



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

SELEÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS COM POTENCIAL PARA O BIOCONTROLE DE PATÓGENOS HABITANTES DE SOLO DA CULTURA DO FEIJÃO

Bruna Rohrig¹, Rodrigo Ferraz Ramos², Renata Moccellini¹, Maurício Sangiogo¹, Daniel Joner Daroit², Andréa Bittencourt Moura¹, Juliane Ludwig².

¹Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Fitossanidade, Pelotas-RS, rohrigbruna@hotmail.com, renata.moccellini@gmail.com, ms_sangiogo@hotmail.com, abmoura@ufpel.edu.br

²Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Cerro Largo, Cerro Largo-RS, rodrigoferrazramos@gmail.com, djdaroit@gmail.com, juliane.ludwig@uffs.edu.br.

RESUMO – O feijão é amplamente cultivado e consumido no Brasil e no mundo. A cultura é afetada por diversas doenças, causadas por vírus, bactérias e fungos, com destaque para aquelas causadas por patógenos habitantes de solo e que desenvolvem estruturas de resistência no solo capazes de se perpetuarem durante anos. Diante disso, o objetivo do trabalho foi selecionar dentre bactérias isoladas de diferentes sistemas de cultivo do feijão (convencional e plantio direto) e de diferentes nichos (rizosfera e rizoplano/endofítico), aquelas com potencial para o biocontrole de patógenos habitantes de solo (*Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani*). Para isso, utilizou-se de testes de antibiose por compostos hidrossolúveis, por confronto direto e compostos voláteis em placas divididas. Das 116 colônias bacterianas morfologicamente diferentes utilizadas nos ensaios para o teste de antibiose por compostos hidrossolúveis, oito isolados (7%) inibiram *M. phaseolina*, seis (5%) *S. sclerotiorum*, 17 (15%) *R. solani* e cinco (4%) apresentaram antibiose para os três fungos testados, sendo capazes de produzir algum composto antimicrobiano inibindo o crescimento do patógeno. Para o teste de compostos voláteis, apenas os isolados positivos para antibiose foram testados e nenhum foi capaz de influenciar o crescimento dos fungos fitopatogênicos. O *screening* inicial por antibiose permitiu selecionar seis isolados com potencial para o controle de patógenos habitantes de solo da cultura do feijão, porém são necessários estudos complementares para determinar outros mecanismos de ação que possam estar envolvidos no controle, assim como estudos *in vivo*.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*; Controle biológico; *Macrophomina phaseolina*; *Sclerotinia sclerotiorum*; *Rhizoctonia solani*.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior consumidor e produtor mundial de feijão, com área cultivada de 3.169 mil hectares e produção de 3.202 mil toneladas do grão. A safra de inverno é responsável pela maior parte da produção anual de feijão concentrada principalmente nos estados de Goiás e Bahia (MAPA, 2016).

A produção do grão é afetada por diversas doenças, causadas por patógenos de parte aérea como antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*), crestamento-bacteriano-comum



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

(*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*), mosaico-dourado (*Bean Golden mosaic virus*) e por fungos habitantes do solo, como a podridão-radicular-seca (*Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*) mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), podridão-cinzenta-do-caule (*Macrophomina phaseolina*) e podridão-radicular-de-rizoctonia (*Rhizoctonia solani*). Os patógenos habitantes de solo são responsáveis por danos severos, e caracterizam-se por serem de difícil controle, pois produzem estruturas de sobrevivência (PAULA JÚNIOR et al., 2008).

O controle dessas doenças se dá principalmente pela utilização de produtos químicos, no entanto o uso de rizobactérias para o controle de patógenos da cultura vem ganhando espaço, pois além do biocontrole, podem promover um aumento da população de organismos benéficos à cultura (BEDENDO, 2011). As rizobactérias, são bactérias que habitam o solo em torno das raízes das plantas, formando nichos biológicos de proteção antagonista na microbiota (LUCY et al., 2004). Estas possuem potencial para o biocontrole, pois apresentam uma série de mecanismos de ação: antagonismo, a partir da produção de compostos antibióticos, competição por nutrientes e espaço, parasitismo aos fitopatógenos e até mesmo a indução de resistência das plantas hospedeiras (AGRIOS, 2005).

Estudando a diversidade bacteriana de diferentes sistemas de cultivo da cultura do feijão, plantio direto e convencional, e de diferentes nichos, rizosfera e conjunto rizoplano/endofítico Rohrig et al. (2016) isolaram 116 colônias bacterianas morfologicamente diferentes, classificadas de acordo com sua cor, formato, brilho, bordas, tamanho de colônias. Diante disso o objetivo do trabalho foi selecionar, dentre as 116 bactérias já isoladas anteriormente, aquelas que possuam capacidade de produzir compostos antimicrobianos para o controle de *S. sclerotiorum*, *M. phaseolina* e *R. solani*.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido nos laboratórios de Fitossanidade e de Microbiologia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), localizada no município de Cerro Largo (RS). As 116 colônias bacterianas morfologicamente diferentes foram isoladas em trabalho anterior (ROHRIG et al., 2016) e foram cultivadas em meio ágar nutriente previamente, durante 24 horas.

