

Área: Fitossanidade

## INFLUÊNCIA DO PERÍODO DE MOLHAMENTO FOLIAR NA SEVERIDADE DA MANCHA-BACTERIANA DO FEIJÃO-CAUPI

**Hyanameyka Evangelista de Lima<sup>1</sup>; Kátia de Lima Nechet<sup>2</sup>, Bernardo de Almeida Halfeld-Vieira<sup>2</sup>, Francidalva de Lima Oliveira<sup>3</sup>, Ezequiel de Souza Queiroz<sup>3</sup>, Daniel Augusto Schurt<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Engº Agr., DSc. Fitopatologia, Pesquisador, Embrapa Roraima, Rodovia BR-174, Km 8, Boa Vista, RR. e-mail: hyanameyka.lima@embrapa.br

<sup>2</sup>Engº Agr., DSc. Fitopatologia, Pesquisador, Embrapa Meio Ambiente, Rodovia SP 340 Km 127,5 - Jaguariúna, 13820-000, Jaguariúna, SP.

<sup>3</sup>Acadêmico do curso de Agronomia, Universidade Estadual de Roraima, Av. João XXIII S/N, Alto Alegre, RR.

**Resumo** – Avaliou-se a severidade da mancha bacteriana em feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) em diferentes intervalos de molhamento foliar (0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 h) após a inoculação. O experimento foi realizado em casa-de-vegetação, onde plantas de feijão-caupi BRS Bragança com 20 dias foram pulverizadas com suspensão de *Xanthomonas axonopodis* pv. *vignicola* (*Xav*) na concentração de  $10^7$  UFC mL<sup>-1</sup>, sendo posteriormente submetidas aos diferentes períodos de molhamento foliar (PMF), determinando-se o período de incubação (PI), a taxa de progresso da doença (TPD) e a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Dos modelos matemáticos testados, os que apresentaram melhores ajustes para duração do PMF foi o exponencial negativo para PI e o linear para AACPD. O período de incubação variou de 4,0 a 5,4 dias e foi maior em plantas sem PMF. A AACPD aumentou com a elevação do PMF. Mesmo na ausência de molhamento foliar ocorreram sintomas da mancha bacteriana com valores de AACPD de 216,45, sendo este o menor valor, enquanto que o maior valor (573,86) da AACPD foi obtido com 24h de PMF. Houve aumento da TPD com o incremento do PMF até 20h. Houve influência do PMF na infecção de *Xav*, pois PMF acima de 12h diferiram ( $p \leq 0,05$ ) do tratamento sem PMF (0h). Não houve diferença significativa da severidade entre períodos de 12, 16, 20 e 24 h de PMF, indicando que um período de molhamento foliar de 12h pode ser suficiente para avaliar resistência à mancha-bacteriana do feijão-caupi.

**Palavras-chave:** *Xanthomonas axonopodis* pv. *vignicola*, *Vigna unguiculata*, período de incubação, taxa de progresso da doença.

### Introdução

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], com uma área cultivada estimada em cerca de 1.500 ha ano<sup>-1</sup>, sendo explorado principalmente nas regiões Norte e Nordeste (SANTOS *et al.*, 2009; SINGH *et al.*, 2002). A doença mancha-bacteriana, causada pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *vignicola* (Burkholder) Dye, é considerada uma doença limitante em algumas regiões produtoras de feijão-caupi, como na África, Ásia e nas Américas (Kishun, 1989). No Brasil, a doença já foi relatada nos estados de Goiás, Bahia, Maranhão, Pará, Piauí, Ceará e Roraima (Santos *et al.*, 2000; Freire

Filho *et al.*, 2005; Nechet *et al.*, 2009). Os sintomas são observados primeiramente pela formação de manchas foliares, pustiliformes, necróticas, angulares com centro amarronzado, envolvido frequentemente por um halo amarelado, de tecido encharcado de aspecto úmido (Freire Filho *et al.*, 2005; Moretti *et al.*, 2007). Podem surgir cancos bem característicos no caule e manchas irregulares de aspecto úmido nas vagens, por onde o patógeno infecta as sementes (Freire Filho *et al.*, 2005). Dados oriundos de outros países indicam que a mancha bacteriana pode ocasionar epidemias severas (Moretti *et al.*, 2007) e causar significativa redução na produção (Ekpo, 1978; Okechukwu *et al.*, 2000) podendo atingir perdas de até 92% (Kishun, 1989). No entanto, não há dados precisos sobre o potencial de perdas ocasionado pela doença no Brasil (Freire Filho *et al.*, 2005).

