



## ***Bacillus Amyloliquefaciens* no biocontrole de fitopatógenos causadores de doenças foliares em soja**

*Bacillus Amyloliquefaciens* in the biocontrol of phytopathogens that cause foliar diseases in soybean

SALVADORI, Camila Natacha<sup>1</sup>; SCHUSTER-RUSSIANO, Maira Cristina<sup>2</sup>; DOS SANTOS, Joeliton Campani<sup>3</sup>; ALBAN, Lucas<sup>4</sup> MAZARO, Sergio Miguel<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Universidade Tecnológica Federal do Paraná, camilasalvadori@alunos.utfpr.edu.br; <sup>2</sup> Universidade Tecnológica Federal do Paraná, maira.schuster@outlook.com; <sup>3</sup> Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campanijeliton@gmail.com; <sup>4</sup> Universidade Tecnológica Federal do Paraná, lucasalbanvere@gmail.com. <sup>5</sup> Universidade Tecnológica Federal do Paraná, sergio@utfpr.edu.br;

### **RESUMO EXPANDIDO**

#### **Eixo Temático: Manejo de agroecossistemas**

**Resumo:** Atualmente o mercado agrícola e as diretrizes de produção visam à conservação e o uso sustentável dos recursos naturais. Nesse sentido, o controle biológico de pragas e doenças surgiu como um meio alternativo e promissor ao uso de agrotóxicos, os quais ocasionam inúmeros prejuízos à saúde humana e ao meio ambiente. Tem surgido no mercado muitos produtos com o propósito de substituir o uso de fungicidas químicos no manejo de doenças foliares na cultura da soja. O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial de um produto comercial à base de *Bacillus amyloliquefaciens* cepas CPQBA 040-11DRM 01 e CPQBA 040-11DRM 04, sobre os fitopatógenos *Cercospora sojina*, *Corynespora cassicola*, *Septoria glycines* e *Colletotrichum truncatum*. O experimento foi conduzido em placas de Petri, em meio BDA (Batata, Dextrose e Agar) em cultura pareada, onde em um lado da placa foi disposto uma alíquota do produto contendo o antagonista e no outro lado o fitopatógeno. O crescimento micelial de cada fitopatógeno foi mensurado diariamente. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições. Observou-se que o produto à base de *B. amyloliquefaciens* foi eficiente na supressão do crescimento dos fitopatógenos estudados, demonstrando como modo de ação antibiose.

**Palavras-chave:** controle biológico; doenças; patógenos; agroecologia.

#### **Introdução**

O controle biológico é caracterizado como o controle de um agente antagônico sobre um agente danoso ao agroecossistema. Assim, os recursos naturais, seja vegetal ou animal, natural ou manejado, são externalidades que oferecem benefícios para o bem-estar humano (FONTES et al., 2020).

Nesse sentido, o controle biológico desenvolve uma função crucial quando utilizados no controle de doenças em sistemas de produção agrícola (CRUZ; SILVA, 2019). Existem vários produtos no mercado, muitos deles pouco estudados: os restritos a alguns alvos biológicos, com à base de *Bacillus amyloliquefaciens* cepa CPQBA 040-11DRM 01 e o *Bacillus amyloliquefaciens* cepa CPQBA 040-11DRM 04,



indicado para o controle de antracnose, mancha-alvo, mancha de *phaeosphaeria* e ramularia.

O antagonista *Bacillus amyloliquefaciens* é uma bactéria gram positiva, aeróbica, móvel e que possui capacidade em formar esporos, principalmente, no solo. É utilizada em diversos processos industriais e tem sido mencionada como sendo uma rizobactéria promotora de crescimento vegetal (PEREIRA et al, 2018). O gênero *Bacillus*, dentre as bactérias, é o mais utilizado no controle biológico de doenças mundialmente.

Quanto aos microrganismos potencialmente controlados pelo antagonista, tem-se o fungo *Cercospora sojina*, agente causal da cercosporiose, doença fúngica que acomete plantas do gênero *Capsicum*. Possui a toxina cercosporina, que ocasiona ruptura de membrana e morte das células vegetais (SANTOS, 2015). O gênero *Corinespora*, apresenta hábito necrotrófico, cosmopolita e polífago, podendo infectar mais de 400 hospedeiros. Esse microorganismo libera uma toxina conhecida como “cassiicolin”, dentre os sintomas ocasionados pelo fitopatógeno, pode-se mencionar a mancha-alvo, pontuações amareladas, que se tornam maiores e com coloração acastanhada de modo a formar anéis concêntricos, com um centro necrótico (COSTA, 2020).