Para observar a capacidade das rizobactérias isoladas em inibir o crescimento fúngico dos patógenos habitantes de solo, foi realizado o teste de antibiose, para a produção de compostos



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

antimicrobianos hidrossolúveis e voláteis. Para produção de compostos hidrossolúveis, as 116 rizobactérias foram confrontadas com três patógenos de solo: *M. phaseolina*, *R. solani* e *S. sclerotiorum*. Os patógenos foram cultivados em placas de Petri por sete dias à temperatura de 22°C em meio BDA e fotoperíodo de 12 horas. As rizobactérias foram dispostas em pontos equidistantes (uma bactéria por placa em confronto direto com o patógeno) em quatro repetições. Um disco de 5 mm de diâmetro retirado dos bordos das placas cultivadas de cada patógeno por sete dias foi depositado ao centro das placas com as rizobactérias. As placas de Petri foram levadas à BOD, à 27 °C, com fotoperíodo de 12 h, a temperatura de 22 °C durante sete dias, ou até que o disco depositado na placa contendo apenas meio ágar nutriente crescesse de modo a atingir os bordos das placas, as quais caracterizaram-se como o tratamento testemunha (MARIANO; SOUZA, 2016).

Para avaliar a produção de antibióticos voláteis foram utilizados isolados positivos para os três patógenos testados. Utilizaram-se placas de Petri divididas, onde em ambos os lados utilizou-se meio Ágar Nutriente, em que foram semeadas as rizobactérias de um lado e do outro foi depositado um disco de 5 mm do patógeno. Após, as placas foram fechadas e vedadas com fita adesiva. As testemunhas constituíram-se de placas contendo apenas os patógenos e o meio Ágar Nutriente, sem a presença das rizobactérias, e para as testemunhas destas, o meio ágar nutriente não recebeu os discos de cinco mm do patógeno. As placas foram levadas a BOD, sob temperatura de 28 °C, com fotoperíodo de 12 h (MARIANO; SOUZA, 2016).

As avaliações foram feitas com o auxílio de um paquímetro digital, medindo-se os halos de inibição formados pelas rizobactérias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 116 isolados bacterianos confrontados, cinco apresentaram antibiose por compostos hidrossolúveis para os três patógenos testados, sendo eles os isolados RD27, RD31, RD34, SD18 e SC24 e quatro isolados apresentaram antibiose apenas para dois dos patógenos testados, sendo eles RD06, RD10, RD12 para os patógenos *M. phaseolina* e *R. solani*, e RD20 para *S. sclerotiorum* e *R. solani* (Figura 1).



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

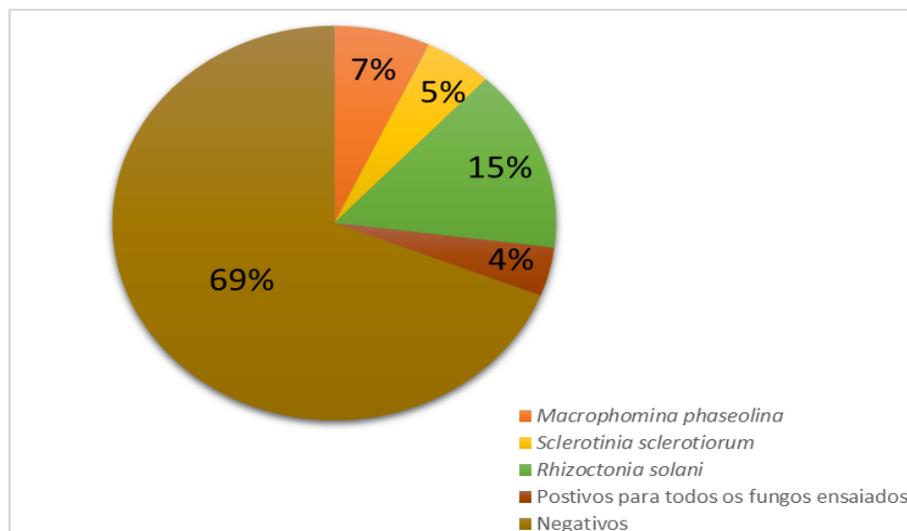


Figura 1 - Percentual de isolados positivos e negativos para o teste de antibiose por compostos hidrossolúveis utilizado como *screening* das rizobactérias com potencial para o biocontrole de patógenos habitantes de solo da cultura do feijão.

