

## PROSPECÇÃO POR BACTÉRIAS ISOLADAS DE VERMICOMPOSTO CAPAZES DE PRODUZIR COMPOSTO ANTIMICROBIANOS CONTRA PATÓGENOS DE PLANTAS

ROCHA, Dediel J.A.<sup>1,2</sup>; MENESES, Priscila R.<sup>1,2</sup>; WILLE, Caroline N.<sup>1,3</sup>;  
CARDOSO, Guilherme<sup>1,2</sup>; COILA, Victor H.C.<sup>1,3</sup>; MOURA, Andréa B.<sup>1,4</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas; <sup>2</sup>Mestrando em Fitossanidade, bolsita Capes; <sup>3</sup>Doutorando em Fitossanidade bolsista Capes; <sup>4</sup>Professora bolsista em Produtividade em Pesquisa CNPq.  
dedielrocha@hotmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

As implicações decorrentes do uso contínuo e indiscriminado de agrotóxicos, tanto na saúde humana como no meio ambiente, têm motivado o interesse por métodos alternativos de controle de doenças de plantas.

No caso de bacterioses a adoção de produtos químicos possui uma eficácia limitada, além de custo elevado. Tendo-se como exemplo a bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson, agente causal da podridão negra responsável por grandes perdas econômicas das crucíferas (MONTEIRO et al., 2005).

Para doenças de pós colheita como a podridão parda do pessegueiro causada por *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey, os produtos químicos são limitados devido aos riscos a saúde humana advinda de resíduo de agrotóxicos presente nos frutos.

O controle alternativo é importante também para doenças que possuem intervenções convencionais de controle, como a mancha parda causada por *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker no arroz, tendo em vista um programa de manejo integrado.

Os agentes biocontroladores exercem efeito benéfico sobre as plantas, por diferentes mecanismos de ação, diretos ou indiretos, tais como competição, antibiose, parasitismo e indução de resistência (RAMAMOORTHY et al., 2001; WHIPPS, 2001). A antibiose é a interação entre organismos, na qual um ou mais metabólitos produzidos por um organismo têm um efeito danoso sobre o outro, inibindo a germinação e crescimento ou inativando a célula por toxicidade química (FRAVEL, 1988).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antagonístico de microrganismos isolados de vermicomposto de esterco bovino sobre a bactéria *X. campestris* pv. *campestris* e os fungos *M. fructicola* e *B. oryzae*.

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1 Bactérias utilizadas

As bactérias candidatas a biocontroladoras utilizados foram isoladas de vermicomposto de esterco bovino. Foram utilizados como desafiadores um isolado de *X. campestris* pv. *campestris* isolada de couve, um isolado de *M. fructicola* obtido de fruto mumificado do pessegueiro e um isolado de *B. oryzae* obtido de plantas de arroz, provenientes da coleção do Laboratório de Bacteriologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas.

## 2.2 Ensaio de antibiose contra *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

A bactéria *X. campestris* pv. *campestris* foi previamente cultivada em meio 523 de Kado e Heskett (1970) por 72 horas e suspensa em mesmo meio líquido.

As bactérias candidatas a biocontroladoras foram repicadas para placas de Petri contendo uma fina camada de meio 523, em forma de uma linha larga no centro da placa. Foram incubadas a 28°C por 72 horas e posteriormente as colônias crescidas sobre o meio foram removidas.

A seguir, em câmara de fluxo laminar, sob condições assépticas as placas foram dispostas com a tampa para baixo e receberam cada uma cerca de 2mL de clorofórmio, na tampa, para assegurar completa eliminação de todos os microrganismos viáveis. Após evaporação do clorofórmio, foi vertida uma sobrecamada composta de meio 523 semissólido fundente acrescido da suspensão de *X. campestris* pv. *campestris*. A testemunha constitui-se de placas sem a presença do antagonista. As placas foram incubadas a 28°C por 24 horas.

Após incubação a antibiose foi determinada pela observação da formação ou não de halo de inibição do crescimento de *X. campestris* pv. *campestris*.

## 2.3 Ensaio de antibiose contra fungos fitopatogênicos

As bactérias candidatas a biocontroladoras foram repicadas para placas de Petri contendo meio batata dextrose ágar (BDA) e incubadas como descrito acima.

Para composição do ensaio de antibiose por pareamento, discos de cultura, de aproximadamente 10 mm de diâmetro, dos desafiante *M. fructicola* e *B. oryzae* previamente crescidos em meio BDA foram repicados para as placas contendo as bactérias candidatas a biocontroladoras sendo dispostos nas duas extremidades opostas da placa. Como testemunha foi utilizada uma placa apenas com os fungos.

Após incubação a 28°C por 7 dias a antibiose foi avaliada a redução do crescimento do micélio dos fungos determinado pela medida do diâmetro da colônia.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 24 bactérias avaliadas, três produziram compostos capazes de inibir *X. campestris* pv. *campestris*, nove tiveram algum efeito sobre *M. fructicola* e quatro sobre *B. oryzae* conforme mostra a Tabela 1.

