

ANTIBIOSE DIRETA DE RIZOBACTÉRIAS DE MARACUJAZEIRO AMARELO CONTRA FITOPATÓGENOS DA CULTURA

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, 28015-620, Campos dos Goytacazes-RJ

ABSTRACT - Direct antibiosis by rhizobacteria from passion fruit against culture phytopathogens

The objective of this work was to evaluate the *in vitro* effect of rhizobacteria (RZ) against the pathogens *Colletotrichum gloeosporioides* (Cog), *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (Fop) and *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (Xap). In this way, 92 RZ's from rhizosphere (soil and roots) of passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) were isolated and placed in Petri dishes with Kado & Heskett medium and incubated in BOD (28°C / 24h). After this period the RZ's were killed, exposed at UV light (320 nm / 40 min). One disc of mycelia was placed in center of each dish following incubation in BOD (10 days/ 24°C). Propagules of bacteria were added in fundent Kado & Heskett and this suspension was placed above rhizobacteria. The dishes were incubated in BOD (28°C / 24h). After this period, the diameter of inhibition halo was evaluated. From 92 isolated tested, only nine inhibited the growth of Xap, four inhibited Fop and six inhibited Cog. RZ-014, RZ-017 and RZ-053 inhibited all the pathogens. RZ-014 and RZ-053 had been identified as *Bacillus* sp. and RZ-017 as *Pseudomonas* sp. These preliminary results indicates the potentiality of rhizobacterias as agents of biocontrol and will be helpfull in the process of selection of antagonists for biological control of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* diseases.

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

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

INTRODUÇÃO

Apesar de o agronegócio do maracujá ser interessante do ponto de vista econômico, a ocorrência de doenças (como a antracnose, a podridão do colo e o crestamento bacteriano) durante o ciclo da cultura têm provocado a redução da produtividade, levando, em muitos casos, ao abandono de áreas de produção. O controle químico não tem sido uma alternativa viável, pois os poucos produtos registrados, com eficiência variável, são caros e prejudiciais ao ambiente e ao homem. Como alternativa ecológica, tem sido proposta a utilização do controle biológico de doenças de plantas pelo uso de rizobactérias promotoras do crescimento. Vários têm sido os trabalhos que mostram a eficiência do uso de rizobactérias no controle de doenças (Chen, 1996; Van Loon et al, 1998; Romeiro & Garcia, 2007).

Dentre os mecanismos envolvidos no biocontrole de doenças pelo uso de rizobactérias, destaca-se o antagonismo, que pode ocorrer de diversas formas. Entre eles destacam-se: a competição por nichos e nutrientes, o parasitismo, a predação, a produção de compostos voláteis e a produção de compostos de baixo peso molecular e que, em pequenas concentrações, inibem o crescimento de outros microrganismos. Este último fenômeno é conhecido como antibiose direta (Romeiro, 2001). Dessa forma, objetiva-se avaliar o efeito da antibiose direta sobre patógenos da cultura do maracujazeiro amarelo.

MATERIAL E MÉTODOS

Raízes e solo da rizosfera de plantas sadias de maracujazeiro amarelo foram coletados e levados para laboratório, onde inicialmente promoveu-se a extração das bactérias. Para tanto, 10 g de raízes foram colocadas em Erlenmeyer com 100 mL de solução salina 0,85%, sob agitação. Dessa suspensão, fez-se uma diluição seriada e as colônias surgidas foram repicadas para tubos com meio 523 de Kado e Heskett (Kado & Heskett, 1970). Após o crescimento em tubo, as bactérias foram repicadas de quatro em quatro, pontualmente e eqüidistantes entre si em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. As placas foram levadas à incubadora por 24h a 28°C. Em seguida, as células foram mortas com exposição à luz UV (320 nm/40 min). No centro de cada placa, colocou-se discos de micélio dos fungos. As placas foram incubadas em BOD, por dez dias a 24°C. Para *Xanthomonas* o procedimento foi semelhante, no que diz respeito às rizobactérias, diferindo-se a forma de se acrescentar o patógeno. Neste caso, repicou-se a *Xanthomonas* para um tubo de ensaio contendo 5 mL de meio Kado & Heskett líquido. Após, incubação a 28°C, por um período de 24h. O meio líquido contendo *Xanthomonas*, foi vertido em 200 mL de meio Kado & Heskett semi-sólido fundente (45°C). Agitou-se o Erlenmeyer para que as células bacterianas ficassem espalhadas por igual no meio para, em seguida, vertê-lo sobre o meio contendo as rizobactérias mortas sob UV. Após período de crescimento de dez dias, avaliou-se o diâmetro médio dos halos de inibição. O delineamento foi ao acaso, com três repetições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presença de halo de inibição foi o indicativo da antibiose. Dos 92 isolados testados, 9 foram capazes de promover antibiose contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap) (Fig. 1), 6 contra *Colletotrichum gloeosporioides* (Cg) (Fig. 2-a), 5 contra *Fusarium oxysporum* f.sp. *passiflorae* (Fop) (Fig. 2-b), sendo que a RZ-014, RZ-017 e RZ-053 foram capazes de inibir os 3 patógenos (Fig. 2-c). Isto indica que substâncias inibidoras que atuam na antibiose foram produzidas em quantidades suficientes para inibir o crescimento dos patógenos.

