



AVALIAÇÃO *IN VITRO* DE ISOLADOS DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS NO CONTROLE DE *FUSARIUM SOLANI*

Maria Josiane Martins, Adelica Aparecida Xavier, Regina Cássia Ferreira Ribeiro, Gisele Martins Pereira

Introdução

A podridão do pé do maracujazeiro, também conhecida como podridão das raízes, causada pelo fungo *Fusarium solani*, é uma das doenças mais limitantes para cultura. O fungo é uma habitante natural do solo com capacidade de produzir estruturas de resistência chamadas clamidósporos que garante sua sobrevivência por longos períodos no solo. Além disto, pode permanecer viável no solo associado a diversas espécies de plantas [1] o que faz o controle deste fitopatógeno bastante difícil já que o controle químico não é eficiente e as variedades resistentes são inexistentes.

O controle biológico constitui-se numa estratégia importante para redução da quantidade e viabilidade do inóculo no solo [2]. Dentre os principais organismos estudados no controle biológico de fitopatógenos as bactérias têm se destacado. Estes microrganismos são eficientes na produção de compostos orgânicos que podem atuar de forma direta ou indireta sobre a população de fitopatógenos habitantes do solo e, indiretamente podem estimular as plantas a crescer e induzir mecanismos de resistência [3]. O objetivo deste trabalho foi selecionar isolados de bactérias endofíticas obtidos de plantas de nim (*Azadirachta indica*) capazes de reduzir *in vitro* o desenvolvimento de *Fusarium solani*.

Material e métodos

O presente trabalho foi desenvolvido no laboratório de Fitopatologia do Campus Janaúba-MG -Universidade Estadual de Monte Claros.

Foi utilizado o Isolado 55 de *Fusarium solani*, obtido a partir de plantas de maracujazeiro com sintoma de podridão do pé da cidade de Sebastião Laranjeira –BA e 31 isolados de bactérias endofíticas isoladas de plantas de *Azadirachta indica* nim mantidas na micoteca e bacterioteca respectivamente, do laboratório de Fitopatologia da UNIMONTES.

O isolado 55 de *Fusarium solani*, foi multiplicado em meio Batata Dextrose Agar (quantidades dos ingredientes do meio?) (BDA), a 25 °C e escuro contínuo por sete dias. Os isolados de bactérias endofíticas foram multiplicados em meio Trypic Soy Agar 40 gr/L água-(TSA), incubados em BOD a 25°C escuro contínuo por 24 horas.

Com auxílio de uma alça de platina transferiu-se células bacterianas multiplicadas conforme descrito no item anterior em forma de risca no lado direito de uma placa de Petri (9 cm), contendo meio BDA. Em seguida, um disco de aproximadamente 5 mm de diâmetro retirado da borda da colônia de *Fusarium solani* foi transferido para a extremidade oposta à risca a uma distância de 5 cm do isolado bacteriano. Em seguida, as placas foram incubadas em BOD a 25°C em escuro contínuo por sete dias. Após esse período mediu-se o halo de inibição formado entre a colônia de *Fusarium solani*, e a colônia bacteriana; e o raio da colônia de *Fusarium solani*.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) e os 31 isolados de bactérias endofíticas constituíram os tratamentos com três repetições representados por uma placa de Petri. O tratamento testemunha recebeu apenas o isolado de *Fusarium solani*.

Os dados foram submetidos ao cálculo de percentual de redução pela fórmula descrita por Mourão *et al.* [4] e as médias comparadas pelo teste de Teste Scott-Knott pelo programa Sisvar [5].

$$(\% \text{ de redução}) = (1 - (\text{media tratamento} / \text{média testemunha})) \times 100$$

Resultados

Não houve diferença estatística para inibição do crescimento micelial. Dos 31 isolados de bactérias endofíticas testados, 3,2% apresentam até 10% da inibição de crescimento micelial de *F.solani*, 12,9% dos isolados testados inibiram até 20% o crescimento micelial, 58% inibiram até 30% e apenas 25,8% inibiram até 36,2% o crescimento micelial. (Figura 1).

