

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE RESÍDOS SÓLIDOS

DANIELA PIMENTEL RODRIGUEZ¹; GABRIELA XAVIER GIACOMINI²;
GLAUCIA DE FIGUEIREDO NACHTIGAL²; GUSTAVO SHIEDECK³

¹ Doutoranda, Universidade Federal de Pelotas PPGSPAF – danip.rodriguez@hotmail.com

² Doutoranda, Universidade Federal de Pelotas PPGQUÍMICA – gabrielaxgiacomini@gmail.com

² Pesquisadora, Embrapa Clima Temperado - glaucia.nachtigal@embrapa.br

³ Pesquisador orientador, Embrapa Clima Temperado – gustavo.schiedeck@embrapa.br

1. INTRODUÇÃO

A prospecção de microrganismos com capacidade de estabelecer associações eficientes com vegetais e de estratégias para maximizar essas ações tem sido alvo de estudo nas últimas décadas. O investimento em tecnologias ambientalmente corretas e economicamente viáveis é essencial para ruptura do atual modelo de produção predominante, baseado no uso de insumos agrícolas, que demandam alto custo energético e de recursos naturais não renováveis (URQUIAGA et al., 1999).

Buscar alternativas que aumentem a eficiência metabólica das plantas, privilegiando a adubação orgânica, a partir de resíduos orgânicos, e o uso de microrganismos que potencializem a absorção, fixação e solubilização de nutrientes presentes no solo, é fundamental para a sustentabilidade dos agroecossistemas. Neste sentido, os microrganismos que compõem os resíduos orgânicos podem fornecer informações úteis capazes de gerar benefícios econômicos e estratégicos para os agricultores familiares. Além disso, as comunidades microbianas presentes nos resíduos orgânicos podem atuar como importantes supressores de agentes patogênicos das plantas (MEHTA et al., 2014).

Bactérias são microrganismos com alto potencial para síntese de metabólitos antifúngicos, notadamente espécies como *Pseudomonas* e *Bacillus* que destacam-se pela produção de antibióticos e controle biológico de várias doenças das culturas. Pathma e Sakthivel (2013,) trabalhando com resíduos vegetais e esterco de cabra, isolaram um total de 193 bactérias com potencial antagonico a fungos fitopatogênicos. As bactérias pertenciam principalmente aos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Microbacterium*.

Este trabalho objetiva determinar a atividade antifúngica de isolados bacterianos oriundos de resíduos sólidos de propriedade agrícola com foco na produção de alimentos orgânicos expressa pela antibiose em confronto de cultivos.

2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Estação Experimental Cascata, Pelotas - RS. Foram avaliados dois isolados bacterianos selecionados de resíduos orgânicos e dois isolados fúngicos, pertencentes à coleção de Microrganismos de Interesse ao Controle Biológico de Pragas (Tabela 1). A origem dos isolados fúngicos e bacterianos utilizados constam da Tabela 1. Para obtenção de culturas puras dos isolados fúngicos e bacterianos, utilizou-se meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) e meio de cultura NSA (Nutriente-Sacarose-Ágar), respectivamente.

Tabela 1 - Identificação dos isolados utilizados e respectiva procedência de isolamento.

Isolados Bacterianos		
Isolados	Habitat	Identificação
CPACT#932	Composto orgânico	<i>Bacillus spp.</i>
CPACT#941	Húmus jovem	<i>Pseudomonas spp.</i>
Isolados Fúngicos		
	Habitat	
CPACT#519	Haste da soja	<i>Fusarium spp.</i>
CPACT#522	Folhas de Repolho	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>

A avaliação da antibiose foi efetuada *in vitro* pela produção de compostos não voláteis quando do pareamento de isolados bacterianos e fúngicos. Os isolados CPACT#519 e CPACT#522 permaneceram em câmara de crescimento tipo BOD sob, por sete dias. Os isolados CPACT#941 e CPACT#932 foram repicados pelo método de risca paralelas em placas de Petri contendo meio NSA e incubados a 28°C, no escuro, por 24 horas. Após 24 horas de crescimento discos de 5 mm de dos isolados fúngicos, cultivados previamente por sete dias à temperatura de 25°C ± 2°C, no escuro, foram dispostos no centro das placas com o cultivo bacteriano. Como testemunha, um disco de micélio foi semeado no centro de uma placa de Petri contendo meio NSA, sem o crescimento prévio dos isolados bacterianos. As placas foram então incubadas de acordo com as condições de crescimento para *S. sclerotiorum* e *F. solani*, sob temperatura de 25°C ± 2°C, no escuro. Foram determinadas quatro repetições para cada isolado fúngico avaliado. As avaliações ocorreram por meio da ocorrência de halo de inibição em relação ao crescimento micelial de *S. sclerotiorum* e *Fusarium spp.*

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos no experimento foi observada inibição do crescimento micelial de *Fusarium spp.* e *S. sclerotiorum* ocasionada pelo isolado bacteriano de *Bacillus spp.* (CPACT#932). Tal inibição indica a capacidade de produção de compostos não voláteis e hidrossolúveis.

