

Efeitos de rizobactérias no biocontrole de *Fusarium f. sp. coriandrii* em coentro verdão (*Coriandrum sativum* L.)

*Effects of rhizobacteria on the biocontrole of Fusarium f. sp. coriandril in green coriander (*Coriandrum sativum* L.)*

MENEZES, Daniel Alves¹; CRUZ, Gabriel Guzzard S.²; SOUSA, Laiara Carneiro de³; FONSECA, Alex Lima⁴; BELFORT, Márcia Guelma Santos⁵; NASCIMENTO, Ivaneide de Oliveira⁶

¹ Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão, danielmenezes.20180030999@uemasul.edu.br; ² Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão, gabrielcruz.201704607@uemasul.edu.br; ³ Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão, laiarasousa.20200009012@uemasul.edu.br; ⁴ Universidade Estadual do Maranhão, alexfonseca.20190002601@uemasul.edu.br; ⁵ Unidade de Ensino Superior do sul do Maranhão, marciguelma@hotmail.com; ⁶ Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão, ivaneide@uemasul.edu.br.

RESUMO EXPANDIDO

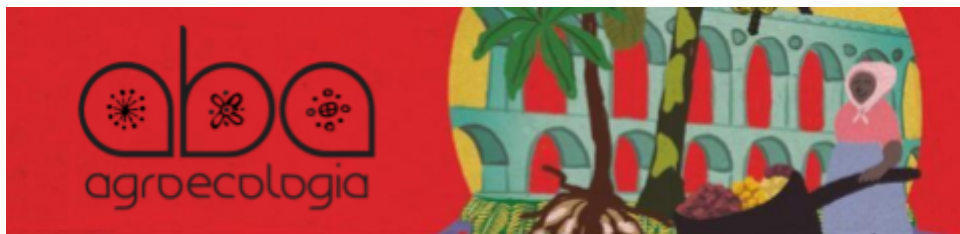
Eixo Temático: Manejo de Agroecossistemas

Resumo: As rizobactérias são promotoras de crescimento vegetal e têm sido aplicadas no controle biológico. A presente pesquisa objetivou avaliar o potencial de rizobactérias no controle de patógenos em coentro verdão (*Coriandrum sativum* L.). Foram realizados dois experimentos *in vitro*, um com o método de pareamento, em delineamento inteiramente casualizado, com 4 tratamentos: *Burkholderia silviantica*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus* e controle em cinco repetições para avaliar a inibição e o índice de velocidade de crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *coriandrii*. No segundo experimento as sementes foram microbiolizadas, adotando-se os mesmos tratamentos para verificar a redução da incidência de fitopatógenos. As rizobactérias testadas apresentaram efeito significativo sobre o *Furarium oxysporum* f. sp. *Coriandrii*, mostrando ter pontecial como agente de Biocontrole pois todos os tratamentos testados com rizobactérias inibiram o crescimento micelial e reduziram o índice de velocidade do crescimento do fungo em estudo.

Palavras-chave: coentro; fitopatógeno; controle biológico.

Introdução

O *Coriandrum sativum* L., é uma olerícola anual conhecida popularmente como Coentro, pertencente à família Apiaceae, originário do mediterrâneo (DONEGA et al., 2013). Dele aproveita-se as suas folhas, caules, frutos e raízes sendo utilizados na culinária, frescos ou secos, inteiros, picados ou moídos. Seus frutos, podem ser consumidos de diversas formas como condimento ou processados para extração do óleo essencial e da oleoresina (CHARLES, 2013). Essa hortaliça costuma ter estudos que são mais restritos à identificação de fungos associados apenas as



sementes ou à possibilidade da planta servir como hospedeira alternativa de patógenos que acometem outras apiáceas (PEDROSO et al., 2013). Sendo relatadas as seguintes espécies dos problemas fitossanitários: *Alternaria alternata*, *A. dauci*, *A. radicina*, *Fusarium sp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Rhizopus sp.*, *Cercospora sp.* e *Cladosporium spp.* Cujo as principais estratégias de manejo para estas doenças é o uso de sementes saudáveis e certificadas, o tratamento de sementes com fungicidas ou com organismos antagonistas, o tratamento do solo com fungicidas e a rotação de culturas (BEDENDO, 2011a; b). Entretanto, a situação se torna desafiadora com o uso de fungicidas contra os patógenos radiculares, devido às características dos patógenos e do ambiente do solo. (Oliver & Hewitt, 2014).

