme detalhado no item 2, porém em vasos com capacidade para um litro. A inoculação e a avaliação (após 10 dias), bem como o delineamento experimental, seguiram os mesmos padrões estabelecidos para o ensaio anterior. Os dados de severidade foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Duncan.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método de inoculação utilizado foi bastante eficaz, uma vez que todas as folhas inoculadas apresentaram sintomas típicos da doença, com 100% de incidência em todas as épocas de avaliação para todos os tratamentos (Tabela 3). Rava (1984) e Rava & Romeiro (1990) utilizaram o mesmo método para testar patogenicidade e variabilidade de diferentes isolados de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, obtendo bons resultados.

**Tabela 3.** Severidade média do crestamento bacteriano comum, avaliada pela escala descrita por Rava (1984), em diferentes dias após a inoculação com *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, em plantas de feijão (BRS valente)

Dias após a inoculação	Severidade da doença*
15	1,7 a
17	2,5 b
21	4,0 bc
25	5,1 c

\* Média conjunta dos tratamentos bacterianos e testemunha

**Tabela 4.** Severidade do crestamento bacteriano comum, avaliada pela escala descrita por Rava (1984), em diferentes dias após a inoculação com *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, em plantas de feijão (BRS valente) originadas de sementes microbiolizadas com isolados biocontroladores provenientes de diferentes habitats

Tratamentos	Severidade da doença				
	15 dias <sup>1, NS</sup>	17 dias <sup>1, NS</sup>	21 dias <sup>1, NS</sup>	25 dias <sup>1</sup>	AACPD <sup>2</sup>
Testemunha	1,67	3,37	3,96	5,38 a	38,35 a
DFs93	1,67	3,28	4,39	4,94 ab	42,28 a
DFs513	1,94	2,39	5,50	5,83 a	31,56 ab
DFs769	1,51	3,28	4,78	5,67 a	41,80 a
DFs842	1,89	1,61	2,30	3,72 b	23,37 b
DFs843	1,33	2,24	3,75	5,09 a	33,58 ab
DFs912	1,26	3,16	4,92	5,83 a	29,31 ab

Os valores são médias de quatro repetições para cada tratamento.

Letras distintas na coluna representam diferenças significativas entre os tratamentos, pelo teste de Duncan.

<sup>NS</sup>não significativos a 5% de probabilidade; <sup>1</sup>dias após a inoculação; e <sup>2</sup>Área abaixo da curva de progresso da doença.

Em relação à testemunha, os tratamentos bacterianos, em conjunto, apresentaram reduções de 4,2; 21,1; e 3,8% na severidade da doença aos 15, 17 e 25 dias, respectivamente, e de 12,3% para a AACPD. Considerando cada tratamento individualmente, destacou-se o isolado de *Pseudomonas* DFs842, que reduziu a severidade do crestamento bacteriano consideravelmente, proporcionando, ao final do período avaliado, redução de 39,1% da AACPD (Tabela 4). Quando se observou cada data de avaliação da severidade individualmente, o isolado de *Pseudomonas* DFs842 também foi o que propiciou melhores resultados após 17, 21 e 25 dias.

Como o biocontrole geralmente não alcança percentual elevado, os resultados obtidos para o isolado DFs842 de *Pseudomonas* podem ser considerados animadores. Neste contexto, há relatos de microrganismos controlando a mesma doença bacteriana, com níveis similares aos alcançados neste trabalho. Agostini *et al* (2003) e Sbalcheiro (2006) testaram actinomicetos pela microbiolização das sementes de feijão para biocontrole de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, verificando redução da severidade da doença em torno de 40%, concluindo que esses microrganismos são promissores no controle desse patógeno. A dispersão na parte aérea também foi avaliada, quando Vieira-Júnior *et al* (2002) testaram 100 isolados bacterianos do filoplano de feijão, avaliando o controle de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* e de *Pseudomonas viridiflava*, e verificaram que três isolados proporcionaram redução da severidade em 55 e 87%, respectivamente, para as duas doenças.

Por outro lado, Zanatta (2004) também avaliou, quanto à incidência, os mesmos isolados utilizados neste trabalho (DFs93, DFs513, DFs769, DFs842, DFs843 e DFs912), conduzindo ensaio nas mesmas condições, embora em outra época de plantio. Em seu trabalho todos os isolados foram estatisticamente superiores à testemunha, e o controle máximo de 42%, foi propiciado pelo isolado DFs842, confir-

mando o potencial do isolado de *Pseudomonas* para o biocontrole de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*.

