

## BACTÉRIAS BIOCONTROLADORAS DE ARROZ: EFEITOS NA MOTILIDADE (SWARMING) SOB DIFERENTES TEMPERATURAS

MIRIAN ALVES<sup>1</sup>; BRUNA ROHRIG<sup>2</sup>; MAYARA RODRIGUES DE SOUZA<sup>3</sup>;  
ANDREA BITTENCURT MOURA <sup>4</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal De Pelotas – mirive858@gmail.com

<sup>2</sup> Universidade Federal De Pelotas – rohringbruna@hotmail.com

<sup>3</sup> Universidade Federal De Pelotas – mayaracks@gmail.com

<sup>4</sup> Universidade Federal De Pelotas – abmoura@ufpel.edu.br

### 1. INTRODUÇÃO

O uso de biocontroladores está ganhando cada vez mais espaço como método de manejo ambientalmente mais sustentável, pois introdução destes microrganismos como bactérias do gênero *Bacillus*. Estas bactérias são Gram (+) pertencem à família *Bacillaceae* e apresentam metabolismo anaeróbico facultativo, tendo como faixa de temperatura ideal de crescimento 25 a 35°C.

A compreensão dos mecanismos de ação destes organismos é muito importante para que se possa entender sua eficácia no controle de doenças de plantas. A motilidade dos microrganismos é uma característica importante para o controle biológico, possibilitando a sobrevivência e colonização em diversos ambientes, além de conferir vantagens competitivas (McCarter; Morabe, 2019).

*Swarming* é definido por uma translocação rápida (2–10 µm/s) e coordenada de uma população bacteriana através de superfícies sólidas ou semi-sólidas, sendo um exemplo de multicelularidade bacteriana e comportamento de enxame (HARSHEY, 2003).

O objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro* a motilidade (*swarming*) de bactérias biocontroladoras *Bacillus* DFs416 e DFs418 observando o seu desenvolvimento celular sob cinco diferentes temperaturas (17, 22, 27, 32 e 37 °C).

### 2. METODOLOGIA

Os isolados utilizados pertencem à coleção do Laboratório de Bacteriologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, identificados como DFs416 e DFs418 (*Bacillus* sp. Cohn), ambos indicadores de antibiose em placas cultivadas com *B. oryzae*.

Em trabalhos anteriores foi comprovado que esses isolados exercem o biocontrole de diferentes doenças do arroz (Souza Júnior et al., 2017; Moura et al., 2014; Ludwig, Moura, Gomes, 2013; Souza Júnior et al, 2010; Ludwig et al., 2009).

Os isolados bacterianos foram previamente cultivados durante 24 h em meio caldo nutriente (CN) da Kasvi, na proporção de 13,0 gramas por litro (contendo extrato de carne (1g/l), extrato de levedura (2,0 g/l), peptona (5,0 g/l) e cloreto de sódio (5,0 g/l)).

Logo após foram retiradas alíquotas de 5 µL de cada crescimento e foi ajustada para A540=0,2, de absorbância, e dispostas no centro das placas e a motilidade tipo swarming foi avaliada em meio de cultura Luria-Bertani (LB) 10 g Peptona;

5 g de extrato de levedura; 10 g de cloreto de sódio a 0,6% de ágar (Huber et al., 2003), incubadas nas cinco diferentes temperaturas (17, 22, 27, 32 e 37 °C) em uma BOD por um período de 48 h.

A avaliação foi realizada pela medição do diâmetro das colônias, com paquímetro digital em dois sentidos diametralmente opostos, após 48 h de incubação. Para dados do diâmetro médio foi realizada análise de variância (ANOVA), realizando comparações de médias pelo teste de Tukey.

Para todos os ensaios *in vitro*, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições, cuja unidade experimental foi composta por uma placa de Petri.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ocorreu interação significativa entre isolados e temperaturas, para ambos os isolados, ajustou-se equação polinomial de terceiro grau, correspondendo a  $R^2=0,95$  e  $R^2=0,96$ . Respectivamente. Para DFs416 (Fig.1A) a maior motilidade foi observada nas temperaturas de 22, 32 e 37°C, e para DFs418 (Fig.1B), na temperatura de 32°C.

Ambos os isolados apresentaram menor motilidade quando crescidos a 17°C. Quando comparados entre si (Fig.1C), DFs416 apresentou maiores diâmetros de colônia a 22, 27 e 37°C e em nenhuma das temperaturas menor que DFs418.

