

ISOLAMENTO E SELEÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS PARA O BIOCONTROLE DE *Macrophomina phaseolina*

JOSIAS EMANUEL SCHARDONG KOTZ^{1,2*}, BRUNA ROHRIG^{1,3}, LEANDRO
BRIDI^{1,3}, JULIANE LUDWIG^{3,4}

¹Estudante, curso de Agronomia; ; ²Bolsista PRO-ICT/UFFS; ³Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus*
Cerro Largo Grupo de Estudos; ⁴Professora, Orientadora

*Autor para correspondência: Josias Emanuel Schardong Kotz (josiasema1@hotmail.com)

1 Introdução

A podridão cinzenta do caule, causada pelo fungo *Macrophomina phaseolina* é uma das principais doenças do feijoeiro, podendo atacar mais de 500 espécies de plantas com destaque para a soja, onde tem causado perdas significativas, principalmente em anos com alta temperatura, baixa precipitação e em solos compactados (ALMEIDA et al., 2014).

Devido a ineficiência do controle químico para essa doença, o controle biológico aparece como uma alternativa. Rizobactérias podem ser eficientes em controlar fitopatógenos apresentando mais de um mecanismo de ação, o que segundo Melo; Azevedo (1998), seria uma característica favorável para o sucesso de um agente de biocontrole.

Portanto, faz-se necessário conhecer os mecanismos de ação de rizobactérias com potencial para o controle biológico para que se possa trabalhar de maneira a maximizar sua eficiência, tanto no sentido de favorecer os biocontroladores, quanto de combiná-los de modo a diversificar e/ou intensificar estes mecanismos (HERNANDEZ-LEON et al., 2015).

2 Objetivo

Verificar o potencial de bactérias, isoladas da rizosfera do feijoeiro, em controlar *Macrophomina phaseolina*, buscando identificar os mecanismos associados ao biocontrole.

3 Metodologia

Em uma lavoura de feijão, foram recolhidas raízes de plantas assintomáticas que

foram levadas ao laboratório de Fitossanidade da UFFS-Cerro Largo. Amostras de 10 g de solo rizosférico foram suspensas em 90mL de solução salina (0,85%), agitadas e realizada a diluição seriada (fator 10), sendo plaqueadas as diluições 10^{-3} a 10^{-6} em placas de Petri contendo meio ágar-nutriente (AN), incubadas a 28°C por 48 horas. Colônias bacterianas individualizadas que apresentaram características morfológicas diferentes quanto à cor, tamanho e brilho foram repicadas para tubos de ensaio contendo meio AN e mantidos preservados na geladeira, recebendo um número seguido por LAMID-UFFS-CL.

Nos ensaios para seleção, o primeiro teste realizado foi quanto à capacidade de produção de compostos antibióticos hidrossolúveis, baseando-se na metodologia descrita por Romeiro (2007), onde os isolados bacterianos foram semeados em pontos equidistantes na placa de Petri e, no centro, foi depositado um disco de micélio do patógeno *M. phaseolina*. As placas permaneceram incubadas a 24°C e fotoperíodo de 12h luz até que a testemunha, cujas placas continham apenas o micélio do fungo no centro, atingiram os bordos das placas. A avaliação foi mediante a observação de halo de inibição entre o micélio do patógeno e as colônias bacterianas.

A verificação da capacidade de produção de enzimas hidrolíticas foi segundo Schaad et al. (2001) e Mariano; Silveira (2005) onde para a hidrólise de carboidratos foi utilizado meio de cultura ágar-amido com adição de solução lugol e observando a presença de halo de incolor ao redor da colônia. Para hidrólise de proteínas utilizou-se meio de cultura leite-ágar e observou-se alteração da coloração do meio de leitoso para translúcido bem como o meio de gelatina com observação da alteração do estado físico do meio após 72 e 96 h de incubação.

Para avaliação da hidrólise de lipídeos utilizou-se o meio ágar nutriente com solução de gema de ovo a 4% conforme descrito por Schaad et al. (2001).

