

BIOCONTROLE DE *Fusarium* COM BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FÓSFORO

BIOCONTROL OF *Fusarium* WITH PHOSPHATE-SOLUBILIZING BACTERIA

Maria Eduarda Borges da Silva Ribeiro¹ , Joice Andrade Bonfim² ,
Leandro da Silva Oliveira³ 

¹ Graduada em Engenharia Agrônoma pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, Campus Guanambi. E-mail: mariaeeng.a@gmail.com.

² Doutora em Solos e Nutrição de Plantas pela Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/USP. Professora do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano – Campus Guanambi. E-mail: joice.bonfim@ifbaiano.edu.br.

³ Mestrado em Produção Vegetal no Semiárido pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, Campus Guanambi. E-mail: leandro.oliveira.agro@hotmail.com.

RESUMO: Este trabalho aborda o uso de bactérias solubilizadoras de fósforo (BSP) como uma estratégia de biocontrole contra o fungo *Fusarium solani passiflora* (FSP), que causa sérios danos à cultura do maracujá, levando a diminuição da sua produtividade. O objetivo foi avaliar a capacidade dessas BSP, isoladas de solos do semiárido, em inibir ou retardar o crescimento do FSP, buscando alternativas sustentáveis para o controle de doenças em plantas. A pesquisa foi realizada a partir da coleta de solos rizosférico de gramíneas e leguminosas em uma fazenda no semiárido baiano. No laboratório, as BSP foram isoladas e inoculadas em placas de Petri com meio de cultura GL. Após o crescimento das bactérias, o FSP foi introduzido em meio BDA, sendo então colocadas em contato com as BSP para observar o potencial de inibição do fungo. As placas foram incubadas em BOD por 7 dias. Após serem analisados, os resultados mostraram que as BSP apresentaram diferentes níveis de eficácia no controle do FSP, sugerindo um potencial significativo como agente biocontrolador. As BSP demonstraram ser uma ferramenta promissora para a promoção de uma agricultura mais sustentável.

Palavras-Chave: *Bacillus subtilis*. *Bacillus megaterium*. *Passiflora* spp.

ABSTRACT: This work addresses the use of phosphorus-solubilizing bacteria (PSB) as a biocontrol strategy against the fungus *Fusarium solani passiflora* (FSP), which causes significant damage to passion fruit crops, leading to reduced productivity. The objective was to evaluate the capacity of these PSB, isolated from semi-arid soils, to inhibit or delay the growth of FSP, seeking sustainable alternatives for plant disease control. The research was conducted by collecting rhizospheric soils from grasses and legumes on a farm in the semi-arid region of Bahia. In the laboratory, the PSB were isolated and inoculated in Petri dishes with GL culture medium. After bacterial growth, FSP was introduced into BDA medium, and then placed in contact with the PSB to observe the potential inhibition of the fungus. The plates were incubated in BOD for 7 days. After analysis, the results showed that the PSB exhibited different levels of efficacy in controlling FSP, suggesting a significant potential as a biocontrol agent. The PSB demonstrated to be a promising tool for promoting more sustainable agriculture.

Keywords: Utilizar as mesmas palavras-chave em língua inglesa.



VIII SEAPO

SEMINÁRIO DE AGROECOLOGIA E PRODUÇÃO ORGÂNICA

INTRODUÇÃO

Conhecido como fruto da paixão, o maracujazeiro, têm uma grande importância no Brasil, que se destaca como um grande produtor mundial, apresentando uma produção de cerca de 697 mil toneladas da fruta e uma produtividade média de 15,3 t/ha, sendo o estado da Bahia o maior produtor (IBGE, 2022). A redução na produção de maracujá é um fator previsto, considerando a alta suscetibilidade das variedades cultivadas a diversas doenças. Os desafios fitossanitários diminuem a longevidade da cultura e podem tornar inviável o cultivo em determinadas áreas (Carvalho, 2015).

Dentre as doenças do maracujazeiro importantes no âmbito nacional destacam-se os patógenos de solo, como o *Fusarium solani passiflora* (FSP) e o *Fusarium oxysporum* f sp. *passiflorae* (Almeida *et al.*, 2021). O FSP é um fungo fitopatogênico muito encontrado nas áreas produtivas dessa cultura.

O FSP é o causador da podridão do colo, a ocorrência se dá pela invasão do fungo no sistema radicular das plantas, sua identificação é feita a partir de manchas escuras que indicam a lesão do cilindro central do caule, há um murchamento das folhas e em casos mais severos a planta morre (Rodrigues, 2024), afetando a produtividade e conseqüentemente o valor econômico.

O conhecimento dos fatores favoráveis a disseminação desse fungo é importante para o desenvolvimento de métodos eficazes de controle, visto que esse fungo consegue sobreviver no solo por longos períodos (Ambrósio *et al.*, 2009).

Atualmente estudos têm explorado o controle biológico de fitopatógenos utilizando bactérias antagonistas, a exemplo das bactérias do gênero *Bacillus*, que são bactérias solubilizadoras de fósforo (BSP) (Melo *et al.*, 2021). Além da disponibilização do fósforo, elas também promovem o crescimento das plantas, esse crescimento ocorre por meio de mecanismos diretos e indiretos que podem modificar a resposta fisiológica da planta, incluindo a fixação biológica de nitrogênio, a produção de fito-hormônios, podem também estimular a tolerância a ambientes que não são propícios e induzir sua defesa pela produção de





VIII SEAPO

SEMINÁRIO DE AGROECOLOGIA E PRODUÇÃO ORGÂNICA

antibióticos e metabólitos secundários. Assim o uso das BSP apresenta uma grande versatilidade, e apresenta ser um recurso promissor para a produção agrícola sustentável (Silva *et al.*, 2023).

