



Atividade antagonista de isolados bacterianos *in vitro* no biocontrole do crescimento micelial do fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *Passiflorae*
Bacterial antagonistic activity *in vitro* did not biocontrol the mycelial growth of fungus *fusarium oxysporum* f. sp. *Passiflorae*

RIBEIRO, Rafael Chaves¹; NASCIMENTO, Claudio Adriano de Jesus² JESUS, Assistone Costa¹; OLIVEIRA, Leonardo de Jesus Gois³; AMARAL, Mayan Blanc²; RODRIGUES, Antônia Alice Costa³

¹ Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), rafaelcribeiro@hotmail.com; ² Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, ³ Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), aacrodriques@outlook.com

Eixo Temático: Manejo de Agroecossistemas de Base Ecológica

Resumo: A utilização de isolados bacterianos pode ser considerada uma importante ferramenta agroecológica para o controle de fitopatogenos, reduzindo a utilização de agrotóxicos e adubação mineral e tornando cada vez mais comum a utilização de microrganismos como agentes de biocontrole. Diante disso objetivou-se com este trabalho avaliar a ação antagonista *in vitro* de isolados bacterianos no biocontrole da fusariose do maracujazeiro. (A avaliação ocorreu avaliando a percentagem de inibição do crescimento micelial calculada pela fórmula de (P.I.C). Todos os isolados de bactérias testadas (B276, B275, B295, B297) demonstraram efeito antagônico significativo sobre o crescimento micelial do *F. oxy.* f. sp. *passiflorae* quando comparados com a testemunha. Dessa forma, pode-se inferir que isolados bacterianos se mostram com uma real alternativa de controle de fitopatogenos na cultura do maracujazeiro, evidenciando o controle biológico e práticas agroecológicas.

Palavras-chave: Controle; rizobactéria, *Passiflora edulis*.

Keywords: Control; rhizobacterium, *Passiflora edulis*

Introdução

O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de maracujá, sendo o maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims), a espécie mais cultivada em todo o país (FALEIRO; JUNQUEIRA, 2016). O cultivo do maracujá vem se expandindo no país nos últimos anos, pelo fato da cultura apresentar boa adaptação em diversas regiões do Brasil. Com o aumento da área plantada, sobreveio o surgimento e agravamento de um grande número de doenças. Esses problemas fitossanitários que têm reduzido a produtividade do maracujazeiro, diminuindo o tempo de exploração econômica da cultura, obrigando o agricultor a renovar constantemente seu pomar.

A murcha de fusarium causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* é um dos fatores limitantes no cultivo do maracujá. O patógeno é habitante do solo, está entre as principais doenças de importância econômica do maracujazeiro, pois uma vez a planta infectada, não existe forma de controle curativo. A doença causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*, conhecida como podridão do colo e raízes, é descrita como uma das principais doenças que afetam o sistema radicular



do maracujazeiro (SILVA et al., 2014). Buscando minimizar as perdas de produção, os agricultores vêm intensificando o uso de agrotóxicos nas lavouras, o que vem acarretando em impactos ambientais e aumentando os custos de produção, além de o fungo criar resistência quanto aos princípios ativos dos agrotóxicos mais utilizados. Segundo Rocha Sobrinho et al. (2016), medidas utilizando microrganismos e/ou enxertia surgem como uma prática de controle agroecológico visando redução na utilização de agrotóxicos.

O uso do controle biológico vem ocupando cada vez mais espaço no que diz respeito à produção agrícola, em todo país, com objetivo de se obter alimentos livres de agrotóxicos, com uma produção mais sustentável e também visando diminuir os custos de produção. Dessa forma, pesquisas sobre agentes de controle biológico estão se tornando cada vez mais frequentes.

O controle biológico é um método que consiste no uso de agentes biológicos não patogênicos para controle de fitopatógenos (BRAGA JUNIOR et al., 2017). As bactérias do gênero *Bacillus*, como a espécie *B. subtilis*, estão sendo estudadas para o biocontrole devido aos seus eficientes mecanismos de antagonismo e amplo espectro de ação contra fitopatógenos (SAJITHA et al., 2017).

A preocupação da sociedade com impacto da agricultura no ambiente tem aumentado pesquisas para redução do uso de agrotóxicos, como também tem motivado o uso de métodos alternativos (BETTIOL E MORANDI, 2009; RAUT E KARUPPAYIL, 2014).