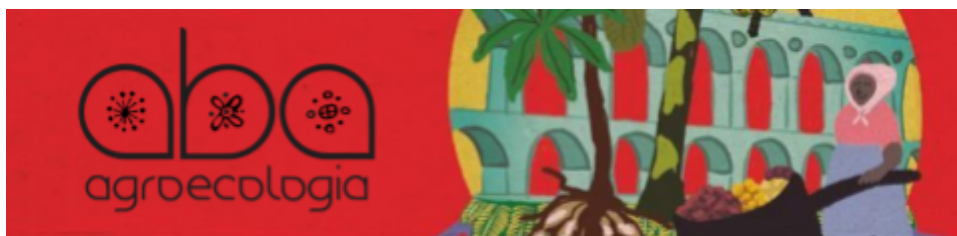
O objetivo do biocontrole baseado em RPCP (Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas) é fornecer abordagens alternativas e sustentáveis para o manejo de doenças. As rizobactérias, são habitantes do solo que promovem benefícios na propriedade do mesmo, no crescimento vegetal e no meio-ambiente, podendo colonizar a rizosfera, a superfície das raízes das plantas ou os espaços intercelulares destas. São diazotróficas e os principais gêneros estudados são: *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*. Entre as funções das rizobactérias estão: (I) a produção de diferentes enzimas que afetam o crescimento vegetal, a solubilização de nutrientes e consequentemente a sua disponibilidade (II) a produção de diferentes fitohormônios e outros metabólitos, como o sideróforo que possuem atividade antagônica à patógenos e (III) atenuam estresses e elevam a produtividade das culturas (MIRANSARI, 2014). Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o potencial de Rizobactérias como agente de biocontrole de *Fusarium oxysporum* f.sp. *coriandrii* em Coentro Verdão (*Coriandrum sativum*).

Metodologia

A pesquisa laboratorial constou de dois experimentos “in vitro” no laboratório de Microbiologia e Saúde da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão.

No experimento *in vitro* para avaliar o antagonismo das rizobactérias e *F. oxysporum* f.sp. *coriandrii* foi utilizado o método de pareamento, em delineamento inteiramente casualizado em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo BDA, com 4 tratamentos: *Burkholderia silviantica*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus* e testemunha (somente patógeno em meio de cultura) em cinco repetições.

No Primeiro momento foi repicado o agente patogênico (*F. oxysporum* f.sp. *coriandrii*) e em torno do mesmo riscou-se a rizobactéria de acordo com o tratamento, as placas foram incubadas a 27°C sob luz branca contínua, até que o crescimento micelial no tratamento testemunha atingisse todo diâmetro da placa. Realizou-se a avaliação do antagonismo através de medições diárias do diâmetro da colônia em dois eixos ortogonais (eixos opostos), iniciado 24 horas após a implantação do experimento, durante 7 dias consecutivos. Esses dados foram utilizados no cálculo do índice de velocidade de crescimento micelial, conforme a fórmula de Oliveira (1991): $IVCM = \sum (D - Da) / N$, sendo: IVCM= índice de velocidade de crescimento micelial; D= diâmetro médio atual da colônia; Da= diâmetro médio da colônia do dia anterior; N= número de dias após a inoculação.



Calculou-se também a porcentagem de inibição de crescimento micelial (PIC), comparando-se o diâmetro médio, em cm, entre as colônias nos tratamentos com rizobactérias e a testemunha, conforme a fórmula:

$$\text{PIC} = \frac{\text{crescimento da testemunha} - \text{crescimento do tratamento} \times 100}{\text{Crescimento da testemunha}}$$

No segundo experimento para avaliar a redução da incidência dos fitopatógenos em sementes de coentro, adotou-se a metodologia citada por Ludwig et al (2013) com modificações, que consiste em microbiolizar as sementes em suspensão de rizobactérias. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e cinco repetições, sendo que cada placa de Petri com 20 sementes consistiu em uma unidade experimental. A testemunha constou somente das sementes imersas na solução salina. Os tratamentos corresponderam a: A) Microbiolização com *Burkholderia silvallantica*, B) Microbiolização com *Pseudomonas fluoresce*, C) Microbiolização com *Bacillus cereus*, D) Controle (sem microbiolização).