Já o fitopatógeno *Septoria glycines*, é um dos gêneros de fungos fitopatogênicos mais encontrados no mundo, com alto grau de patogenicidade (COSTA, 2019). Os fungos do gênero *Colletotrichum* são saprofitos, e causam a antracnose, seca de ramos e também manchas foliares (CORDEIRO et al, 2009).

Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia um produto comercial à base de *Bacillus amyloliquefaciens* cepas CPQBA 040-11DRM 01 e CPQBA 040-11DRM 04, sobre os fitopatógenos causadores de doenças foliares *Cercospora sojina*, *Corynespora cassicola*, *Septoria glycines* e *Colletotrichum truncatum*.

## Metodologia

O experimento foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico II da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos.

Em câmara de fluxo laminar, com placas de Petri de 8,3 cm de diâmetro, contendo 15 mL de meio BDA (Batata, Dextrose e Ágar) solidificado, foi transferido utilizando alça de platina estéril, um disco de micélio de 7 mm de diâmetro do fitopatógeno do lado direito da placa, à 1cm de distância da borda. Na mesma placa do lado esquerdo, a 1 cm de distância da borda, foi adicionado 5 µl de produto comercial à base de *B. amyloliquefaciens* cepas CPQBA 040-11DRM 01 e CPQBA 040-11DRM 04, na concentração de 10<sup>9</sup> células/g.

As placas foram fechadas com filme plástico e incubadas em BOD a 25°C com fotoperíodo de 12 horas. Cada placa correspondeu à uma unidade experimental.

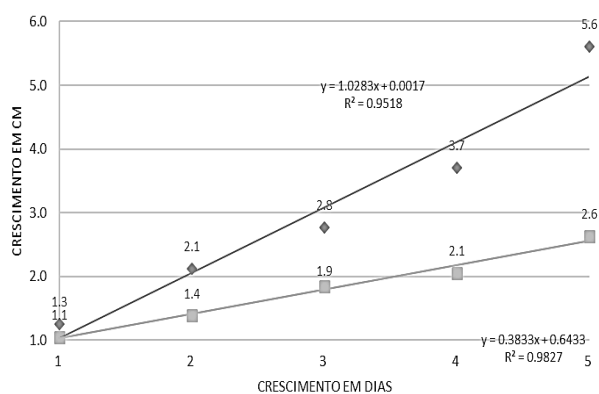
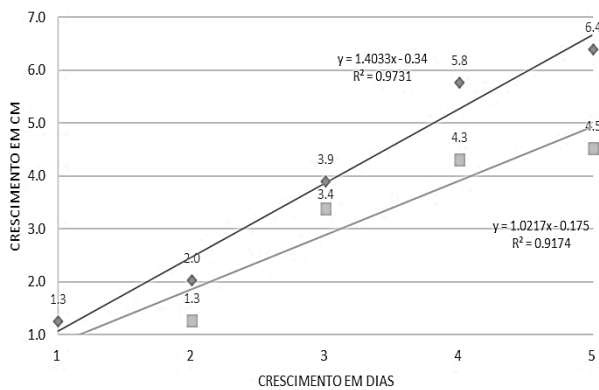