Existem diversos relatos de bactérias que possuem ação biocontroladora sobre os patógenos que acometem a cultura do feijão, corroborando com os resultados encontrados no presente trabalho (Figura 1), onde 4% das rizobactérias testadas inibiram o crescimento de *R. solani*, *S. sclerotiorum* e *M. phaseolina*, como os realizados por Gupta et al. (2002). Estes autores evidenciaram *in vitro*, a redução de 76% no crescimento micelial de *M. phaseolina* por meio da ação de compostos antimicrobianos, produzidos por bactérias do gênero *Pseudomonas* mostrando o potencial desse gênero no controle do patógeno.

Nechet et al. (2011) realizando ensaios *in vivo* com plantas de feijão, observaram o controle de 33% a 96% de *R. solani* utilizando rizobactérias, assim como em ensaios realizados *in vivo* na cultura do tomate, onde Ahmadzadeh e Tehrani (2009) obtiveram o controle de *S. rolfsii* e *R. solani* em 58,33 e 63,8% respectivamente, utilizando-se de isolados de *Pseudomonas* sp.

Ludwig e Moura (2007) também relataram em seus estudos a utilização de bactérias do gênero *Pseudomonas* sp., e *Bacillus* sp. no controle de *R. solani* na cultura do arroz, onde testes *in vivo* evidenciaram de 88 a 91,7% de controle.

Remuska et al. (2007), estudando o comportamento de *S. sclerotiorum* *in vitro* frente a *Bacillus thuringiensis* observaram a inibição do crescimento micelial do fungo em 39%, percentual este considerado satisfatório, uma vez que este patógeno se comporta de forma agressiva e possui grande virulência.



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

Os isolados que apresentaram antibiose apresentados na Figura 1 foram testados para a produção de compostos voláteis, sendo eles: RD34, RD27, SD18, RD06, RD10, RD12. Todos os isolados testados apresentaram-se como negativos, não tendo efeito sobre o crescimento *in vitro* dos patógenos testados. Porém, estudos complementares são necessários utilizando as bactérias selecionadas, tanto *in vitro* para determinação de outros possíveis mecanismos de ação (como indução de resistência, competição, parasitismo) envolvidos no controle, assim como testes *in vivo*, para avaliação do biocontrole em plantas.

CONCLUSÃO

Dentre os 116 isolados bacterianos estudados selecionaram seis, sendo: RD34, RD27, SD18, RD12, RD10 e RD06, as quais apresentaram como um dos mecanismos de ação do controle biológico de doenças a antibiose por compostos hidrossolúveis, inibindo satisfatoriamente o crescimento micelial de *M. phaseolina*, *S. sclerotiorum* e *R. solani*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5 ed. Flórida: Elsevier Academic Press, 2005.

AHMADZADEH, M.; TEHRANI, A.S. Evaluation of fluorescent pseudomonads for plant growth promotion, antifungal activity against *Rhizoctonia solani* on common bean, and biocontrol potential. **Biological Control**, v. 48, n. 2, p. 101-107, 2009.

BEDENDO, I. P. Murchas vasculares. In: AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 4.ed, v.1. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2011.

LUCY, M.; REED, E.; GLICK, B.R. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v.86, n. 1, p. 1-25, 2004.

MAPA BRASIL. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 21 out. 2017.



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia
20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

MARIANO, R.L.R.; SOUZA, E.B. de. (Coords.). **Manual de Práticas em Fitobacteriologia**. 2a. ed. Recife. UFRPE, 2016.

NECHET, K. de L.; DINIZ, I. S.; MARTINS, S. A.; SOUZA, G. R. de; HALFELD-VIEIRA, B. de A. **Mecanismos de ação de rizobactérias do feijão-caupi selecionadas para redução da viabilidade de escleródios de *Rhizoctonia solani***. In: Anais do CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS, 5., 2011, Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2011.

PAULA JÚNIOR, T.J. de; VIEIRA, R.F; TEIXEIRA, H. et al. **Informações técnicas para cultivo do feijoeiro-comum na região central brasileira 2007-2009**. Belo Horizonte: Epamig, 2008. 180p. (EPAMIG. Documentos, 42).

REMUSKA, A. C.; PRIA, M. D. Efeito de *Bacillus thuringiensis* e *Trichoderma* sp. no crescimento de fungos fitopatogênicos. **Publicatio UEPG: Ciências Exatas e da Terra, Agrárias e Engenharias**, v.13, n. 3, p. 31-36, 2007.

ROHRIG, B.; RAMOS, R. F.; SOBUCKI, L.; RICHTER, A. F.; LUDWIG, J.; DAROIT, D. J. População bacteriana em solos sob diferentes sistemas de manejo na cultura do feijão. **Ciência & Tecnologia: Fatec-JB**, v.8, p.1-7, 2016.