



Ação antagonista de *Bacillus velezensis* sobre fitopatógenos de espécies agrícolas.

Antagonistic action of Bacillus velezensis on phytopathogens of agricultural species.

SANTOS, Joeliton Campani dos¹; SCHUSTER-RUSSIANO, Maira Cristina²; SALVADORI, Camila Natascha³; SABURO, Roberto Sadão Sinabroco⁴; MAZARO, Sérgio Miguel⁵

¹ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campanijoeliton@gmail.com; ² Universidade Tecnológica Federal do Paraná, maira.schuster@outlook.com; ³ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, camilasalvadori@alunos.utfpr.edu.br; ⁴ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, robertossaburo@gmail.com; ⁵ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, sergio@utfpr.edu.br.

Resumo Expandido

Eixo Temático: Manejo de Agroecossistemas.

Resumo: Na contramão das demandas do mercado consumidor por alimentos mais saudáveis e de qualidade, o uso intensivo e desordenado de agrotóxicos para os manejos, acarreta em vários problemas, sejam eles de contaminação ambiental e a saúde humana, resistência de organismos a produtos sintéticos e redução da diversidade nos ecossistemas. É necessário que se estude e aplique manejos mais sustentáveis e menos prejudiciais ao meio. Neste sentido, o presente trabalho teve por objetivo estudar a ação antagonista da bactéria *Bacillus velezensis* sobre três fitopatógenos: *Colletotrichum truncatum*, *Corynespora cassiicola* e *Phomopsis longicolla* que acometem espécies agrícolas. Por meio da metodologia de confronto direto, *in vitro*. O delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial com 4 repetições. Os resultados demonstram que o isolado de *B. velezensis* apresentou potencial de controle *in vitro* dos patógenos *C. truncatum*, *C. cassiicola* e *P. longicolla*.

Palavras-chave: bioinsumos; controle biológico; confronto direto; cultivos orgânicos.

Introdução

A agricultura desempenha um papel vital no desenvolvimento socioeconômico dos países, é a fonte básica de abastecimento de alimentos para suprimento das demandas da população e subsistência, além de fatores produtivos como trabalho e capital (BULA, 2020). Entre os modelos de agricultura predomina a convencional, que se mostra cada vez menos sustentável considerando o uso intensivo de agrotóxicos, sementes transgênicas e a simplificação de ambientes. Derivando em acréscimos nos custos de produção, dependência de recursos externos à propriedade, resistência de organismos aos agrotóxicos e redução da biodiversidade nos agroecossistemas (STOTZ, 2012; LOPES; ALBUQUERQUE, 2018). Além dos efeitos deletérios já demonstrados meio ambiente, o uso de agrotóxicos, pautado na agricultura convencional causa diversos agravos à saúde humana (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018).



A ampliação do agronegócio no modelo atual de agricultura eleva a demanda de produtos químicos e o uso destes produtos favorece o desequilíbrio da biota, associando riscos ambientais e sociais (SOUZA; ZANELLA, 2009). Neste contexto, a busca por métodos alternativos e sustentáveis para o controle de doenças de plantas tem se intensificado como uma alternativa viável economicamente e com elevada eficiência agrônômica (VIEIRA JUNIOR et al. 2013).

Visando minimizar problemas, optar por manejos com menor impacto ambiental e à saúde humana é fundamental. Diferentes produtos de base biológica vêm sendo pesquisados mostrando-se promissores, visto a baixa toxicidade ao ambiente, boa eficiência e restringindo as chances de resistência dos patógenos (DE SOUZA et al. 2014; RUIU, 2018).

As bactérias do gênero *Bacillus* são as mais empregadas como antagonistas no controle biológico de doenças de solo e de parte aérea (CLEMENTE et al. 2016). São bactérias Gram-positivas e aeróbicas, presentes em diferentes substratos, podendo facultativamente crescer em anaerobiose (MONNERAT et al. 2020). Clemente et al. (2016), complementam, que as bactérias deste gênero podem atuar também como promotoras de crescimento, indutoras de resistência, sulubilizadoras de nutrientes, e na produção de fito-hormônios. Neste contexto, objetivou-se avaliar a ação antagonista de *Bacillus velezensis* no controle biológico de patógenos de solo e parte aérea que acometem espécies agrícolas.

