



20º Seminário de
Iniciação Científica e
4º Seminário de Pós-graduação
da Embrapa Amazônia Oriental

ANNAIS 2016

21 a 23 de setembro

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Oriental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*



20º Seminário de
Iniciação Científica e
4º Seminário de Pós-graduação
da Embrapa Amazônia Oriental

ANNAIS 2016

21 a 23 de setembro

Embrapa Amazônia Oriental
Belém, PA
2016



BIOCONTROLE *in vitro* DE *Colletotrichum graminicola*, AGENTE ETIOLÓGICO DA ANTRACNOSE FOLIAR DO MILHO

Cássia Cristina Chaves Pinheiro¹, Ruth Linda Benchimol², Carina Melo da Silva³, Iêda Alana Leite de Sousa⁴, Francisco Ronaldo Sarmanho de Souza⁵, Eudes de Arruda Carvalho⁶

¹Bolsista CNPq Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Fitopatologia, cassiapinheiro002@gmail.com

²Pesquisadora Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Fitopatologia, ruth.benchimol@embrapa.br

³Bolsista de doutorado CAPES, Laboratório de Fitopatologia, carinamelosilva@gmail.com

⁴Estagiária Embrapa Amazônia Oriental, ialanasleite@gmail.com

⁵Pesquisador Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Melhoramento Genético, ronaldo.sarmanho@embrapa.br

⁶Pesquisador Embrapa Quarentena Vegetal, Laboratório de Fitopatologia, eudes.carvalho@embrapa.br

Resumo: A antracnose foliar do milho, causada por *Colletotrichum graminicola*, é uma das principais doenças que incidem na cultura, sendo responsável por perdas elevadas de produtividade. O controle biológico utilizando microrganismos vem se tornando uma alternativa atraente para diminuir ou eliminar o uso de agroquímicos, tornando os alimentos mais saudáveis e com menor custo de produção. Nesse trabalho, objetivou-se avaliar *in vitro* o efeito inibitório de rizobactérias do gênero *Bacillus* e *Pseudomonas* contra *C. graminicola*, utilizando o método de pareamento de colônias. Discos de micélio do patógeno retirados da extremidade de colônias cultivadas em BDA foram colocados, individualmente, no centro de placas de Petri contendo meio de BDA, onde um círculo de crescimento bacteriano foi previamente traçado com bastão de vidro, acompanhando as bordas das mesmas. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com cinco tratamentos (quatro isolados e testemunha) e cinco repetições. Todos os isolados de rizobactérias demonstraram efeito antagônico significativo sobre o crescimento micelial de *C. graminicola*, quando comparados com o tratamento testemunha.

Palavras-chave: Antagonismo, Controle biológico, Efeito inibitório

Introdução

A antracnose foliar do milho (*Zea mays* L.), causada por *Colletotrichum graminicola* (Ces.) G.W. Wilson, é uma das mais devastadoras doenças que ameaçam a produção dessa cultura no Brasil, infectando todas as partes da planta, sendo, porém a fase foliar da doença a mais importante, por



reduzir a produção de grãos e de forragem em 50% ou mais, dependendo da severidade da doença (CASELA et al., 1992; NIETSCHKE et al., 2001).

A principal medida de manejo da doença é o plantio de cultivares geneticamente resistentes, mas, devido à alta variabilidade do patógeno e à sua alta capacidade de multiplicação, tem-se observado uma rápida adaptação desse organismo aos genes de resistência da planta hospedeira. Por conseguinte, o controle da doença tem sido feito com o uso de insumos químicos que, não raramente, resultam em altos custos ambientais e econômicos (COSTA et al., 2003).

O controle biológico por microrganismos apresenta-se como alternativa inteligente para a redução ou eliminação do uso de agroquímicos no controle de doenças fitopatogênicas e dentre os possíveis agentes para o biocontrole, destacam-se as rizobactérias, que são encontradas naturalmente em elevada diversidade no solo e que apresentam atividade antagônica contra outros componentes da comunidade microbiana (GHINI; NAKAMURA, 2001). O objetivo desse trabalho foi avaliar *in vitro* o efeito inibitório de rizobactérias dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* contra *C. graminicola* visando subsidiar futuros programas de manejo da antracnose foliar do milho.