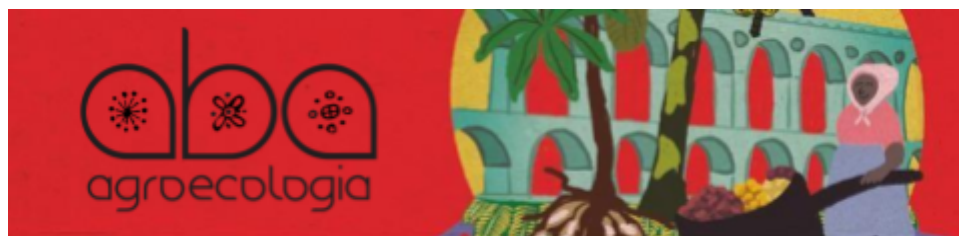
As sementes sem tratamento químico foram adquiridas no Mercado Popular em Imperatriz, conhecido como Mercadinho. Para a realização do experimento, utilizou-se 400 sementes, sendo 100 sementes por tratamento, adicionou-se 10 mL de solução salina (NaCl 0,85%) a cada um dos isolados de rizobactérias, que tiveram sua concentração ajustada para OD₅₄₀=0,05 com o auxílio do aparelho Spectrophotometer (35D), e com a fórmula a seguir: $C_1.V_1 = C_2.V_2$, Onde: C_1 = leitura do espectrofotômetro; C_2 = concentração esperada (0,05 AA); V_1 = volume de bactéria esperado; V_2 = volume da solução total.

As sementes foram imersas na suspensão bacteriana e passaram por agitação durante 30 minutos. Após, esse procedimento as sementes foram colocadas, usando-se 100 sementes/rizobactérias pelo método do papel de filtro em placas de Petri (BRASIL, 2009), incubadas à 26,5°C, sob regime de fotoperíodo de 12 horas de luz/ 12 horas de escuro. Sete dias após a implantação do experimento, examinou-se individualmente as sementes em microscópio estereoscópico para observação da incidência dos fitopatógenos

Os dados obtidos foram submetidos a análise estatística através do programa Sisvar 6.0 utilizando-se para comparação das médias, o teste Scott-Knott ao nível de 5 % de significância.

Resultados e Discussão

No estudo sobre o crescimento micelial (CM), Porcentagem de Inibição (PIC) e Índice de Velocidade do Crescimento Micelial (IVCM), houve efeito significativo das rizobactérias sobre o *Fusarium oxysporium f. sp. coriandrii*, observa-se que todos os tratamentos com rizobactérias inibiram o crescimento micelial e reduziram o índice de velocidade do crescimento do fungo em estudo. O tratamento com *B. cereus*



apresentou efeito superior a todos os demais tratamentos pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5 % de significância, pois propiciou menor crescimento micelial, maior porcentagem de inibição e menor velocidade de crescimento micelial do *F. oxysporium f. sp. coriandrii* (Tabela 01).

Os mecanismos que permitem a ação das rizobactérias no biocontrole são diversos, aponta-se produção de fitohormônios, como ácido indol-3-acético (IAA), ácido giberélico ou reguladores de fitohormônios, como citocinina e 1-amino-ciclopropano- 1-carboxilato (ACC) deaminase ([VEJAN et al., 2016](#) ; [GOUDA et al., 2018](#)); a competição com outras bactérias colonizando rapidamente e obtendo mais nutrientes para si, restringindo o crescimento de outros organismos ([SALOMON et al., 2017](#)); a síntese de compostos antipatógenos, como antibióticos ([RAAIJMAKERS et al., 2002](#)).

TRATAMENTO	XCM(cm)	PIC (%)	IVCM
Testemunha	5,09 ^a	0	0,53 ^a
B. silvallantica	3,07b	43,16b	0,25b
P. fluorensces	3,18b	36,06b	0,27b
B. cereus	2,25c	55,65c	0,17c
CV (%)	8,19	33,04	3,95
P	0,0000	0,0000	0,0000

Tabela 1: Avaliação do Crescimento Micelial (CM) e Porcentagem de inibição do Crescimento Micelial (PIC) do *Fusarium oxysporium f. sp. coriandrii* em antagonismo com rizobactérias in vitro
* Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). CV = Coeficiente de variação.