Metodologia

Para o desenvolvimento deste estudo avaliou-se o isolado de *Bacillus velezensis* prospectado de mata nativa da Universidade Tecnológica Federal do Paraná campus Dois Vizinhos (UTFPR-DV), quanto ao seu potencial antagonista no biocontrole de três fitopatógenos: *Colletotrichum truncatum*, *Corynespora cassiicola* e *Phomopsis longicolla* que acometem espécies agrícolas, oriundos da coleção de microrganismos do laboratório de Fitossanidade, da UTFPR-DV provenientes da EMBRAPA Soja. O isolado de *B. velezensis* foi avaliado por meio da metodologia de confronto direto *in vitro* adaptado de Solino et al. (2017).

A avaliação do confronto direto foi realizada em placas de Petri®, em cada placa foi vertido 20mL do meio de cultura BDA (Batata – Dextrose e Agar) e disposto a 1,5 cm na extremidade da placa, um disco de meio contendo micélio dos fitopatógenos correspondentes a cada tratamento, na outra extremidade foi disposto um disco do meio contendo a bactéria *B. velezensis*. A testemunha então, sendo composta apenas do disco de micélio dos fitopatógenos

Posteriormente, as placas foram devidamente fechadas e vedadas, com papel filme e acondicionadas em BOD com temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas, por um período de 7 dias, onde acompanhou-se o crescimento micelial (BOMFIM et al. 2010).

Para calcular o percentual de inibição do crescimento micelial (PIC), foi utilizado a fórmula de MENTEN et al. (1976) onde:

$$\text{PIC} = \frac{(\text{Crescimento da testemunha} - \text{Crescimento tratamento}) \times 100}{\text{Crescimento da testemunha}}$$

Crescimento da testemunha

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial, com quatro repetições. Realizando medições diariamente, por sete dias. Os resultados obtidos foram analisados com o auxílio do software R Biometrics (BHERING, 2017) as médias agrupadas pelo teste de Scott knott a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Os resultados demonstram que o houve diferença significativa para o isolado de *B. velezensis* sobre a redução do crescimento micelial de *C. truncatum*, *C. cassicola* e *P. longicolla* reduzindo o diâmetro médio da colônia dos fitopatógenos em relação ao tratamento controle (Figura 1).

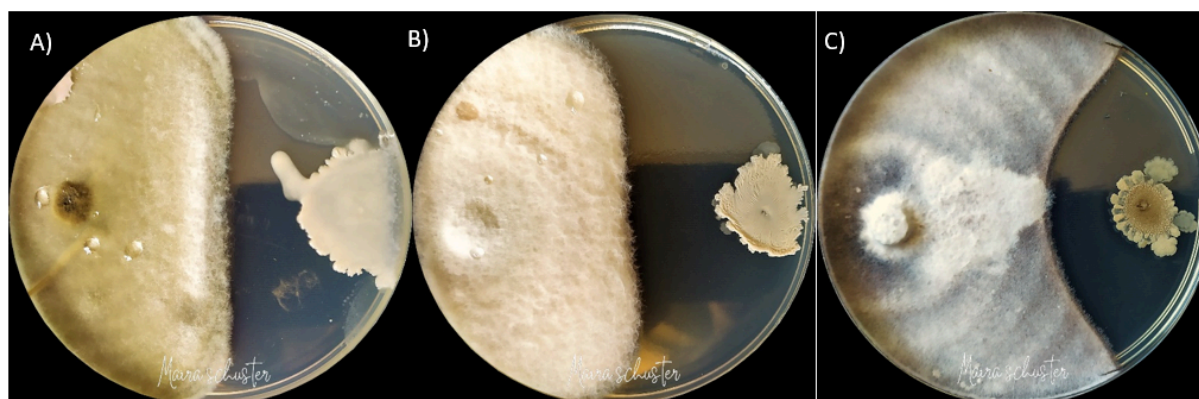


Figura 1. Efeito de *B. velezensis* na redução do crescimento micelial *in vitro* dos patógenos A) *Colletotrichum truncatum* B) *Corynespora cassicola* C) *Phomopsis longicolla* em 168 horas após o início das avaliações.