Não existe um método eficiente para o controle da mancha-bacteriana do feijão-caupi, sendo recomendado o uso de cultivares resistentes, plantio em áreas livres do patógeno e uso de sementes sadias (Gitaitis, 1983; Sikirou & Wydra, 2004; Freire Filho *et al.*, 2005). Entretanto, apesar da importância dessa doença para a cultura, estudos epidemiológicos sobre o patossistema *Xanthomonas axonopodis* pv. *vignicola* x feijão-caupi são escassos no Brasil. Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a influência da duração do período de molhamento foliar na severidade da mancha-bacteriana do feijão-caupi.

### Material e Métodos

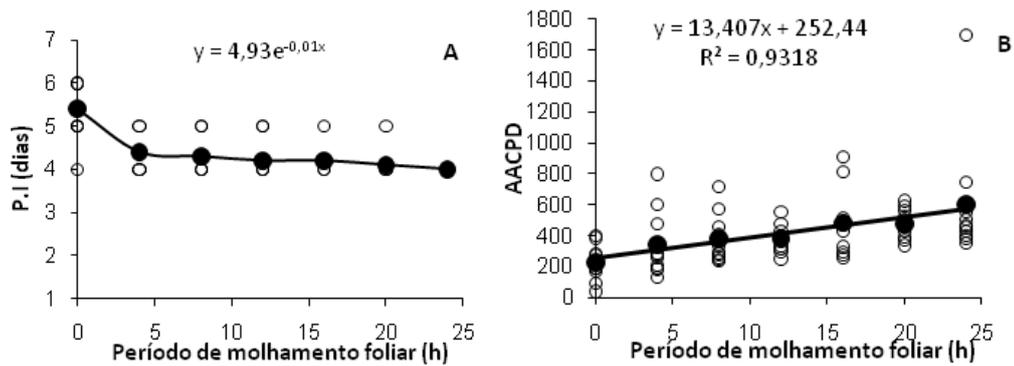
O trabalho foi realizado na Embrapa Roraima, localizada na BR-174, município de Boa Vista/RR, utilizando-se as estruturas do laboratório e casa-de-vegetação, no período de abril a junho de 2011. O isolado de *Xav* utilizado nos ensaios pertence à coleção de microrganismos do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Roraima, previamente identificado e caracterizado como *Xav*. Plantas de feijão-caupi cv. BRS Bragança, suscetível à mancha-bacteriana, foram cultivadas em vasos plásticos de 5L contendo uma mistura de solo e areia (proporção 2:1) desinfestados previamente com metam-sódico. O isolado de *Xav* foi semeado em placas de Petri contendo meio 523 (Kado & Heskett, 1970) e mantido em incubadora tipo BOD durante três dias a 25°C ±2°C. Após este período, as células bacterianas obtidas foram suspensas em água destilada esterilizada, ajustando a concentração de inóculo 10<sup>7</sup> UFC mL<sup>-1</sup>. Plantas de feijão-caupi cv. BRS Bragança no estágio de dois a três trifólios foram inoculadas com a suspensão de *Xav* até o ponto de escorrimento, com pulverizador costal manual. As plantas foram cobertas por saco plástico transparente previamente umedecido, após a inoculação, simulando câmara úmida, de forma a se obter os períodos de molhamento foliar de 0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 horas. Durante e após cada período as plantas foram mantidas em casa-de-vegetação com temperatura em torno de 28 ±2°C. Como controle, plantas foram pulverizadas com água destilada esterilizada e submetidas aos mesmos períodos de molhamento foliar. No período em que as plantas foram mantidas em câmara úmida, a irrigação foi efetuada pela deposição de água nos vasos com auxílio de uma mangueira de irrigação, e após a retirada dos plásticos, a irrigação foi feita duas vezes por dia com sistema de aspersão. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e dez repetições, sendo cada repetição um vaso com uma planta. A avaliação do período de incubação (PI), calculado pelo número de dias entre a inoculação e o surgimento dos sintomas da doença foi feita, diariamente, após a inoculação. A severidade da mancha-bacteriana do feijão-caupi foi determinada por meio da avaliação visual da porcentagem de área foliar necrótica nos trifólios da planta, em intervalos de cinco dias, com auxílio de escala diagramática. O ensaio foi finalizado aos 30 dias após a inoculação, totalizando seis avaliações da severidade da doença. Com os dados de severidade, calculou-se a área abaixo da curva de progresso da doença, pela expressão: AACPD=  $\{ \sum [(y_i + y_{i+1})/2] \cdot (t_{i+1} - t_i) \}$ , onde  $y_i$  e  $y_{i+1}$  são

os valores de severidade observados em duas avaliações consecutivas e  $t_{i+1} - t_i$  o intervalo entre avaliações. As taxas de progresso da doença (TPD) foram estimadas pelo parâmetro  $b$  da equação de regressão linear simples e comparada entre os diferentes PMF com base no intervalo de confiança entre as taxas médias de cada dois tratamentos (Campbell e Madden, 1990). Os dados de severidade foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e de homogeneidade de variância de Bartlett, sendo então transformados em  $\log$  devido a normalização e submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, utilizando-se o software Statistical Analysis System versão 9.0 (SAS Institute, Inc., Cary, NC). Posteriormente, para os dados de PI e AACPD realizou-se a análise de regressão linear e não-linear, a fim de selecionar os modelos com melhores ajustes para duração do período de molhamento foliar, com base no coeficiente de determinação ( $R^2$ ), no quadrado médio do resíduo e na ausência de tendências indesejáveis no gráfico de resíduo.

