

# SELEÇÃO DE ACTINOMICETOS COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA CONTRA *BIPOLARIS SOROKINIANA*

Cristina de Castro Spadari<sup>1</sup>; Sueli T. Van Der Sand<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Estudante do curso de Ciências Biológicas, Departamento de Microbiologia Imunologia e Parasitologia, UFRGS; e-mail: [cris\\_spadari@hotmail.com](mailto:cris_spadari@hotmail.com); <sup>2</sup> Professor do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, UFRGS; e-mail: [svands@ufrgs.br](mailto:svands@ufrgs.br)

**Resumo** - *Bipolaris sorokiniana* é um fungo fitopatogênico do trigo e outros cereais de inverno, responsável por moléstias como a podridão comum da raiz, carvão do nó, ponta preta dos grãos e mancha marrom. Este fungo é capaz de sobreviver no solo ou em restos vegetais infectados sendo difícil eliminá-lo completamente das regiões agrícolas afetadas, assim, um sistema de controle do mesmo se faz necessário. Como o controle constante com fungicidas implica em problemas ambientais e a resistência do fitopatógeno a esses compostos, a utilização do controle biológico representa uma estratégia alternativa e com potencial. Sabe-se que bactérias do grupo dos actinomicetos são conhecidas por produzirem metabólitos secundários com grande potencial antibacteriano e antifúngico, assim, o objetivo deste trabalho é testar e selecionar 25 isolados de actinomicetos com atividade antifúngica contra 10 isolados do fungo *Bipolaris sorokiniana*. Para isso, foram realizados ensaios de dupla-camada em meio ágar amido caseína (ACA), onde os actinomicetos foram inoculados por picada e as placas incubadas por dez dias a 30°C. Os fungos eram inoculados em meio ágar batata dextrose (BDA) e incubados por sete dias a 28°C. Após esse período, foi preparada uma suspensão dos esporos e 1 mL da suspensão homogeneizada com 9 mL de meio BDA liquefeito e esta mistura foi vertida sobre as placas de ACA com os actinomicetos crescidos. Após cinco dias, observava-se a presença ou ausência de halos de inibição. Os resultados obtidos demonstram que o isolado 1S tem grande potencial antifúngico frente aos dez isolados do fungo.

**Palavras-chave:** *B. sorokiniana*, controle biológico, actinomicetos.

## Introdução

*Bipolaris sorokiniana* é um fungo fitopatogênico encontrado em todo o mundo, que provoca doenças no trigo e outros cereais de inverno. Plantas com helmintosporiose apresentam sintomas como mancha marrom das folhas, podridão radicular e ponta preta dos grãos. Mudanças infectadas desenvolvem lesões necróticas marrom escuro nas raízes, coroas e bainhas. O trigo (*Triticum aestivum*) é uma das culturas mais afetadas pelo *B. sorokiniana*, sendo que os danos na produção podem variar de 20 a 80% (Kumar 2007).

O controle do fitopatógeno é difícil e caro, por ele infectar folhas, coroa, rizomas e raízes de espécies sensíveis e poder estar ativo em uma ou mais plantas em toda a estação de crescimento (Salehpour 2005), por apresentar uma grande variabilidade morfológica, fisiológica e genética. O controle na agricultura é feito utilizando-se principalmente fungicidas químicos (Khamna 2009), que causam severos efeitos negativos, ou seja, o desenvolvimento de resistência dos patógenos aos agentes aplicados e seus impactos ambientais não-alvo (Compant 2005). Desta forma, o controle biológico com microrganismos está sendo considerado uma alternativa ou uma forma complementar de redução do uso de produtos químicos na agricultura (Compant 2005, Khamna 2009).

Os actinomicetos são um grupo de microrganismos conhecidos pela capacidade de produzir diferentes antibióticos e antifúngicos. Microrganismos desse grupo tem sido amplamente estudados devido a essa capacidade de produzirem metabólitos secundários e portanto de grande aplicação biotecnológica. Deste modo, esse estudo tem como objetivo testar e selecionar 25 isolados de actinomicetos com atividade antifúngica contra 10 isolados do fungo *Bipolaris sorokiniana*.