Pode-se observar que no sétimo dia de avaliação houve a redução do crescimento micelial em 33% no confronto realizado entre *B. velezensis* e *C. truncatum* em relação a testemunha. Já para *C. cassicola*, observou-se a redução de 37% quando comparado com a testemunha. E por fim, quando analisamos os resultados obtidos entre o confronto de *B. velezensis* e *P. longicolla* pode-se perceber ação antagonista mais efetiva de *B. velezensis*, reduzindo 60% do crescimento micelial, quando comparado com a testemunha do fitopatógeno (Figura 2). Han et al. (2021) demonstraram a eficiência da cepa FZB42 de *B. velezensis* que inibiu o crescimento de *Phytophthora* spp., reduzindo em 66,8% o crescimento *P. sojae*, patógeno causador da podridão radicular da soja.

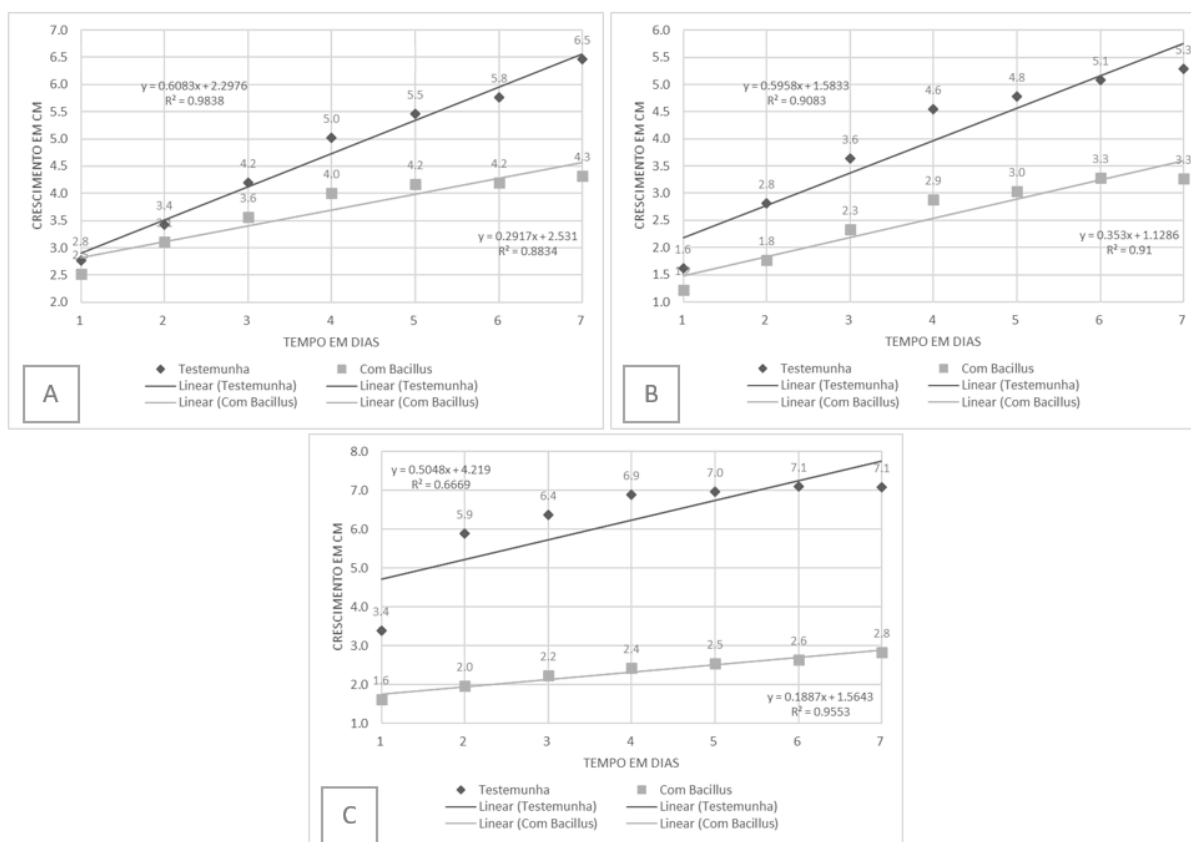


Figura 2. Resultado do potencial antagonista de *Bacillus velezensis*. Através do confronto direto no controle biológico *in vitro* de (A)*Colletotrichum truncatum*, (B)*Corynespora cassiicola* e (C)*Phomopsis longicolla* em sete dias de avaliação (CV= 8.25%, *C. truncatum*; 25.56%, *C. cassiicol*; e 19.68%, *P. longicolla*).

Resultados semelhantes foram obtidos por Silva et al. (2022) quando confrontaram dois isolados de *B. velezensis* CT02 e IPR06, com cinco fitopatógenos da cultura do milho, os autores observaram a ação antifúngica de *B. velezensis* na inibição do crescimento micelial superior a 58% para os cinco fitopatógenos testados. O mesmo observado por Ferreira et al. (2021) onde, *B. velezensis* reduziu o crescimento micelial e a germinação de conídios de *Fusarium verticillioides*. Cão et al. (2018), concluíram que por meio de lipopeptídeos *B. velezensis* exerce também efeitos antagonicos sobre *Ralstonia solanacearum* e *Fusarium oxysporum* fitopatógenos de plantas pertencentes as famílias Solanaceae e Musaceae.

