

INFLUÊNCIA DA NUTRIÇÃO COM CÁLCIO SOBRE A ANTRACNOSE EM FEIJÃO¹

MARIA DE FÁTIMA SILVA MUNIZ², JAMES JOHN MUCHOVEJ,
ROSA MARIA CASTRO MUCHOVEJ³, VITOR HUGO ALVAREZ-VENEGAS⁴,
SERGIO HERMINIO BROMMONSCHENKEL⁵ e LUIZ ANTONIO MAFFIA³

RESUMO - Influência de Ca em solução nutritiva sobre a severidade da antracnose foi estudada em ensaio conduzido em câmara de crescimento. Plantas das cultivares Jalo e Ouro, suscetível e resistente, respectivamente, à raça alpha de *Colletotrichum lindemuthianum*, cultivadas em soluções nutritivas com nove doses de Ca (0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mN), foram infectadas aos dez dias de idade com 2×10^6 conídios/ml de um isolado de raça alpha de *C. lindemuthianum*. Plantas cultivadas em 0,1 e 0,2 mN de Ca apresentaram sintomas de deficiência deste elemento. Doze dias após a inoculação, avaliou-se a severidade da doença. Em seguida, a parte aérea das plantas foi analisada quanto a teores de Ca, Mg, K, P, Zn, Cu, Mn e Fe. Concluiu-se que a resistência das cultivares à antracnose não foi relacionada com o teor de Ca no tecido.

Termos para indexação: *Colletotrichum*, cultivar Jalo, cultivar Ouro, inoculação.

INFLUENCE OF CALCIUM NUTRITION ON ANTHRACNOSE OF BEAN

ABSTRACT - The influence of calcium present in hydroponic solution on the severity of anthracnose of bean was studied under growth chamber conditions. Plants of the cultivars Jalo (susceptible) and Ouro (resistant) grown in hydroponic solutions containing 9 doses of calcium (0.1; 0.2; 0.3; 0.4; 0.5; 1.0; 2.0; 3.0 and 4.0 mN) were inoculated at 10 days of age with 2×10^6 conidia/ml using an isolate of *Colletotrichum lindemuthianum* race alpha. Plants grown in 0.1 and 0.2 mN Ca showed symptoms of calcium deficiency. Twelve days after inoculation, disease severity was evaluated. The aerial parts of the plants were then harvested, dried and analysed for levels of Ca, Mg, K, P, Zn, Cu, Mn and Fe. Results indicated that resistance of the cultivars to anthracnose was not due to the level of Ca present in the tissue.

Index terms: *Colletotrichum*, dry bean, calcium nutrition.

INTRODUÇÃO

A antracnose é uma enfermidade fúngica que afeta economicamente a cultura do feijoeiro no País (Kimati 1980). O fungo responsável, *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib., tem causado problemas nos

estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná e Rio Grande do Sul, principalmente quando houve prevalência de alta umidade e temperaturas moderadas (Kimati 1980). Tem sido verificada diminuição no rendimento da cultura de até 90% (Vieira 1983).

O estado nutricional do hospedeiro acarreta várias doenças de etiologia biótica. Dentro desse aspecto, estudos relativos à nutrição com cálcio têm merecido destaque não só pela importância desse elemento nos processos fisiológicos e nutricionais das plantas (Loneragan & Snowball 1969), mas também pela relação que apresenta com a incidência de doenças, por afetar a estabilidade de biomembranas e da parede celular dos tecidos de plantas

¹ Aceito para publicação em 27 de junho de 1991.

² Enga.-Agra., M.Sc., EPEAL, Caixa Postal 699, CEP 57060 Maceió, AL.

³ Agr., Ph.D., Prof.-Adj., Univ. Fed. de Viçosa, CEP 36570, Viçosa, MG.

⁴ Eng.-Agr., D.Sc., Prof.-titular, Univ. Fed. de Viçosa.

⁵ Eng.-Agr., M.Sc., Prof.-Assist. Univ. Fed. de Viçosa.

