

# Avaliação e identificação de *Pseudomonas* sp. e *Bacillus* sp. dois isolados de rizobactérias antagônicas a *Radopholus similis*.

Kaliane Sírío Araújo<sup>1</sup>; Celma Cardoso Peixoto<sup>2</sup>; Augusto César Moura da Silva<sup>3</sup>; Karoline Greice Viana Cardoso<sup>2</sup>; Harllen Sandro Alves da Silva<sup>4</sup>; Aldo Vilar Trindade<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Estudante do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia;

<sup>2</sup>Estudante do Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; <sup>3</sup>Estudante de Doutorado da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia;

<sup>4</sup>Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura

## INTRODUÇÃO

As rizobactérias PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria) são microrganismos que podem promover o desenvolvimento e crescimento de plantas e atuar no controle biológico de doenças. Bactérias dos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus* são amplamente conhecidas pela capacidade de atuarem no biocontrole de fitopatógenos, dentre esses, nematóides. Isso se deve, principalmente, pela produção direta de compostos tóxicos, alteração dos exsudatos radiculares ou da indução de resistência na planta hospedeira. Assim, o uso desses microrganismos como agentes de biocotnrole do *Radopholus similis*, causador de necroses radiculares, em bananeira, é um alternativa a ser estudada. Visando a identificação de isolados com potencial uso no controle de fitopatógenos, o emprego de técnicas moleculares torna-se uma ferramenta indispensável. Nesse sentido, a técnica de PCR (reação em cadeia da polimerase) é uma forma rápida e eficiente de caracterizar isolados promissores. Dessa forma, este estudo teve como objetivo avaliar o potencial de biocontrole *in vitro* das rizobactérias ao *R. Similis*, e identificar por meio de PCR, a prevalência dos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus* entre isolados pré-selecionados.

## METODOLOGIA

Extraíram-se metabólitos de 152 isolados; em eppendorf, adicionaram-se 150 µL do metabólito e 50 µL de suspensão aquosa com 10 nematóides, a 25 °C. Quantificou-se o número de nematóides mortos após 24 e 36 horas. Foram submetidos à técnica de PCR 13 isolados, com a extração do DNA bacteriano por meio da repicagem dos isolados para microtubos contendo 200 µL de tampão de

extração (0,05 M NaOH, 0,25 % SDS), seguido de tratamento térmico (20 min. à 100 °C), centrifugação (1 min. à 10000 rpm) e coleta do sobrenadante contendo o DNA. Em seguida, foram realizadas as reações de PCR com primers específicos para a identificação dos gêneros *Pseudomonas* (PSM<sub>G</sub> e 9-27) e *Bacillus* (B-K1/F e B-K1/R). Os produtos das ampliações foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1 %, e fotografados em transiluminador de UV e fotodocumentados. A análise foi realizada pela presença de banda específica para cada gênero bacteriano: *Pseudomonas* sp. (445 pb) e *Bacillus* (1114 pb).

## RESULTADOS

Dos 152 isolados, 23 apresentaram efeito tóxico a *R. similis* diferindo estatisticamente do tratamento controle. Destes foram selecionados 13 isolados (quatro de prata anã e cravo de defunto, três de prata comum, e um de crotalária), os quais propiciaram um índice de mortalidade dos nematóides entre 56,66 % e 100 %, em 24 horas, e entre 79,16 % e 100 %, em 36 horas. Destes, pode-se identificar sete isolados, dos quais quatro bactérias foram correspondentes ao gênero *Bacillus* (2TSA-PA, 3KB-PC, 7TSA-CD, 36TSA-PC), e três ao gênero *Pseudomonas* (4TSA-CD, 8KB-PA, 9KB-PA). Sabe-se que certas bactérias benéficas como as rizobactérias, quando dispensadas em plantas são capazes de promover o controle biológico de enfermidades por antagonismo direto, por indução de resistência ou por ambos os mecanismos, entre as mais comuns e que atuam de forma efetiva são as do gênero *Bacillus* e *Pseudomonas*. Resultados semelhantes foram observados neste trabalho, cujas bactérias estudadas apresentaram um elevado potencial de mecanismos de biocontrole do fitonematóide *R. similis*, e considerando a grande diversidade bacteriana encontrada na rizosfera, há uma prevalência dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* em relação a agentes de controle biológico do nematóide.

## CONCLUSÃO

Nos ensaios *in vitro*, as rizobactérias foram efetivamente antagônicas ao *R. similis*, e os gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* constituem a maioria dos isolados .