

Resumos

Encontro de Ciência e Tecnologias Agrossustentáveis
VI Jornada Científica da Embrapa Agrossilvipastoril



8 a 10 de Agosto de 2017

Sinop, MT



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

**Resumos do
Encontro de Ciência e Tecnologias Agrossustentáveis e da
VI Jornada Científica da Embrapa Agrossilvipastoril**

Editores Técnicos

Alexandre Ferreira do Nascimento

Daniel Rabello Ituassu

Eulália Soler Sobreira Hoogerheide

Fernanda Satie Ikeda

José Ângelo Nogueira de Menezes Júnior

***Embrapa
Brasília, DF
2017***

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agrossilvipastoril

Rodovia dos Pioneiros, MT 222, km 2,5
Caixa Postal: 343
78550-970 Sinop, MT
Fone: (66) 3211-4220
Fax: (66) 3211-4221
www.embrapa.br/
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Unidade responsável pelo conteúdo e pela edição

Embrapa Agrossilvipastoril

Comitê de publicações

Presidente

Flávio Fernandes Júnior

Secretário-executivo

Daniel Rabello Ituassú

Membros

Aisten Baldan, Alexandre Ferreira do Nascimento, Dulândula Silva Miguel Wruck, Eulalia Soler Sobreira Hoogerheide, Flávio Dessaune Tardin, Jorge Lulu, Laurimar Gonçalves Vendrusculo, Rodrigo Chelegão, Vanessa Quitete Ribeiro da Silva

Normalização bibliográfica

Aisten Baldan (CRB 1/2757)

1ª edição

Publicação digitalizada (2018)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

Embrapa Agrossilvipastoril.

Encontro de Ciência e Tecnologias Agrossustentáveis; Jornada Científica da Embrapa Agrossilvipastoril (6. : 2017 : Sinop, MT.)

Resumos ... / Encontro de Ciência e Tecnologias Agrossustentáveis e da VI Jornada Científica da Embrapa Agrossilvipastoril / Alexandre Ferreira do Nascimento (et. al.), editores técnicos – Brasília, DF: Embrapa, 2017.
PDF (335 p.) : il. color.

ISBN 978-65-87380-46-9

1. Congresso. 2. Agronomia. 3. Ciências ambientais. 4. Zootecnia. I. Embrapa Agrossilvipastoril. III. Título.

CDD 607

Aisten Baldan (CRB 1/2757)

© Embrapa 2018

Editores Técnicos

Alexandre Ferreira do Nascimento

Engenheiro agrônomo, doutor em Solos e nutrição de plantas, pesquisador da Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT

Daniel Rabello Ituassu

Engenheiro de Pesca, mestre em Biologia de Água Doce e Pesca, pesquisador da Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT

Eulália Soler Sobreira Hoogerheide

Engenheira agrônoma, doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT

Fernanda Satie Ikeda

Engenheira agrônoma, doutora em Fitotecnia, pesquisadora da Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT

José Ângelo Nogueira de Menezes Júnior

Engenheiro agrônomo, doutor em Genética e Melhoramento, pesquisador da Embrapa Meio-Norte, Sinop, MT

**Determinação da densidade óptica de isolados bacterianos antagonistas a *Fusarium* spp. agente causal da fusariose do maracujazeiro**

Ginislene Dias Souza Miranda¹, Lucilene Dantas da Conceição¹, Daiane Caroline Enderle², Anderson Ferreira³, Dulândula Silva Miguel Wruck³

¹FASIPE, Sinop, MT, lucilenedantas89@gmail.com, espacosinop@hotmail.com,

²UNIC, Sinop, MT, daianeenderle@gmail.com,

³Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT, anderson.ferreira@embrapa.br, dulandula.wruck@embrapa.br.

Introdução

O cultivo do maracujazeiro tem-se deparado com situações adversas e fatores limitantes. Dentre os diversos problemas, destacam-se os de ordem fitossanitária, notadamente as doenças, as quais têm causado os maiores transtornos ao segmento produtivo desta frutífera. Dentre as doenças do sistema radicular, destaca-se a morte prematura, fusariose, podridão do colo e tombamento da muda, que têm reduzido de forma significativa a vida útil dos pomares (Todafruta, 2017) causadas por *Fusarium* spp. Existem duas espécies de fusarium que causam danos a cultura do maracujazeiro, *Fusarium solani* (podridão do colo) e *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (morte prematura) (Fischer et al., 2005). As duas doenças culminam na morte das plantas infestadas.

Em relação ao manejo da doença, o controle químico não é eficiente. O comum é abandonar as áreas contaminadas e migrar para áreas novas, resultantes de abertura de mata (Junqueira et al., 2005).