Diante do exposto *B. velezensis* apresenta-se como um agente de biocontrole versátil, podendo ser empregado como uma substituição eficaz aos agroquímicos sintéticos, seja usando a própria bactéria ou extraindo seus compostos ativos (RABBEE; BAEK, 2023).

Conclusões

Conclui-se que o isolado de *Bacillus velezensis* apresentou efeito antagonista pelo teste de confronto direto, *in vitro*, controlando *Colletotrichum truncatum*,



Corynespora cassiicola e *Phomopsis longicolla*, apresentando-se promissor para o emprego no controle biológico, visando a substituição do uso intensivo e mitigação dos efeitos deletérios que os agrotóxicos sintéticos causam no meio ambiente e na saúde humana. Assim, promovendo uma agricultura mais eficaz e sustentável.

Referências bibliográficas

BHERING, L.L. Rbio: A Tool For Biometric And Statistical Analysis Using The R Platform. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.17: 187-190p, 2017.

BULA, A.O. Importância da Agricultura no Desenvolvimento Sócio-Económico; Observatório Económico Social. **Informes del Observatorio**; Universidad Nacional del Rosario: Santa Fe, Argentina, 2020; pp. 3–28. ISSN 2683-9067

BOMFIM, Marinês P.; SÃO JOSÉ, Abel R.; TIYOKO, Nair H.; ALMEIDA, Saulo.S. D.; SOUZA, Ivan V.B.; DIAS, Nilma. O. Antagonic effect *in vitro* and *in vivo* of *Trichoderma* spp. to *Rhizopus stolonifer* in yellow passion fruit. **Summa Phytopathologica**, v. 36, p. 61-67, 2010.

CAO, Yu.; HUALIANG, Pi.; PETE, Chandransu.; YONGTAO, Li.; YUGI, Wang.; HAN, Zhou.; HANQIN, Xiong.; JOHN, Helmann.; YANFEI, Cai. Antagonism of Two Plant-Growth Promoting *Bacillus velezensis* Isolates Against *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum*. **The National Center for Biotechnology Information**, v. 8, n. 1, p. 1-14, 2018.

