

SOBREVIVÊNCIA DE FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. CUBENSE EM PSEUDOCAULE DE BANANEIRA APÓS O TRATAMENTO COM CÉLULAS BACTERIANAS

Autores: LUCAS SERAFIM BARBOSA VELOSO, LUCAS LÉLIS CARVALHO, MARIA JOSIANE MARTINS, BRUNA HANIELLE CARNEIRO SANTOS, ADELICA APARECIDA XAVIER, REGINA CÁSSIA FERREIRA RIBEIRO

Introdução

Murcha de Fusarium, comumente chamada de mal-do-Panamá ou fusariose, é uma doença causada pelo fungo mitosporico *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (*foc*). A doença é encontrada em todo o território nacional, podendo causar perdas de 100% da produção para cultivares suscetíveis. A severidade com que a doença ocorre no campo é determinada por uma série de fatores associado a medidas de manejo da cultura (KIMATI et. al., 2005). Uma das características ecológicas deste fungo, que dificulta o controle da doença no campo, é sua capacidade de sobrevivência no solo associado a restos culturais por até 30 anos no ambiente. Após o ciclo produtivo da bananeira o pseudocaule é cortado e permanece no solo próximo as plantas selecionadas para o próximo ciclo produtivo. Uma vez infectada, esses restos constituem-se em fonte de inóculo para essas plantas em desenvolvimento no seu em torno. Desta forma, esforços no sentido de manter o equilíbrio das condições físicas, química e biológicas são de suma importância para o manejo desta doença. A pesquisa científica tem focado seus esforços em medidas de manejo de resistência, cultural e biológico. Dentro da linha de estudo de controle biológico, o uso de bactérias endofíticas vem ganhando destaque. Segundo M'PIGA et al. (1997) microrganismos endofíticos apresentam capacidade de biocontrole, devido a vários mecanismos, como a produção de substâncias deletérias aos fitopatógenos ou a indução de resistência as plantas.

Assim, esse trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a capacidade de sobrevivência de *foc* em pseudocaule após a aplicação de bactérias oriundas de *Azadiractha indica*.

Material e métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Microbiologia, Fitopatologia e Nematologia da Universidade Estadual de Montes Claros- UNIMONTES- campus Janaúba. Foi utilizado o isolado 124 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC) obtido da micoteca do próprio laboratório. O isolado foi obtido de um bananal do município de Jaíba-MG. As bactérias utilizadas no presente trabalho foram obtidas de isolamento epifítico e de extrato de folhas de *Azadiractha indica*, pertencentes à bacterioteca do Laboratório de Fitopatologia da UNIMONTES (Tabela 1).

O fungo foi multiplicado em placas de Petri contendo meio BDA (Batata Dextrose e Ágar) incubadas em câmara B.O.D. a 25°C, em escuro contínuo por sete dias. Após este período, estimou-se a produção de esporos, adicionando 40 mL de solução de Tween 80 a 0,05%. A suspensão foi filtrada em uma gaze esterilizada, e a concentração de esporos calibrada em hemacitômetro sob microscópio de luz para 1×10^5 microconídios/mL.

Para o preparo das suspensões bacterianas, as bactérias isoladas foram cultivadas em placas de Petri contendo meio TSA (trypticase soy agar), por um período de 48 horas em temperatura de 28°C. Em seguida, em câmara de fluxo, as suspensões foram obtidas adicionando-se sobre as colônias bacterianas, 1 mL de solução salina esterilizada e com auxílio de uma alça de Drigalski as células bacterianas colocadas em suspensão. A concentração de células bacterianas foi ajustada (DO = 1,0 ABS, $\lambda = 540$ nm).

Foram coletados discos de 1 cm de diâmetro de pseudocaule de bananas da cultivar Prata com o auxílio de um furador metálico. Os discos foram autoclavados três vezes com o intervalo de 24 horas consecutivas, e em seguida foram dispostos em placa de Petri contendo algodão umedecido. Cada placa recebeu quatro discos e constituiu uma unidade avaliação. Em cada disco foi aplicado 20 μ L da suspensão de *foc*, anteriormente, e foram incubados por sete dias em temperatura ambiente. Decorrido os sete dias foram quantificados os microconídios, os macroconídios e os clamidósporos de dois discos de cada placa, e nos dois discos de pseudocaule restantes, foram aplicados 20 μ L da suspensão bacteriana, onde novamente foram incubados em temperatura ambiente por sete dias e novamente foi quantificado os microconídios, os macroconídios e os clamidósporos.