(Marschner 1986). A aplicação de cálcio tem sido freqüentemente associada com o aumento de resistência a doenças fúngicas em diversas culturas (Sitterly 1962, Lewis 1977, Lee & Zentmeyer 1982, Muchovej & Muchovej 1982, Myers & Campbell 1985, Kao & Ko 1986). Entretanto, verifica-se a inexistência de informações sobre sua influência na severidade da antracnose do feijoeiro.

Para a antracnose da soja, causada por *C. dematium* var. *truncata*, registrou-se a redução da severidade da enfermidade com a aplicação do Ca na cultura (Muchovej et al. 1980). Os autores atribuíram os resultados obtidos à pouca atividade das enzimas pectinolíticas produzidas pelo patógeno sobre pectatos de cálcio das paredes das células.

Diante dos prejuízos econômicos que a antracnose causa à cultura do feijoeiro, e como o controle dessa enfermidade foi obtido na cultura de soja, utilizando-se Ca, julgou-se importante investigar a influência de doses de Ca na severidade dessa doença.

MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de feijão, das cultivares Jalo (susceptível) e Ouro (resistente), fornecidas pelo Banco de Germoplasma de Feijão da Universidade Federal de Viçosa, foram, sucessivamente, imersas em solução de hipoclorito de sódio a 1%, durante cinco minutos, lavadas duas vezes com água destilada, e semeadas em caixas tipo "Gerbox" (nove sementes/caixa) que continham duas camadas de papel germinador, umedecidas com água destilada e mantidas em temperatura ambiente. Após três a quatro dias, foram transferidas as plântulas para frascos de 150 ml, revestidos com plástico preto, para prevenir o crescimento de algas, com solução de Hoagland modificada (Dhingra & Sinclair 1985), contendo as dosagens de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mN, de Ca, fornecido na forma de nitrato de cálcio. O pH das soluções nutritivas foi de 5,6. Durante os experimentos, o volume das soluções era completado em intervalos de cinco a oito dias com a solução nutritiva a 10%, sendo desta excluído o $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. As plantas foram mantidas em câmara de crescimento, em regime de luz alternado de doze horas de luz e escuro, sendo a solução aerada por 15 minutos/hora.

Os tratamentos originaram-se do fatorial 2×9 (cultivares x doses de Ca) e foram distribuídos no delineamento inteiramente casualizado, com dez repetições de uma planta por frasco.

Uma cultura esporulada de *C. lindemuthianum* pertencente à raça BA-2, Grupo Alfa (Pio-Ribeiro & Chaves 1975) foi utilizada em repicagens para tubos que continham vagens parcialmente imersas em 2-3 ml de batata-dextrose-ágar (BDA), autoclavados, a 120°C, por 30 minutos, seguindo-se um período de incubação de doze dias, a 22°C, no escuro.

Inoculou-se suspensão, de $2,0 \times 10^6$ conídios/ml em folhas primárias de plantas com dez dias de idade, até o ponto de escorrimento, com um atomizador "De Vilbiss" nº 15, acoplado a um compressor elétrico. As plantas foram mantidas em câmara úmida, construída na câmara de crescimento, a $26 \pm 2^\circ\text{C}$, em regime de luz de doze horas de luz e doze horas de escuro e, quatro dias após, foram retiradas do sistema de câmara úmida. Durante o período experimental, a temperatura variou de 24 a 28°C, e a umidade relativa, de 60 a 85%.

Avaliou-se a severidade da doença, doze dias após a inoculação, utilizando-se a seguinte escala de notas indicada por Schoonhoven & Pastor-Corrales (1987): 1 = Nenhum sintoma visível; 3 = Poucas e pequenas lesões, principalmente na nervura primária da face inferior das folhas; 5 = Muitas lesões pequenas no pecíolo ou nas nervuras primárias e secundárias da face inferior das folhas; 7 = Numerosas lesões alongadas na face inferior das folhas e lesões necróticas na face superior das folhas e nos pecíolos; 9 = Necrose severa em 25% ou mais dos tecidos das plantas, evidente como o resultado de lesões sobre as folhas, pecíolos, caules, ramos e até no ponto de crescimento, a qual, freqüentemente, resulta em morte.

