

ANTAGONISMO *IN VITRO* DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS CONTRA FUNGOS ASSOCIADOS À DOENÇAS DE TRONCO DE Videira

COMACHIO, L.B.¹; PACINI, B.A.H.²; TONELLO, J.C.³; ALMANÇA, M.A.K.⁴

RESUMO - As doenças fúngicas do tronco da videira são frequentemente associadas ao declínio e morte de plantas. Constantemente busca-se alternativas ao uso de produtos químicos na agricultura, e diversas pesquisas já apontaram espécies de *Bacillus* como eficientes agentes de controle biológico. O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial de bactérias endofíticas de videiras no controle de *Phaeoacremonium parasiticum* e *Botryosphaeria dothidea*, através de antagonismo *in vitro*. Utilizou-se placas de Petri contendo meio de cultura BDA sem antibiótico. No centro da placa foi inoculado um disco de 5 mm contendo o fungo e em dois lados opostos, uma suspensão bactérias na forma de estrias. A avaliação foi realizada medindo-se o diâmetro da colônia do patógeno com um paquímetro digital. As médias dos resultados obtidos foram analisadas através do teste de Tukey 5%. Para os dois fungos, algumas espécies de *Bacillus* mostraram-se eficientes biocontroladores, apresentando reduções de até 70% contra o *Phaeoacremonium spp.*, e 50% para a *Botryosphaeria spp.*

PALAVRAS-CHAVE: Crescimento micelial. Biocontrole. Doenças de tronco.

INTRODUÇÃO

Doenças fúngicas do tronco da videira são frequentemente associadas ao declínio e morte de vinhedos, um dos principais fatores de limitação da expansão da viticultura no Estado do Rio Grande do Sul (ALMANÇA et. al., 2013). Dentre os inúmeros agentes causais podemos destacar os fungos do gênero *Phaeoacremonium*, associados à Doença de Petri, e *Botryosphaeria*, frequentemente relacionadas à Podridão-Descendente (GARRIDO et al., 2004). Constantemente busca-se alternativas ao uso de produtos químicos na agricultura para

¹Bolsista IFRS Campus Bento Gonçalves, Av. Osvaldo Aranha, 540, CEP 95.700-206, Bento Gonçalves, RS. Fone: (54)9909-7212; comachiolucas@gmail.com

²Bolsista IFRS Campus Bento Gonçalves, Av. Osvaldo Aranha, 540, CEP 95.700-206, Bento Gonçalves, RS

³Bolsista Ballagro, IFRS Campus Bento Gonçalves, Av. Osvaldo Aranha, 540, CEP 95.700-206, Bento Gonçalves, RS

⁴Eng.º Agrônomo, Prof. Doutor, IFRS Campus Bento Gonçalves, Av. Osvaldo Aranha, 540, CEP 95.700-206, Bento Gonçalves, RS.

o controle de doenças. Neste contexto, bactérias do gênero *Bacillus* têm seu potencial de biocontrole comprovado por diversas pesquisas (PAZ, 2009). O objetivo deste trabalho foi testar a eficiência de isolados de “*Bacillus spp*” obtidos de plantas da Serra Gaúcha no controle de fungos Fitopatogênicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente, 30 amostras de bactérias, isoladas de videiras da Serra Gaúcha pelo Laboratório de Fitopatologia do IFRS - Campus Bento Gonçalves foram cultivadas em tubos de ensaio contendo 20 mL de meio *Tryptone Soya Broth* (TSB), em incubadora para Demanda Bioquímica de Oxigênio (B.O.D.), durante três dias, a 28°C. O isolado *Phaeoacremonium parasiticum* (CMM-4320 da coleção CMM/UFRPE) foi incubado em B.O.D., durante 15 dias. Da mesma forma, o isolado de *Botryosphaeria dothidea* (TD 324/2015), pertencente à Micoteca do Laboratório de Fitopatologia do IFRS - Campus Bento Gonçalves, foi cultivado em B.O.D, durante três dias.

Na montagem do confronto, utilizou-se placas de Petri contendo meio de cultura Ágar Batata Dextrose (BDA) sem antibiótico. No centro da placa foi inoculado um disco de 5 mm contendo micélios do fungo e em dois lados opostos ao patógeno, a 2 cm das bordas foi inoculada uma suspensão de 10 µL de bactérias na forma de estrias de 2 cm. Trabalhou-se com 5 repetições por tratamento. Como controle foi inoculado apenas um disco de 5 mm do fungo, sem acréscimo de nenhuma bactéria (adaptado de Benhamou & Chet, 1993).

A avaliação foi realizada através da medição do diâmetro da colônia do patógeno, com o auxílio de um paquímetro digital. No confronto com *Phaeoacremonium spp.*, as medições iniciaram 20 dias após a inoculação, devido ao lento crescimento do fungo., enquanto que para a *Botryosphaeria spp.*, as análises tiveram início logo no dia seguinte à inoculação. As médias dos resultados obtidos foram analisadas através do teste de Tukey 5% pelo programa SPSS Statistic.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste de antagonismo com *Phaeoacremonium parasiticum*, com exceção das bactérias “6”, “24” e “26”, que não diferiram estatisticamente do controle, todas as outras apresentaram

efeito significativo sobre o crescimento micelial do patógeno. Portanto, 90% dos isolados selecionados são eficientes agentes de controle biológico (fig. 1). Destacando-se as bactérias “1” e “30”, cuja restrição do crescimento micelial alcançou valores de aproximadamente 70% quando comparadas com a testemunha.

