



**11ª Jornada Científica e  
Tecnológica do IFSULDEMINAS**  
& **8º Simpósio de  
Pós-Graduação**

**AVALIAÇÃO *in vitro* DO ANTAGONISMO DE ISOLADO DE *Bacillus* spp. A PATÓGENOS  
DO MORANGUEIRO**

**Tássio R. GARCIA<sup>1</sup>; Hebe P. de CARVALHO<sup>2</sup>**

**RESUMO**

Objetivou-se com o projeto avaliar o potencial antagonístico *in vitro* de um isolado de *Bacillus* spp. sobre o crescimento micelial dos seguintes fungos fitopatogênicos: *Colletotrichum acutatum*, *Botrytis cinerea* e *Sclerotinia sclerotiorum*. O efeito antagonístico do isolado de *Bacillus* spp. foi avaliado utilizando-se a técnica de cultura pareada. Foram avaliados o tamanho médio das colônias e a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) no 7º e 14º dia após a incubação a 25 °C ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 6 tratamentos e 5 repetições. Os dados coletados foram submetidos à análise de variância e ao teste Scott-Knott ( $P < 0,05$ ). Observou-se que a porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. acutatum* foi maior após quatorze dias de incubação. Comparando as avaliações dos dois dias, verificou-se que para os fungos *B. cinerea* e *S. sclerotiorum* a paralisação do crescimento micelial na presença do *Bacillus* spp. ocorreu no 7º dia de incubação. O isolado de *Bacillus* spp. mostrou-se eficaz na inibição do crescimento micelial de todos os fitopatógenos avaliados.

**Palavras-chave:** Controle biológico; *Botrytis cinerea*; *Colletotrichum acutatum*; *Sclerotinia sclerotiorum*.

**1. INTRODUÇÃO**

No cultivo do morango há inúmeras doenças que afetam as várias fases de desenvolvimento da planta. Dentre os fungos causadores de doenças em morangueiro estão *Colletotrichum acutatum*, *Botrytis cinerea* e *Sclerotinia sclerotiorum*. *C. acutatum* é um fungo que ataca principalmente frutos e flores de morangueiro. As lesões são circulares, deprimidas e firmes, de coloração marrom ou preta, com formação, sob condições de alta umidade, de uma massa de esporos alaranjada ou rosada no centro. *B. cinerea* é um fungo que ataca principalmente frutos maduros de morangueiro ou em fase de amadurecimento. Os sintomas consistem em manchas marrom-claras que evoluem rapidamente e adquirem um recobrimento cinza constituído pelas estruturas do fungo. *S. sclerotiorum* é um fungo necrotrófico que sobrevive no solo na forma de escleródios. A infecção no morangueiro ocorre principalmente na coroa da planta, podendo atingir os frutos. Nos tecidos afetados desenvolve-se um crescimento micelial de aspecto cotonoso branco, com numerosos escleródios brancos que se tornam escuros com o passar do tempo (PARISI et al., 2016)

1 Bolsista PIBIC/CNPq, IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes. E-mail: rezendegarcia@bol.com.br.

2 Orientadora, IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes. E-mail: hebe.carvalho@ifsuldeminas.edu.br.

O manejo de doenças fúngicas no morangueiro é realizado principalmente por fungicidas químicos. No entanto, este método de controle está se tornando questionável pelos produtores, já que os fungos adquirem resistência aos produtos utilizados. Sendo assim, diversas empresas estão desenvolvendo produtos à base de microrganismos, os quais se mostram eficientes, desde que utilizados de maneira correta e principalmente preventiva. Além disso, há a preocupação da sociedade com uma alimentação saudável livre de resíduos químicos e de uma agricultura com menor impacto ambiental (PAULA JÚNIOR et al., 2009).

Com os avanços da pesquisa, tornou-se reconhecido que muitas espécies de microrganismos são capazes de influenciar negativamente espécies fitopatogênicas. Assim, o controle biológico de fitopatógenos por meio de microrganismos antagonistas vem se destacando atualmente (SILVA et al., 2014). Angonese et al. (2009), verificaram que várias espécies de *Bacillus* são antagonistas de fitopatógenos e podem ser utilizadas em programas de controle biológico.

A possibilidade de identificar espécies de microrganismos eficientes para o uso na agricultura é ampla. Para isso, estudos devem ser feitos iniciando-se pela avaliação *in vitro* do potencial antagônico do microrganismo de interesse. Sendo assim, objetivou-se com o projeto avaliar o potencial antagônico *in vitro* de *Bacillus* spp., isolado da flor de morangueiro, sobre o crescimento micelial dos fungos *C. acutatum*, *B. cinerea* e *S. sclerotiorum* isolados de frutos de morangueiro.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais, Campus Inconfidentes. Os fungos *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum acutatum* e *Sclerotinia sclerotiorum* foram coletados de frutos de morangueiro com os sintomas e sinais característicos e isolados em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (Batata, Dextrose e Ágar) de acordo com Alfenas et al. (2016).

Foi utilizada a técnica de cultura pareada para avaliar o efeito antagônico do *Bacillus* spp. sobre os fungos fitopatogênicos. Para isso, foi retirado um disco de 10 mm de diâmetro da colônia fúngica e colocado à 1,0 cm da borda da placa de Petri (90 x 15 mm) contendo meio BDA e na outra extremidade, também a 1,0 cm da borda da placa, foi colocada uma suspensão de 3 µL do isolado de *Bacillus* spp., crescido previamente em meio líquido LB (Luria Bertani) por 24 horas antes da realização do teste. Como testemunha foi utilizado somente colônias do respectivo fungo fitopatogênico cultivado em meio BDA.