Após avaliar o grau de infecção, a parte aérea das plantas foi seccionada, secada em estufa com ventilação forçada, a 70°C, por 48 horas, pesada e moída. Amostras da matéria seca foram digeridas em ácido nítrico e perclórico (3:1), e os extratos foram utilizados na determinação de Ca, Mg, Zn, Cu, Mn e Fe por espectrofotometria de absorção atômica, K por fotometria de chama e P por colorimetria, pelo método da vitamina C modificado (Braga & Defelipo 1974).

As análises estatísticas efetuadas por meio do programa SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas) (Euclides, s.d.) foram análises de regressão linear ou quadrática do peso da matéria seca, da severidade da doença e do teor dos nutrientes no

tecido vegetal como variáveis dependentes das doses de Ca na solução nutritiva. Também foram calculadas as correlações entre o teor dos nutrientes no tecido, o peso da matéria seca e a severidade da doença.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas que receberam as doses 0,1 e 0,2 mN de Ca não apresentaram desenvolvimento satisfatório na época da inoculação, mostrando-se atrofiadas, com quebra de pecíolo e morte da gema apical, sintomas atribuídos à deficiência de Ca no tecido (Marschner 1986). Isto indica que a dose mínima do elemento para o crescimento das plantas nas condições experimentais deste trabalho foi de 0,3 mN.

A severidade da antracnose na cultivar resistente (Ouro) não foi afetada pelo aumento de Ca na solução nutritiva (Tabela 1). A cultivar suscetível (Jalo) apresentou certa variação quanto à severidade da doença em relação às doses de Ca adicionadas à solução, verificando-se significância na análise de regressão efetuada com o modelo descontínuo (Fig. 1). A mais alta severidade da doença verificada nas plantas cultivadas em 0,3 mN de Ca poderia ser atribuída a problemas nutricionais, já que aquelas crescidas nas doses inferiores (0,1 e 0,2 mN de Ca) apresentaram sintomas de deficiência desse elemento. Provavelmente, as plantas cultivadas em 0,3 mN de Ca estavam entre os limites de deficiência e não-deficiência, e, apesar de não apresentarem sintomas visíveis de carência nutricional por ocasião da inoculação, seus mecanismos de defesa ao ataque do patógeno possivelmente foram inativados.

O desenvolvimento das plantas da cultivar Jalo, expresso em peso da matéria seca, foi afetado pelas doses de Ca (Tabela 1).

O aumento da concentração de Ca na solução nutritiva proporcionou aumento no teor do elemento na parte aérea das plantas (Fig. 2), enquanto o teor de Mg no tecido diminuiu de acordo com a dose de Ca na solução nutritiva

TABELA 1. Severidade da antracnose e peso da matéria seca da parte aérea das plantas das cultivares Jalo (susceptível) e Ouro (resistente) em resposta à aplicação de doses de Ca na solução nutritiva.

Doses de Ca na solução	Severidade da doença (1-9)		Peso da matéria seca	
	Jalo	Ouro	Jalo	Ouro
-- mN --			----- g -----	
0,3	6,8	1,0	0,144	0,157
0,4	4,4	1,0	0,202	0,171
0,5	3,2	1,0	0,220	0,151
1,0	4,6	1,0	0,256	0,172
2,0	4,6	1,0	0,222	0,168
3,0	4,4	1,0	0,211	0,157
4,0	3,6	1,0	0,261	0,145
	ns*	ns	nc	nc

* ns = não-significativo; nc = não calculado, devido a R² não-significativo.