O tamanho do halo de inibição variou de 0 a 5 mm e de 5,1 a 10 mm.(Figura 2) e agruparam 35, 5% e 64,5% dos isolados bacterianos, respectivamente.



Discussão

A variação no tamanho do raio da colônia fúngica indica que a bactéria produz algum composto que inibe ou altera seu desenvolvimento. Actinomicetos isolados de partes de da planta do Nim mostram significativa atividade antagonista a patógenos de raiz como *Pythium* e *Phytophthora* sp. [6]. Inibição do crescimento de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* também foi observada por Weber *et al.* [7] em testes de antagonismo, utilizando alguns isolados de bactérias de bananeiras e de outras fruteiras tropicais.

Rocha *et al.*[8] selecionando linhagens endofíticas isoladas de folhas de confei efetuou análises da porcentagem de alongação micelial com e sem antagonismo, mostrando resultados de 46,7% a 50,0% de redução no crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*.

A presença do halo de inibição é uma variável indireta que indica a produção de compostos orgânicos denominados antibióticos pelos isolados bacterianos. De acordo com Becker *et al.*[9], nem sempre o resultado obtido em experimento de inibição da atividade antifúngica *in vitro* se repete com a mesma eficiência em experimentos *in vivo* ou vice-versa. Isto provavelmente se deve a interferência de fatores do ambiente que podem alterar a expressão de mecanismos observados *in vitro* pelas bactérias quando testadas *in vivo*. Avaliação *in vitro* de interações antagonistas entre bactéria e fungo são tipicamente avaliadas medindo-se a zona de inibição entre a colônia bacteriana e a colônia do fungo em pareamentos na mesma placa.

Conclusão

O crescimento micelial reduz em 36,7% na presença de 25,8 % das bactérias.

Referências

- [1] FICHER, I. H.; REZENDE, J. A. M. **Disease of passion flower (*Passiflora* spp.)**. Pest Technology, v. 2, mn. 1, p. 1-19, 2008
- [2] GRIGOLETTI Jr., A.; SANTOS, A. F.; AURER, C.G. **Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais**; Ed. Grigoletti Jr, A. 2000, p. 155-165. V.30.
- [3] HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W. F.; KLOEPPER, J. W. **Bacterial endophytes in agricultural crops**. Canadian Journal of Microbiology, Ottawa, v. 43, p. 895-914, 1997
- [4] MOURÃO, S. A.; VILLELA, F. E.; ZANUNCIO, J.C.; ZAMBOLIM, L TUELHER, E. S. **Seletividade de defensivos ao fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana***. Ntropical Enomology, v. 32, n. 1, p. 103-106. 2003
- [5] FERREIRA, D. F. **Sisvar 4. 3 - Sistema de análises estatísticas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1999.
- [6] VERMA, V, *et al.* Endophytic actinomycetes from *Azadirachia indica*. A. Juss. Isolation, diversity, and anti-microbial activity. Microbial Ecology, New York, v. 57, n 4. 2009.
- [7] WEBER, O. B.; FREIRE, F. C. O. **Contribuição de Bactérias Diazotróficas Na Cultura da Bananeira: Perspectivas de Utilização Na Produção Integrada**. Embrapa, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Novembro, 2003. p. 20-27
- [8] ROCHA, R.; LUZ, D. E.; ENGELS, C.; PILEGGI, S. A. V.; JACCOUD FILHO, D. S.; MATIELLO, R. R.; PILEGGI, M. Selection of endophytic fungi from comfrey (*Symphytum officinale* L.) for *in vitro* biological control of the phytopathogen *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.). Brazilian Journal of Microbiology, São Paulo, v. 40, n. 1, p. 73-78, 2009.
- [9] BECKER, J. O.; SCHUCH, U. **Suppression of Root Diseases of Ornamentals by Plant Health - Promoting Rhizobactéria**. 1998. Disponível em: <http://slosson.ucdavis.edu/documents/1995-19982114.pdf>. Acesso em: 07 de julho de 2015.