Material e Métodos

O isolado de *C. graminicola* foi obtido de folhas de milho cultivado em sistema de plantio direto no município de Paragominas, PA, e os isolados de rizobactérias foram obtidos de amostras de solo da Empresa Socôco Produtos Alimentícios S/A, ambos depositados na coleção de microrganismos do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental. As rizobactérias dos gêneros *Bacillus* (B23 e B14), e *Pseudomonas* (P22, P23 e P41), foram selecionadas para os testes, por terem apresentado melhor desempenho em testes preliminares de antagonismo *in vitro* contra outros fitopatógenos.

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental, pelo método de pareamento de colônias. Para tal, o patógeno foi cultivado em meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) por sete dias e as rizobactérias, pré-selecionadas em testes preliminares, foram reativadas em meio de cultura NA (Nutriente-Ágar) por 48 horas. Em seguida, discos de micélio do patógeno ($\varnothing = 9$ mm) retirados da extremidade das colônias foram colocados, individualmente, no centro de placas de Petri contendo meio de BDA, onde um círculo de crescimento bacteriano foi



previamente traçado acompanhando a borda das mesmas, com auxílio de um bastão de vidro. Foram utilizadas como testemunhas placas contendo apenas um disco de micélio do patógeno, na ausência das rizobactérias. As placas foram mantidas em incubadora do tipo BOD, à temperatura de 28 ± 2 °C e fotoperíodo de 12h claro/escuro, por sete dias. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com cinco tratamentos, constituídos de cinco rizobactérias (B23, B14, P22, P23 e P41) e testemunha, e cinco repetições. As avaliações foram feitas diariamente, a partir de 24 horas da montagem do ensaio, medindo-se o crescimento radial (mm) das colônias do patógeno, até este completar seu crescimento no tratamento testemunha. Os dados obtidos com essa avaliação foram empregados no cálculo do Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM). A análise estatística de variância foi feita pelo teste F ($p\text{-valor} \leq 0.05$) e as médias de crescimento foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p\text{-valor} \leq 0.05$). O programa utilizado para as análises foi o SISVAR, versão 5.6.

Resultados e Discussão

Observou-se que todos os isolados de rizobactérias testados demonstraram efeito antagônico significativo sobre o crescimento micelial de *C. graminicola*, quando comparados com a testemunha (Figura 1).

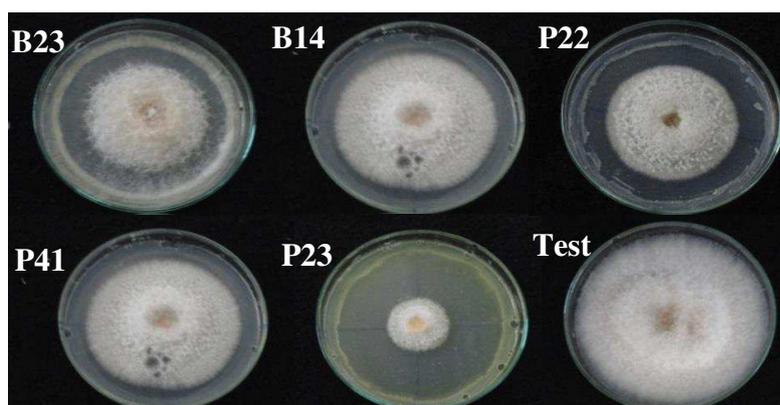
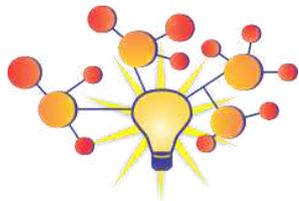


Figura 1- Crescimento micelial de *Colletotricum graminicola* na presença de rizobactérias (Fonte C.C.C.Pinheiro).

