

Métodos de inoculação de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* em maracujazeiro e biofertilizantes na inibição do crescimento bacteriano *in vitro*

Polliana Silva Franco Ferreira¹, Nilvanira Donizete Tebaldi² 

¹Engenheira Agrônoma, Bolsista de Iniciação Científica, CNPQ. ²Professora Associada, do Instituto de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Uberlândia, Av. Amazonas s/n, Bloco 2E-121, Campus Umuarama, CEP 38.400-902, Uberlândia, MG, Brasil

Autor para correspondência: Nilvanira Donizete Tebaldi (nilvanira.tebaldi@ufu.br)

Data de chegada: 26/09/2017. Aceito para publicação em: 04/02/2019.

10.1590/0100-5405/185793

RESUMO

Ferreira, P.S.F.; Tebaldi, N.D. Métodos de inoculação de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* em maracujazeiro e biofertilizantes na inibição do crescimento bacteriano *in vitro*. *Summa Phytopathologica*, v.45, n.2, p.207-209, 2019.

A mancha bacteriana do maracujazeiro (*Passiflora* spp.) causada por *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* é uma das principais doenças que afeta a cultura. Para a obtenção de variedades resistentes à bactéria, vários métodos de inoculação devem ser testados. O objetivo do trabalho foi avaliar diferentes métodos de inoculação de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* em plantas de maracujá, para a obtenção de genótipos resistentes à bactéria e avaliar o efeito inibitório de biofertilizantes no crescimento bacteriano *in vitro*. Sete genótipos de maracujá foram inoculados com uma suspensão bacteriana

(1×10^8 UFC.mL⁻¹), via aspersão, tesoura e pinça. Os biofertilizantes Agro-Mos, Cop-R-Quik, FitoForce Plus, e Soil-Set foram avaliados quanto a inibição do crescimento bacteriano *in vitro*. O método de inoculação por aspersão foi o mais prático e rápido, em relação aos demais, na obtenção dos sintomas da doença e todos os genótipos avaliados foram suscetíveis à *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*. Os biofertilizantes FitoForce Plus e Soil-Set inibiram o crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* *in vitro* e deverão ser avaliados para o controle da bactéria em condições de campo.

Palavras-chave: Mancha bacteriana, *Passiflora edulis*, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, resistência genética.

ABSTRACT

Ferreira, P.S.F.; Tebaldi, N.D. Inoculation methods of *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* in passion fruits and biofertilizers on bacterial growth inhibition *in vitro*. *Summa Phytopathologica*, v.45, n.2, p.207-209, 2019.

The passion fruit (*Passiflora* spp.) bacterial spot caused by *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* is one of the major diseases that affects the culture. To obtain varieties resistant to this bacterium, several inoculation methods should be tested. The objective of this study was to evaluate different methods of *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* inoculation in passion fruits and to evaluate the inhibitory effect of biofertilizers on bacterial growth *in vitro*. Seven passion fruit genotypes were inoculated with a bacterial suspension (1×10^8 CFU.mL⁻¹) by spraying,

scissors and tweezers. The biofertilizers Agro-Mos, Cop-R-Quik, FitoForce Plus and Soil-Set were evaluated for bacterial growth inhibition *in vitro*. Spraying was the most practical and rapid inoculation method, in relation to the others, in obtaining the disease symptoms, and all evaluated genotypes were susceptible to *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*. The biofertilizers FitoForce Plus and Soil-Set inhibited *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* growth *in vitro* and should be evaluated for the bacterium control under field conditions.

Keywords: Bacteria spot, *Passiflora edulis*, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, genetic resistance.

O Brasil é um dos maiores produtores de maracujá do mundo, cultivando uma área de 57.277 hectares, com uma produção de 838.244 toneladas, nos últimos anos (1).

A mancha bacteriana causada por *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* é uma das principais doenças da cultura. Devido à dificuldade de controle da doença, as perdas na produção são expressivas, principalmente em maracujazeiro-doce e azedo, durante os períodos mais quentes e úmidos do ano (5).

O uso de variedades resistentes é a melhor estratégia no manejo da doença, e os métodos de inoculação devem ser eficazes, práticos e rápidos, dentro dos programas de melhoramento genético (4).

O controle químico da bacteriose não é eficiente e produtos alternativos devem ser avaliados, como o uso de biofertilizantes, que foi eficaz na redução da severidade da mancha bacteriana (*Xanthomonas* spp.) do tomateiro (8), sendo um produto viável, seguro e de menor impacto ambiental.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar métodos de inoculação de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* em plantas de maracujá, para a obtenção de genótipos resistentes e avaliar o efeito inibitório de biofertilizantes, no crescimento da bactéria *in vitro*.

O experimento foi conduzido no Instituto de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Uberlândia - MG, no ano de 2011. O isolado UFU A45 de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*, pertencente à coleção de trabalho foi cultivado em meio 523. Após 48 h foi preparada uma suspensão bacteriana em solução de NaCl 0,85% e ajustada em espectrofotômetro para OD₆₀₀=0,3 (1×10^8 UFC.mL⁻¹) (7).