Em relação ao controle da incidência fúngica em sementes de coentro Verdão, observa-se que a menor média de incidência de *Curvularia* sp. ocorreu nas sementes microbiolizadas com *B. cereus*, porém não houve diferença estatística ao nível de 5

% de significância pelo teste de Scott-Knott (Gráfico 1). O tratamento das sementes com *B. cereus* controlou a incidência de *Curvularia* sp. em 28,89 % (Tabela 2). Já Nascimento et al (2020), em experimentos com sementes de arroz, observaram que a microbiolização das sementes com os isolados de *Bacillus* spp. controlou a incidência de *C. oryzae*, com destaque para as espécies *B. pentothenicus* (B22'), *B. stearothermophilus* (B32) e *B. pumilus* (B35) com 69,00 %, 61,57 % e 61,57 % de controle, respectivamente.

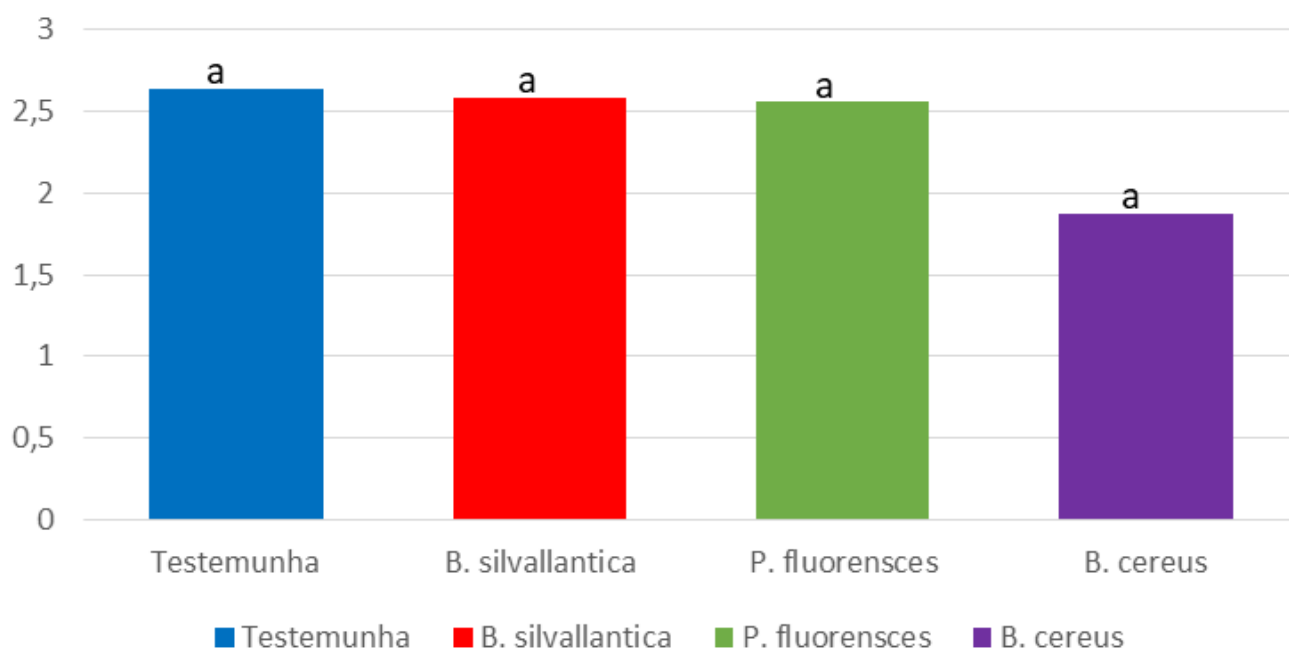
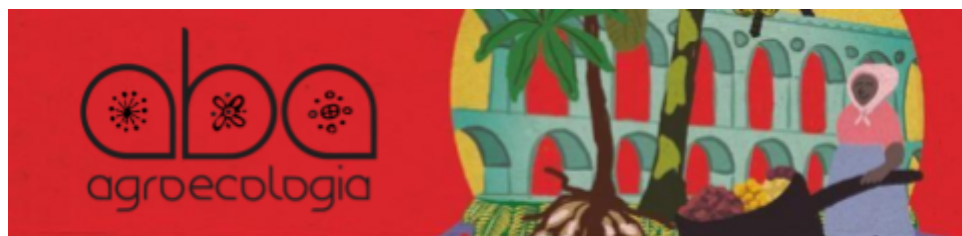