O crescimento micelial do patógeno foi de 18,98 mm, 29,65 mm, 30,43 mm, 34,17 mm e 34,32 mm na presença dos isolados P23, P41, P22, B23 e B14, respectivamente, enquanto que no tratamento testemunha, o crescimento deste foi de 41,39 mm, sendo superior, portanto, àquele na



presença dos antagonistas. Isso indicou a inibição *in vitro* do crescimento micelial do patógeno na presença dos antagonistas. Contudo, o isolado P23, do gênero *Pseudomonas*, foi a rizobactéria que demonstrou maior potencial antagônico contra o patógeno, destacando-se estatisticamente dos outros tratamentos, seguida por P41 e P22 e por B23 e B14, que não diferiram estatisticamente entre si, mas diferiram do tratamento testemunha (Figura 2).

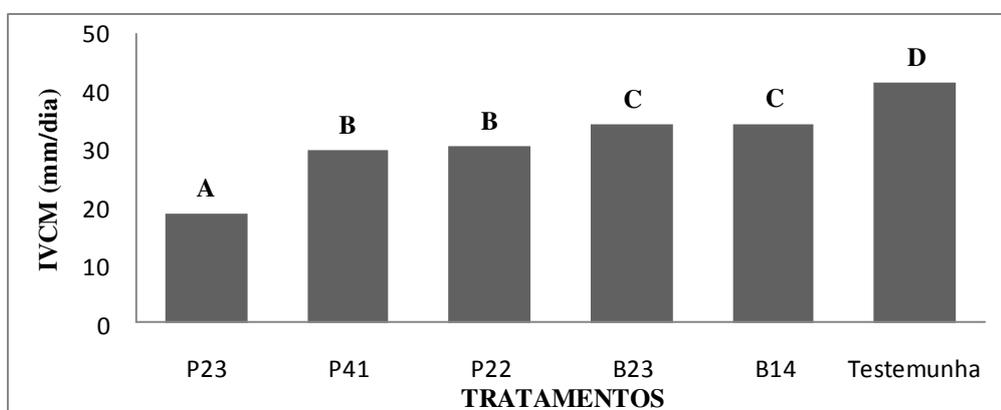


Figura 2- Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de *Colletotricum graminicola* na presença de rizobactérias.

Resultados semelhantes ao que está sendo relatado no presente estudo foram descritos por Kumar e Dubey (2012), onde bactérias do gênero *Bacillus* são relatadas como produtoras de metabólitos com potencial inibidor sobre fungos como *Fusarium spp.* e *Colletotrichum spp.* Segundo Kupper et al. (2003), a inibição do crescimento do patógeno ocorre porque rizobactérias antagônicas, como as dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas*, de modo geral, agem significativamente por antibiose, parasitismo ou competição por nutrientes, ou todos os mecanismos simultaneamente.

Conclusão

As rizobactérias dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* testadas apresentaram níveis diferentes de inibição do crescimento micelial *in vitro* de *Colletotricum graminicola*.

A rizobactéria P23, do gênero *Pseudomonas*, provocou maior inibição *in vitro* contra *C. graminicola*, apresentando potencial de uso em futuros programas de controle biológico da antracnose foliar do milho.



Referências Bibliográficas

CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; SCHAFFERT, R. E. Physiological races of *Coletotrichum graminicola* in Brazil. In: MILLIANO, W. A. J.; FREDERIKSEN, R. A.; BENGSTRON, G. D. (Ed.). **Sorghum and millets: a second world review**. Pantacheru: International Crops Research Institute for Semi-Arid Tropics, 1992. p. 209-212.

COSTA, R. V.; CASELA, C. R.; ZAMBOLIM, L.; FERREIRA, A. S. A antracnose do sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 345-354, 2003.

GHINI, R.; NAKAMURA, D. Seleção de antagonistas e nutrientes que induzem supressividades de solo a *Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli* em microcosmos e *in vivo*. **Summa Phytopathologica**, v. 27, n. 3, p. 318-322, 2001.

KUMAR, P.; DUBEY, R. C. *Bacillus* strains isolated from rhizosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity against phytopathogens. **Microbiological Research**, v. 167, n. 8, p. 493-499, 2002.

KUPPER, K. C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. de. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 251-257, 2003.

NIETSCHKE, S. A.; BORÉM, A.; CARVALHOS, G. A.; PAULA JÚNIOR, T. J.; FERREIRA, C. F.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* in the State of Minas Gerais, Brazil. **Euphytica**, v. 117, n. 1, p. 77-84, Jan. 2001.