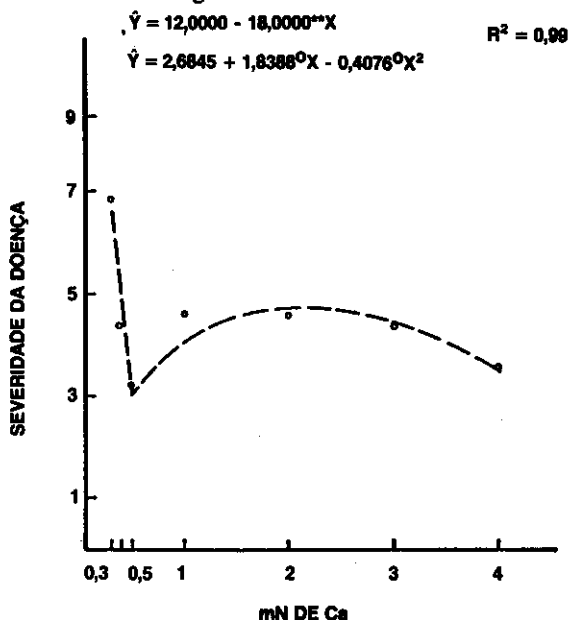


FIG. 1. Severidade da antracnose da cultivar Jalo em resposta ao Ca adicionado à solução nutritiva.
 o = Significativo a 10% de probabilidade.
 ** = Significativo a 1% de probabilidade.

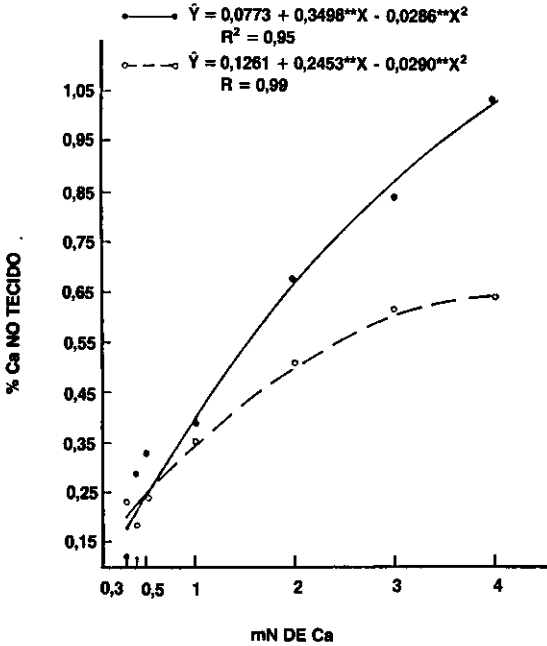


FIG. 2. Teor de Ca na parte aérea das plantas das cultivares Jalo (○) e Ouro (●) em resposta ao Ca adicionado à solução nutritiva.
** Significativo a 1% de probabilidade.

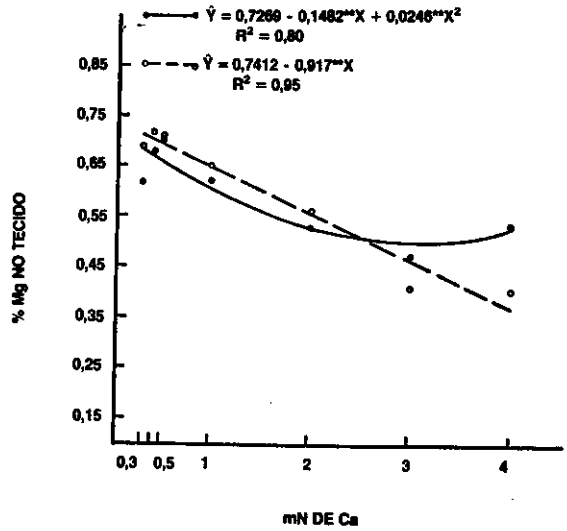


FIG. 3. Teor de Mg na parte aérea das plantas das cultivares Jalo (○) e Ouro (●) em resposta ao Ca adicionado à solução nutritiva.
** Significativo a 1% de probabilidade.

(Fig. 3). A limitação da quantidade de um elemento favorece o aumento na absorção de outro íon do mesmo sinal ou diminuição na absorção dos íons de sinais opostos (Epstein 1972). Todavia essa inter-relação de vários cátions não é uma condição estática, dependendo de suas atividades.