CLEMENTE, Júnia M.; CARDOSO, Carine R.; VIEIRA, Bruno S.; FLOR, Iara D. M.; COSTA, Robson L. D. Use of *Bacillus* spp. as growth promoter in carrot crop.. **Jornal Africano de Pesquisa Agrícola**, v. 11, n. 35, pág. 3355-3359, 2016.

DE SOUZA, J. L. Agricultura orgânica: tecnologias para a produção de alimentos saudáveis. Vitória-ES: Incaper, 2005., 2014. RUIU, L. **Microbial Biopesticides in Agroecosystems. Agronomy**, v. 8 p.235, 2018. DOI: 10.3390/agronomy8110235.

FERREIRA, Thiago C.; LAGO, Lucas D.; SILVA, Lucas G.; PACIFICO, Marina G.; FARIA, Mirian R. D.; BETTIOL, Wagner. Potencial de *Bacillus* spp. em promover o crescimento e controlar *Fusarium verticillioides* em milho. **Summa Phytopathologica**, v. 47, p. 195-203, 2022.

HAN, Xingshan.; SHEN, Dongxia.; XIONG, Qin.; BAO, Beihua.; ZHANG, Wenbo.; DAI, Tingting.; ZHAO, Yinjuan. The plant-beneficial rhizobacterium *Bacillus velezensis* FZB42 controls the soybean pathogen *Phytophthora sojae* due to bacilysin production. **Microbiologia aplicada e ambiental**, v. 87, n. 23, pág. e01601-21, 2021.



LOPES, C.V.A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. de. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em debate**, v. 42, p. 518-534, 2018.

MENTEN, J. O. M.; MACHADO, C. C.; MINUSSI, E.; CASTRO, C.; KIMATI, H. Resistência efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid. “*in vitro*”. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 1, n. 2, p. 57-66, 1976.

MONNERAT, Rose.; MONTALVÃO, Silvio C. L.; MARTINS, Erica S.; QUEIROZ, Paulo R.M.; SILVA, Ester Y. Y. D.; GARCIA, Aline R. M.; CASTRO, Marcelo T. D.; ROCHA, Gabriela T.; FERREIRA, Antônia D. C. de L.; GOMES, Ana C. M. M. **Manual de produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de bactérias do gênero *Bacillus* para uso na agricultura**. 2020. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1122563>>. Acesso em: 2023

RABBEE, M. F.; BAEK, K.H. Detecção de Compostos Antagonistas Sintetizados por *Bacillus velezensis* contra *Xanthomonas citri* subsp. *citri* por Metaboloma e Sequenciamento de RNA. **Microorganismos**, v. 11, n. 6, pág. 1523, 2023.

SILVA, Felipe C.; DINIZ, Gisele.; ALVES, Talles.; SILVA.; COTA, Luciano.; OLIVEIRA-PAIVA, Christiane. A. Controle biológico de diferentes fitopatógenos da cultura do milho por dois isolados de *Bacillus velezensis*. 2022.

SOLINO, A. J. S. et al. Potencial antagonista e controle in vitro de *Alternaria solani* por fungos sapróbios. **Summa Phytopathologica**, v. 43, p. 199-204, 2017.

SOUZA, L.B.; ZANELLA, M. E. Percepção de riscos ambientais: teoria e aplicações. Fortaleza: **Edições UFC**, 2009.

STOTZ, E. N. Os limites da agricultura convencional e as razões de sua persistência: estudo do caso de Sumidouro, RJ. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 37, p. 114-126, 2012.

VIEIRA JUNIOR, Jose R.; FERNANDES, Cleberson. F.; SILVA, Maria. S.; ANTUNES JÚNIOR, Hidelbramo; SILVA, Domingos S. G.; SILVA, Ueliton O. Rizobactérias como agente de controle biológico e promotores de crescimento em plantas. Porto Velho: Embrapa Rondonia, 2013. 15 p. Embrapa Rondônia. **Documentos**, 155.