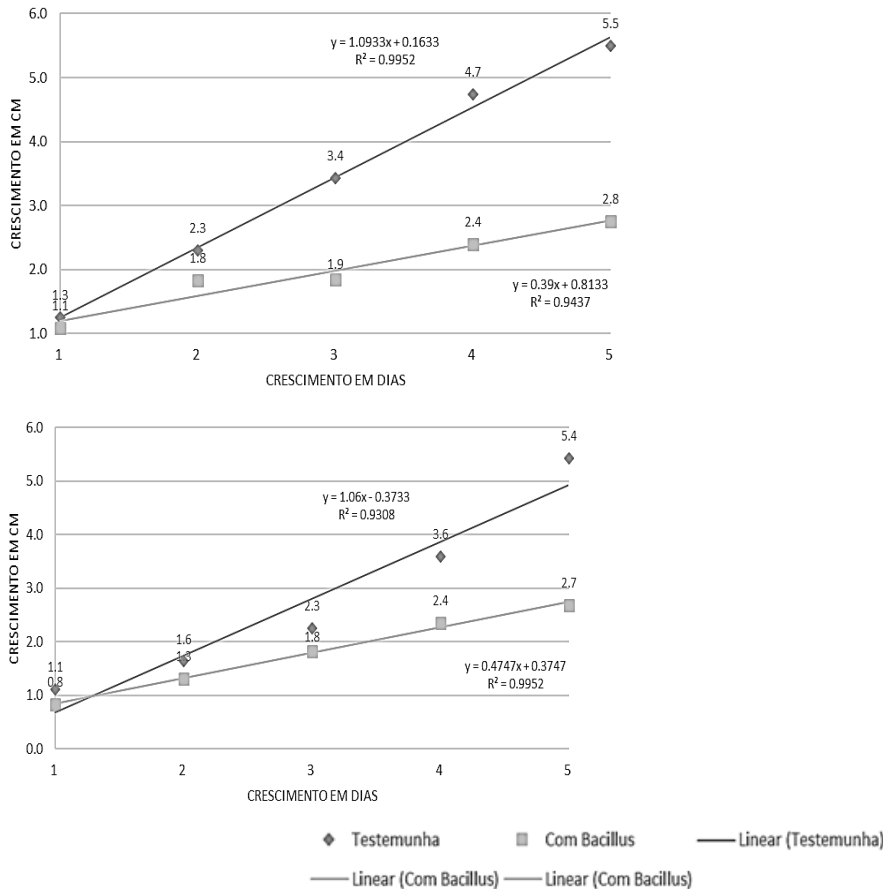
Estas placas foram medidas diariamente até o fechamento da testemunha (placas que contém apenas os fungos sem a interferência do produto), com a finalidade de avaliar o comportamento dos mesmos.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente ao acaso com quatro repetições e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (Scott knott à 5% de probabilidade), seguido da análise de regressão para obtenção de resultados através do software RBio.

## Resultados e Discussão

Pode-se observar pela figura 1 que o produto à base de *B. amyloliquefaciens* reduziu o crescimento micelial de *C. soja*, *C. cassicola*, *S. glycines* e *C. truncatum* em: 30%, 55%, 50% e 52% respectivamente.





**Figura 1.** Potencial dos antagonistas à base de *B. amyloliquefaciens* sobre os fitopatógenos *C. sojae*, *C. cassicola*, *S. glycines* e *C. truncatum* (respectivamente), expresso em crescimento micelial (cm) dos fitopatógenos ao longo do período de avaliação (dias). ( CV = *C. sojae* 6,83%; *C. cassicola* 11.92%; *S. glycines* 16.53%; *C. truncatum* 8.86%).

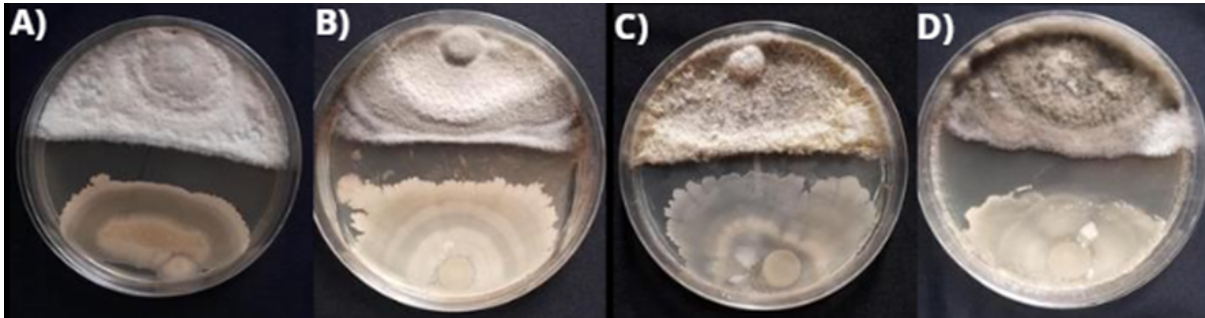
Esses resultados vão de acordo com os encontrados por Weller et al. (2002) os quais elucidam que agentes biológicos como *Bacillus* spp. se sobressaem entre os demais gêneros bacterianos quanto à sua funcionalidade de antagonismo aos distintos fitopatógenos. Além disso, o *B. amyloliquefaciens* vem sendo utilizado para reduzir as perdas ocasionadas por fungos (ALVAREZ et al., 2012).