A tendência de absorção dos nutrientes K e P não foi a mesma para as duas cultivares, em relação à nutrição com Ca (Fig. 4 e 5). O teor de K na cultivar Jalo (susceptível) diminuiu de acordo com a dose de Ca aplicada à solução nutritiva (Fig. 4), na cultivar Ouro (resistente), verificou-se ligeiro aumento no teor de K no tecido, a partir de 2 mN de Ca; entretanto, não se verificou significância nos coeficientes das regressões, empregando-se o modelo linear ou quadrático (Fig. 4). Para P, verificou-se, na cultivar Jalo, que os teores do elemento no tecido das plantas foram superiores aos da culti-

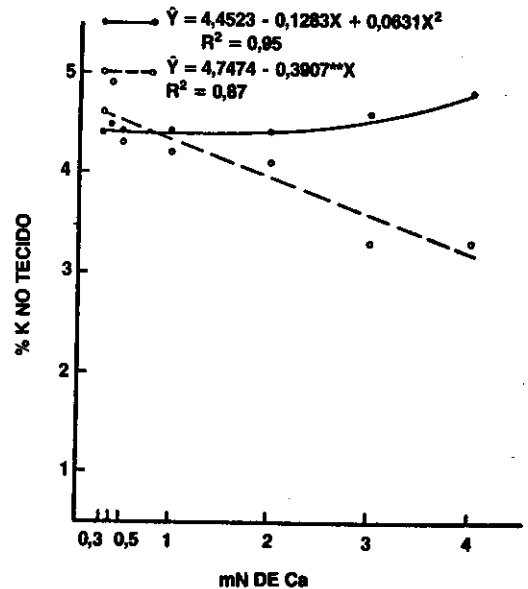


FIG. 4. Teor de K na parte aérea das plantas das cultivares Jalo (○) e Ouro (●) em resposta ao Ca adicionado à solução nutritiva.
** Significativo a 1% de probabilidade.

var Ouro; entretanto, na dose de 4 mN de Ca, tais teores equipararam-se (Fig. 5).

Os teores dos micronutrientes (Zn, Cu, Mn e Fe) nos tecidos das cultivares em estudo apresentaram variação relativa às doses de Ca (Tabela 2). Na cultivar Ouro (resistente) não se obteve equação significativa para Zn e Fe (Tabela 2).

Observou-se, na cultivar suscetível, correlação significativa e positiva entre K e P e a severidade da doença (Tabela 3). Correlação significativa e negativa foi verificada entre o peso da matéria seca e a severidade da doença (Tabela 3). Pelos resultados obtidos, o aumento do teor de K e P nos tecidos das plantas estaria relacionado com o aumento da severidade da doença. É provável que na cultivar suscetível tenha ocorrido efeito de concentração de P, decorrente do menor desenvolvimento destas plantas. Todavia, não se encontrou na literatura relação entre esses nutrientes e a severidade da antracnose.

À exceção do trabalho de Muchovej et al. (1980), não se conhecem trabalhos que relacionem a influência da nutrição com Ca sobre a severidade da antracnose. Esses autores, discutindo o efeito do Ca na redução da severidade dessa enfermidade na soja, causada por

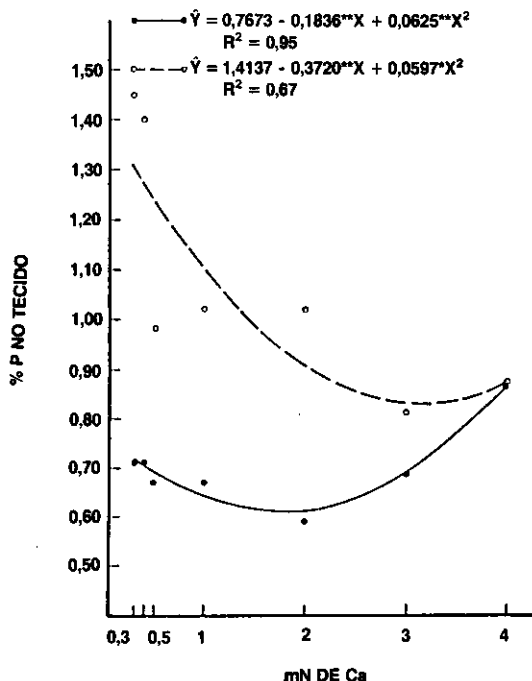


FIG. 5. Teor de P na parte aérea das plantas das cultivares Jalo (○) e Ouro (●) em resposta ao Ca adicionado à solução nutritiva.