### Resultados e Discussão

Não houve sintomas da mancha-bacteriana em plantas não inoculadas com *Xav* durante o período de avaliação. Os valores da severidade da mancha-bacteriana do feijão-caupi para plantas submetidas aos PMF de 0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 h, após a inoculação com *Xav*, foram de 8,82; 13,35; 14,67; 15,02; 18,38; 18,92; 23,20%, respectivamente. Houve diferença ( $p \leq 0,05$ ) na severidade da doença entre as plantas submetidas a diferentes períodos de molhamento foliar (PMF). Os valores de severidade referentes a 4 e 8 h de PMF não diferiram ( $p > 0,05$ ) do tratamento sem PMF (0h). Entretanto, os PMF acima de 12h diferiram ( $p \leq 0,05$ ) do tratamento sem PMF (0h). A ocorrência de sintomas da doença mesmo na ausência de molhamento foliar 24h após a inoculação indica que a infecção pode ocorrer em plantas de feijão-caupi. Esses resultados são corroborados pelo relato de Silveira *et al.* (2003), que verificaram que após a chegada de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* na superfície foliar de plantas de meloeiro, na ausência de molhamento foliar, a população bacteriana iniciou a infecção, com lesões incipientes e pouco visíveis, distribuídas no limbo foliar, mas que com a elevação da umidade, a infecção tornou-se generalizada e as lesões progrediram, coalescendo e formando grandes áreas necrosadas. Conforme O'Brien & Martin (1999), sem molhamento foliar após a chegada do patógeno na planta, a infecção é retardada, aumentando o tempo para o patógeno causar lesões, o que conseqüentemente, aumenta o tempo para que este seja dispersado.

Não houve diferença significativa da severidade entre períodos de 12, 16, 20 e 24 h de molhamento foliar, indicando que um período de molhamento foliar de 12h pode ser suficiente para avaliar resistência à mancha-bacteriana do feijão-caupi. Dos modelos matemáticos testados, o que proporcionou melhor ajuste para duração do período de molhamento foliar (PMF) foi o exponencial negativo para PI e o linear para AACPD (Figura 1). O PI da doença variou de 4,0 a 5,4 dias, sendo maior nas plantas sem molhamento foliar 24h após a inoculação (0h de PMF). Nos períodos de 4 a 20 h, o PI manteve-se praticamente constante (4,2 dias) sendo o menor valor (4,0 dias) verificado nas plantas submetidas a molhamento foliar 24 h após inoculação. Na ausência de molhamento foliar (0h de PMF), verificaram-se sintomas da mancha-bacteriana com valores de AACPD de 216,45, que foi o menor valor, sendo o maior valor (573,86), obtido com 24h de PMF, havendo incremento da AACPD com o aumento da duração do PMF.



**Figura 1.** Período de incubação - PI (A) e Área abaixo da curva de progresso da mancha bacteriana – AACPD (B) em feijão-caupi cv. BRS Bragança, inoculadas com *Xanthomonas axonopodis* pv. *vignicola* no estágio de 2 a 3 trifólios, em condições de casa-de-vegetação e submetidas a diferentes períodos de molhamento foliar. Pontos pretos representam a média de 10 repetições e pontos brancos representam as repetições.

Os valores da TPD para plantas submetidas aos PMF de 0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 h, após a inoculação com *Xav*, foram de 0,0039; 0,0059; 0,0063; 0,0078; 0,0084; 0,0112 e 0,0112 unidades de infecção por dia, respectivamente. Entre os PMF aos quais as plantas foram submetidas após a inoculação, o de 20 e 24h, foram os que apresentaram os maiores valores de TPD, e o tratamento de 0h de PMF, apresentou o menor valor. Houve aumento da TPD com o incremento do período de molhamento foliar até 20h. Os PMF de 20 e 24h não apresentaram diferença significativa quando se comparou o valor da TPD. Tais resultados demonstram que a água livre é um fator que favorece o aumento da severidade da doença. Diversos trabalhos demonstram que períodos mais longos de molhamento foliar favorecem o aumento da severidade da doença (Vale *et al.*, 1990; Zerh *et al.*, 1996; Godoy *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 2001; Silveira *et al.*, 2003; Pria *et al.*, 2006).