Neste sentido, o uso de agentes de controle biológico é considerado uma alternativa viável para diminuir o potencial de inóculo de patógenos habitantes do solo. Além disso, não contamina o meio ambiente deixando resíduos e possui fácil aplicação (SOARES, 2006).

Desta forma, objetivou-se avaliar a ação antagonista *in vitro* de isolados bacterianos no biocontrole do fungo *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* responsável por danos na cultura do maracujazeiro, tendo em vista seu grande potencial no controle de doenças fúngicas em plantas.

Metodologia

Obtenção dos isolados bacterianos e do isolado de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Passiflorae*

Os isolados bacterianos *Bacillus methylotrophicus* = MGSS B276; *Bacillus thuringiensis* = MGSS B275; *Burkholderia* sp. = MGSS B295; *Pseudomonas fluorescens* = MGSS B297; isolado fúngico *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* FOP 96 foram obtidos da Micoteca Gilson Soares do Laboratório de Fitopatologia da UEMA. Sendo transferido para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-



ágar (BDA), que posteriormente foram repicados, armazenados e mantidos em BOD com temperatura ambiente de 27 °C com o fotoperíodo de 12h, durante todo período de análise do ensaio.

Avaliação do antagonismo de *Bacillus* spp a *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* in vitro.

Para o estudo do efeito antagonista in vitro utilizou-se o Método do Círculo, inicialmente, os isolados bacterianos foram cultivados em meio de cultura (BDA) por 48 horas e o isolado de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* FOP 96 por sete dias, após este período de cultivo transferiu-se as bactérias assepticamente para placas de Petri com 9cm de diâmetro contendo meio de cultura BDA, um disco de 5,0 mm de diâmetro do fitopatógeno, colocando-os no centro da placa. Com auxílio de uma alça de platina, inoculou-se a bactéria, na mesma placa formando um círculo com diâmetro, aproximadamente de 5 cm. Para o tratamento controle ou testemunha constou-se do fitopatógeno cultivado em meio BDA (MARIANO, 1993).

A avaliação foi efetuada durante sete dias, pela inibição do crescimento micelial, para isso foram efetuadas medições do diâmetro das colônias, em dois sentidos diametralmente opostos, com auxílio de uma régua milimetrada, definindo-se uma média para cada colônia. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com 5 tratamentos e cinco repetições.

A porcentagem de inibição do crescimento micelial foi calculada pela fórmula de (P.I.C) (MENTEN et al., 1976), onde: $PIC = \frac{\text{Crescimento da testemunha} - \text{Crescimento tratamento}}{\text{Crescimento da testemunha}} \times 100$. Os resultados foram submetidos à análise de variância, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Resultados e Discussão

Todos os isolados de bactérias testadas (MGSS B276, MGSS B275, MGSS B295, MGSS B297) demonstraram efeito antagônico significativo sobre o crescimento micelial do *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* (FOP 96) quando comparados com a testemunha. A partir do primeiro dia de avaliação, já se observou um efeito positivo dos isolados frente ao patógeno, que na testemunha teve um crescimento de 0,50cm, enquanto nos tratamentos não se observaram crescimento.

Estes resultados corroboram as diversas formas de ação de isolados bacterianos como antagonista a fungos fitopatogênicos já relatadas também por (LEELASUPHAKUL et al. 2008). Quanto ao isolado *B. thuringiensis* (MGSS 275), observou-se que o tratamento foi superior a todos os tratamentos obtendo o controle de 100% do isolado FOP 96.

Segundo (LANNA et al, 2010), o gênero *Bacillus* se destaca por formar endósporo e apresentar uma multiplicidade de mecanismos antagônicos e desta forma



possibilitando, a sua longa manutenção e sobrevivência em nichos ecológicos específicos, com grande versatilidade nos mecanismos de ação para driblar as defesas dos fitopatógenos.