Os resultados obtidos podem ser considerados promissores, uma vez que o biocontrole raramente é espetacular (Bettiol, 1991). Na natureza dificilmente ocorre uma situação tão drástica quanto àquela produzida por uma inoculação artificial, na qual o controle químico disponível geralmente é ineficaz e de alto custo econômico e ambiental (Maringsoni, 1990).

A antibiose contra patógenos que atacam o feijão é conhecida e foi explorada em alguns trabalhos para controle de fungos: *Bacillus subtilis*, reduzindo a germinação de uredinosporos de *Uromyces appendiculatus* (Mizubuti *et al.*, 1995); a bactéria identificada como B183, contra *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium* sp., *Macrophomina phaseolina* e *Sclerotinia sclerotiorum* (Cattelan, 1994); e *Trichoderma* (TN-28 e TN-59), contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Reis *et al.*, 1995).

Dentre os isolados biocontroladores avaliados, dois pertencem ao gênero *Pseudomonas* (DFs513 e DFs842) e dois ao gênero *Bacillus* (DFs93 e DFs769). Embora espécies desses sejam conhecidas por sua capacidade de sintetizar ampla gama de compostos antimicrobianos (Phae & Shoda, 1991; O'Sullivan & O'Gara, 1992; Dowling & O'Gara, 1994), a maioria deles aqui avaliados não foi capaz de inibir o crescimento de isolados patogênicos de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. Observou-se que o *Bacillus cereus* DFs769 se destacou dos demais biocontroladores, resultando em inibição de crescimento de todos os isolados patogênicos testados, seguido por *Pseudomonas veronii* DFs513, que resultou em inibição do crescimento dos isolados Xap fuscans (cultivar Roxo) e Xap fuscans (cultivar Valente), provenientes da mesma região. *B. cereus* DFs93 inibiu o crescimento do isolado Xap 36 (Tabela 5). Os isolados DFs842 (*Pseudomonas* sp.), DFs843 e DFs912 (*Rhodococcus* sp.) não proporcionaram nenhuma inibição de crescimento dos sete isolados patogênicos testados.

A inexistência de correlação entre resultados obtidos *in vitro* e *in vivo* é amplamente relatada, levando a crer que a indução de resistência possa ser, em alguns casos, um mecanismo ocorrente nos trabalhos que bus-

cam o biocontrole de doenças, inclusive as que ocorrem no feijão. O trabalho de Arsenijevic *et al.* (1998) mostrou claramente este tipo de comportamento. Esses autores avaliaram antibiose entre as bactérias *Pseudomonas* spp., *Bacillus* sp. e *Erwinia herbicola* contra *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* e *X. axonopodis* pv. *phaseoli* e verificaram que não ocorreu antagonismo *in vitro*, ao passo que, quando as sementes de feijão foram microbiolizadas com essas bactérias, as plantas originadas delas apresentaram menor severidade das duas doenças, portanto, provavelmente outro(s) mecanismo(s) estava(m) envolvido(s) no biocontrole. Em outro sentido, Randhawa & Schaad (1995) verificaram que dos 82 isolados com capacidade biocontroladora para *Ralstonia solanacearum* e *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, em condições de casa de vegetação, apenas 22 apresentaram antibiose "in vitro" contra os referidos patógenos, concluindo que outros mecanismos estavam presentes na capacidade de biocontrole dos demais isolados em casa de vegetação.

No ensaio com concentrações crescentes de suspensão bacteriana do isolado *Pseudomonas* (DFs842), a incidência da doença foi de 100%, sendo similar ao ensaio anterior, não havendo, portanto, diferenças entre os tratamentos. Quanto à severidade da doença, o maior efeito aos 10 dias foi alcançado com a menor concentração ( $OD_{540} = 0,1$ ) (Tabela 6).

No controle biológico exercido por antibiose, geralmente existe relação entre densidade de inóculo dos biocontroladores e efetividade do controle por eles proporcionado, tanto quando se avalia a severidade quanto a incidência da doença. Modelos linear, logístico e log-logístico já foram utilizados para descrever tais relações (Wang *et al.*, 2005; Kiewnick & Sikora, 2006), quer o controle seja exercido por fungos ou por bactérias. A não existência de correlação positiva entre maiores quantidades do biocontrolador e a efetividade de controle é um atributo geralmente associado à indução de resistência, quando ativada por compostos químicos (Godard *et al.*, 1999; Trotel-Aziz *et al.*, 2006) ou por microrganismos (Larkin & Fravel, 1999; Kilic-Ekici & Yue, 2003)

**Tabela 5.** Antibiose "in vitro" de isolados biocontroladores contra isolados patogênicos de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* provenientes de algumas regiões produtoras de feijão do Brasil

Isolado	Xap 01 MG	Xap16	Xap 36	Xapf (roxo)	Xapf (valente)	Xap 28	Xap 01
DFs93	0	0	0,82	0	0	0	0
DFs513	0	0	0	0,37	0,4	0	0
DFs769	1,08	0,75	1,4	1,0	0,67	0,97	0,92
DFs842	0	0	0	0	0	0	0
DFs843	0	0	0	0	0	0	0
DFs912	0	0	0	0	0	0	0

Valores médios de quatro repetições, medidas em cm.