* Significativo a 5% de probabilidade.
** Significativo a 1% de probabilidade.

TABELA 2. Teores de micronutrientes na parte aérea das plantas das cultivares Jalo (suscetível) e Ouro (resistente) em resposta à aplicação de doses de Ca na solução nutritiva (médias de 10 repetições).

Doses de Ca na solução	Zn		Cu		Mn		Fe	
	Jalo	Ouro	Jalo	Ouro	Jalo	Ouro	Jalo	Ouro
mN	ppm							
0,3	98,7	154,2	22,1	20,4	54,8	138,6	263,6	260,5
0,4	67,9	239,5	15,2	24,2	55,7	116,2	214,1	216,5
0,5	108,3	136,3	14,0	22,5	68,0	143,1	169,2	274,2
1,0	141,9	219,4	12,4	20,2	66,7	104,1	264,3	247,9
2,0	170,4	197,2	11,0	20,2	67,1	113,5	236,9	184,4
3,0	104,0	183,0	20,4	15,9	89,9	128,7	603,9	277,3
4,0	107,1	185,4	23,0	18,1	70,0	107,3	287,1	230,8
	nc	ns	ns	ns	ns	nc	nc	ns

* ns = não-significativo; nc = não calculado, devido a R² não-significativo.

TABELA 3. Coeficientes de correlação de Pearson entre peso da matéria seca e teores dos nutrientes na matéria seca da parte aérea das plantas das cultivares Jalo (susctível) e Ouro (resistente) e a severidade da antracnose (70 observações).

Variáveis	Severidade da doença	
	Jalo	Ouro
Peso da matéria seca	-0,5182**	0
Ca	-0,1084 ns	0
Mg	0,0922 ns	0
K	0,2081*	0
P	0,4987**	0
Zn	-0,0091 ns	0
Cu	0,1925 ns	0
Mn	-0,1415 ns	0
Fe	0,0433 ns	0

* Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste t.

** Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste t.

ns = Não significativo.

C. dematium var. *truncata*, atribuíram esse efeito à baixa atividade das enzimas pécticas sobre o pectato de cálcio na parede celular. Pelo que se conhece da sensibilidade das enzimas pécticas ao Ca, tal hipótese parece aceitável. Dentre as enzimas pécticas produzidas por *Colletotrichum* e outros gêneros de fungos, destacam-se as poligalacturonases e as liases. De modo geral, as liases têm requerimento por Ca, enquanto as poligalacturonases podem ser inibidas por esse elemento (Cooper 1983).

A antracnose das culturas do feijão e da soja, embora causada por fungos do mesmo gênero, pode apresentar diferenças entre os mecanismos de patogenicidade de acordo com a espécie. Quando se compara este trabalho com o de Muchovej et al. (1980), o feijão parece absorver mais Ca, já que o teor do nutriente na parte aérea das plantas foi superior aos teores observados em soja em doses superiores. As doses de Ca empregadas neste tra-

balho foram menores que as empregadas por Muchovej et al. (1980), assim como a severidade da doença também foi intermediária. Por essa razão, sugere-se ampliar o trabalho de Muchovej et al. (1980) para incluir doses menores, com vistas em confirmar se, no trabalho dos referidos autores, trabalhou-se com resistência induzida ou se a severidade da doença verificada na dose mais baixa de Ca foi favorecida pela desnutrição, como em nosso estudo.