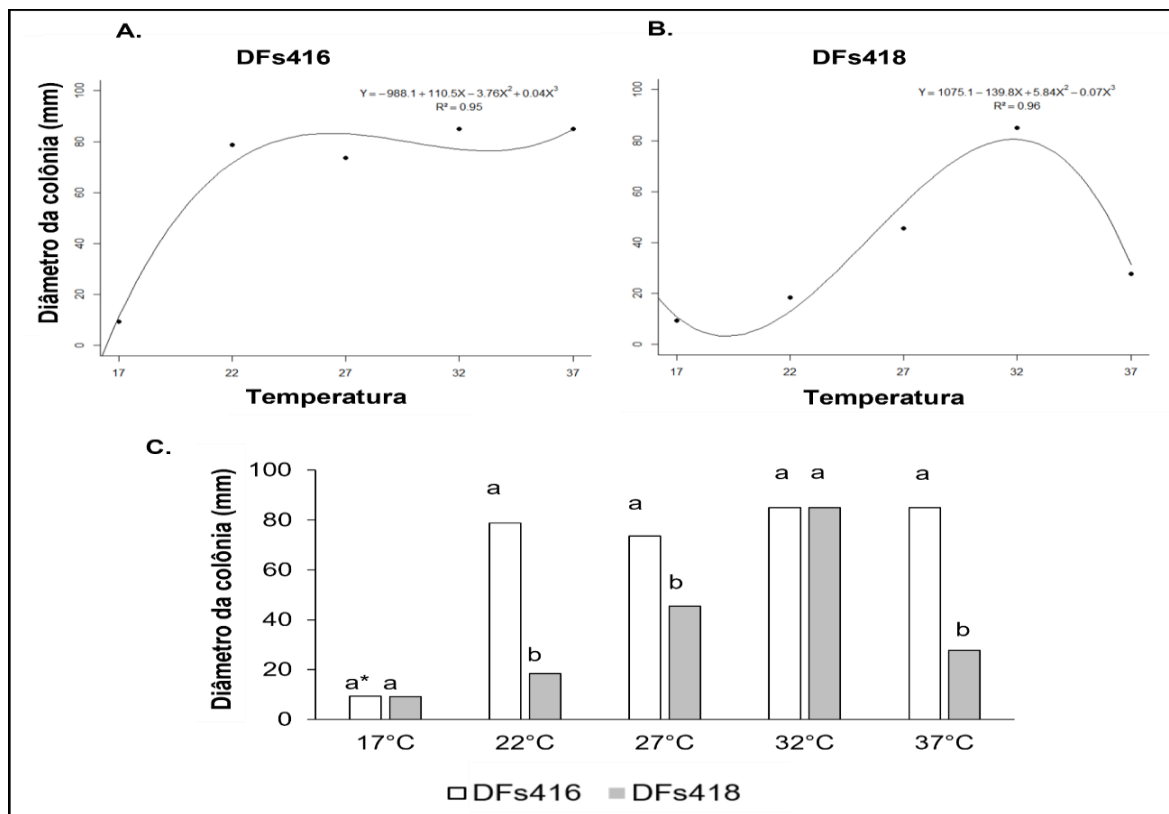


Figura 1- Motilidade do tipo *swarming* em meio de cultura Luria-Bertani (LB) a 0,6% de ágar dos isolados biocontroladores nas temperaturas de 17, 22, 27, 32 e 37°C após 48 h de incubação. (A) DFs416- *Bacillus* sp.; (B) DFs418- *Bacillus* sp.; (C) comparação entre tratamentos em diferentes temperaturas. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

O isolado DFs418 apresentou maior sensibilidade às diferentes temperaturas, com maior motilidade a 32°C, o que pode ser atribuído à capacidade específica do isolado em se adaptar a esta temperatura, corroborando com outros estudos, onde *B. amyloliquefaciens* apresentou maior motilidade na maior temperatura avaliada (35°C), com redução significativa da sua capacidade de locomoção à medida que as temperaturas diminuíram (Papuolo et al., 2013).

A motilidade dos microrganismos é a habilidade de locomoção espontânea que é importante para o controle biológico, pois possibilita a sobrevivência e colonização em diversos ambientes, (McCarter; Morabe, 2019). Gao e colaboradores (2016) relacionaram a colonização de raízes de tomate por *B. subtilis* com a motilidade, demonstrando inclusive maior eficiência na colonização e sobrevivência destas bactérias, sugerindo que a colonização das raízes requer a presença de flagelos. Além disso, *Bacillus* spp. podem manter a motilidade mesmo após congelamento e descongelamento, demonstrando potencial deste gênero em suportar condições adversas de temperaturas (Asadisa et al., 2014).

Na motilidade swarming do *Bacillus* sp nos isolados DFs416 e DFs418 quando submetidos ao estresse abiótico comprovou que estes microrganismos suportam estas variações, mantendo as suas características.

#### 4. CONCLUSÕES

Os dados obtidos neste estudo apontam que houve estabilidade dos isolados DFs416 e DFs418 nas diferentes temperaturas, característica desejável no biocontrole de doenças.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Asadisa, B.; Olsoon, A. L. J.; Dusane, D. H.; Ghoshal, S.; Tufenkji, N. Transport, motility, biofilm forming potential and survival of *Bacillus subtilis* exposed to cold temperature and freeze-thaw. **Water Research**, E.U.A v.58, p.239-247, 2014.

Gao, S.; Wu, H.; Yu, X.; Qian, L.; Gao, X. Swarming motility plays the major in migration during tomato root colonization by *Bacillus subtilis* SWR01. **Biological Control**, Estados Unidos v.98, p.11-17, 2016.

Huber B, Eberl L, Feucht W, Polster J. Influence of polyphenols on bacterial biofilm formation and quorum-sensing. **Zeitschrift für Naturforschung**. Alemanha v.58, p.879-884, 2003.

Mccarter, L. L.; Morabe, M. L. Swimming and swarming motility. In: Roitberg, B. D.; Cotter, P. D. **Reference Module in Life Sciences**, Netherlands v.1, p.1-9, 2019.

Papuolo, T.; Starovic, M.; Aleksic, G.; Zivkovic, S.; Josic, D.; Ignjatov, M.; Milovanovic, P. Response of different beans against common bacterial blight disease caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. **Bulgarian Journal Agricultural Science**, Búlgaria v.86, p.45-48, 2013.

Souza Júnior, I. T.; Schafer, J. T.; Correa, B. O.; Funck, G. R. D.; Moura, A. B. Expansion of the biocontrol spectrum of foliar diseases in rice with combinations of rhizobacteria. **Revista Ciência Agronômica**, Ceará, v.48, p.513-522, 2017.

Yu, Yi-Yang.; Jiang, Chun-Hao.; Wang, C.; Chein, Liu-Jun.; Li, Hong-Yang.; Xu, Q.;



Gou, Jian-Hua. An improved strategy for stable biocontrol agentes selecting to control rice sheath blight caused by *Rhizoctonia solani*. *Microbiological Research*, Estados Unidos v.203, p.1-9, 2017.