

## Prospecção de comunidade bacteriana para biocontrole de *Colletotrichum sublineolum*, agente causal da antracnose do sorgo

Evani S. Duarte<sup>1</sup>, Naira R. F. Assis<sup>2</sup>, Fabíola F. S. L. Chicata<sup>2</sup>, Rodrigo V. Costa<sup>3</sup>, João. H. M. Viana<sup>3</sup> e Ivanildo E. Marriel<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Bióloga, bolsista BAT II FAPEMIG/Embrapa Milho e Sorgo

<sup>2</sup> Estagiário, Embrapa Milho e Sorgo

<sup>3</sup> Pesquisador, Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424, Km 65Cx. Postal. 151, Sete Lagoas

Palavras-chave: biocontrole, bactérias, antracnose, atividade antagonista, *Sorghum bicolor*

### Introdução

Nas duas últimas décadas, a cultura do sorgo apresentou crescimento médio anual de 32% na produtividade de grãos, sendo utilizado principalmente na formulação de ração animal (CONAB, 2010). Dentre os fatores limitantes na produção desta cultura no Brasil, encontram-se as doenças da parte aérea das plantas, com destaque para a antracnose, cujo agente causal, *Colletotrichum sublineolum* Hann. Kabát et Bub. (syn. *C. graminicola* (Ces.) G.W. Wils.), pode infectar folhas, colmos e panículas (FREDERIKSEN; ODVODY, 2000; COSTA et al., 2003;). Sob condições ambientais favoráveis, a doença pode causar, em cultivares suscetíveis, reduções consideráveis de produção e de qualidade das sementes ou grãos (CASELA et al., 2006).

A principal medida de manejo da doença é o plantio de cultivares geneticamente resistentes (NGUGI et al., 2000; MOORE et al., 2009). No entanto, devido à alta variabilidade do patógeno e à sua alta capacidade de multiplicação, tem-se observado uma rápida adaptação desse organismo aos genes de resistência da planta hospedeira. Por conseguinte, o controle da doença tem sido feito com o uso de insumos químicos que, não raramente, resultam em altos custos ambientais e econômicos (COSTA et al., 2009). A ausência de especificidade e os riscos para a saúde humana e para o ambiente, apresentados pelos defensivos agrícolas sintéticos, evidenciam a necessidade de esforços de pesquisa direcionadas ao desenvolvimento de sistemas alternativos de controle desta doença como, por exemplo, o controle biológico, que atende aos preceitos de agricultura sustentável.

Dentre os possíveis agentes para o biocontrole de doenças, destacam-se as bactérias, que são encontradas naturalmente em elevada diversidade no solo e que apresentam atividades antagonistas contra outros componentes da comunidade microbiana (GHINI; NAKAMURA, 2001). Diversas espécies de bactérias são reconhecidamente produtoras de antibióticos e outras substâncias, que quando testadas *in vitro*, podem apresentar atividades antagonistas ao desenvolvimento de fungos (BRESSAN; FIGUEIREDO, 2003). Os testes de antagonismos *in vitro* permitem a avaliação de uma grande população de microrganismos, em tempo curto, permitindo a prospecção de número elevado de isolados.



O presente trabalho teve por objetivo avaliar e caracterizar isolados de bactérias quanto a sua atividade antagonista contra *C. sublineolum*.

## Material e Métodos

Os microrganismos avaliados pertencem à Coleção de Cultura de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Milho e Sorgo (CCMMMS) e da Coleção de Fitopatógenos da Embrapa Milho e Sorgo (CFMS).

### *Ativação e testes de pureza das culturas de microrganismos:*

As culturas das estirpes de bactérias, conservadas em ágar batata sólido – BDA (Batata 200 g L<sup>-1</sup>; Dextrose, 20 g L<sup>-1</sup> e ágar, 15 g L<sup>-1</sup>) sob óleo mineral esterilizado, foram reativadas em placas de Petri contendo meio de cultura BDA. Utilizou-se o método de estrias para a obtenção de colônias puras dos isolados, para os testes de atividade antagonista.