O ensaio foi montado em delineamento experimental inteiramente casualizado, tendo cinco tratamentos sendo cada tratamento referente a utilização de uma bactérias diferente, com cinco repetições, foi feita a discriminação da testemunha. Calculou-se a taxa de redução ou incremento de inóculo dos 7 aos 14 dias. Os dados foram submetidos à análise de variância e comparação entre as médias pelo teste de Tukey, a 5% de significância, utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

Resultados e discussão

De acordo com a tabela 2, pode-se observar que houve efeito dos isolados bacterianos NIM 13, NIM 8 e NIM 3 em relação ao número de microconídios produzido sem discos de pseudoacale colonizado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*. Para a produção de macroconídios e clamidósporos estes isolados não diferiram da testemunha (Tabela 2).

Os isolados NIM 3, NIM 13 e NIM 8 proporcionaram uma redução na produção macroconídios de aproximadamente 79%, 76% e 37% respectivamente. Em relação ao incremento de microconídios os mesmos isolados apresentaram uma redução de 19%, 42% e 23% respectivamente (Figura 1). Já os isolados EPI 14 e NIM 15 não apresentaram efeitos inibitórios quanto à redução de macroconídios produzidos pelo fungo (Figura 1). Shiomí et al (2008), estudando a seleção de bactérias endofíticas do milho com ação antagonista a fitopatógenos, encontrou taxas de inibição entre 32 % e 53,8 %.

Martins, 2013 estudando alguns desses isolados verificou redução da germinação dos esporos de foc na presença de células bacterianas isoladas do nim.

Dos isolados que se destacaram no presente trabalho, é conhecida a ação antagonista a fitopatógenos de *Bacillus* sp. tanto em testes *in vitro* como em plantas (SHIOMI et al., 2006). Alguns trabalhos demonstraram a capacidade em produzir enzimas extracelulares como glucanase, protease e quitinase, que são capazes de degradar a parede celular de fitopatógenos (HIRASAWA et al., 2006).

Conclusão/Conclusões/Considerações finais

A aplicação de bactérias oriundas de *Azadirachta indica* reduz a sobrevivência de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* em pseudoacale.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio oriundo da FAPAMIG para a realização deste trabalho

Referências bibliográficas

- HIRASAWA, K.; UCHIMURA, K.; KASHIWA, M.; GRANT, W.; ITO, S.; KOBAYASHI, T.; HORIKOSHI, K. Salt-activated endoglucanase of a strain of alkaliphilic *Bacillus agaradhaerens*. *Antonie van Leeuwenhoek*, v.89, n.2, p.211-219, 2006.
- KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. & CAMARGO, L.E.A. ed. Manual de Fitopatologia. Volume 2. Doenças das Plantas Cultivadas. 4ª Edição. Editora Agronômica Ceres Ltda. São Paulo. 2005 126-128p.
- MARTINS, I. P. S. Bactérias de nim no controle do complexo meloidogyne x fusarium em bananeira. 2013. 99p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal no Semi-árido). Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, 2013.
- M'PIGA, P.; BÉLANGER, R. R.; PAULITZ, T. C.; BENHAMOU, N. Increased resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato plants treated with the endophytic bacterium *Pseudomonas fluorescens* strain 63-28. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.50, n. 5, p. 301-320, 1997
- SHIOMI, H.F.; SILVA, H.S.A.; MELO, I.S.; NUNES, F.V.; BETTIOL, W. Bioprospecting endophytic bacteria for biological control of coffee leaf rust. *Scientia Agricola*, v.63, n.1, p.32-39, 2006.
- SHIOMI, H. F.; MELO, I.S.de.;MINHONI, M. T. de. A. Seleção de bactérias endofíticas com ação antagonica a fitopatogenos. *Scientia Agraria*, Curitiba, v.9, n.4, p. 535-538,2008.



Tabela 1. Identificação de isolados bacterianos epifíticos (EPI) e de extratos de *Azadiractha indica* (NIM).