### Conclusão

Com o aumento do período de molhamento foliar após a inoculação de plantas de feijão-caupi com *X. axonopodis* pv. *vignicola* o período de incubação da bactéria tende a ser menor e a severidade da doença tende a ser maior.

### Referências

- CAMPBELL, C.L. & MADDEN, L.V. 1990. Crop loss assessment and modeling. In: Campbell, C.L. & Madden L.V. Introduction to plant disease epidemiology. New York, John Wiley & Sons, Cap. 14, p. 393-422.
- EKPO, E. J. A. Effect of *Xanthomonas vignicola* on the yield of cowpea (*Vigna unguiculata*). **African Journal of Agricultural Sciences**, v.5, p.67-69, 1978.
- FREIRE FILHO, F. R., LIMA, J. A. A., RIBEIRO, V. Q. (Eds.) **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 519 p.
- GITAITIS, R. D. Two resistant responses in cowpea induced by different strains of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vignicola*. **Plant Disease**, v. 67, p. 1025-1028, 1983.

- GODOY, C.V., AMORIM, L., BERGAMIN FILHO, A. Influência da duração do período do molhamento foliar e da temperatura no desenvolvimento da ferrugem do milho causada por *Puccinia polysora*. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, p.160-165, 1999.
- KADO, C.I. & HESKETT, M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, v.60, p.969-976, 1970.
- KISHUN, R. Appraisal of loss in yield of cowpea due to *Xanthomonas axonopodis* pv. *vignicola*. **Indian Phytopathology**, v. 42, p. 241-246, 1989.
- MORETTI, C., MONDJANA, A. M., ZAZZERINI, A., BUONAURO, R. Occurrence of leaf spot on cowpea (*Vigna unguiculata*) caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *vignicola* in Mozambique. **Plant Pathology**, v. 56, p. 347, 2007.
- NECHET, K. L., HALFELD-VIEIRA, B. A., BOARI, A. J., NASCIMENTO, J. F. Doenças. In: ZILLI, J. E., VILARINHO, A. A., ALVES, J. M. A (Eds.). **A cultura do feijão-caupi na Amazônia Brasileira**. 1ed. BoaVista: Embrapa Roraima, 2009. v. 1, p. 245-270.
- OKECHUKWU, R. U., EKPO, E. J. A., FLORINI, D. A. Yield depression in cowpea cultivars infected with *Xanthomonas campestris* pv. *vignicola* in Sudan savanna of Nigeria. **Tropical Agricultural Research Extension**, v.3, p.98-101, 2000.
- O'BRIEN, R.G. & MARTIN, A.L. Bacterial blotch of melons caused by strains of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.39, p.479-485, 1999.
- PRIA, M.D., CHRISTIANO, R.C.S., FURTADO, E.L., AMORIM, L., BERGAMIN FILHO, A. Effects of temperature and leaf wetness duration on infection of sweet oranges by Asiatic citrus canker. **Plant Pathology**, v.55, p.657-663, 2006.
- SANTOS, J. F., GRANGEIRO, J. I. T., BRITO, C. H., SANTOS, M. C. C. A. Produção e componentes produtivos de variedades de feijão-caupi na microregião cariri paraibano. **Engenharia Ambiental**, v.6, n.1, p.214-222, 2009.
- SILVA, S.R., RIOS, G.P., SILVA, S.C. Influência da resistência e do período de molhamento na infecção e desenvolvimento de lesões de ferrugem no feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, p.726-731, 2001.
- SILVEIRA, E.B., MICHEREFF, S.J., MARIANO, R.L.R. Severidade da Mancha-aquosa em meloeiro sob diferentes condições de molhamento foliar e concentração de inóculo de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.171-175, 2003.
- SIKIROU, R. & WYDRA, K. Persistence of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vignicola* in weeds and crop debris and identification of *Sphenostylis stenocarpa* as a potential new host. **European Journal of Plant Pathology**, v.110, p.939-947, 2004.
- SINGH, B. B., EHLERS, J. D., SHARMA, B., FREIRE FILHO, F. R. Recent progress in cowpea breeding. In: FATOKUN, C. A., TARAWALI, S. A., SINGH, B. B., KORMAWA, P. M., TAMO. (Eds.). **Challenges and opportunities for enhancing sustainable cowpea production**. Ibadan: IITA, 2002. p.22-40.
- VALE, F.X.R., ZAMBOLIM, L., CHAVES, G.M. Efeito do binômio temperaturaduração do molhamento foliar sobre a infecção por *Phakopsora pachyrhizi* em soja. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília DF, v.15, n.3, p. 200-202, 1990.
- ZEHR, E., SHEPARD, D.P., BRIDGES, W.C. Bacterial spot of peach as influenced by water congestion, leaf wetness duration, and temperature. **Plant Disease**, v.80, p.339-341, 1996.