**Tabela 6.** Efeito de concentrações crescentes do isolado DFs842 (*Pseudomonas* sp.) na severidade do crestamento bacteriano comum quando folhas de feijão (BRS Valente) foram inoculadas com *X. axonopodis* pv. *phaseoli* por incisão e avaliadas após 10 dias

Severidade da Doença	
Tratamentos	Nota*
Testemunha	3,4 a
DFs842 (OD <sub>540</sub> =0,1)	1,7 c
DFs842 (OD <sub>540</sub> =0,2)	2,4 bc
DFs842 (OD <sub>540</sub> =0,3)	2,3 bc
DFs842 (OD <sub>540</sub> =0,4)	2,8 b
DFs842 (OD <sub>540</sub> =0,5)	2,7 b
DFs842 (OD <sub>540</sub> =0,6)	2,5 bc
DFs842 (OD <sub>540</sub> =0,7)	2,5 bc
DFs842 (OD <sub>540</sub> =0,8)	2,3 bc
DFs842 (OD <sub>540</sub> =0,9)	2,5 bc
DFs842 (OD <sub>540</sub> =1,0)	2,1 bc

\* Letras distintas na coluna representam diferenças significativas entre os tratamentos, pelo teste de Duncan.

Segundo Kessmann *et al.*, (1994), Steiner & Shonbeck (1995) e Van Loon *et al.* (1998), um agente indutor de resistência deve obedecer a pelo menos três das seguintes características para ser assim considerado: ausência de feitos tóxicos do agente indutor; necessidade de intervalo de tempo entre a aplicação do agente indutor e a ocorrência da resistência; ausência de relação entre efeito controlador e doses crescentes do indutor; e inespecificidade da resistência. Portanto, o conjunto de resultados obtidos neste trabalho sugere que o isolado de *Pseudomonas* DFs842 atue como indutor de resistência, por não ter apresentado efeito em doses crescentes, estando este separado espacial e temporalmente do patógeno e por não produzir compostos antibióticos efetivos contra o isolado de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap 28) usado para inocular as plantas.

## CONCLUSÕES

O controle biológico de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap 28) proporcionado pelo isolado de *Pseudomonas* DFs842 não ocorre por antibiose. Neste caso, o controle se dá, pelo menos em parte, pela indução de resistência.

## REFERÊNCIAS

Agostini VA, Denardin ND & Forcelini CA (2003) Biocontrole de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* var. *fuscans* por microbiolização de sementes de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). Informativo ABRATES, 13: 223.

Arsenijevic M, Obradovic A, Stevanovic D, Ivanovic M & Duffy B (1998) Antagonic effect of some saprophytic bacteria to *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* and *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*. Molecular Approaches in Biological Control, 21: 297-300.

Bettiol W (1991) Controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna, EMBRAPA – CNPDA. 388p.

Cattelan A J (1994) Antagonismo de *Pseudomonas* do grupo fluorescente a fungos fitopatogênicos de solo e de sementes de soja. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 18: 37-42.

Coppeland LO, Adams MW & Bell DC (1975) A improved seed programme for maintaining disease-free seed of field beans (*Phaseolus vulgaris*). Seed Science and Technology, 3: 719-724.

Dowling DN & O'gara F (1994) Metabolites of *Pseudomonas* involved in the biocontrol of plant disease. TIBTECH Reviews, 12: 133 – 141.

Godard J F, Ziadi S, Monot C, Corre D & Silué D (1999) Benzothiazole (BTH) induces resistance in cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) to downy mildew of crucifers caused by *Peronospora parasitica*. Crop Protection, 18: 397 – 405.

Kado CI & Heskett MG (1970) Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. Phytopathology, 60: 24-30.

Kessmann H, Staub T, Hoffmann C, Maetz T & Herzog J (1994) Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. Annual Review of Phytopathology, 32: 439-459.

Kiewnick S & Sikora RA (2006) Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* strain 251. Biological Control, 38: 179 – 187.

Kilic-Ekici o & Yuen Gy (2003) Induced resistance as a mechanism of biological control by *Lysobacter enzymogenes* strain C3. Phytopathology, 93: 1103 – 1110.

Kloepper JW (1983) Effect of seed piece inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on populations of *Erwinia carotovora* on potato roots and daughter tubers. Phytopathology, 73: 217-219.