Com base nesse cenário, uma possibilidade de manejo de fusariose em maracujazeiro é o uso de microrganismos antagonistas (Martins et al., 2006). O controle biológico contra *F. oxysporum* f.spp. *passiflorae*, utilizando-se actinomicetos, em trabalhos *in vitro*, já foi observado por Silva et al. (2013).

No laboratório de microbiologia da Embrapa Agrossilvipastoril foram isoladas 151 bactérias de solo que foram submetidas a teste de antagonismo *in vitro* com *Fusarium* spp. Dentre os isolados, 21 foram positivos ao teste e posteriormente identificados por sequenciamento. A próxima etapa do estudo será a realização de testes de antagonismo *in vivo*. No entanto, não estão disponíveis na literatura informações sobre a densidade óptica desses agentes, que são indispensáveis para a padronização dos inóculos.

Assim, esse trabalho teve como objetivo determinar a densidade óptica de 21 isolados bacterianos antagonistas a *Fusarium* spp.

Material e Métodos

Vinte e um isolados bacterianos que apresentaram antagonismo à *Fusarium* spp., obtidos de raízes de maracujazeiro, do município de Terra Nova do Norte, MT, foram utilizados neste ensaio. Os isolados bacterianos selecionados foram: *Rummeliibacillus stabekisii* strain NBRC 104870, *Microbacterium paraoxydans* strain NR-0255548-1, *Bacillus methylotrophicus* strain CBMB 205 NR-116240-1, *B. pseudomycoides* strain NBRC 101232, *B. aerius* strain 24K, *B. toyonensis* strain BCT-7112, *B. bataviensis* strain NBRC 10244, *B. subtilis* strain 168 e IAM 121118, *B. deserti* strain ZLD-8, *B. circulans* strain ATCC 4513, *B. anthracis* SBS1, *Bevibacillus formosus* strain NBRC 15716, *Lysobacter qummosus* strain KCTC 12132, *Arthrobacter pascens* strain DSM20545 NR-026191.1, *A. nicotinovorans* strain DSM 420 16 S, *A. nigatensis* strain LC4, *A. liuii* strain DSXY973, *Corynebacterium ilicis* strain ICMP 2608, *Cellulosimicrobium cellulans* strain ATCC 12830. *Paenibacillus chitinolyticus* strains NBRC 15660 e *Sinomonas atrocyanea* strain DSM-20127.

A densidade óptica (O.D.) de cada isolado bacteriano foi padronizada por espectrofotometria. Para isso, cada isolado foi semeado em placa de Petri contendo meio TSA (Agar Triptona de Soja) e mantido em incubadora a 28 °C, sob fotoperíodo de 12h, por 24h a 48h, de acordo com o tempo de crescimento de cada espécie. As colônias foram diluídas em água autoclavada até produzir uma suspensão turva. Foi realizada diluição seriada até 10^{-7} e todas as diluições foram plaqueadas, em triplicata, em meio TSA (100µL/placa) e trabalhou-se com a média. De 24h a 48h após o plaqueamento e com base ao crescimento bacteriano, porém não foi possível realizar contagem 10^0 a 10^4 sendo utilizada neste experimento somente 10^{-5} a 10^{-7} , contadas as unidades formadoras de colônia (UFC) por placa e estimada a concentração de UFC mL⁻¹ de cada diluição. A absorbância de todas as suspensões bacterianas foi estimada em espectrofotômetro UV visível, sob comprimento de onda de 540nm, imediatamente após seu preparo. A contagem de UFC em placa e as leituras de absorbância foram correlacionadas e o valor de densidade óptica calculado para cada espécie, de acordo com Romeiro (2001): [nº de colônias x fator de diluição (10^n) x 10 (conversão para mL)]/leitura da absorbância = 1 O.D.

Resultados e Discussão

Das sete diluições realizadas, foi possível a leitura da densidade óptica das diluições 0, 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . Os valores de absorbância das diluições 10^{-4} a 10^{-7} ficaram abaixo do limite de detecção do espectrofotômetro e, dessa forma, não puderam ser utilizados. A contagem bacteriana em placa foi realizada apenas nas diluições de 10^{-5} a 10^{-7} pois, nas

menores diluições, após 24 horas, não se obteve colônias individualizadas que possibilitassem a contagem (Tabela 1).

Tabela 1. Leitura da densidade óptica (O.D.) e unidades formadoras de colônia (ufc) placa⁻¹ de 21 isolados bacterianos antagonista a *Fusarium* spp.

