

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Amazônia Oriental  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*



19º Seminário de  
Iniciação Científica e  
3º Seminário de Pós-graduação  
da Embrapa Amazônia Oriental

ANNAIS 2015

19 a 20 de agosto

**Embrapa Amazônia Oriental**  
Belém, PA  
2015



## SELEÇÃO 'IN VITRO' DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO DE *Lasiodiplodia* sp.

Rayanne Savina Alencar Sobrinho<sup>1</sup>, Silvia Mara Coelho do Nascimento<sup>1</sup>, Joyce Solange Ferreira de Oliveira<sup>2</sup>, Eudes de Arruda Carvalho<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Estagiárias da Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Fitopatologia, Discente da Universidade Federal Rural da Amazônia - Ufra, rayannesavina@gmail.com; silviamara.ufra@hotmail.com

<sup>2</sup>Discente da Universidade Federal do Pará - UFPA, j.sfoli@gmail.com

<sup>3</sup>Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, eudes.carvalho@embrapa.br

**Resumo:** *Lasiodiplodia* sp. é um importante patógeno de diversas frutíferas tropicais e pode causar perdas econômicas significativas. São limitadas as estratégias de manejo para o controle de doenças que têm como agente etiológico o *Lasiodiplodia* spp. Neste sentido, o biocontrole apresenta-se como alternativa e como componente do manejo integrado de doenças. O trabalho teve como objetivo selecionar 'in vitro' agentes de controle biológico do patógeno *Lasiodiplodia* sp. Disco de 5mm de diâmetro contendo micélio do patógeno foi repicado para o centro de placas de Petri contendo meio de cultura BDA e, no entorno deste, foi disposta a colônia bacteriana no formato de um quadrado a 2 cm. A testemunha foi constituída por placa somente com o patógeno. As placas foram incubadas em câmara de crescimento, em delineamento inteiramente ao acaso com quatro repetições. Foram realizadas medições diárias do diâmetro da colônia do patógeno com paquímetro digital. Foi calculado o IVCM e submetem-se os dados à análise de variância. Os isolados Bac 03 e Bac 18 apresentaram 100% de inibição do crescimento micelial, seguidos por Bac 19 com 76,7% de inibição, diferentes entre si. Foram estabelecidos dois outros grupos com efeito inibitório distintos com 14,4 a 22,5% e 31,3 a 42,4% de controle em relação à testemunha, respectivamente. Outros 10 isolados não reduziram o crescimento micelial do patógeno.

**Palavras-chave:** antagonismo, Arecaceae, crescimento micelial, rizobactérias

### Introdução

O *Lasiodiplodia* sp. é um fungo polífago característico das regiões tropicais e subtropicais, capaz de infectar, isoladamente ou em associação com outros fungos, ampla gama de hospedeiros, tais como cajueiro, mangueira, coqueiro, palma de óleo, cupuaçuzeiro, aceroleira e maracujazeiro, dentre outras. Este fungo pode se apresentar também como patógeno secundário ou oportunista, geralmente



associado a plantas com déficit hídrico e deficiência nutricional (FREIRE; CARDOSO, 2003). O manejo de doenças, que têm como agente etiológico este fungo, é dificultado em razão da gama de hospedeiro, notadamente culturas perenes, e por não haver produtos fitossanitários registrados para inúmeras dessas frutíferas. O estudo de técnicas alternativas e complementares para controle destas doenças é muito importante. Neste sentido, o controle biológico apresenta-se como opção ao manejo integrado de doenças em função do menor risco ambiental, custo reduzido por seu potencial efeito duradouro. Diversos microrganismos são utilizados como agentes de biocontroles de doenças em plantas e podem ter potencial antagonico a diferentes fitopatógenos. Dentre esses agentes, destacam-se bactérias do gênero *Bacillus*. Estes microrganismos podem utilizar diversos mecanismos específicos para promover a supressão de patógenos, como a antibiose por produção de enzimas líticas, toxinas ou ácido cianídrico, à competição por nichos ecológicos ou nutrientes, o hiperparasitismo, a predação, a hipovirulência, a produção de sideróforos e a indução de resistência (ROMEIRO, 2007).

Diante disto, o presente trabalho teve como objetivo selecionar 'in vitro' agentes de controle biológico do patógeno *Lasioidiplodia* sp.

### Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental. Foi utilizado o fungo *Lasioidiplodia* sp. e 20 isolados de bactéria do gênero *Bacillus*, todos procedentes de área de exploração comercial de palmeira de importância econômica. O teste de antagonismo direto "in vitro" foi realizado utilizando a metodologia descrita por Elkahoui et al. (2012), com adaptações. Discos de 5mm de diâmetro contendo micélio do patógeno foram repicados para o centro de placas de Petri, contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar). Em torno do disco, foi transferida a colônia bacteriana com uma alça de platina disposta no formato quadrado a 2 cm do disco do patógeno. A testemunha constou apenas de placas de Petri contendo o meio de cultura e um disco de micélio do patógeno no centro. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições em câmara de crescimento BOD, com temperatura de  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas.