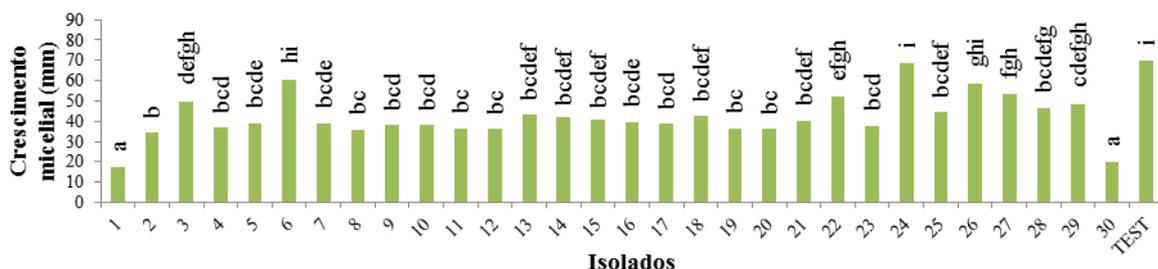


Figura 1. Crescimento micelial do diâmetro do fungo *Phaeoacremonium parasiticum* submetido à teste de antagonismo com 30 diferentes bactérias endofíticas isoladas de videiras da Serra Gaúcha.

O índice de isolamento de bactérias antagonistas foi superior em comparação com PAZ (2009) que obteve índices de 61,9 % e 71,4 % em confronto com isolados de *Botrytis cinerea* e *Cylindrocladium gracile*, respectivamente. Também foi muito superior à Procópio (2004) que ao isolar e testar bactérias endofíticas de eucalipto contra *Cylindrocladium scoparium* e *B. cinerea* obteve 13,6% de isolados efetivos na inibição desses patógenos.

Nos testes com *Botryosphaeria dothidea*, 83 % das bactérias não apresentaram redução significativa no crescimento do patógeno, e não diferiram estatisticamente do controle (fig.2). As bactérias “1”, “21”, “23”, “27” e “30” foram as únicas a apresentar diferença significativa, novamente destacando-se a bactéria “30”, que através da formação de halos, impediu o crescimento micelial em aproximadamente 50% em comparação com a testemunha.

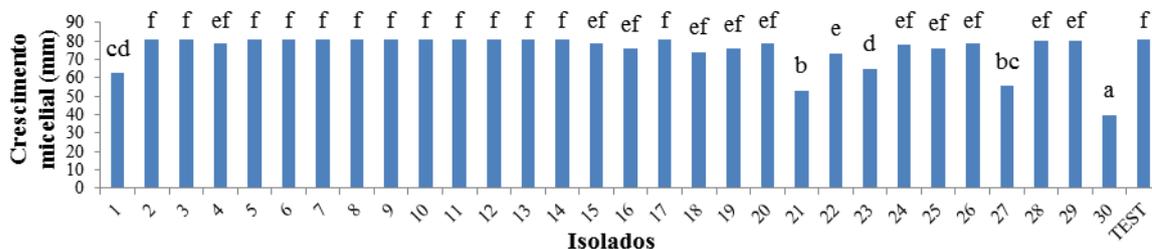


Figura 2. Crescimento micelial do diâmetro do fungo *Phaeoacremonium parasiticum* submetido à teste de antagonismo com 30 diferentes bactérias endofíticas isoladas de videiras da Serra Gaúcha.

O índice de bactérias antagonistas para *B. dothidea*, neste experimento, foi de 17% com resultados semelhantes à Procópio (2004) que obteve 13,6% de isolados com potencial de controle. Pesquisas apontam que bactérias podem inibir fungos por diversos mecanismos

como a produção de compostos inibitórios, produção de enzimas relacionadas ao micoparasitismo e competição por espaço e nutrientes (NETO et al., 2002).

CONCLUSÃO

Conclui-se que bactérias endofíticas de videiras possuem potencial de antagonismo *in vitro* contra fungos associados à doenças do tronco da videira, constituindo uma possível ferramenta para a agricultura.

REFERÊNCIAS

ALMANÇA, M. A. K.; ABREU, C. M.; SCOPEL, F. B.; BENEDETTI, M.; HALLEEN, F.; CAVALCANTI, F. R. **Evidências morfológicas da ocorrência de *Phaeomoniella chlamydospora* em videiras no estado do Rio Grande do Sul.** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2013. (Embrapa Uva e Vinho. Comunicado Técnico).

BENHAMOU, N. & CHET, I. Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: ultrastructure and gold cytochemistry of the mycoparasitic process. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 83, p.1062-1071, 1993.

GARRIDO, L.R., SÔNEGO, O.R & GOMES, V.N. Fungos associados com o declínio e morte de videiras no Estado do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira** 29:322-324. 2004.

NETO, P.A. de S. P.; AZEVEDO, J.L. & ARAÚJO, W.L. Microrganismos endofíticos: interação com plantas e potencial biotecnológico. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v.29, p. 62-76, 2002.

PAZ, I. C. P. **Bactérias endofíticas de eucalipto e potencial uso no controle de doenças e promoção de crescimento de mudas em viveiros florestais.**112 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

PROCOPIO, R. E.L. **Diversidade de bactérias endofíticas de *Eucalyptus spp.* e avaliação do seu potencial biotecnológico.** 2004. 68 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2004.