Bloemberg & Lugtenberg (2001) sugerem que a aplicação de suspensão de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas, por inoculação ou pulverização, tende a ser vantajosa, uma vez que possibilita reduzir substancialmente o uso de agroquímicos. Bactérias isoladas da rizosfera de uma determinada espécie de planta podem favorecer o crescimento de outras espécies vegetais (Melo & Valarini, 1995). Ao que tudo indica, a presença da rizobactéria viva junto à planta não é indispensável para que ocorra o controle de fitopatógenos, uma vez que esse benefício pode ser alcançado com a aplicação apenas das substâncias extraídas de culturas

rizobacterianas (Kupper et al., 2003). Embora preliminares, podemos concluir com esses resultados que as rizobactérias RZ-014, RZ-017 e RZ-053 têm grande potencial como agentes de biocontrole para as doenças do maracujazeiro-amarelo. Contudo, ensaios em campo e casa de vegetação ainda são necessários para confirmar a sua efetividade.

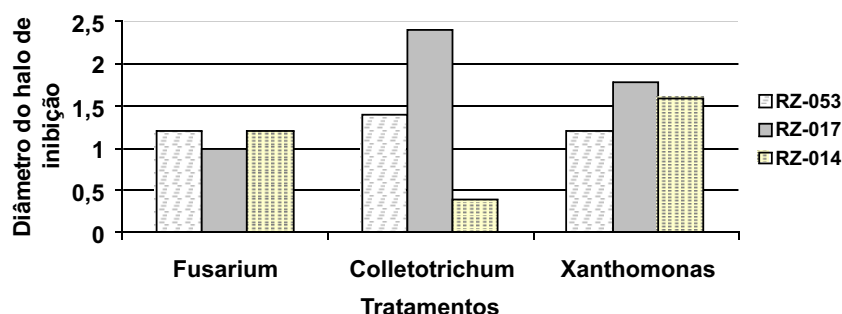


Fig. 1. Diâmetro médio dos halos de inibição das culturas de fitopatógenos nos ensaios de antibiose *in vitro* contra os isolados de rizobactérias que promoveram inibição.

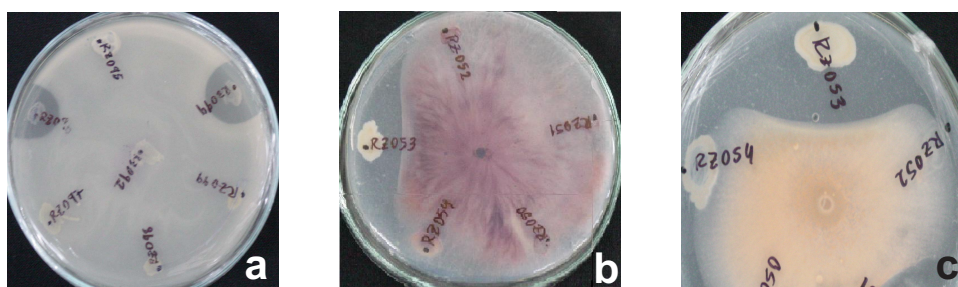


Fig. 2 (a, b e c). Visualização dos halos de inibição produzidos pelas rizobactérias contra os patógenos desafiantes.

REFERÊNCIAS

- BLOEMBERG, G. V.; LUGTENBERG, B. J. J. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. **Current Opinio in Plant Biology**, London, v. 4, n. 4, p 343-350, 2001.
- 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.
- KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, v. 60, p. 969-979, 1970.
- KUPPER, K. C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 3, p. 251-257, 2003.
- MELO, L. S.; VALARINI, P. J. Potencial de rizobactérias no controle de *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. Em pepino (*Cucumis sativum* L.). **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 52, n. 2, p. 326-330, maio/ago. 1995.
- ROMEIRO, R. S. **Métodos em bacteriologia de plantas**. Viçosa: UFV, 2001. 297 p.

ROMEIRO, R. S.; GARCIA, F. A. O. Metabólitos constituintes bacterianos como indutores de resistência em plantas a patógenos. In: RODRIGUES, F. A.; ROMEIRO, R. S. **Indução de resistência em plantas a patógenos**. Viçosa: UFV, 2007. 339 p.

VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M.; PIETERSE, C. M. J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, v. 36, p. 453-483, 1998.