



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DE *FUSARIUM* SPP. NA PRESENÇA DE SOBRENADANTE DE *BACILLUS* SP.

Autores: DÉBORA FRANCINE GOMES SILVA PEREIRA, MARIA JOSIANE MARTINS, DANIELA FERREIRA SILVEIRA, MOISÉS SOUZA SILVA, ISABELA OLIVEIRA SANTOS, ADELICA APARECIDA XAVIER, SÍLVIA NIETSCHÉ

Introdução

As espécies de *Bacillus* produzem uma ampla gama compostos que desempenham papéis importantes na promoção do crescimento das plantas e na supressão de doenças, colonizando a superfície ou o interior das raízes (Xu et al., 2014).

A pré-seleção *in vitro* de microorganismos promissores é uma fase importante para seleção de isolados mais eficientes a serem avaliados *in vivo* no controle biológico de fitopatógenos. Entre as técnicas utilizadas, destaca-se o emprego do meio de cultura onde o microorganismo é cultivado. Esse meio é centrifugado após o crescimento microbiano para eliminação das células bacterianas, e posteriormente esse sobrenadante, na maioria das vezes, rico em metabólitos secundários, é aplicado nos testes de inibição de patógenos (ZHAO et al., 2016). Jangir et al. (2018), reduziram em 70% o crescimento micelial de *Fusarium oxysporium* f. sp. *lycopersici* ao aplicar o sobrenadante proveniente do cultivo de *Bacillus* sp.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar *in vitro* a germinação de esporos de fungos do gênero *Fusarium* após a aplicação do sobrenadante proveniente do cultivo de *Bacillus* sp.

Material e métodos

O isolado bacteriano EB-40 *Bacillus* sp. foi cultivado em placas de Petri contendo meio TSA (triptona, soja e ágar) durante 24 horas. Após este período, adicionou-se 5 mL de solução salina 0,85% a colônia bacteriana, obtendo-se uma suspensão bacteriana a qual foi ajustada a DO de 1,0 de absorbância em comprimento de onda de 540 nm em espectrofotômetro. Adicionou-se 100 µL dessa suspensão em erlenmeyer contendo 200 mL de meio TSB (soja tripticaseína). O erlenmeyer foi colocado em agitador orbital por 72 horas em temperatura de 28°C. Após esse período o meio TSB foi centrifugado por 15 minutos a 10.000 rpm para precipitação das células bacterianas. As células bacterianas foram descartadas e o sobrenadante obtido foi utilizado para inibir a germinação dos esporos.

Os fungos utilizados no presente trabalho foram *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL 258 e FOL 256), *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (FOV 211) e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC 106). Os isolados foram multiplicados em meio BDA (batata, dextrose e ágar) e mantidos por sete dias em escuro contínuo a 25° C em BOD. Após esse período as colônias fúngicas receberam 20 mL de água destilada mais Tween 80 a 0,05% e os conídios foram desagregados com auxílio de lâmina de vidro. A suspensão foi filtrada em gaze e calibrada em câmara de Neubauer para 2x10⁵ esporos por mL.

Foram retirados 100 µL de cada suspensão fúngica e 100 µL das diferentes doses do sobrenadante 0, 100, 300, 600 e 900 µL, e foram transferidos para eppendorfs de 2 mL. Em seguida 20 µL dessa nova suspensão foram adicionadas em placas de Petri contendo uma fina camada de meio ágar-água. As placas contendo as suspensões foram incubadas à temperatura ambiente por 12 horas, após este período estas foram levadas à geladeira para que a germinação fosse paralisada. Em seguida, com auxílio do microscópio óptico, quantificaram-se os 100 conídios germinados e não germinados. Considerou-se conídio germinado aquele que apresentou tubo germinativo maior ou igual ao comprimento do esporo.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com cinco doses de sobrenadante, com quatro repetições por dose. Os dados foram submetidos análise de regressão pelo software R versão 3.5, selecionando as equações que apresentaram maior coeficiente de determinação e significância dos parâmetros.

Resultados e discussão

O sobrenadante testado reduziu a germinação de conídios a partir da dose 300 µL, nas doses menores não observou-se nenhum efeito. A regressão teve efeito linear decrescente, com o aumento das doses reduziu-se a germinação de conídios, conforme apresentado na figura 1. A maior redução na porcentagem de germinação de conídios ocorreu na dose de 900 µL (figura 2), sendo de 36,03 % para o fungo 258, 46,78% para o fungo 211, 36,67% para o fungo 256 e 54,95 % para o fungo 106.