É importante salientar que o trabalho de Wijesundera et al. (1984) demonstrou que a pectina metil-liase, enzima péctica mais importante na manifestação dos sintomas da antracnose do feijoeiro, não é sensível à presença de Ca. Talvez o papel do Ca na redução da antracnose não seja devido ao seu efeito isoladamente, uma vez que o elemento interfere na absorção de outros íons (Epstein 1972) como verificado neste experimento. É necessário também salientar que o fungo *Colletotrichum lindemuthianum* é bastante variável (Menezes & Dianese 1988) e, por essa razão, a interação entre outras cultivares de feijão e outras raças do fungo pode resultar em respostas diferentes. Trabalhos adicionais necessitariam ser conduzidos para evidenciar como a nutrição do feijoeiro pode afetar a severidade dessa doença.

AGRADECIMENTOS

Este projeto foi parcialmente financiado pelo CNPq.

REFERÊNCIAS

- BRAGA, J.M.; DEFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solos e material vegetal. *Revista Ceres*, v.21, p.73-85, 1974.
- COOPER, R.M. The mechanisms and significance of enzymic degradation of host cell walls by parasites. In: CALLOW, J.A. (Ed.). *Biochemical plant pathology*. London: John Wiley & Sons Ltd, 1983. p.101-135.

- DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J.B. **Basic plant pathology methods**. Florida: CRC Press, 1985. 355p.
- EPSTEIN, E. **Mineral nutrition of plants**. Wiley: New York, 1972.
- EUCLYDES, R.F. **Sistema para análises estatísticas e genéticas (SAEG)**. Viçosa: Central de Processamento de Dados, UFV, [19...]. 68p.
- KAO, C.W.; KO, W.H. Suppression of *Pythium splendens* in a Hawaiian soil by calcium and microorganisms. **Phytopathology**, v.76, p.215-220, 1986.
- KIMATI, H. Doenças do feijoeiro - *Phaseolus vulgaris* L. In: GALLI, F. (Coord.). **Manual de Fitopatologia - doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Ed. Agron. Ceres, 1980. v.2, p.297-318.
- LEE, B.S.; ZENTMEYER, G.A. Influence of calcium nitrate and ammonium sulfate on Phytophthora root rot of *Persea indica*. **Phytopathology**, v.72, p.1558-1564, 1982.
- LEWIS, J.A. Suppression of Aphanomyces root rot of peas with calcium minerals. **Plant Disease**, v.61, p.762-766, 1977.
- LONERAGAN, J.F.; SNOWBALL, K. Calcium requirements of plants. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.20, p.465-478, 1969.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1986. 674p.
- MENEZES, J.R.; DIANESE, J.C. Race characterization of Brazilian isolates of *Colletotrichum lindemuthianum* and detection of resistance to antracnose in *Phaseolus vulgaris*. **Phytopathology**, v.78, p.650-655, 1988.
- MUCHOVEJ, J.J.; MUCHOVEJ, R.M.C.; DHINGRA, O.D.; MAFFIA, L.A. Suppression of antracnose of soybean by calcium. **Plant Disease**, v.64, p.1088-1089, 1980.
- MUCHOVEJ, R.M.C.; MUCHOVEJ, J.J. Calcium suppression of Sclerotium - induced twin stem abnormality of soybean. **Soil Science**, v.134, p.181-184, 1982.
- MYERS, D.F.; CAMPBELL, R.N. Lime and the control of clubroot of crucifers: effects of pH, calcium, magnesium, and their interactions. **Phytopathology**, v.75, p.670-673, 1985.
- PIO-RIBEIRO, G.; CHAVES, G.M. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. que ocorrem em alguns municípios de Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro. **Experientia**, v.19, p.95-118, 1975.
- SCHOONHOVEN, A. van; PASTOR-CORRALES, M.A. **Standard system for the evaluation of bean germoplasm**. Cali: Colombia, CIAT, 1987. 54p.
- SITTERLY, W.R. Calcium nitrate for field control of tomato southern blight in South Carolina. **Plant Disease**, v.46, p.492-494, 1962.
- VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro**. Viçosa: UFV, 1983. 231p.
- WIJESUNDERA, R.L.C.; BAILEY, J.A.; BYRDE, R.J.W. Production of pectin lyase by *Colletotrichum lindemuthianum* in culture and in infected bean (*Phaseolus vulgaris*) tissue. **Journal of General Microbiology**, v.130, p.285-290, 1984.