Foram avaliados 42 isolados de bactérias, obtidas de amostras de solo, sob diversos tipos de cobertura vegetal, contra três raças do *C. sublineolum* (denominadas raça CFMSs 84, 91 e 98), isolados previamente de plantas de milho e sorgo cultivados em solo de cerrado de Sete Lagoas, MG.

### Testes da atividade antagonistas das estirpes de bactérias contra *C. sublineolum*

A avaliação do potencial do controle in vitro, de 42 isolados de bactérias contra as três raças de fitopatógenos, foi realizada através do método de culturas pareadas, que consiste na confrontação direta dos microrganismos em meio de cultura. Um disco de micélio do fitopatógeno foi inserido no centro da placa de Petri, contendo meio BDA. Em quatro pontos equidistantes do disco do micélio, foram adicionados 10 µL de suspensão de cada isolado de bactérias testadas como prováveis antagonistas. Placas contendo apenas o fitopatógeno foram utilizadas como controle. Após sete dias de incubação à temperatura ambiente, mediu-se o diâmetro do micélio do fitopatógeno, na presença e ausência dos antagonistas. A inibição dos fitopatógenos foi estimada, utilizando-se a seguinte expressão:

$$\text{Zona de inibição, \%}, (\text{ZI}) = (\text{N1}-\text{N2}) / \text{N1} \times 100,$$

sendo N1 o raio do micélio encontrado na ausência do antagonista e, N2, crescimento do micélio na presença do antagonista.

## Resultados e Discussão

Como resultado observado para a seleção de bactérias antagonistas, após o período de sete dias de crescimento dos fitopatógenos, notou-se que o grau de inibição foi variável entre os antagonistas, com valores entre 0 e 70%, como exemplo ilustrado na Figura 1.

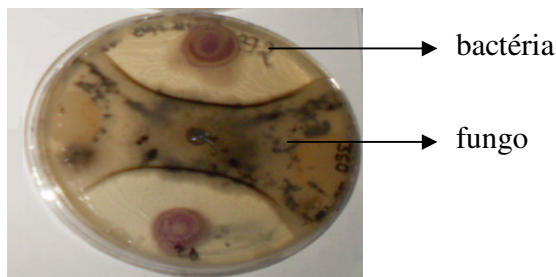


Figura 1. Ilustração da atividade antagonista de uma estirpe de bactéria contra *C. sublineolum*

Para facilitar a análise, as bactérias inibidoras foram agrupadas em quatro classes, de acordo com o grau de inibição (expresso em porcentagem de inibição de crescimento do fitopatógeno), e apresentadas na Figura 2.

Do total de 42 linhagens de bactérias testadas, observou-se que a distribuição dos isolados, nas classes consideradas, variou em função da classe de frequência e da raça do fitopatógeno. A maioria das linhagens de bactérias apresentou baixa atividade antagonista (17 a 21%), encontrando-se distribuída na classe entre 0 e 20% de inibição. E 3 a 6% das linhagens apresentaram inibição entre 21 a 40%; 4 a 11% atingiram valores entre 41 a 60% e 7 a 11% das estirpes apresentaram valores entre 61 a 80% de inibição dos fitopatógenos. Não se observou nenhuma bactéria capaz de inibir os fitopatógenos com valores acima de 80% de eficiência de biocontrole.

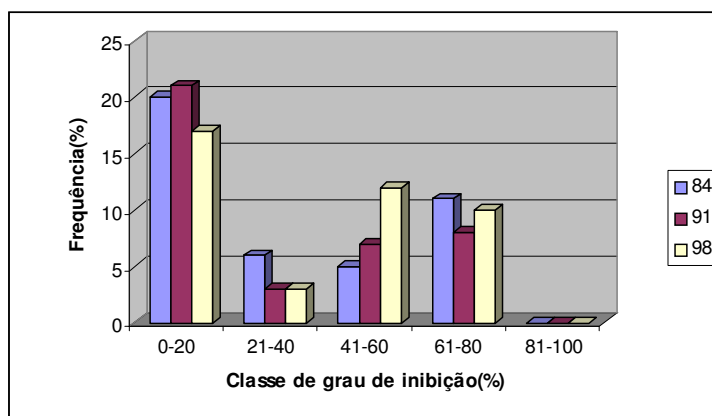


Figura 2- Distribuição de frequência do número de bactérias capazes de inibir o crescimento das raças CFMSs 84, 91 e 98 de *C. sublineolum*