Os isolados que apresentaram pelo menos um dos mecanismos de ação permaneceram armazenados segundo Mariano; Silveira (2005) e foram classificados como “Potenciais para o biocontrole de *M. phaseolina*”.

4 Resultados e Discussão

Foram observadas 92 colônias bacterianas (rizobactérias) individualizadas, com características morfológicas distintas que receberam a denominação de 01 até 92 seguida por LAMID-UFFS-CL. Em 41 destas foram observados pelo menos um dos mecanismos e em 16

pelo menos dois dos mecanismos testados (Tabela 1). O conhecimento dos mecanismos de ação de cada isolado é de suma importância, podendo ser trabalhados aspectos como a combinação de rizobactérias com mecanismos distintos. Da mesma forma, o uso de combinações minimiza problemas advindos, por exemplo, de sobrevivência destas no solo, ampliando as possibilidades de competição (AKHTAR; SIDDIQUI, 2009).

Tabela 1- Produção, *in vitro*, de compostos associados ao biocontrole por rizobactérias isoladas de plantas assintomáticas de feijão e avaliados, pela antibiose, frente a *M. phaseolina*.

Nº colônia	Antibiose	Leite- ágar	Amido- ágar	Gelatina		Ovo- ágar
				72 h	96 h	
01 LAMID-UFFS-CL	+++	+++	+++	-	-	-
11 LAMID-UFFS-CL	-	+++	+++	-	++	-
22 LAMID-UFFS-CL	-	+++	+++	+++	+++	-
27 LAMID-UFFS-CL	+++	-	+	++	++	-
34 LAMID-UFFS-CL	+++	-	+++	++	+++	-
37 LAMID-UFFS-CL	-	+++	++	-	++	-
38 LAMID-UFFS-CL	-	+++	+++	-	-	-
49 LAMID-UFFS-CL	+++	+++	+++	-	-	+
50 LAMID-UFFS-CL	-	+++	-	-	-	++
82 LAMID-UFFS-CL	-	+++	+++	+	+++	-
85 LAMID-UFFS-CL	-	+++	+	-	-	+++
86 LAMID-UFFS-CL	-	+++	+	-	-	-
87 LAMID-UFFS-CL	+++	+++	+++	-	+++	-
88 LAMID-UFFS-CL	-	+++	++	-	-	-
90 LAMID-UFFS-CL	-	+++	+++	-	+++	-
92 LAMID-UFFS-CL	+++	-	+	-	-	-

- Ausência de produção; + Pouca produção; ++ Média produção; +++ Alta produção.

5 Conclusão

Algumas rizobactérias isoladas apresentam potencial de biocontrole de *M. phaseolina*, podendo agir por mais de um mecanismo de ação.

Palavras-chave: Controle biológico; Podridão cinzenta; Bactérias biocontroladoras.

Fonte de Financiamento:

PIBIC - CNPq EDITAL Nº 281/UFFS/2015

Referências



AKTAR, M.S.; SIDDIQUI, Z.A. Use of plant growth promoting rhizobacteria for the biocontrol of root-rot disease complex of chickpea. **Australian Plant Pathology**, v.38, p.44-50, 2009.

ALMEIDA, A.M.R. et al. **Macrophomina phaseolina em soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 55p.

HERNADEZ-LEON et al., Characterization of the antifungal effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. **Biological Control**, v.81, p.83-92, 2011.

MARIANO, R.L.R.; SILVEIRA, E.B. **Manual de práticas em fitobacteriologia**. Recife: UFRP, 2005, 184p

MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Ecologia Microbiana**. São Paulo: Embrapa Meio Ambiente, p.87-110, 1998.

ROMEIRO, R.S. **Controle Biológico de enfermidades de plantas: procedimentos**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. 172p.

SCHAAD, N.W. et al. **Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria**. 3 ed. St. Paul: The American Phytopathology Society, 2001. 373 p.