

DETECÇÃO DE INIBIDORES DA GERMINAÇÃO, SIDERÓFOROS E COMPOSTOS VOLÁTEIS PRODUZIDOS POR RIZOBACTÉRIAS OBTIDAS DE MARACUJAZEIRO AMARELO

José Roberto Vieira Júnior¹; Rafael Aguiar Côrtes², Silvaldo Felipe da Silveira²; Cléberson de Freitas Fernandes¹; Maurício Reginaldo Alves dos Santos¹

¹Embrapa Rondônia, BR 364, km 5,5, C. Postal 406, 78900-970, Porto Velho-RO, e-mail: vieirajr@cpafro.embrapa.br;

²Universidade Estadual do Norte Fluminense, Av. Alberto Lamego, 2000, 28015-620, Campos dos Goytacazes-RJ.

ABSTRACT - Detection of germination inhibitors, siderophores and volatile compounds produced by rhizobacteria obtained from passion fruit

The objective of this work is to determinate if 92 rhizobacteria isolated from rizosphere of passion fruits plants (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) were capable to produce siderophores (SdT), inhibitors of germination compounds (IgT) and volatile compounds (VcT). Thus, VcT and the Kado & Heskett medium were added in Petri dishes and above that, was placed each rhizobacterial isolate. In the Petri dishes cap, was added BDA medium and inside was placed a disc of mycelia of the *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (Fop). The cap and the deep was united and stamped with parafilm. The dishes were incubated in BOD (24°C/ 10 days). The mycelia growth was evaluated daily. In the IgT, a suspension of spores of *Colletotrichum gloeosporioides* (Cog) ($1,5 \times 10^5$ spores $\times$ mL⁻¹) as well as a suspension of propagules of rhizobacteria ($OD_{540nm} = 0,4$). Both was deposited in glass slides. The slides were kept in BOD (24°C/12h) when the germination was evaluated. In the SdT, the bacterial isolates was transferred to plates contend a siderophore detection medium. After 24 h a concentrated solution of Ferric perchlorate was deposited above the bacterial growth. The brown color in the medium indicates that the siderophores were produced. From 92 isolates, only RZ-014, RZ-053 and RZ-017 produced volatile compounds, siderophores and inhibited the spores germination. This results indicate that the rhizobacteria produces more than one direct antagonism mechanism when in contact with the challengers pathogens. RZ-014 and RZ-053 were identified as being *Bacillus* sp. and RZ-017 as being *Pseudomonas* sp.

Keywords: *Passiflora edulis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *passiflorae*, *Colletotrichum gloeosporioides*, biological control, rhizosphere, plant growth promoting rhizobacteria.

Palavras-chave: *Passiflora edulis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *passiflorae*, *Colletotrichum gloeosporioides*, controle biológico, rizosfera, rizobactérias promotoras do crescimento de plantas.

INTRODUÇÃO

A cultura do maracujazeiro amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa*) tem sido uma das alternativas para o incremento do agronegócio da fruticultura no país, gerando renda e empregos nas áreas produtoras. Entretanto, a ocorrência de doenças durante o ciclo da cultura tem levado à redução do plantio e abandono de muitas lavouras. O uso excessivo de agrotóxicos para o controle dessas doenças, tem trazido graves problemas não só ambientais (contaminação de solo, lençóis freáticos, etc.) como de saúde pública (contaminação do produtor e dos consumidores). Como alternativa ao controle químico, tem sido testado em diversas culturas o uso de rizobactérias

promotoras do crescimento, como agentes de biocontrole de doenças (Chen et al., 1996, Kloepper, 1993, Silva et al., 2004, Romeiro et al., 2005). Dentre os mecanismos envolvidos no controle por rizobactérias, a produção de compostos tóxicos voláteis, a produção de inibidores de germinação e de crescimento micelial e, compostos sideróforos (compostos quelantes, que indisponibilizam o Ferro para outros microrganismos) são os mais conhecidos (Romeiro, 2007). O objetivo desse trabalho foi determinar se 92 isolados de rizobactérias, obtidos de rizosfera de planta de maracujazeiro amarelo sadias, são capazes de produzir esses compostos.