Os genótipos codificados de maracujá 3°.Bl.9Cx.9, 4°.Bl.9Cx.7, 5°.Bl.7Cx.5, 8°.Bl.5Cx.4, 9°.Bl.6Cx.6 originários de Brasília, Túnel 3 amarelo e Túnel 1 roxo oriundos de Uberlândia - MG foram avaliados.

As sementes de maracujá foram semeadas em vasos de capacidade de 500 mL, com substrato solo, areia, húmus e vermiculita (4:1:1:1). Após 45 dias da semeadura, as plantas (2 a 3 folhas) foram inoculadas

com a suspensão bacteriana pelos métodos de aspersão, tesoura e pinça (dente de rato). As plantas foram mantidas em câmara úmida 24 horas antes e após a inoculação.

Para o método de inoculação por aspersão foi utilizada uma bombinha manual (100 mL) e o inóculo foi aplicado visando à página inferior e superior da folha, até o ponto de escorrimento. Para o método de inoculação da tesoura, a mesma foi imersa na suspensão bacteriana e posteriormente utilizada para cortar a extremidade da folha do maracujazeiro, eliminando seu ápice. No método de inoculação por pinça, esta foi mergulhada na suspensão bacteriana e pressionada em 2 pontos do limbo foliar.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com sete genótipos, três métodos de inoculação e quatro repetições, sendo considerado como unidade experimental um vaso contendo duas plantas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

A severidade da doença foi avaliada aos 6, 9, 12, 15, 18 e 21 dias após a inoculação, utilizando uma escala de notas, variando de 0 a 5, sendo nota 0 (plantas sem sintomas), nota 1 (2% da folha com sintomas), nota 2 (até 25% das folhas com sintomas), nota 3 (25 a 50% da folha com sintomas), nota 4 (50 a 80% das folhas com sintomas) e nota 5 (mais de 80% das folhas com sintomas e desfolha).

A área abaixo da curva de progresso de severidade (AACPS) foi calculada pela fórmula: $AACPS = \sum((Y_i + Y_{i+1})/2)(t_{i+1} - t_i)$, onde Y representa a intensidade da doença, t o tempo e i o número de avaliações no tempo (2).

Os biofertilizantes Agro-Mos (Cu 3%, S 2,75%, Zn 2%), Cop-R-Quik (Cu 10%, N 4%), FitoForce Plus (extrato de folhas e casca de frutos de café) e Soil-Set (Cu 2%, S 3,75%, Fe 1,6%, Mn 0,8%, Zn 3,2%) foram avaliados quanto a inibição do crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* em meio de cultura 523. Em placa de Petri foi adicionada uma camada básica de meio agar-água 2% e outra camada contendo meio nutriente semi sólido (0,8%) acrescida de 10% da suspensão bacteriana (10^8 UFC.mL⁻¹), cultivada em meio líquido por 24 horas.

Em seguida discos de papel de filtro estéril de 6 mm de diâmetro

foram colocados sobre o meio e adicionados 10 µL das diluições seriada (10^{-1} a 10^{-4}) dos biofertilizantes. Para a testemunha foi utilizada água estéril e para o controle positivo foram utilizados discos contendo antibiótico estreptomicina (10 mg.mL⁻¹). Foram utilizados dois discos para cada concentração e para cada biofertilizante. Os halos de inibição foram avaliados três dias após a incubação em estufa a 28 °C.

Para área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) (Tabela 1) da mancha bacteriana do maracujazeiro houve diferença significativa entre os três métodos de inoculação, por pinça (43,86), tesoura (41,50) e aspersão (37,96), onde o método por pinça apresentou maior severidade da doença.

O método de inoculação por pinça provocou uma desfolha mais acentuada das plantas, debilitando-as rapidamente, quando comparado com o método de inoculação por tesoura. O método de inoculação por aspersão apresentou menor quantidade de doença e foi o menos drástico para as plantas de maracujá, o qual representa melhor as condições naturais de infecção. Resultados semelhantes também foram obtidos por Viana (10).

Todos os genótipos de maracujá apresentaram sintomas de mancha bacteriana (Tabela 1) e não houve diferença estatística entre eles, independente do método de inoculação. A AACPS média dos genótipos variou de 42,17 a 39,33, para os genótipos 3°.Bl.9Cx.9 / Túnel 1 roxo e, 4°.Bl.9Cx.7, respectivamente.

Em programas de seleção de cultivares resistentes torna-se importante estabelecer e padronizar o método de inoculação a ser utilizado, optando por aquele que melhor retrate as condições naturais de ocorrência da doença no campo, neste caso representado pelo método de inoculação por aspersão. Os métodos de inoculação por tesoura e pinça tornam-se inviáveis devido aos danos causados nas plantas.

Viana (10) observou diferenças estatísticas entre genótipos de maracujá em relação aos métodos de inoculação por aspersão, tesoura e pinça agrupando-os em resistentes e medianamente resistentes a *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*.

