

MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES COM RIZOBACTÉRIAS PARA O CONTROLE DA PINTA BACTERIANA DO TOMATE

¹NAUE, Carine Rosa; ²ROCHA, Dediel; ¹MOURA, Andrea Bittencourt

¹Doutoranda em Fitopatologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco; ²Bolsista Capes, mestrando do Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas; ³Professora do Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas, Bolsista CNPq Produtividade em Pesquisa. dedielrocha@hotmail.com

1 INTRODUÇÃO

A pinta bacteriana, causada por *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst) (Okabe 1933) Young, Dye e Wilkie 1978, é uma doença economicamente importante para o tomate. Sob condições ambientais propícias, exige medidas de controle (LOPES, 2001), pois reduz a produtividade pela destruição de tecido foliar e pela derrubada de frutos em formação. Além disso, compromete a qualidade e o valor comercial dos frutos (LOPES e SANTOS, 1994). A pinta bacteriana tem sido uma das principais doenças sob condições de baixa temperatura e alta umidade, podendo causar perdas de até 30% na produção (SILVA e LOPES, 1995). A eficácia da disseminação pelas sementes (JONES, 1993) e penetração por estômatos, hidatódios e ferimentos ocorridos durante os tratamentos culturais (MOURA e OLIVEIRA, 1996) têm exigido do produtor a utilização de práticas de controle.

Para reduzir as perdas causadas por bactérias, em geral, recomenda-se práticas culturais como, sementes e mudas livres do patógeno, limpeza da área de plantas hospedeiras, rotação de culturas, uso de cultivares resistentes e tratamento químico (LOPES e QUEZADO-SOARES, 1997). Porém o controle de doenças bacterianas tem a limitação quanto à disponibilidade de produtos químicos. Nesse caso, são usados apenas alguns poucos antibióticos, além de outros produtos de ação bactericida ou de indução de resistência. Uma nova opção tem sido o controle biológico, recebendo bastante atenção, por se tratar de um método natural, sem causar impactos ao ambiente e efeitos toxicológicos.

Dentre os microrganismos utilizados no controle biológico encontram-se as rizobactérias, pois podem atuar direto no controle de patógenos e também serem utilizadas como biofertilizantes, aumentando a produção agrícola.

Rizobactérias dos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas* e os actinomicetos, apresentam características atrativas (NORONHA et al., 1995). O potencial destes microrganismos foi estabelecido em vários trabalhos de controle biológico de doenças de diferentes culturas (BETTIOL e MORANDI, 2009). Na cultura do tomate, pesquisas com o objetivo de controlar bacterioses utilizando rizobactérias têm sido desenvolvidas e os resultados alcançados mostram-se promissores (MOURA et al., 1998; AYSAN et al., 2003; TAN et al., 2006; MOSS et al., 2007).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar *in vivo* o potencial biocontrolador de rizobactérias isoladas de solo sobre *P. syringae* pv. *tomato*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Como biocontroladores foram usadas rizobactérias selecionadas por Moura (1996) e Deuner (2004), pertencentes à coleção do Laboratório de Bacteriologia

Vegetal da Universidade Federal de Pelotas e ao Laboratório de Bacteriologia de Plantas e Controle Biológico da Universidade Federal de Viçosa: DFs1296 e DFs1315 (*Streptomyces* Waksman e Henrici), DFs1414, DFS1420 e DFs1423 (*Bacillus* sp. Cohn), e DFs1421 (*Pseudomonas* Migula) isoladas de solo e identificadas por sequenciamento do gene 16S DNA (dados não publicados). A bactéria fitopatogênica *P. syringae* pv *tomato* pertence à coleção do Laboratório de Bacteriologia de Vegetal da Universidade Federal de Pelotas.

Sementes de tomate cultivar Super Marmande (Gaúcho/Maçã) foram imersas durante 4 h sob agitação e temperatura de 4°C, em suspensão salina (0,85% NaCl) de cada rizobactéria com 24 h de crescimento em meio de Kado e Heskett (1970), cuja concentração foi ajustada para $A_{540} = 0,50$. A testemunha constituiu de sementes imersas em solução salina.