Tratamentos	Crescimento Micelial (cm)*						
	1º Avaliação	2º Avaliação	3º Avaliação	4º Avaliação	5º Avaliação	6º Avaliação	7º Avaliação
MGSS B276	1,94 A	3,01 A	3,65 A	4,31 A	4,71 A	4,92 AB	5,04 AB
MGSS B295	2,26 A	3,21 A	3,86 A	4,09 A	4,32 A	4,41 A	4,39 A
MGSS B275	2,15 A	3,09 A	3,63 A	4,43 A	5,34 AB	5,71 BC	7,04 C
MGSS B297	2,22 A	3,09 A	4,04 A	4,64 A	5,04 AB	5,29 ABC	5,50 B
MGSS 96 FOP Testemunha	2,19 A	3,10 A	3,91 A	4,56 A	6,11 B	6,39 C	9,00 D
CV%	18,45	12,88	13,01	12,97	14,44	15,11	11,57
DMS	0,61531	0,61953	0,77041	0,88612	1,14322	1,25206	1,11105

Tabela 01. Efeito biocontrolador dos isolados bacterianos sobre o crescimento micelial do isolado *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (FOP 96).

Na sétima e última avaliação observou-se que somente o isolado bacteriano MGSS B276 conseguiu inibir completamente o patógeno não se observando crescimento, já os isolados MGSS B275, B295 e B279, observou-se um crescimento médio 3,04cm, 2,45cm e 0,16cm diferindo da testemunha que obteve um crescimento constante e contínuo até o preenchimento inteiro da placa de 9,0cm. Todos os isolados apresentaram efeito positivo antagônico, diferenciando do tratamento controle. Os resultados obtidos neste trabalho indicam um grande potencial de controle biológico do *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*.

Conclusões

A bactéria *B. thuringiensis* tem potencial de controle biológico de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* agente da murcha do maracujá. Diante disso os resultados evidenciaram que o isolado *B. thuringiensis* (MGSS 275) inibiu completamente o crescimento micelial do fitopatogênio se mostrando como uma real ferramenta para produção do maracujazeiro orgânico, dentro dos princípios agroecológicos. Novos estudos serão necessários para testar a eficiência desses isolados em condições de campo.

Agradecimentos

Uema, CNPq, Programa de Pós-Graduação em Agroecologia (PPGA).



Referências bibliográficas

BETTIOL, W.; GHINI, R. Impacto das mudanças climáticas sobre o controle biológico de doenças de plantas. In: Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Jaguariuna: **Embrapa Meio Ambiente**, 2009. p. 29-48.

BRAGA JUNIOR, G.M. et al. Controle biológico de fitopatógenos por *Bacillus subtilis* in vitro. Biota Amazônia (**Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota**), v. 7, n. 3, p. 45-51, 2017.

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V. Maracujá: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Embrapa Cerrados-Livro técnico (INFOTECA-E), 2016.

LANNA FILHO, R., FERRO, H.M.; PINHO, R.S.C. (2010). **Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis***. Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas, 4(2), 12-20.

LEELASUPHAKUL, W.; HEMMANEE, P.; CHUENCHITT, S. Samerchai. Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolites against the green mold pathogen (*Penicillium digitatum* Sacc.) of citrus fruit. **Postharvest biology and Technology**, v. 48, n. 1, p. 113-121, 2008.

MARIANO, R.L.R. Métodos de seleção in vitro para o controle microbiológico de patógeno de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, v. 1, p. 369-409, 1993.

MENTEN, J.OM. et al. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina Phaseolina* (Tass.) Goid. "in vitro". **Fitopatologia Brasileira, Brasília**, v. 1, n. 2, p. 57-66, 1976.

RAUT, J.S. e KARUPPAYIL, S.M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Prodcuts**, 62, 250-264. doi: 10.1016/j.indcrop.2014.05.055.

ROCHA SOBRINHO, G.G. et al. (2016). Efeito de fosfito de potássio no crescimento e na densidade micelial do *Fusarium solani* do maracujazeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 2, p. 180-182, 2016.

SAJITHA, K.L.; DEV, S.A.; FLORENCE, E.J.M. Biocontrol potential of *Bacillus subtilis* B1 against sapstain fungus in rubber wood. **European journal of plant pathology**, v. 150, n. 1, p. 237-244, 2017.

SILVA, A.N. et al. Efeito de produtos químicos e de *Trichoderma* spp. no controle de *Fusarium solani* do maracujazeiro. **Interciencia**, v. 39, n. 6, p. 398, 2014.



SOARES, P.L.M. (2006). Estudo do controle biológico de fitonematóides com fungos nematófagos (Tese de doutorado). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. Recuperado de <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/102317>.