Após os resultados deste primeiro teste de inibição, selecionaram-se quatro estirpes de bactérias, com eficiência de biocontrole igual ou superior a 70% em pelo menos uma das três raças do *C. sublineolum*, para validação também in vitro, de modo similar ao teste inicial. Na Tabela 1, estão apresentados os resultados obtidos com estas bactérias e suas respectivas atividades antagonistas, contra as três raças de fitopatógenos (CFMSs 84, 91 e 98), em meio BDA.

Tabela 1. Atividade antagonista (porcentagem de inibição) de quatro estirpes de bactérias contra três raças de *C. sublineolum*.

Fitopatógeno	CCMMMS 82	CCMMMS 96	CCMMMS 105	CCMMMS 666
	----- % de inibição -----			
CFMSs 84	66,25	62,36	70,00	78,75



CFMSs 91	76,25	73,75	67,14	50,0
CFMSs 98	60,0	63,75	61,25	73,34

Observou-se que as estirpes de bactérias que apresentavam maiores porcentagens de inibição de *C. sublineolum* foram CCMMS 666 e CFMSs 105, que apresentaram inibição de 78,75% e 70%, respectivamente, contra a raça CFMSs 84, e CCMMS 82 e 96, que inibiram o crescimento da raça CFMS 91 em 76,25 e 73,75%, respectivamente. Entretanto, essas diferenças não se apresentaram estatisticamente significativas.

Concluiu-se que:

- Há variabilidade entre isolados de bactérias quanto à atividade antagonista contra *C. sublineolum*;
- Existe potencial para a identificação de estirpes bacterianas potencialmente úteis para o biocontrole de *C. sublineolum* sob condições controladas e,
- A eficiência do biocontrole de *C. sublineolum* por agentes da comunidade bacteriana depende da raça do fitopatógeno

## Referências

BRESSAN, W.; FIGUEIREDO, J. E. F. **Controle biológico de raças e isolados de Colletotrichum graminicola, do sorgo, por Actinomicetos**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2003. 4 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado técnico, 62).

CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; BRANÇÃO, N. Variabilidade e estrutura de virulência em *Colletotrichum sublineolum* em sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 21, p. 357-361, 2006.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos: quarto levantamento, janeiro/2010**. Brasília, 2010. 45 p. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/3graos\\_09.12.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/3graos_09.12.pdf)>. Acesso em: 4 maio 2010.

COSTA, R. V.; CASELA, C. R.; ZAMBOLIM, L.; FERREIRA, A. S. A antracnose do sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 4, p. 345-354, 2003.

COSTA, R. V. da; COTA, L. V.; RODRIGUES, J. A. S.; TARDIN, F. D.; LANZA, F. E. **Controle químico da antracnose do sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. 8 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 117).



FREDERIKSEN, R. A.; ODVODY, G. N. **Compendium of sorghum diseases**. 2nd ed. St. Paul: American Phytopathological Society, 2000. 78 p.

GHINI, R.; NAKAMURA, D. Seleção de antagonistas e nutrientes que induzem supressividades de solo a *Fusarium Oxysporum* F. sp. *Phaseoli* em microcosmos e in vivo. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 27, n. 3, p. 318-322, 2001.

MOORE, J. W.; DITMORE, M.; TEBEEST, D. O. The effects of cropping history on grain sorghum yields and anthracnose severity in Arkansas. **Crop Protection**, Surrey, v. 28, p. 737-743, 2009.

NGUGI, H. K.; JULIAN, A. M.; KING, S. B.; PEACOCKE, B. J. Epidemiology of sorghum anthracnose (*Colletotrichum sublineolum*) and leaf blight (*Exserohilum turcicum*) in Kenya. **Plant Pathology**, London, v. 49, n. 1, p. 129-140, 2000.