Este efeito também foi observado por Zhao et al. (2016) ao estudar a supressão no desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* ao trabalhar com sobrenadante de *Bacillus subtilis*. Segundo esses autores, o sobrenadante contém metabólitos secundários capazes de controlar o crescimento e desenvolvimento do fungo. Jangir et al. (2018), elucidando os mecanismos de controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* por *Bacillus* sp identificou diversas enzimas hidrolíticas e antibióticos entre os metabólitos secundários como subtilina, TasA, msbutilosina, bacilisina, micobacilina e algumas enzimas que podem degradar a parede celular dos fungos, esses dados sugerem que essa produção de enzimas e antibióticos desempenha um papel na supressão de doenças de plantas. Acredita-se que um mecanismo semelhante possa estar envolvido no presente estudo.

Observou-se também que a maior redução na germinação de conídios ocorreu no isolado fúngico *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC 106), o que sugere que o sobrenadante obtidos é mais efetivo para essa espécie.



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

Diante dos resultados obtidos, observa-se que o isolado *Bacillus* sp. apresenta efeitos antifúngicos para o gênero *Fusarium* despontando como uma alternativa para a formulação de um bioproduto. Destaca-se ainda a necessidade de estudos mais aprofundados a fim de caracterizar os compostos produzidos pelo isolado. Recomenda-se ainda que em estudos futuros doses maiores sejam empregadas a fim de verificar se a germinação continuará a ser reduzida.

Conclusão

A maior redução na germinação de esporos dos isolados fúngicos ocorreu na aplicação de 900 uL de sobrenadante proveniente do cultivo de *Bacillus* sp.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e ao Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Montes Claros.

Referências Bibliográficas

Jangir, M. et al. Biocontrol mechanisms of *Bacillus* sp., isolated from tomato rhizosphere, against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Biological Control**, Amsterdam, v.1, n. 123, 2018.

Xu, R.Z et al. Enhanced control of cucumber wilt disease by *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 by altering the regulation of its DegU phosphorylation. **Applied Environmental Microbiology**, v. 1, n.80, 2014.

Zhao, Q. et al. Isolation and identification of antifungal compounds produced by *Bacillus* Y-IVI for suppressing *Fusarium* wilt of muskmelon. **Plant Protection Science**, v.1, n. 52, 2016.

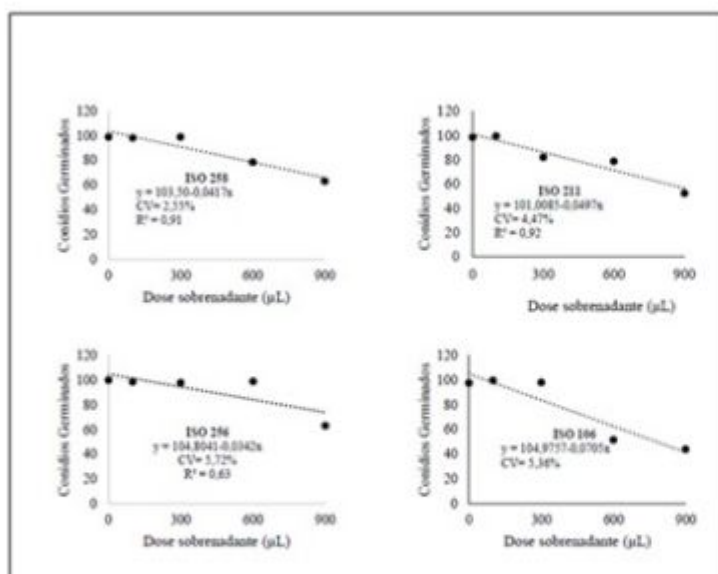
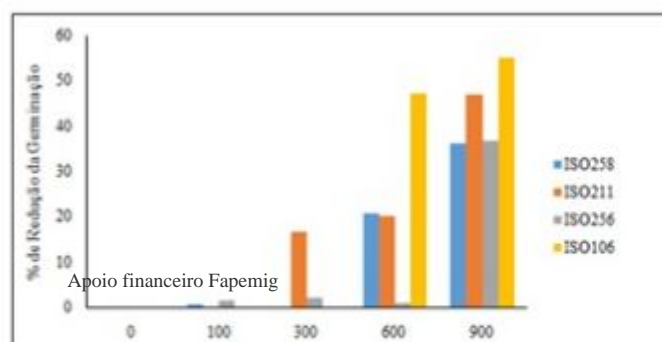


Figura 1. Porcentagem de germinação de conídios de fungos do gênero *Fusarium* em função da aplicação de diferentes doses de sobrenadante bacteriano.



Apoio financeiro Fapemig



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X