Os tratamentos foram os seguintes: *Bacillus* spp. x *B. cinerea* (T1); *Bacillus* spp. x *C. acutatum* (T2); *Bacillus* spp. x *S. sclerotiorum* (T3); somente *Botrytis cinerea* (T4); somente *C. acutatum* (T5); e somente *S. sclerotiorum* (T6). Após os procedimentos, as placas foram incubadas

em câmara BOD sob fotoperíodo de 12 horas à temperatura de  $25 \pm 2$  °C. As avaliações foram realizadas no 7º e 14º dia após a incubação. Para a avaliação, foram medidos os raios das colônias em três sentidos para determinação do tamanho médio das colônias. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 6 tratamentos e 5 repetições, totalizando 30 parcelas. Após a obtenção dos dados, estes foram analisados pelo software SISVAR (FERRREIRA, 2011). As variáveis significativas pelo teste F foram comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

A porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) foi calculada pela fórmula utilizada por Menten et al. (1976), onde:  $PIC = [(\text{raio médio da testemunha} - \text{raio médio do tratamento}) / \text{raio médio da testemunha}] \times 100$ . Esta fórmula foi utilizada com as médias dos raios das colônias submetidas a análise estatística. Utilizou-se como raio médio da testemunha o raio da colônia do tratamento contendo somente o respectivo fungo fitopatígeno e, como raio médio do tratamento, o raio médio da colônia do respectivo fitopatígeno na presença do *Bacillus* spp.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dados coletados demonstraram que o isolado de *Bacillus* spp. foi capaz de inibir o crescimento micelial dos fitopatógenos, sendo os valores apresentados na Tabela 1.

Comparando as avaliações dos dois dias, verificou-se que para os fungos *B. cinerea* e *S. sclerotiorum*, a paralisação do crescimento micelial na presença do *Bacillus* spp. ocorreu no 7º dia de incubação. Rahman et al. (2016), observaram que isolados de *Bacillus* spp. produziram “zonas de inibição” e foram capazes de inibir o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. A formação de uma “zona de inibição” também foi observada em torno da colônia do isolado de *Bacillus* spp. do presente trabalho. De acordo com Angonese et al. (2009), esta zona clara pode ter sido determinada pela liberação de metabólitos pelo *Bacillus* spp. e pode ter sido responsável pela inibição do crescimento dos fungos alvos em seu trabalho.

Tabela 1 - Inibição do crescimento micelial de *B. cinerea*, *C. acutatum* e *S. sclerotiorum* por *Bacillus* spp. através da técnica de cultura pareada.

Tratamentos	7 dias de incubação		14 dias de incubação	
	Tam. colônia (mm)*	PIC**(%)	Tam. colônia (mm)*	PIC**(%)
<i>Bacillus</i> spp. x <i>B. cinerea</i>	26,77 a	62,13	26,77 b	61,73
<i>Bacillus</i> spp. x <i>C. acutatum</i>	20,98 a	17,53	21,06 a	62,32
<i>Bacillus</i> spp. x <i>S. sclerotiorum</i>	28,85 a	57,79	28,85 b	58,97
<i>Botrytis cinerea</i>	68,05 b		69,95 d	
<i>Colletotrichum acutatum</i>	25,44 a		55,89 c	
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	68,35 b		70,31 d	
CV (%)	12,35		10,42	

\*Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

\*\*Porcentagem de inibição do crescimento micelial.

Observou-se que a porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. acutatum* foi maior após quatorze dias de incubação (17,53% no 7º dia e 62,32% no 14º dia), pois, para este fungo, no 7º dia não houve diferença significativa no crescimento da colônia. Angonese et al. (2009), verificaram que vários isolados de *Bacillus* spp. são capazes de inibir o crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. e outros fitopatógenos, o que corrobora com os resultados do presente trabalho.

## 5. CONCLUSÃO

O isolado de *Bacillus* spp. mostra-se eficaz na inibição do crescimento micelial dos fungos *B. cinerea*, *C. acutatum* e *S. sclerotiorum*, pela técnica de cultura pareada.

## AGRADECIMENTO

Ao IFSULDEMINAS pela concessão de bolsa de iniciação científica e fomento à pesquisa.

## REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C. et al. Isolamento de fungos fitopatogênicos. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. (Ed.): **Métodos em Fitopatologia**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2016. cap. 2, p. 55 – 92.
- ANGONESE, M. T. et al. Efeito fungistático de *Bacillus* spp. sobre fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 97-100, nov. 2009.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039 – 1042, nov./dez. 2011. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-70542011000600001](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542011000600001)>. Acesso em: 17 jul. 2019.
- MENTEN, J. O. M. et al. 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.
- PARISI, M. C. M. et al. Doenças do morangueiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino, MG: Agronômica Ceres, 2016. v. 2. p. 561-572.
- PAULA JÚNIOR, T. J. et al. Comercialização de produtos biológicos para o controle de doenças de plantas e pragas no Brasil. **Informe agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n. 251, p. 116-123, jun./ago. 2009.
- RHAMAN, M. M. E. et al. Suppressive effects of *Bacillus* spp. on mycelia, apothecia and sclerotia formation of *Sclerotinia sclerotiorum* and potential as biological control of white mold on mustard. **Australasian Plant Pathol.**, v. 45, n. 1, p. 103 - 117, jan. 2016.
- SILVA, M. S. B. S. et al. Sanidade de sementes de arroz, biocontrole, caracterização e transmissão de *Curvularia lunata* em semente-plântula de arroz. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 4, p. 511-517, jul./ago. 2014.