Avaliaram-se os tratamentos a cada 24 horas durante sete dias medindo-se o diâmetro da colônia do patógeno em dois sentidos diametralmente opostos, com um paquímetro digital. Determinou-se o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de acordo com equação proposta por Oliveira



(1999). As análises estatísticas foram realizadas no programa Sisvar® aplicando-se o teste de F a 5% de significância, sendo as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% (FERREIRA, 2000).

## Resultados e Discussão

Observou-se diferença significativa entre os tratamentos. Os isolados Bac 03 e Bac18 foram eficientes no controle do fungo *Lasiodiplodia* sp. “*in vitro*” com 100% de inibição do crescimento micelial. O tratamento Bac 19 reduziu em 76,7% o crescimento do patógeno quando comparado à Testemunha (Tabela 1).

**Tabela 1.** Médias do índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) do fungo *Lasiodiplodia* sp. no teste de antagonismo direto “*in vitro*” contra isolados de *Bacillus* spp. (Bac).

Isolados	IVCM	Percentual de Controle (%)
Bac 03	0,00 a	100,0
Bac 18	0,00 a	100,0
Bac 19	15,9 b	76,7
Bac 17	39,5 c	42,2
Bac 11	45,9 c	32,8
Bac 13	46,9 c	31,3
Bac 15	52,9 d	22,5
Bac 20	53,3 d	21,9
Bac 12	54,2 d	20,6
Bac 14	56,8 d	16,7
Bac 09	58,4 d	14,4
Bac 06	59,6 e	12,7
Bac 05	63,1 e	7,5
Bac 10	64,4 e	5,6
Bac 16	64,4 e	5,6
Bac 01	67,5 e	1,1
Testemunha	68,2 e	0,0
Bac 02	69,2 e	-1,4
Bac 08	69,2 e	-1,4
Bac04	71,2 e	-4,3
Bac 07	73,6 e	-7,8

\*Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de significância.



Dois outros grupos de isolados, diferentes estatisticamente entre si, apresentaram efeito inibitório em relação à testemunha. O grupo formado pelos isolados Bac 17 a Bac13 reduziu entre 42,4 e 31,3% o crescimento do patógeno e o grupo de Bac 15 a Bac 09 apresentou controle de 22,5 a 14,4%. Os demais isolados não diferiram da testemunha.

Os resultados obtidos neste estudo evidenciaram que bactérias do gênero *Bacillus* possuem potencial para o controle de *Lasiodiplodia* sp. Resultados semelhantes foram relatados por Sajitha et al. (2014) ao avaliarem 17 isolados de *Bacillus* “in vitro” contra *L. theobromae* de seringueira.

Estes resultados, embora preliminares, corroboraram para a importância e eficácia do controle do controle biológico de doenças causadas, sob condições favoráveis, por *Lasiodiplodia* sp., sendo portanto, necessários novos testes subsequentes em condições ‘in vivo’, em casa de vegetação e em campo.

### Conclusão

Os isolados de *Bacillus* Bac 03, Bac 18 e Bac 19 foram selecionados “in vitro” para o controle de *Lasiodiplodia* sp.

### Referências Bibliográficas

- ELKAHOUI, S.; DJÉBALI, N.; TABBENE, O.; HADJIBRAHIM, A.; MNASRI, B.; MHAMDI, R. SHAABAN, M.; LIMAM, F. Evaluation of antifungal activity from *Bacillus* strains against *Rhizoctonia solani*. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 18, p. 4196-4201, 2012.
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para o Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. **Programas e resumos...** São Carlos, SP: UFSCar, 2000. p. 255.
- FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E. Doenças do coqueiro. In: FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; VIANA, F. M. P. (Ed.). **Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial**. Brasília, DF: Embrapa Informações Tecnológica, 2003. p. 191– 226.
- OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annanum* L.)**. 1991. 111 p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras.
- ROMEIRO, R. S. **Controle biológico de enfermidades de plantas: fundamentos**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. 269 p.
- SAJITHA, K. L.; MARIA FLORENCE, E. J.; DEV, S. A. Screening of bacterial biocontrols against sapstain fungus (*Lasiodiplodia theobromae* Pat.) of rubberwood (*Hevea brasiliensis* Muell.Arg.). **Research in Microbiology**, v. 165, n. 7, p. 541-548, 2014.