Ao considerar a potencialidade dos microrganismos presentes nos resíduos orgânicos, vários pesquisadores ao longo dos anos indicam a presença de reguladores de crescimento de plantas, tais como auxinas, giberelinas, citocininas e antibióticos (KRISHNAMOORTHY e VAJRANABHIAH 1986; GRAPPELLI et al., 1987; MUSCOLO et al., 1999; JIAN et al., 2007). Ainda que os testes de antagonismo *in vitro* nem sempre apresentem o mesmo resultado *in vivo* (FREITAS; PIZZINATTO, 1991), permitem uma primeira seleção a partir de um grande número de isolados, em um curto espaço de tempo (LUCON; MELO, 1999). Dentre a diversidade de metabólitos antifúngicos produzidos por *Bacillus spp.* encontram-se os lipopeptídeos das famílias da bacilomicina, mersacidina, surfactina, iturina, fengicina, que embora possuam semelhanças estruturais, diferem em alguns aspectos biológicos em relação à sua atividade (STEIN, 2005).

Neste sentido, os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com XU et al. (2013) que descrevem a capacidade de *Bacillus spp.* agir significativamente por antibiose, através da produção de metabólitos secundários e, ainda, por parasitismo e competição. Além disso, *Bacillus spp.* destacam-se também pela produção de outros importantes metabólitos como ácido cianídrico (HCN), sideróforos (YU et al., 2010), enzimas hidrolíticas (SENTHILKUMAR et al.,

2009). Deste modo, ensaios *in vitro* serão conduzidos com o isolado CPACT#932, no intuito de determinar o mecanismo de ação envolvido no biocontrole.

4. CONCLUSÕES

O isolado de *Bacillus* sp. (CPACT#932) foi capaz de inibir o crescimento micelial de *Fusarium* spp. e *S. sclerotiorum*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FREITAS, S.S.; PIZZINATTO, M.A. Interações de *Pseudomonas* sp. e *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* na rizosfera de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*). **Summa Phytopathology**. n. 17, p:105-112, 1991.

GRAPPELLI, A.; GALLI, E.; TOMATI, U. Earthworm casting effect on *Agaricus bisporus* fructification. **Agrochimica**, v. 2, p:457– 462, 1987.

LUCON, C.M.M.; MELO, I.S. Seleção de rizobactérias antagônicas a *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, em tubérculos de batata. **Summa Phytopathology**.n 25, p:132-136, 1999.

KRISHNAMOORTHY, R. V.; VAJRANABHIAH, S. N. Biological activity of earthworm casts: An assessment of plant growth promoter levels in casts. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences Animal Science**, v. 95, p. 341–35, 1986.

MEHTA, C.M.; PALNI, U.; FRANKE-WHITTLE, I.H.; SHARMA, A.K. Compost: Its role, mechanism and impact on reducing soil-borne plant diseases. **Waste Management**, v. 34, p. 607– 622, 2014.

MUSCOLO, A.; BOVALO, F.; GIONFRIDDO, F.; NARDI, S. Earthworm humic matter produces auxin-like effect on *Daucus carota* cell growth and nitrate metabolism. **Soil Biol Biochemistry**. n. 31, p:1303–1311, 1999.

SENTHILKUMAR, M.; SWARNLAKSHMI, K.; GOVINDASAMY, V.; LEE Y, K.; ANNAPURNA, K. Biocontrol potential of soybean bacterial endophytes against charcoal rot fungus *Rhizoctonia bataticola*. **Current Microbiology**, v. 58, p. 288-93, 2009.

URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M.; NEVES, M. C. P. A necessidade de uma revolução mais verde. In: **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Lavras, 1999.

YU, X.; AI, C.; XIN, L.; ZHOU, G. The siderophore producing bacterium, *Bacillus subtilis* CAS15, has a biocontrol effect on *Fusarium* wilt and promotes the growth of pepper. **European Journal of Soil Biology**, v. 47, p. 138-145, 2010.

STEIN, T. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. **Molecular Microbiology**, v. 56, p. 845-857, 2005.

PATHMA, J.; SAKTHIVEL, N. Molecular and functional characterization of bacteria isolated from straw and goat manure based vermicompost. **Applied Soil Ecology**, n. 70, p:33–47, 2013.



XU, Z.; SHAO, J.; LI, B.; YAN, X.; SHEN, Q.; ZHANG, R. Contribution of bacillomycin Din *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 to antifungal activity and biofilm formation. **Applied Environmental Microbiology**, v. 79, p. 808-815, 2013.