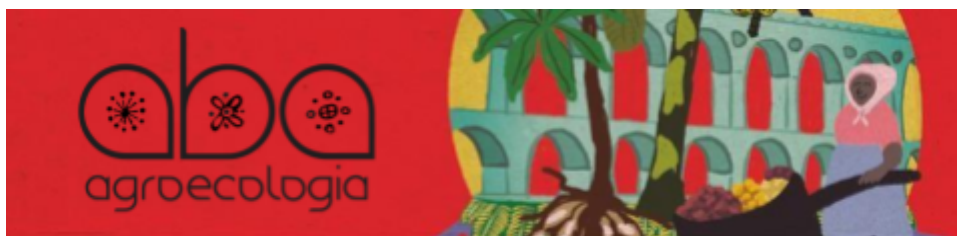
Figura 1: Incidência de *Curvularia sp.* em sementes do Coentro Verdão Microbiolizadas com rizobactérias e solução salina 0,85%

Tabela 2: Porcentagem de controle de patógenos (PCT) em sementes de Coentro Verdão Microbiolizadas com rizobactérias e solução salina 0,85%.

TRATAMENTO	PCT (%)
Testemunha	0
<i>B. silvallantica</i>	1,90
<i>P. fluorensces</i>	2,66
<i>B. cereus</i>	28,85

Conclusão

As rizobactérias *Burkholderia silvallantica*, *Pseudomonas fluorensces* e *Bacillus cereus* apresentam potencial como agente de Biocontrole de *Fusarium oxysporum* f. sp. coriandrii em Coentro Verdão *in vitro*. O *Bacillus cereus* promoveu maior redução no Crescimento Micelial, Índice de Velocidade do Crescimento Micelial e maior porcentagem de inibição do crescimento micelial do fungo em estudo.



O tratamento das sementes com *B. cereus* controlou a incidência de *Curvularia* sp. em 28,89 %, os tratamentos das sementes com *Burkholderia silvallantica* e *Pseudomonas fluorensces* não controlaram a incidência do fungo em estudo.

Referências bibliográficas

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras Para Análise de Sementes**. Brasília, DF, 2009. 399 p.

BEDENDO, I. P. et al. Controle cultural, físico e biológico de doenças de plantas. In: AMORIM, L., et al (Ed.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. São Paulo-SP: Editora Agrônômica Ceres, v.1, 2011a. p.367-388.

CHARLES, D. J. Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources. New York: Springer, 2013. 588

DONEGA, M. A.; et. al. Nutrient uptake, biomass yield and quantitative analysis of aliphatic aldehydes in cilantro plants. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 127- 131, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.11.004>.

GOUDA, S.; et. al. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. **Microbiol. Res.**, v. 206, p. 131–140, 2018.

LUDWIG; MOURA, A. B.; GOMES, C. B. Potencial da microbiolização de sementes de arroz com rizobactérias para o biocontrole do nematoide das galhas. **Tropical Plant Pathology**, v.38, n.3, p.264-268, 2013.

MIRANSARI, M. Plant Growth Promoting Rhizobacteria, **Journal of Plant Nutrition**, 37:14, 2227- 2235, 2014

OLIVEIRA, J. A. Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annanum* L.). 1991. 111 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – **Escola Superior de Agricultura de Lavras**, Lavras, 1991.

OLIVER, R. P.; HEWITT, H. G. Fungicides in crop protection. 2. ed. Wallingford: CAB International, 2014. 200 p.

PEDROSO, D. C. et al. Influência de *Alternaria alternata* e *A. dauci* na qualidade de sementes de coentro. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 4, p. 563- 569, 2013.

RAAIJMAKERS, J. M.; VLAMI, M.; SOUZA, J. T. Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.81, n.537, 2002.

SALOMON, M. V.; et. al. Use of plant growth-promoting rhizobacteria as biocontrol agents: induced systemic resistance against biotic stress in plants” in Microbial applications vol. 2: **Biomedicine, agriculture and industry**., v.2, p.133-152, 2017. 133–152.

VEJAN, P.; et. al. **Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability:** a review. *Molecules*, v. 21, n.573, 2016. doi: 10.3390/molecules21050573