### **Materiais e métodos**

Foram utilizados 10 isolados de *B. sorokiniana*, sendo 7 (98003, 98007, 98010, 98011, 98012, 98025 e 98028) oriundos do Brasil, e os outros três de outras regiões do mundo (CF02-01 – África do Sul, BS18M2 – México, e 1965 – Dinamarca). Os 25 isolados de actinomicetos tiveram origem em composto de processo de compostagem.

Para selecionar os isolados de actinomicetos com potencial antifúngico, foi realizado o ensaio de dupla-camada em placas em duplicata. Os isolados bacterianos foram inoculados por picada em placas contendo meio de cultura ágar amido caseína (ACA) e incubados por 10 dias a 30°C. Os isolados do fungo eram inoculados em meio de cultura ágar batata dextrose (BDA) e incubados por 7 dias a 28°C. Após o crescimento dos fungos uma suspensão de esporos era preparada colocando-se 3 ml de solução salina 0,85% estéril sobre as colônias nas placas e, com o auxílio de uma alça de Drigalski os esporos eram removidos e a mistura transferida para tubos de ensaio estéreis. A concentração final da suspensão de esporos era ajustada para  $5 \times 10^4$  esporos/ml, através da contagem de conídios em câmara de Neubauer. Dessa suspensão 1 mL era homogeneizada com 9 mL de meio BDA liquefeito e a mistura vertida sobre as placas contendo os actinomicetos crescidos. As placas eram incubadas a uma temperatura de 28°C por 5 dias. Após o período de incubação a presença ou ausência de halos de inibição era determinada.

### **Resultados e Discussão**

Através do ensaio de dupla-camada foi possível avaliar e selecionar os isolados de actinomicetos com potencial antifúngico. O isolado 1S mostrou 100% de eficiência contra as amostras do fungo *B. sorokiniana* e o isolado 6S mostrou atividade antifúngica apenas contra o isolado BS18M2, os demais actinomicetos não tiveram atividade antifúngica contra *B. sorokiniana* (Tabela 1).

Nascimento & Van Der Sand (2008), analisaram o polimorfismo das regiões ITS1 e ITS2 do rDNA de 57 isolados de *B. sorokiniana*. Os 10 isolados utilizados no presente estudo estão entre os avaliados pelos autores. Conforme resultados obtidos no trabalho de polimorfismo, foi possível notar que o isolado BS18M2 mostrou baixa similaridade com os demais isolados utilizados no presente trabalho. Sendo esta uma possível explicação para que o actinomiceto 6S tenha conseguido inibir apenas o isolado BS18M2.

Tabela 1. Resultados do potencial antifúngico de isolados de actinomicetos frente isolados de *Bipolaris sorokiniana* obtidos no ensaio de dupla-camada.

	98003	98007	98010	98011	98012	98025	98028	BS18M2	CF0201	1965
AP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1s	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6s	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
6e	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8e	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
77	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
83	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
84	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
95	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
103	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
107	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

## Conclusão

O isolado 1S demonstra grande potencial antifúngico contra *Bipolaris sorokiniana*.

## Referências

- COMPANT, S., DUFFY, B., NOWAK, J., CLÉMENT, C. & BARCA, E. A. 2005. Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. *Applied and Environmental Microbiology* 71 (9): 4951-4959.
- KHAMNA, S., YOKOTA, A., PEBERDY, J. F. & LUMYONG, S. 2009. Antifungal activity of *Streptomyces* spp. isolated from rhizosphere of Thai medicinal plants. *International Journal of Integrative Biology* 6(3): 143-147.
- KUMAR, D., CHAND, R., PRASAD, L. C. & JOSHI, A. K. 2007. A new technique for monoconidial culture of the most aggressive isolate in a given population of *Bipolaris sorokiniana*, cause of foliar spot blotch in wheat and barley. *World J Microbiol Biotechnol* 23: 1647-1651.
- NASCIMENTO, E. J. & VAN DER SAND, S. T. 2008. Restriction analysis of amplified ribosomal DNA spacers ITS1 and ITS2 of *Bipolaris sorokiniana* isolates. *World Microbiol Biotechnol* 24: 647-652.
- SALEHPOUR, M., ETEBARIAN, H. R., ROUSTAEI, A. & AMINIAN, H. 2005. Biological Control of Common Root Rot of Wheat (*Bipolaris sorokiniana*) by *Trichoderma* Isolates. *Plant Pathology Journal* 4(1): 85-90.