Genótipos de maracujá foram considerados resistentes a *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*, quando inoculados pelos métodos de agulha (9) e aspersão (6), mostrando o potencial das

Tabela 1. Área abaixo da curva de progresso da severidade da mancha bacteriana do maracujazeiro, de diferentes genótipos, através de três métodos de inoculação, em condições de casa de vegetação. Uberlândia, MG.

Genótipos	Método de inoculação			Média dos genótipos
	Pinça	Tesoura	Aspersão	
3°.Bl.9Cx.9	45,50 A	41,00 A	40,00 A	42,17 a
4°.Bl.9Cx.7	42,75 B	40,75 B	34,50 A	39,33 a
5°.Bl.7Cx.5	43,25 A	41,50 A	40,00 A	41,58 a
8°.Bl.5Cx.4	42,00 B	44,75 B	35,25 A	40,67 a
9°.Bl.6Cx.6	44,75 B	40,00 A	37,25 A	40,67 a
Túnel 3 amarelo	44,50 B	43,00 B	36,00 A	41,17 a
Túnel 1 roxo	44,25 A	39,50 A	42,75 A	42,17 a
Média dos métodos	43,86 C	41,50 B	37,96 A	
CV (%)	8,89			
F (Genótipos)	0,9			
F (Métodos de inoculação)	18,44			

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste Scott-Knott.

variedades de maracujá, quanto à característica de resistência dentro do programa de melhoramento genético.

Os biofertilizantes FitoForce Plus e Soil-Set nas diluições 10^{-1} e 10^{-2} inibiram o crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* *in vitro*, assim como a estreptomicina. O mesmo não ocorre para os produtos Agro-Mos e Cop-R-Quik nas diferentes diluições testadas e também para a água.

O biofertilizante Agrobio controlou *Xanthomonas euvesicatoria* *in vitro* (3) e os biofertilizantes Agro-Mos, Cop-R-Quik e Soil-Set reduziram a severidade da mancha bacteriana (*Xanthomonas* spp.) do tomateiro em casa de vegetação (8). Desta forma, os biofertilizantes apresentam potencial de uso na agricultura, podendo ser recomendados no manejo de doenças, reduzindo o uso de agroquímicos e consequentemente o impacto ambiental.

O método de inoculação por aspersão pode ser recomendado em programas de melhoramento genético do maracujazeiro. Todos os genótipos avaliados foram suscetíveis à *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*.

Os biofertilizantes FitoForce Plus e Soil-Set inibiram o crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* *in vitro* e ensaios deverão ser conduzidos, para avaliar o controle da bacteriose em condições de campo.

REFERÊNCIAS

1. Agriannual. **Anuário da Agricultura Brasileira**, São Paulo: Informa Economics FNP, 2016. 456 p.
2. Campbell, C.L.; Madden, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: Wiley-Interscience, 1990. 532p.
3. Deleito, C.S.R.; Carmo, M.G.F.; Fernandes, M.C.A.; Abboud, A.C.S. Ação bacteriostática do biofertilizante Agrobio *in vitro*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v.23, n.2, p.281-284, 2005.
4. Ghini, R.; Bettiol, W. Proteção de plantas na agricultura sustentável. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, DF, v.17, n.1, p.61-70, 2000.
5. Junqueira, N.T.V.; Junqueira, K.P. Manejo das principais doenças do maracujazeiro. In: Sussel, A.A.B.; Medeiros, F.H.V.; Ribeiro Júnior, P.M.; Uchoa, C.N.; Amaral, D.R.; Medeiros, F.C.L.; Pereira, R.B.; Santos, J.; Lima, L.M.; Roswalka, L.C. **Manejo integrado de doenças de fruteiras**. Lavras: UFLA, 2007. 1 CD-ROM.
6. Kososki, R.M.; Peixoto, J.R.; Junqueira, N.T.V.; Uesugi, C.H.; Melo, B. Reação de genótipos de maracujazeiro-azedo a *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*, em casa de vegetação. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.24, p.60-66, 2008.
7. Miranda, J.F. **Reação de variedades de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flaviocarpa* Deg.) a bacteriose causada por *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae***. 2004. 48p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
8. Rodrigues, V.W.B.; Bueno, T.V.; Tebaldi, N.D. Biofertilizantes no controle da mancha bacteriana (*Xanthomonas* spp.) do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.42, n.1, p.94-96, 2016.
9. Viana, C.A.S.; Pires, C.; Peixoto, J.R.; Junqueira, N.T.V.; Berlim, L.E.B. Genótipos de maracujazeiro-azedo com resistência à bacteriose. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.30, p.591-598, 2014. Suplemento 2.
10. Viana, C.A.S. **Resistência de genótipos de maracujá-azedo à bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*) e à virose do endurecimento do fruto (*Cowpea aphid-borne mosaic virus*)**. 2007. 210p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília, DF.