E value	Identidade	Organismo mais relacionado	Acesso na bacterioteca
0,0	98%	<i>Bacillus subtilis</i>	NIM 8
0,0	99%	<i>Bacillus pumilus</i>	NIM 15
0,011	100%	<i>Methylobacterium</i> sp.	NIM 3
0,0	99%	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	NIM 13
0,0	99%	<i>Bacillus subtilis</i>	EPI - 14

Tabela 2. Número de unidades propagativas produzidas em discos de pseudocaule colonizado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* e tratados com diferentes isolados de bactérias

Isolado	Microconídios	Macroconídios	Clamidósporos
(Nim 3) <i>Methylobacterium</i> sp	1,49 x 10 ⁶ A	0,77 x 10 ⁴ A	0,00 x 10 ⁴ AB
(Nim 8) <i>Bacillus subtilis</i>	1,48 x 10 ⁶ AB	2,50 x 10 ⁴ AB	0,50 x 10 ⁴ AB
(Nim 13) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1,09 x 10 ⁶ AB	0,30 x 10 ⁴ A	1,10 x 10 ⁴ A
(Epi 14) <i>Bacillus subtilis</i>	1,96 x 10 ⁶ B	4,00 x 10 ⁴ B	2,00 x 10 ⁴ B
(Nim 15) <i>Bacillus pumilus</i>	2,74 x 10 ⁶ C	4,30 x 10 ⁴ B	1,40 x 10 ⁴ AB



Testemunha	5,46 x 10 ⁶ D	1,30 x 10 ⁴ A	1,40 x 10 ⁴ AB
Cv	14,38	52,96	52,91

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade.

Image not found or type unknown

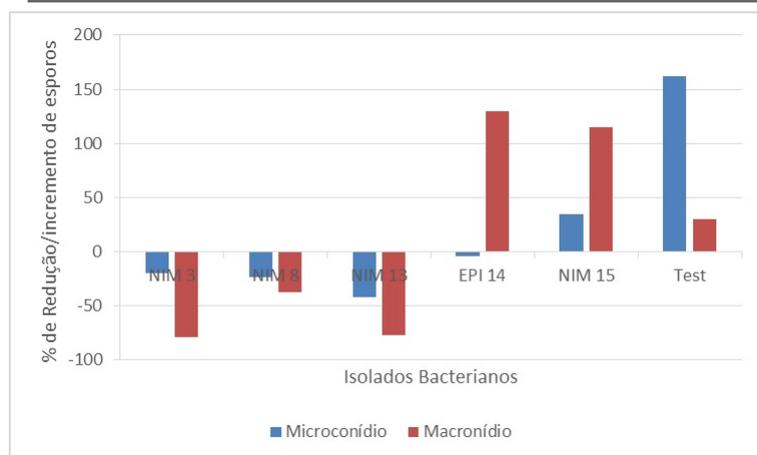
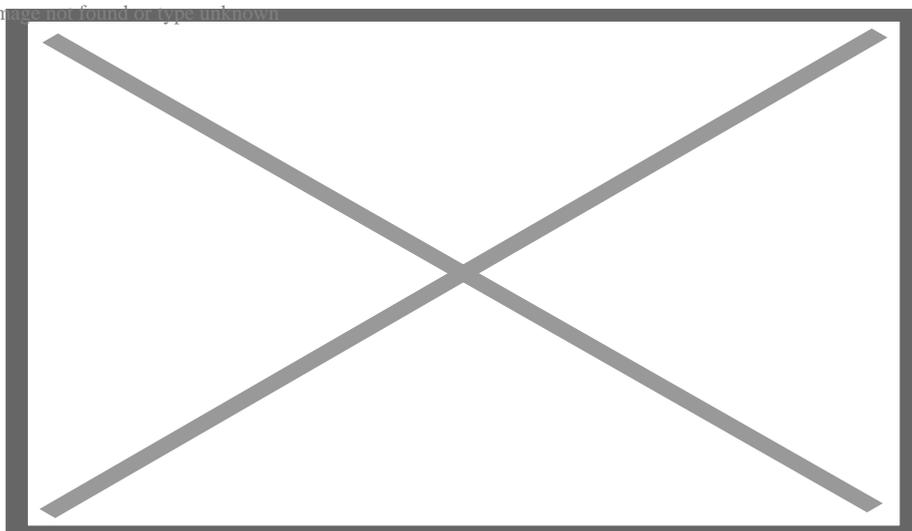


Figura 1. Porcentagem de redução ou incremento de micro e macroconídeo produzidos em discos de pseudocaule previamente colonizado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e tratados com diferentes isolados de bactérias.