

ANTAGONISMO DE BACTÉRIAS LÁTICAS CONTRA *Fusarium guttiforme*, AGENTE ETIOLÓGICO DA FUSARIOSE DO ABACAXI (*Ananas comosus* (L.) Merrill)

Débora de Jesus Barbosa¹; Elinalva Maciel Paulo²; Hugo Neves Brandão³; Ilana M. P. Mamédio⁴

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduando em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail:

deborabarbosa.fs@hotmail.com

2. Orientador, Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: elinalvamaciel@gmail.com

3. Participante do projeto, Hugo Neves Brandão, e-mail hugohnb@gmail.com

4. Co-orientadora, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail:

ilana_mamedio@hotmail.com

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, fitopatologia, difusão em disco

INTRODUÇÃO

O abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill) é uma monocotiledônea, da família Bromeliaceae, subfamília Bromeloideae. O Brasil é o segundo maior produtor mundial de abacaxi, e sua principal cultivar plantada é a Pérola e em seguida a Smooth Cayenne. Ambas suscetíveis à fusariose (CUNHA et al., 1999). A fusariose constitui séria ameaça à abacaxicultura mundial, e seu agente causal é o fungo *F. guttiforme* (NIRENBERG; O'DONNELL, 1998). Este patógeno penetra em seus hospedeiros por meio de aberturas naturais ou ferimentos. Podridão dos tecidos afetados acompanhada por exsudação de substâncias gomosas são os principais sintomas da fusariose (MATOS; CABRAL, 2005). Uma das alternativas de controlar a proliferação do *Fusarium* é através do controle biológico (MICHEREFF, 2001) estando às bactérias láticas como um grupo de micro-organismo que apresenta grande potencial para inibição do crescimento fúngico, devido à sua capacidade de antagonismo, observação esta, que objetiva a realização deste trabalho.

METODOLOGIA

Isolamento do patógeno

Os isolamentos de *F. guttiforme* foram obtidos a partir de fragmentos de tecidos retirados de frutos de abacaxi (*Ananas* sp.) com sintomas da doença. Estes foram colocados em placas de Petri com meio BDA. As placas foram incubadas à temperatura ambiente (24 ± 20 C) e luz constante durante 10 dias. Para fins da avaliação do crescimento dos diferentes

isolados obtidos, discos de aproximadamente 5 mm de cada um deles foram posteriormente transferidos para o centro de cinco placas de Petri contendo BDA (SOUZA, 2010).

Identificação

A caracterização morfológica dos micro-organismos foi realizada através de chaves de identificação, a partir dos atributos macro e micros morfológicos das culturas puras isoladas (NIRENBERG e O'DONNELL, 1998).

Preparo das culturas de bactérias lácticas

Duas espécies de bactérias lácticas (*Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus paracasei*) isoladas do caldo fermentativo do abacaxi, pertencentes à bacterioteca do LAMASP/UEFS foram reativadas em caldo MRS e incubadas a 30°C por 24 horas.

Avaliação da atividade antifúngica das bactérias lácticas

As duas espécies de bactérias lácticas foram testados por meio do método de difusão em Agar proposto por Corsetti et al., (1998). Em uma placa de Petri previamente esterilizada foram dispostos 10 mL de BDA previamente inoculado com a suspensão de propágulos de *Fusarium guttiforme* a uma concentração de 10^4 propágulos. mL⁻¹, quantificados com o auxílio de Câmara de Neubauer e microscópio de luz. Após a solidificação do meio, as placas foram incubadas em estufa tipo B.O.D. por 22°C durante 24 horas. Após esse período foi disposto sobre a superfície do Ágar discos de papel de filtro nº1 estéreis, apresentando 5mm de diâmetro. Foram aplicados 100µL de suspensão bacteriana, após o líquido ser fixados pelos discos as placas retornarão à B.O.D. por 22°C durante 10 dias. Também foi realizado o teste controle, onde os discos acrescentados na placa não continham inoculante. As placas foram observadas, e os halos de inibição mensurados com auxílio de uma régua milimetrada. A suspensão de propágulos foi feita a multiplicação de *Fusarium guttiforme* em tubos contendo meio BDA (bisel longo) incubados a 22°C por 7 dias. O inóculo de propágulos foi preparado através de suspensão de conídios em solução salina a 0,85%: Tween 80 (9:1, v/v) agitando em Vortex por 5 minutos. Após agitação, o conteúdo líquido foi transferido para tubos de vidro estéreis. A determinação da concentração de propágulos foi realizada por contagem com auxílio de uma câmara de Neubauer e microscópio de luz, com um aumento óptico de 400 vezes. A suspensão bacteriana foi preparada utilizando culturas bacterianas lácticas previamente armazenadas sob refrigeração ou congeladas. Estes foram reativados e

incubados a 30°C por 48 horas. O volume necessário de caldo MRS inoculado foi transferido a um tubo contendo MRS estéril até que essa suspensão se ajuste ao tubo 10 da escala de Mac Farland, o que corresponde à uma concentração de $3,0 \times 10^9$ UFC. mL⁻¹.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Isolamento e identificação de *Fusarium guttiforme*