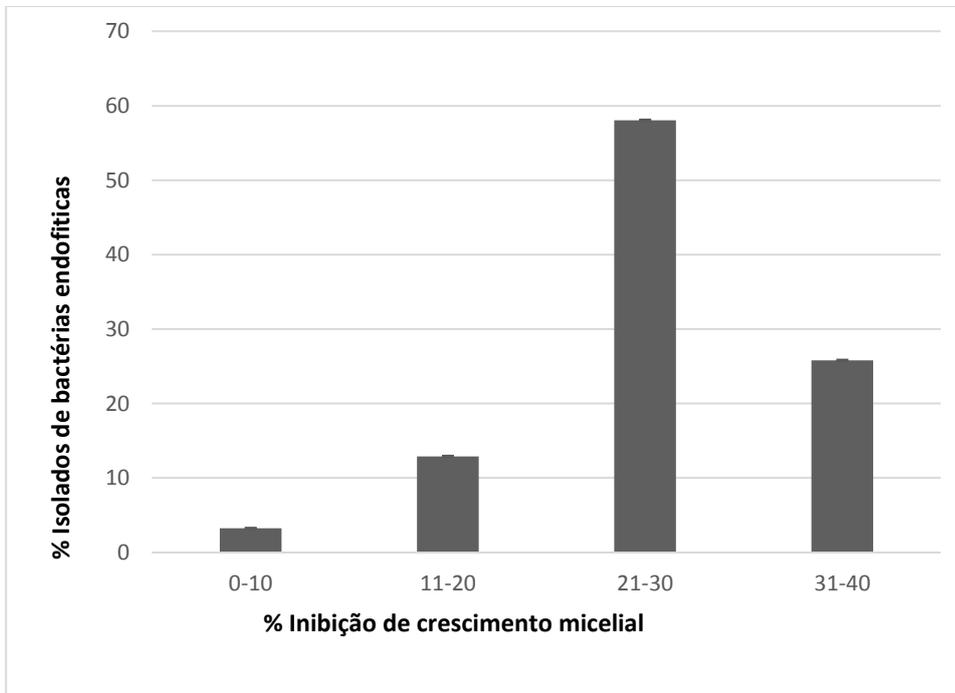


Figura 1. Porcentagem de isolados de bactérias endofíticas distribuídos em diferentes classes de inibição do crescimento micelial do *F. solani*

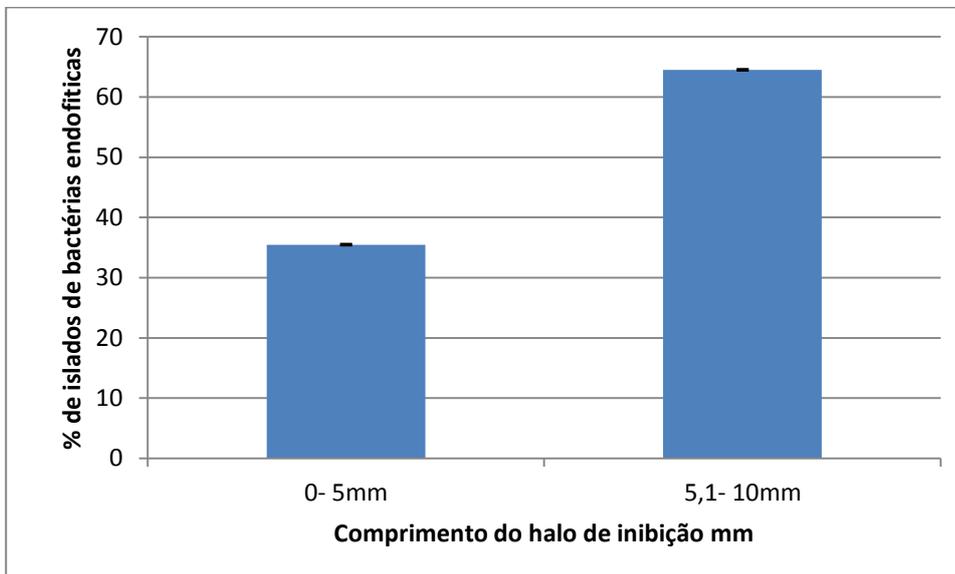


Figura 2. Porcentagem de isolados de bactérias endofíticas distribuídos em diferentes classes de tamanho de halo inibição do *F. solani*.