Tonelli e Fabra (2014) mostram em seu trabalho o potencial de *Bacillus* sp. sobre *Cercospora sojae*, que além de promover o controle do patógeno, ainda induz resistência à planta. Xu et al. (2020) ao isolarem *Bacillus velezensis* de pepino, também constataram que este exerce efeito no controle biológico de *Corynespora cassicola*.

Jumpathong et al. (2022) ao extraírem moléculas bioativas conhecidas como biossurfactantes lipopeptídicos de *Bacillus velezensis*, verificou que o biossurfactante bruto apresentou atividade antifúngica contra fitopatógenos *Colletotrichum gloeosporioides* e *C. musae*, causadores de antracnose. As estruturas químicas do biossurfactante foram caracterizadas estruturalmente como lipopeptídeos fengycin A e fengycin B.



Na figura 2 pode-se observar o halo de inibição formado pelos antagonistas, mostrando a atividade de antibiose dos mesmos.



**Figura 2.** Halo de inibição demonstrado por *B. amyloliquefaciens* sobre os fitopatógenos foliares *C. soja*, *C. cassicola*, *S. glycines* e *C. truncatum* (respectivamente), aos sete dias após implantação do experimento.

Conforme Leelasuphakul, Hemmanee e Chuenchitt (2008), a antibiose desempenhada por bactérias sobre patógenos ocorre por distintos mecanismos como, por exemplo, pela síntese de compostos antimicrobianos, eliminação de enzimas líticas, disputa por espaço e alimentos, alteração de pH dentre outros. Além desses mecanismos, Romeiro (2005) frisa que elas também podem por meio de indução de resistência, mineralização de fosfatos, fixação de nitrogênio e reguladores de crescimento. Assim, esses meios podem justificar o ocorrido no experimento. Nas imagens apresentadas, há a ilustração da antibiose característica desse tipo de bactérias acerca dos fungos confrontados.

## Conclusões

Pode-se verificar que o produto avaliado à base dos antagonistas *B. amyloliquefaciens* cepas CPQBA 040-11DRM 01 e CPQBA 040-11DRM 04, exerceu ação de antibiose, atuando como modo de ação de antibiose, sendo capaz de reduzir o crescimento micelial de *C. soja*, *C. cassicola*, *S. glycines* e *C. truncatum*, se mostrando assim, um bom produto a ser utilizado no manejo de doenças de parte aérea da cultura da soja, logo, uma alternativa para o manejo de agroecossistemas, resultando em um ecossistema mais produtivo e sustentável.

## Referências bibliográficas

ALVAREZ, Florência; CASTRO, Myrella; PRÍNCIPE, Adriana; MORI, Greg; SCARSO, Giovanni; FISCHER, Stephan. **The plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* strains MEP218 and ARP23 capable of producing the cyclic lipopeptides iturin or surfactin and fengycin are effective in biocontrol of sclerotinia stem rot disease.** Journal of Applied Microbiology, Bedford, v.112, n.1, p.159-174, 2012.



CORDEIRO, Andrey Barbosa; GONÇALVES, Juliana Soares; SILVA, Michele Regina Lopes as; MARÇAL, Viviane Vieira Marques; LEITE JUNIOR, Rui Pereira **CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E CULTURAL DE ISOLADOS DE Colletotrichum spp. OBTIDOS DE CAFEEIROS NO ESTADO DO PARANÁ.** VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. 2009.

COSTA, Christiane Almeida. **Identificação de isolados de Septoria lycopersici do tomateiro e sensibilidade a fungicidas.** Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2019.

COSTA, Érica de Castro. **EPIDEMIOLOGIA COMPARATIVA DE MANCHA ALVO DA SOJA NO CERRADO BRASILEIRO.** Universidade de Brasília. Dissertação. 2020.