Alguns antagonistas (DFs2279 e DFs2282) foram específicos para determinados microrganismos, outros (DFs2286, DFs2292 e DFs2293) apresentam largo espectro e inibiram todos desafiante testados conforme ilustram as figuras 1 e 2.

Os resultados encontrados corroboram com pesquisas a respeito da capacidade de controlar fitopatógenos por microrganismos presentes em compostos orgânicos (BETTIOL et al, 1997, DELEITO et al., 2005), que demonstram a presença de diferentes microrganismos no vermicomposto que desempenham antibiose *in vitro* contra diferentes fitopatógenos.

#### 4. CONCLUSÕES

Bactérias isoladas de vermicomposto, possuem potencial para serem avaliadas em ensaios “in vivo” como agentes controladores biológicos de *X. campestris* pv. *campestris*, *M. fructicola* e *B. oryzae*.

Tabela 1: Antibiose de bactérias isoladas de vermicomposto contra *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (XCC), *Monilinia fructicola* (MF) e *Bipolaris oryzae* (BO).

Nº Isolado	Antibiose a XCC	Diâmetro do crescimento micelial (MF)* mm	Diâmetro do crescimento micelial (BO)* mm
DFs2273	-	-	-
DFs2274	-	-	-
DFs2275	-	-	-
DFs2276	-	27,03mm	45,55
DFs2277	-	-	-
DFs2278	-	-	-
DFs2279	-	25,12	-
DFs2280	-	-	-
DFs2281	-	-	-
DFs2282	-	-	33,11
DFs2283	-	-	-
DFs2284	-	-	-
DFs2285	-	-	-
DFs2286	+	14,49	36,34
DFs2287	-	-	-
DFs2288	-	35,08	35,44
DFs2289	-	-	-
DFs2290	-	-	-
DFs2291	-	35,71	45,68
DFs2292	+	30,09	35,44
DFs2293	+	35,43	29
DFs2294	-	10,89	28,95
DFs2295	-	24,07	34,47
DFs2296	-	32,31	34,22

+Ocorrência de inibição -Ausência de inibição \*diâmetro dos microrganismos desafiadores.



Figura 1. Inibição do crescimento micelial de *Monilinia fructicola* (A.1, B.1, C.1) e *Bipolaris oryzae* (A.2, B.2) e ausência de inibição (C.2) por algumas bactérias isoladas de vermicomposto.

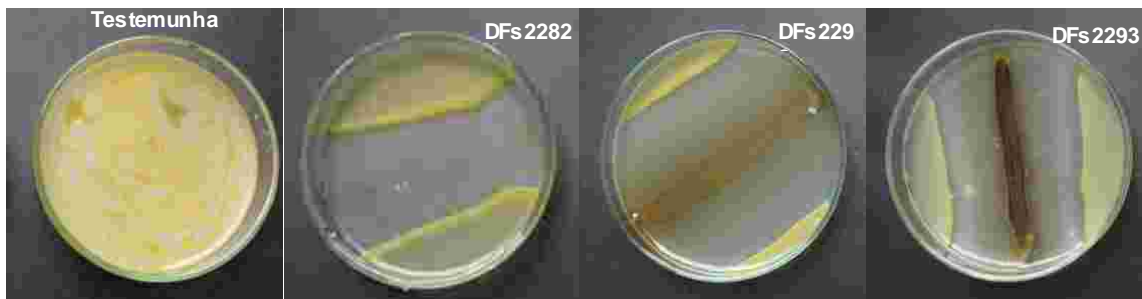


Figura 2. Halos de inibição formados por DFs2282, DFs2292 e DFs2293 isoladas de vermicomposto em relação ao desafiador *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

## 5. REFERÊNCIAS

- BETTIOL, W.; TRATCH, R.; GALVÃO, J.A.H. Controle de doenças de plantas com biofertilizantes. Jaguariúna: EMBRAPA CNPMA, 1997. 22 p. (EMBRAPA-CNPMA. Circular Técnica, 02).
- DELEITO, C.S.R.; CARMO, M.G.F.; FERNANDES, M.C.A.; ABOUD, A.C.S. Ação bacteriostática do biofertilizante Agrobio in vitro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.2, p.281-284, 2005.
- FRAVEL, D.F. Role of Antibiosis in the biocontrol of plant diseases. **Annual Review of Phytopathology**, v. 26, p. 75-91, 1988.
- KADO, C.J.; HESKETT, M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, v. 60, p. 969-976, 1970.
- MONTEIRO, L.; MARIANO, R. S. R.; MAIOR, A. M. S.. Antagonism of *Bacillus* spp. Against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v.48, p. 23-29, 2005.
- RAMAMOORTHY, V.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRAKASAM, V.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, v.20, p.1-11, 2001.
- WHIPPS, J.M. Roots and their environment: microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v.52, p.487-511, 2001.