Larkin RP & Fravel, DR (1999) Mechanisms of action and dose-response relationships governing biological control of *Fusarium* wilt to tomato by nonpathogenic *Fusarium* spp. Phytopathology, 89: 1552 – 1161.

Maffia AL (1986) Programa para cálculo de Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença (AACPD) GW-BASIC 3.20. Viçosa, MG. Universidade Federal de Viçosa.

Marinoni AC (1990) Controle químico do crestamento bacteriano comum do feijoeiro e seu efeito na transmissão de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye pelas sementes. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 25: 1151-1156.

Mizubuti ESG, Maffia LA, Muchovej JJ, Romeiro RS & Batista UG (1995) Selection of isolates of *Bacillus subtilis* with potential for the control of dry bean rust. Fitopatologia Brasileira, 20: 540-544.

Moura AB & Romeiro RS (2000) Actinomicetos pré-selecionados para controle de *Ralstonia solanaearum* como promotores de crescimento em tomateiro. Revista Ceres, 47: 613-626.

O'Sullivan DJ, O'GARA F (1992) Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. Microbiological Reviews 56: 662 – 676.

Phae C & Shoda M (1991) Investigation of optimal conditions for foam separation of iturin an antifungal peptide produced by *Bacillus subtilis*. Journal of Fermentation and Bioengineering, 71: 118 – 121.

Randhawa OS & SCHAAD NW (1995) A seedling bioassay chamber for determining bacterial colonization and antagonism on plant roots. Phytopathology, 75: 254-259.

Rava CA (1984) Patogenicidade de isolamentos de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 19: 445-448.

- Rava CA & Romeiro RS (1990) Variabilidade de isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* quanto a patogenicidade em cultivares de *Phaseolus vulgaris*. Summa Phytopathologica, 16: 226-232.
- Rava CA & Sartorato A (1994) Crestamento Bacteriano Comum. In: Rava CA & Satorato A (Eds). Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle. Brasília, EMBRAPA. p.217-242.
- Reis A, Oliveira SMA, Menezes M & Mariano RLR (1995) Potencial de isolados de *Trichoderma* para biocontrole da murcha de *Fusarium* do feijoeiro. Summa Phytopathologica, 21: 16-20.
- Trotel-Aziz P, Couderchet M, Vernet G & Aziz A (2006) Chitosan stimulates defense reactions in grapevine leaves and inhibits development of *Botrytis cinerea*. European Journal of Plant Pathology, 114: 405 – 413.
- Sbalcheiro CC (2006) Ação do biocontrolador com atividade de indução de resistência no controle do crestamento bacteriano comum do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Dissertação de mestrado. Passo Fundo, Universidade de Passo Fundo. 124p.
- Siddiqui IA & Ehteshamul HS (2001) Suppression of the root rot knot disease complex by *Pseudomonas aeruginosa* in tomato: the influence of inoculum density, nematode populations, moisture and other plant-associated bacteria. Plant and Soil, 237: 81-89.
- Steiner U & Schonbeck F (1995) Induced disease resistance in monocots. In: Hammerschmidt, RK (Ed.) Induced resistance to disease in plants - development in plant pathology. Dordrech, Kluwer Academic Pub. 182p.
- Van Loon LC, Bakker PHHM & Pieterse CMJ (1998) Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annual Review of Phytopathology, 36: 453-483.
- Vieira Júnior JR, Romeiro RS, Vieira RF & Soares DJ (2002) Seleção de bactérias residentes de filoplano de feijoeiro como agentes de biocontrole de duas enfermidades da parte aérea. Fitopatologia Brasileira, 27: 227-227.
- Wang H, Chang KF, Hwang SF, Turnbull GD, Howard RJ, Blade SF & Callan NW (2005) *Fusarium* root rot of coneflower seedlings and integrated control using *Trichoderma* and fungicides. Biocontrol, 50: 317 0 329.
- Webster DM, Temple SR & Schwartz HF (1980) Selection for resistance to *Xanthomonas phaseoli* in dry beans. Crop Science, 20: 519-522.
- Zanatta ZGC, Moura AB, Maia LC & SANTOS AS (2007) Bioassay for selection of biocontroller bacteria against bean common blight (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*). Brazilian Journal of Microbiology, 38:511–515.
- Zanatta ZGCN (2004) Potencial de bactérias para biocontrole de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* e promoção de crescimento na cultura do feijão. Tese de doutorado. Pelotas, Universidade Federal de Pelotas. 67 p.
- Zhang S, Moyne A, Readdy MS & Klopper JW (2002) The role of salicylic acid in induced systemic resistance elicited by plant growth-promoting rhizobacteria against blue mold of tobacco. Biological Control, 25: 288-296.