CRUZ, Carlos Augusto de Brito.; SILVA, Paulo Hernandes Gonçalves. **Controle Biológico de Pragas: Análise de Perspectivas Conceituais.** Instituto Federal de Tocantins. Jornada de Iniciação Científica e Extensão. 2019.

DIAS, Pedro Paulo; BERBARA, Ricardo Luis Louro; FERNANDES, Maria do Carmo de Araújo. **Controle de Rhizoctonia solani e Fusarium oxysporum f.sp. phaseoli por biopreparados de isolados de Trichoderma spp.** *Summa Phytopathologica* [online]. 2013, v. 39, n. 4. pp. 258-262. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-54052013000400005>>.

DOMINGUES, Ricardo José.; TÖFOLI, Jesus G.; ZANOTA, Samantha.; HAKAKAVA Ricardo. **PRIMEIRA OCORRÊNCIA DE FUSARIUM SOLANI EM OLIVEIRAS CULTIVADAS NO BRASIL.** *Biológico*, v. 82, 1-9, 2020. Disponível em:10.31368/1980-6221v82a10004.

FONTES, Eliana Maria Gouveia.; VALADARES-INGLIS, Maria Cleria. **Controle biológico de pragas da agricultura.** Editoras técnicas. Brasília, DF: Embrapa, 2020.

GOMES, Renata Rodrigues. **Phomopsis Spp. Endófitos de Plantas Medicinais: DIVERSIDADE GENÉTICA E ANTAGONISMO AO FUNGO Guignardia citricarpa.** Dissertação. Ciências Biológicas. CURITIBA, 2008.

JUMPATHONG, Watanalai; INTRA, Bungonsiri; EUANORASETR, JirayuT; WANAPAIAN, Jumpathong. Biosurfactant-Producing Bacillus velezensis PW192 as an Anti-Fungal Biocontrol Agent against Colletotrichum gloeosporioides and Colletotrichum musae. *Microorganisms*. 2022 May 12;10(5):1017. doi: 10.3390/microorganisms10051017. PMID: 35630461; PMCID: PMC9146131.

LEELASUPHAKUL, W.; HEMMANEE, P.; CHUENCHITT, S. Growth inhibitory properties of Bacillus subtilis strains and their metabolites against the green mold pathogen (Penicillium digitatum Sacc.) of citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology, Amsterdam*, v.48, n.1, p.113-121, 2008.

PEREIRA, Karen Signori; CAYRES, Carolina; CHAVES, Jeane Quintanilha; Brito, Josiane Teixeira de **Salad dressing spoilage by Bacillus amyloliquefacienswith**



gas formation. Brazilian Journal of Food Technology [online]. 2018, v. 21. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.2517>. Acesso em 13 de janeiro de 2023.

ROMEIRO, Reginaldo as Silva. Bactérias Fitopatogênicas. 417 p. Viçosa-MG: UFV, 2005.

SANTOS, Aline da Silva. **Caracterização Morfológica de Cercospora E Eficiência Da Toxina Cercosporina Na Seleção De Genótipos De Pimenteiras Ornamentais.** UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA. TESE. 2015.

TONELLI, Maria Laura; FABRA, Adriana. The biocontrol agent Bacillus sp. CHEP5 primes the defense response against Cercospora sojina. **World J Microbiol Biotechnol.** 2014 Sep;30(9):2503-9. doi: 10.1007/s11274-014-1675-3. Epub 2014 Jun 1. PMID: 24880246.

WELLER, David M.; RAAIJMAKERS, Jos M.; GARDENER, Brian B. McSpadden; THOMASHOW, Linda S. Microbial populations responsible for especifc soil suppressiveness to plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v.40, 2002.

XU, Shuai; XIE, Xuewen; ZHAO, Yurong; SHI, Yanxia; CHAI Ali; LI, Lei, LI Baoju. Whole-genome analysis of bacillus velezensis ZF2, a biocontrol agent that protects cucumis sativus against corynespora leaf spot diseases. **3 Biotech.** 2020 Apr;10(4):186. doi: 10.1007/s13205-020-2165-y. Epub 2020 Mar 30. PMID: 32257742; PMCID: PMC7105517.