Bactéria	Absorbância				UFC placa ⁻¹ *			UFC /O.D.
	0	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	
<i>Bacillus anthracis</i>	1,950	0,598	0,082	0,009	315	33	5	6,9x10 ⁷
<i>Sinomonas atrocyanea</i>	1,920	0,353	0,041	0,003	803	275	50	7,9x10 ⁸
<i>Brevibacillus formosus</i>	1,779	0,339	0,032	0,004	344	50	5	1,3x10 ⁸
<i>Bacillus deserti</i>	1,774	0,354	0,035	0,004	177	18	2	5,8x10 ⁷
<i>Arthrobacter nicotinovorans</i>	1,664	0,240	0,031	0,002	976	124	12	4,7x10 ⁸
<i>Bacillus toyonensis</i>	1,728	0,344	0,038	0,002	341	29	3	1,1x10 ⁸
<i>Bacillus bataviensis</i>	1,859	0,357	0,037	0,006	140	9	3	4,3x10 ⁷
<i>Lysobacter quimmosus</i>	1,902	0,294	0,035	0,004	947	313	59	9,3x10 ⁸
<i>Bacillus aerius</i>	2,018	0,581	0,080	0,012	1087	336	53	5,1x10 ⁸
<i>Corynebacterium llicis</i>	1,893	0,549	0,070	0,009	1108	324	40	5,1x10 ⁸
<i>Arthrobacter liuii</i>	1,682	0,408	0,059	0,006	532	70	4	1,4x10 ⁸
<i>Cellulosimicrobium cellulans</i>	1,886	0,458	0,064	0,009	129	14	2	3,2x10 ⁷
<i>Arthrobacter pascens</i>	1,859	0,408	0,067	0,008	636	194	12	2,8x10 ⁸
<i>Arthrobacter nigatensis</i>	1,504	0,283	0,032	0,001	1125	402	27	1,4x10 ⁹
<i>Bacillus pседomycoides</i>	1,948	0,527	0,061	0,004	248	60	8	1,2x10 ⁸
<i>Microbacterium paraoxydans</i>	2,231	0,608	0,092	0,010	1282	364	65	5,6x10 ⁸
<i>Bacillus subtilis</i>	2,255	0,832	0,095	0,007	19	2	1	4,9x10 ⁶
<i>Rummeliibacillus stabekisii</i>	2,338	0,964	0,099	0,007	642	103	10	1,4x10 ⁸
<i>Bacillus methylophicus</i>	2,222	0,755	0,084	0,006	175	9	1	2,4x10 ⁷
<i>Paenibacillus chitinolyticus</i>	2,004	0,606	0,100	0,017	448	77	5	1,0x10 ⁸
<i>Bacillus circulans</i>	1,750	0,680	0,149	0,025	182	10	1	2,3x10 ⁷

* UFC = Unidades formadoras de colônia. Valores médios de três repetições.

Através dos resultados observou-se a importância da determinação dessa contagem, para poder preparar o inóculo da próxima etapa do experimento, pois podemos observar na (Tabela 1), houve muita diferença na densidade óptica entre as espécies bacterianas estudadas. Um exemplo é o *Bacillus subtilis* que possui uma densidade óptica de 4,9x10⁶ enquanto a densidade óptica *Arthrobacter nigatensis* foi de 1,4x10⁹, então por esse motivo não deve-se fazer uma padronização do inóculo apenas pela a leitura no espectrofotômetro a contagem em placa muito importante devido a grande diferença de concentração de uma bactéria para outra.

Conclusão

Com base nos valores de absorvância das diluições 10^{-4} a 10^{-7} , poderemos padronizar a concentração de trabalho nos ensaios de inoculação “in vivo” (bactéria x *Fusarium* spp.), para os 21 isolados bacterianos.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa de Mato Grosso (Fapemat) e ao Conselho Nacional de Pesquisa de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ).

Referências

- FISCHER, I. H.; LOURENÇO, S. A.; MARTINS, M. C.; KIMATI, H.; AMORIM, L. Seleção de plantas resistentes e de fungicidas para o controle da podridão do colo do maracujazeiro causada por *Nectria hematococca*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 250-258, 2005.
- JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; BERNACCI, L. C. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FLAIEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Ed.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 81-108.
- MARTINS, I.; PEIXOTO, J. R.; MELLO S. C. M. de. **Evolução do maracujazeiro-amarelo no Brasil, as principais doenças e possibilidade de aplicação do controle biológico**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 206).
- ROMEIRO, R.S. **Métodos em bacteriologia de plantas**. Viçosa, MG: UFV, 2001.
- SILVA, H. S. A.; ROMEIRO, R. S.; MOUNTEER, A. Development of a root colonion bioassay for rapid screen of rhizobacteria for potential biocontrol agents. **Journal of Phytopathology**, v. 151, n. 1, p. 42-46, 2013.
- TODAFRUTA. **Informações sobre a cultura do maracujazeiro**. [S. l.: s. n.], 2017. Disponível em: < <http://www.todafruta.com.br/informacoes-sobre-a-cultura-do-maracujazeiro/> >. Acesso em: 10 jun. 2017.