Após o período de agitação, cinco sementes foram imediatamente depositadas em copos plásticos (700mL) contendo substrato comercial Plantmax[®]. Após a germinação, realizou-se o desbaste deixando-se somente uma plântula por copo, constituindo uma unidade experimental.

O método utilizado para inoculação do patógeno foi a pulverização de suspensão bacteriana ajustada para a concentração de 10^8 UFC/mL. As plantas foram inoculadas 30 dias após o semeio, sendo estas submetidas à câmara úmida por 24 h antes e 48 h após a inoculação.

A avaliação foi realizada 21 dias após a inoculação da bactéria patogênica (Pst), a partir da quantificação do número de lesões por folhas. O ensaio foi constituído por seis repetições em delineamento inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Apesar de não haver diferenças significativas entre as seis rizobactérias testadas, comparadas à testemunha, três isolados tiveram uma tendência em apresentar maiores níveis de controle. Os isolados DFs1315, DFs1414 e DFs1420 controlaram a pinta bacteriana em 40%, 29% e 21% respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Controle da pinta bacteriana do tomate por rizobactérias utilizadas para microbiolizar as sementes, em plantio conduzido em casa de vegetação

Isolado	Gênero	Severidade
Testemunha	-	4,78ab
DFs1420	<i>Bacillus</i>	3,78b
DFs1423	<i>Bacillus</i>	4,39ab
DFs1421	<i>Pseudomonas</i>	6,28ab
DFs1414	<i>Bacillus</i>	3,39b
DFs1296	<i>Streptomyces</i>	7,56a
DFs1315	<i>Streptomyces</i>	2,83b
CV (%)	-	101,1

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

Atividade biocontroladora exercida pelas bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Streptomyces* é relatada por diversos autores. Rizobactérias

promotoras de crescimento atuaram como biocontroladoras de doenças fúngicas do tomate como murcha causada por *Fusarium* e tobamento de plântulas incitado por *Rhizoctonia* (DOMENECH et al., 2006). Bacterioses incidentes sobre plantas de tomate como *Ralstonia solanacearum* (Smith) foram controladas por actinomicetos (EL-ABYAD et al., 1993; MOURA e ROMEIRO, 2000) e por *Pseudomonas* (PEIXOTO et al., 1995) promotores de crescimento. Adicionalmente, Kavitha e Umesha (2007) mostraram que *Pseudomonas* promotoras de crescimento controlam *Xanthomonas* spp.

A estabilidade no controle biológico geralmente está associada à atuação de múltiplos mecanismos de ação (GUETSKY et al., 2001) e a uma capacidade dos biocontroladores em colonizar os tecidos da planta hospedeira (KLOEPPER e BEAUCHAMP, 1992). No presente trabalho não foi estudado quais foram os mecanismos de ação dos isolados, no entanto, segundo Deuner et al. (2004) estas rizobactérias são colonizadoras de raízes de diferentes cultivares de tomate e apresenta capacidade inibitória, pela produção de antibióticos *in vitro* contra diversos patógenos. Portanto estudos posteriores poderão verificar quais outros mecanismos estão envolvidos bem como a eficiência destas rizobactérias no controle de Pst e de outros patógenos em condições de campo.

4 CONCLUSÕES

Isolados dos gêneros *Bacillus* e *Streptomyces* tem potencial para proteção de plantas de tomate contra *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*.

5 REFERÊNCIAS

- AYSAN, Y; KARATA, A; CINAR, O. Biological control of bacterial stem rot caused by *Erwinia chrysanthemi* on tomato. **Crop Protection**, v. 22, p. 807–811, 2003.
- BETTIOL, W; MORANDI, M.A.B. **Biocontrole de doenças de plantas no Brasil: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 341p.
- DEUNER, C.C. **Isolamento e seleção de rizobactérias promotoras de crescimento de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill)**. 2004. Dissertação Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas RS.
- DEUNER, C.C; MOURA, A.B, ROMEIRO, R.S. Biocaracterização parcial de rizobactérias pré-selecionadas para promoção de crescimento de tomate: II-antibiose e colonização de raízes. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, suplemento, p.86, 2004. (Resumo)
- DOMENECH, J; REDDY, M.S; KLOEPPER, J.W; RAMOS, B; GUTIERREZ-MANERO, J. Combined application of the biological product LS213 with *Bacillus*, *Pseudomonas* or *Chryseobacterium* for growth promotion and biological control of soil-borne diseases in pepper and tomato. **BioControl**, v. 51, p. 245–258, 2006.
- EL-ABYAD, M; EL-SAYED, M.A; EL-SHANSHOURY, A.R; EL-SABBAGH, S.M Towards the biological control of fungal and bacterial diseases of tomato using antagonistic *Streptomyces* spp. **Plant and Soil**, v. 149, p. 185-195, 1993.
- GUETSKY, R; SHTIENBERG, D; ELAD, Y; DINOOR, A. Improving biological control by combining biocontrol agents with several mechanisms of disease suppression. **Phytopathology**, v. 92, p. 976-985, 2001.