MATERIAL E MÉTODOS

Nos ensaios de inibição de germinação, foi preparada uma suspensão de esporos de *C. gloeosporioides* ($1,5 \times 10^5$ esporos $\times$ mL⁻¹) e uma suspensão de células de cada rizobactéria ($OD_{540nm}=0,4$). Depositou-se numa lâmina de vidro, 150 μ L de cada suspensão. A lâmina foi levada à incubadora tipo BOD por 12h. Após esse período, a porcentagem de esporos germinados foi avaliada. Nos ensaios de produção de compostos voláteis, no fundo de placa de Petri foi colocado meio de Kado e Heskett (Kado & Heskett, 1970). Sobre esse, repicou-se cada uma das rizobactérias. Na tampa, foi colocado meio BDA e sobre este, foi depositado um disco de micélio do fungo *F. oxysporum* as partes foram unidas e seladas com parafilme. As placas foram levadas para BOA por 10 dias (24°C). Avaliou-se diariamente o crescimento micelial do patógeno. Nos ensaios de produção de sideróforos, as bactérias foram repicadas para meio de detecção desse composto (Calvente et al. 2001). Após 24 horas, depositou-se sobre as colônias uma solução concentrada de perclorato férrico 1N. Após 30 segundos, se a bactéria fosse produtora, o meio se tornaria marrom-escuro. Em todos os ensaios o delineamento utilizado foi ao acaso, com três repetições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 92 isolados testados, 57 produziram compostos voláteis (Fig. 1-a). Desses somente RZ-053, RZ-014 e RZ-017 produziram sideróforos (Fig. 1-b) e inibiram a germinação de esporos (Fig. 1-c), concomitantemente. Neste trabalho, foi possível demonstrar que bactérias selecionadas de rizosfera de plantas de maracujazeiro amarelo podem atuar como agentes de biocontrole de doenças de plantas, muito embora as observações foram “in vitro”, até o momento. Foi possível observar que quando houve antagonismo, ele se deu por mais de uma via, o que é bastante interessante quando se pensa em produzir um agente de biocontrole, pois ele deve possuir amplo espectro (vários patógenos) e ter diferentes mecanismos de ação, dificultando o surgimento de populações de patógenos resistentes ou não competitivos (Romeiro, 2007). Considerando esse contexto, a utilização de substâncias obtidas a partir de rizobactérias selecionadas e cultivadas em laboratório apresenta um potencial promissor no controle de doenças de plantas. Além da maior praticidade, uma tecnologia dessa natureza teria vantagem de não importar o aspecto de “compatibilidade” da PGPR em relação à cultura de interesse, o que pode ser um fator condicionante quando se trabalha com a inoculação de rizobactérias. Nesse caso, o que importa é basicamente a atividade antimicrobiana das substâncias produzidas pelas PGPRs (Carvalho, 2004). Estes resultados demonstram a potencialidade do uso de rizobactérias no controle biológico de doenças do maracujazeiro amarelo.



Fig. 1.- Detalhe dos ensaios de produção de sideróforos (A), inibição de germinação de esporos (B) e produção de compostos voláteis (C).

REFERÊNCIAS

- Calvente, V.; Orellano, M. E. A simple agar plate assay for screening siderophore producer yeasts, **Journal of Microbiological Methods**, v. 47, p. 273-279, 2001.
- CARVALHO, G. A. **Efeito *in vitro* de filtrados de rizobactérias sobre Colletotrichum gloeosporioides penz. do cafeeiro**. 2004. 14 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- CHEN, Y. et al. The use of yield increasing bacteria (YIB) as plant growth-promoting rhizobacteria in Chinese agriculture. In: UTKHEDE, R. S.; GUPTA, V. K. (Ed.) **Management of soil born diseases**. Ludhiana: Kalyani Publishers, 1996. p. 165-184.
- KLOPPER, J. W. Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. In: METTING Jr, F. B. (Ed.). **Soil microbial ecology: applications in agricultural and environmental management**. New York: Marcel Dekker, 1993. p. 255-274.
- KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, v. 60, p. 969-979, 1970.
- ROMEIRO, R. S. et al. Macromolecules released by a plant growth-promoting rhizobacterium as elicitors of systemic resistance in tomato to bacterial and fungal pathogens. **Journal of Phytopathology**, v. 153, n. 1, p. 120-123, 2005.
- ROMEIRO, R. S. **Controle biológico de doenças de plantas fundamentais**. Viçosa: UFV, 2007. 384 p.
- SILVA, H. S. A. et al. Induction of systemic resistance by *Bacillus cereus*, against tomato foliar diseases under field conditions. **Journal of Phytopathology**, v. 152, n. 2, p. 371-375, 2004.