Os isolados de *Fusarium guttiforme*, enumerados de I1 a I6, apresentaram bom crescimento com a temperatura de incubação na faixa de 24±20°C e coloração com variação de alaranjado a violeta. Constatou-se nos isolados a ausência de clamidósporos e a presença de macroconídeos sob a forma delgada e ligeiramente alongada, e de microconídeos em formato ovoide conforme, conforme aspectos apontados por Nirenberg; O'Donnell (1998).

Teste de antagonismo

Em meio BDA e na presença da bactéria *Lactobacillus plantarum*, observou-se a variação do tamanho dos halos de 8,6 a 10,0mm. Já na presença da bactéria *Lactobacillus paracasei* e no mesmo meio de cultura, os halos variaram entre 8,0 e 14,0mm. No teste controle, que teve como base o fungicida DEROSOL[®], a variação foi de 17,0 a 36,0mm. No meio MRS, a variação foi de 13,0 a 35,0mm na presença de *L. plantarum* e de 18,0 a 41,0mm na presença de *L. paracasei*. No teste controle a variação foi de 18,0 a 40,0mm (Tabela 1).

Tabela 1 – Atividade antagônica de bactérias lácticas isoladas e identificadas frente frente à *Fusarium guttiforme* em meio BDA

	Medida dos diâmetros dos halos (mm)					
	I1	I2	I3	I4	I5	I6
<i>L.plantarum</i>	8,6±0,2	11,0±0,1	12,0±0,6	12,0±1,5	9,7±0,4	10,0±0,5
<i>L. paracasei</i>	8,0±0,1	14,0±0,1	12,0±0,4	9,0±0,1	12,0±0,4	10,0±0,6
Controle	33,0±0,6	24,0±0,2	17,0±0,1	36,0±0,1	30,0±0,2	34,0±0,3

A atividade antimicrobiana das bactérias lácticas pode estar relacionada à competição por nutrientes no meio, à produção de ácidos orgânicos como ácido lático e acético e a produção de compostos antagônicos como peróxido de hidrogênio e bacteriocinas. (FRANCO, 2010).

CONCLUSÃO

Através deste trabalho, observou-se o potencial antagonico de bactérias lácticas frente ao *Fusarium guttiforme*, demonstrando também a eficácia da técnica de difusão em disco na realização do teste de ação antimicrobiana para esta finalidade. Desta maneira, a utilização de bactérias lácticas no controle biológico constitui-se uma ferramenta muito promissora para o tratamento da fusariose do abacaxizeiro, visto que propõe a minimização da utilização de agentes químicos prejudiciais à saúde em plantações de abacaxi, promove equilíbrio ao meio ambiente e gera menores custos para a produção do abacaxi.

REFERÊNCIAS

CRESTANI, Maraisa et al. **Das Américas para o Mundo origem, domesticação e dispersão do abacaxizeiro**. Cienc. Rural [online]. 2010, vol.40, n.6, pp. 1473-1483.

CORSETTI, A. et al. **Antimould activity of sourdough lactic acid bacteria: Identification of a mixture of organic acids produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CB1**. Applied Microbiology and Biotechnology, v.50, p253-256, 1998.

CUNHA, G.A.P.; CABRAL, J.R.S.; SOUZA, L.F.S.; **O Abacaxizeiro. Cultivo, agroindústria e economia**. Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA). Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. p.17- 480.

FRANCO, T. S. **Bactérias lácticas no biocontrole *Fusarium graminearum* e na detoxificação de desonxifenol**, 2010. 108 f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, 2010.

MATOS, A. P. DE; CABRAL, J. R. S. **Manejo integrado da fusariose do abacaxizeiro**. Cruz das Almas: Embrapa-CNPMF, 2005. 2p. (Embrapa-CNPMF, Abacaxi em Foco n. 32).

MICHEREFF, S. J. **Fundamentos de Fitopatologia** Recife, 12 de fevereiro de 2001, 133p.

NIRENBERG, H. I.; O'DONNELL, K. **New *Fusarium* species and combinations within the *Giberellafujikuroi* species complex**. Mycologia, v. 90, p. 434-458, 1998.

SOUSA, Aline Ellen Duarte de. **Atividade antifúngica de óleos vegetais no controle de podridão-por-fusarium em melão e fusariose em abacaxi**. 2010. 81f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, 2010.