- JONES, J. B. Bacterial speck. In: JONES, J. B.; STALL, R. E.; ZITTER, T. A. **Compendium of tomato diseases**. Minneapolis: APS, 1993. 73 p.
- KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, v. 60, n. 6, p. 969-976, 1970.
- KAVITHA, R; UMESHA, S. Prevalence of bacterial spot in tomato fields of Karnataka and effect of biological seed treatment on disease incidence. **Crop Protection**, v. 26, p. 991–997, 2007.
- KLOPPER, J.W; BEAUCHAMP, C.J. A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 1219-1232, 1992.
- LOPES, C. A. Manejo integrado de bactérias fitopatogênicas. In: SILVA, L. H. C. P.; CAMPOS, J. R.; NOJOSA, G. B. A. (Eds.). **Manejo integrado: doenças e pragas em hortaliças**. Embrapa, 2001. p. 105-123.
- LOPES, C. A.; SANTOS, J. R. M. **Doenças do tomateiro**. Brasília, DF: Embrapa-SPI, 1994. 61 p.
- LOPES, C.A; QUEZADO-SOARES, A.M. **Doenças bacterianas das hortaliças: diagnose e controle**. Brasília: Embrapa-CNPB, 1997. 70p
- MOSS, W.P; BYRNE, J.M; CAMPBELL, H.L; JI, P; BONAS, U; JONES, J.B; WILSON, M. Biological control of bacterial spot of tomato using hrp mutants of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. **Biological Control**, v. 41, p. 199–206, 2007.
- MOURA A.B; ROMEIRO, R.S; NEVES M.C.P. Bioensaio para avaliação massal de actinomicetos antagonistas a *Pseudomonas solanacearum*, em tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, p. 2065-2072, 1998.
- MOURA, A. B.; OLIVEIRA, J. R. Doenças causadas por bactérias em tomateiro. **Informe Agropecuário**, v. 18, n. 184, p. 15-18, 1996.
- MOURA, A.B; ROMEIRO, R.S. Actinomicetos pré-selecionados para controle de *Ralstonia solanacearum* como promotores de crescimento de tomateiro. **Revista Ceres**, v. 47, p.613-626, 2000.
- MOURA, A.B **Actinomicetes como agentes potenciais de controle biológico da murcha bacteriana (*Pseudomonas solanacearum*) e como promotores de crescimento bacteriano**. 1996. Tese de Doutorado. Curso de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG.
- NORONHA, M.A; MICHEREFF, S.J; MARIANO R.L.R. Efeito do tratamento de sementes de caupi com *Bacillus subtilis* no controle de *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, p. 174-178, 1995.
- PEIXOTO, A.R; MARIANO, R.L.R, MICHEREFF, S; OLIVEIRA, S.M.A. Ação antagônica de *Pseudomonas aeruginosa* a *Pseudomonas solanacearum* e efeito no desenvolvimento de plântulas de tomate. **Summa Phytopathologica**, v.21, p. 219-224, 1995.
- SILVA, V. L.; LOPES, C. A. Populações epifíticas de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* em cultivo comercial de tomateiro industrial. **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, n. 2, p. 179-183, jun. 1995.
- TAN, H.M; CAO, L.X; HE, Z.F; SU, G.J; LIN, B; ZHOU, S.N. Isolation of endophytic actinomycetes from different cultivars of tomato and their activities against *Ralstonia solanacearum* *in vitro*. **World Journal Microbiology & Biotechnology**, v. 22, p. 1275–1280, 2006.