

RELAÇÃO ENTRE A DIVERSIDADE BACTERIANA E SEVERIDADE DA HÉRNIA DAS CRUCÍFERAS EM SOLOS AGRÍCOLAS DE NOVA FRIBURGO – RJ

Ana Luiza da Rocha Fortes Saraiva¹; Aline da Silva Bhering², Bruno Oliveira de Carvalho³, Irene da Silva Coelho⁴

1. Discente do curso de Agronomia IA/UFRRJ; 2. Bolsista do curso de pós-graduação em Fitotecnia/UFRRJ-CAPES; 3. Doutor pelo programa PPGCTIA/ UFRRJ; 4. Professor do DMIV/IV/UFRRJ.

Palavras-chave: *Brassica oleracea* var. *Botrytis*, DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis), *Plasmodiophora brassicae*.

Introdução

A hérnia das crucíferas é causada pelo patógeno *Plasmodiophora Brassicae* Woronin, protozoário biotrófico de solo, que dependendo do grau da severidade pode causar redução significativa na produtividade de brássicas. O funcionamento do ecossistema do solo é governado em grande parte pela dinâmica de sua população microbiana, que é fortemente influenciada pelos distúrbios a que o solo é submetido, incluindo patógenos de solo. Dessa forma é importante que se estabeleça a relação entre a diversidade microbiana do solo e a severidade de doenças, uma vez que foi observado que a maior diversidade de microrganismos, que reflete na atividade microbiana no solo, pode contribuir para a supressão geral do solo por reduzir a severidade ou incidência da doença que, direta ou indiretamente inibem a infecção ou sobrevivência do patógeno (Whipps, 2001; Yin et al., 2003). Uma vez que a técnica de Eletroforese em Gel de Gradiente de Desnaturação (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis – DGGE) permite investigar as comunidades de microrganismos do solo e é capaz de apontar mudanças da composição dessas comunidades em função dos diferentes distúrbios a que os solos são submetidos, o presente trabalho tem por objetivo avaliar a diversidade bacteriana de solos cultivados com couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) em Nova Friburgo-RJ de DGGE e relacionar com severidade da hérnia das crucíferas, na tentativa de se obter maiores informações que possam favorecer o controle da doença.

Metodologia

Foram selecionadas seis amostras de solos provindas da área agrícola de Nova Friburgo, onde duas amostras foram classificadas com baixa severidade da doença em campo, duas com intermediária severidade e duas com alta severidade da doença em campo. A escala foi realizada conforme a escala visual de Takahashi *et al.*, (2005).

A extração do DNA total do solo foi realizada utilizando o kit PowerMax™ Soil DNA Isolation (MO BIO Laboratories, Inc), segundo o protocolo fornecido pelo fabricante. Na 1ª reação de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) foram empregados os *primers* 27f ([Suzuki & Giovannoni, 1996](#)) e 1512r ([Kane et al., 1993](#)), que amplificam a região 16S rDNA de bactérias e que geram um fragmento de aproximadamente 1500 pb. Os produtos gerados na 1ª reação foram utilizados como molde para a 2ª reação de PCR utilizando os *primers* CG-338f e 518r (Ovreas et al., 1997) que anelam na região V3 do rDNA 16S de bactérias gerando fragmento de aproximadamente 198 pb. Os produtos da segunda reação de PCR foram separados em gel de 8% de poliacrilamida e gradiente de concentração entre 44% e 60% definido a partir da mistura de soluções de uréia e formamida deionizada. A eletroforese foi realizada a 70 V e 60°C, por 16 horas, em um equipamento Dcode™ “*Universal Mutation Detection System*” (BIO-Rad, Richmond, EUA). Os géis foram fotografados e as imagens analisadas visualmente através da contagem do número de bandas (UTOs – Unidades Taxonômicas Operacionais) e detecção da sua presença/ausência no gel.

Resultados e Discussão

Houve uma correlação negativa entre a diversidade microbiana de solos e severidade da hérnia, ou seja, observou-se no DGGE que a maior diversidade bacteriana, encontra-se em amostras de solos que apresentaram menor severidade da doença em campo. Esses resultados estão de acordo com os de Penalber (2009) onde, o índice da doença hérnia das crucíferas e a diversidade bacteriana foram negativamente correlacionados. Porém, Penalber (2009), analisou além de Eubacteria, que foi analisado neste trabalho, Alpharotobacteria, Betaproteobacteria, e *Pseudomonas*.

Também foram observadas diferenças nos perfis de eletroforese entre amostras classificadas como baixa, média e alta severidade, que refletem diferenças na composição da comunidade e na abundância de indivíduos nas populações da comunidade. A identificação de técnicas de manejo que proporcionaram a maior diversidade microbiana e, conseqüentemente, maior efeito supressor do solo pode ser uma estratégia interessante para o controle da hérnia das crucíferas. Embora o perfil eletroforético não reflita a composição taxonômica de uma comunidade microbiana, a informação filogenética sobre um membro da comunidade em particular pode ser obtida por isolamento e sequenciamento de fragmentos de DNA de interesse (Kent & Triplett, 2002) e pode gerar informações importantes, uma vez que a presença de populações microbianas específicas pode está relacionada com a supressão da hérnia das crucíferas.

Conclusão

Há uma correlação negativa entre a diversidade microbiana de solos e severidade da hérnia.

Há diferenças na composição bacteriana de solos com baixas, média e alta severidade de doença.

A técnica de DGGE se mostra eficiente na avaliação da diversidade bacteriana por ter possibilitado detectar diferentes padrões nas diferentes condições avaliadas e pela sua sensibilidade de detecção.

Referências Bibliográficas

- KANE, D. J.; SARAFIAN, T. A.; ANTON, R.; HAHN, H.; GRALLA, E. B.; VALENTINE, J. S.; BREDESEN, D. E. Bcl-2 inhibition of neural death: decreased generation of reactive oxygen species. *Science*, v. 262, p. 1274-1277, 1993.
- KENT, A.D.; TRIPLETT, E.W. Microbial communities and interactions in soil and rhizosphere ecosystems. *Annual Review Microbiology*, v.56, p. 211-236, 2002.
- PENALBER, A.T.T; Controle alternativo das hérnia das crucíferas causada por *Plasmodiophora brassicae* em brócolis através de composto orgânico. Tese: Departamento de fitopatologia, Instituto de ciências biológicas Universidade Federal de Brasília, 2009.
- TAKAHASHI, L.M.; CEBRIAN, I.T.; SOUZA, N.L. Inoculação de *Plasmodiophora brassicae* agente causal da “hérnia das crucíferas”. *SummaPhytopathologica*. 31:S16. (Resumo). 2005
- WELLER, D.M.; RAAIJMAKERS, J.M.; McSPADDEN GARDENER, B.B.; THOMASHOW, L.S. Microbial populations responsible for specific soil supressiveness to plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, v. 40, p. 309-348, 2002.