Neste contexto, o presente trabalho teve o objetivo de avaliar o potencial de BSP isoladas de solos do semiárido em inibir ou retardar o crescimento do FSP.

METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no laboratório de fitopatologia do Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia Baiano, *Campus* – Guanambi, localizado no distrito de Ceraíma, município de Guanambi – BA.

Inicialmente foi feita a inoculação das BSP de solos do semiárido. Para isso foi coletado na fazenda Paiol, localizada no município de Licínio de Almeida – BA, em cinco pontos distintos, solo rizosférico de gramíneas e leguminosas. Esse solo foi levado ao laboratório para realização da solução, onde cada solo foi retirado 10 g e posto em 90 mL de água destilada, totalizando 5 soluções, de cada solução foi realizada diluição seriada em concentrações de 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} . De cada concentração foi pipetada 0,2 ml em placas de *Petri* distintas contendo meio GL. O meio GL é um meio próprio para crescimento de bactérias e sua preparação foi feita em 850 mL de água destilada utilizando 10 g de glucose, 18 g de extrato de levedura, 15 g de ágar, 5 g de K_2HPO_4 em 50 mL de água destilada, 10 g $CaCl_2$ em 100 ml de água destilada. Afim de evitar a contaminação as placas foram vertidas e inoculadas em câmara de fluxo laminar, fechadas com papel filme e levadas para BOD em temperatura de $28^\circ \pm 2^\circ C$ por 48 horas.

Após as 48 horas, foi verificado o crescimento das bactérias e selecionada as que apresentaram maior diâmetro do halo de solubilização, sendo as bactérias das placas com diluição de 10^{-6} as que apresentaram melhor crescimento. Depois de selecionadas as bactérias foram identificadas em bac. 1, bac. 2, bac. 3 e bac. 4.



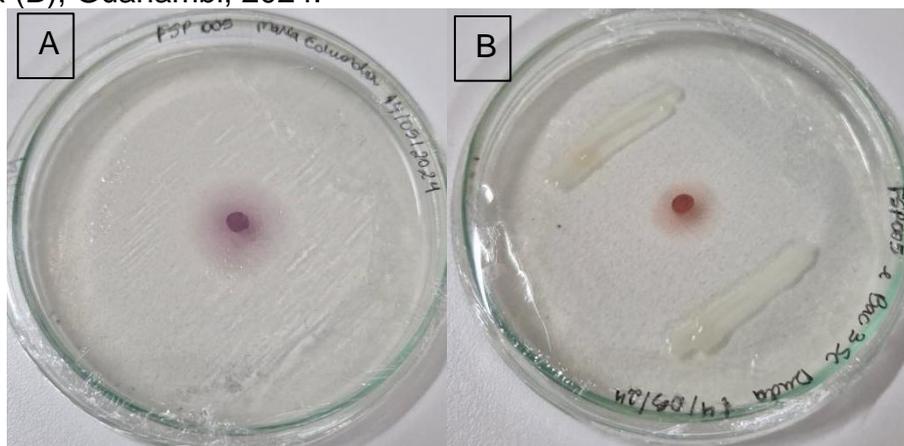
VIII SEAPO

SEMINÁRIO DE AGROECOLOGIA E PRODUÇÃO ORGÂNICA

Para o crescimento do FSP foi preparado o meio de cultura BDA, onde foi posto 39g de BDA em 500mL de água destilada. O meio foi vertido em placa de *Petri* autoclavada, repicado o FSP, fechada e identificada a placa, e levada para BOD em temperatura de $28^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ por 48 horas.

Passado o tempo de crescimento das bactérias e do fungo, foi preparado 20 placas de *Petri* para a verificação do controle biológico. Todo o processo foi realizado em câmara de fluxo laminar. Cada placa foi vertida com o meio BDA, com o auxílio de um canudo foi retirado um disco da placa que havia crescido o fungo e colocado centralizado em uma nova placa (Figura 1^a), depois com uma alça de platina foi realizada a raspagem das bactérias e postas na placa em formato de estria na lateral do disco do *Fusarium* (Figura 1B). O processo foi realizado em 16 placas onde foi dividido em grupos de 4 placas variando as bactérias, e mais 4 placas de testemunha.

Figura 1. Repicagem de placa com *Fusarium* (A), e placa contendo *Fusarium* e bactéria (B), Guanambi, 2024.



Fonte: RIBEIRO, M. E. B. S., 2024

Os isolados foram avaliados por um período de 7 dias (Figura 2), sendo mensurado o diâmetro do crescimento micelial do *Fusarium*, com o auxílio de um paquímetro digital. A partir dessas medidas foi possível determinar a porcentagem de inibição, a partir da fórmula: $I (\%) = \frac{(Dmc - Dmt)}{Dmc} \times 100$, onde Dmc é o diâmetro da colônia controle, e Dmt é o diâmetro da recebeu a bactéria. Para complementar as observações relacionadas a capacidade antagonista dos



VIII SEAPO

SEMINÁRIO DE AGROECOLOGIA E PRODUÇÃO ORGÂNICA

isolados, os tratamentos foram classificados conforme escala (Tabela 1) proposta por Bell *et al.* (1982).

Figura 2. Crescimento dos isolados após 7 dias, Guanambi, 2024.



Fonte: RIBEIRO, M. E. B. S., 2024

Tabela 1: Escala de notas para avaliar a ação de controle biológico *in vitro* por pareamento direto.

Nota	Características
1	Colonização total da superfície do meio de cultura pelo agente de biocontrole, com crescimento sobre o patógeno.
2	O agente de biocontrole coloniza ao menos 2/3 da superfície do meio de cultura.
3	Tanto o patógeno quanto o agente de biocontrole colonizam 1/2 (mais que 1/3 e menos que 2/3) do meio de cultura, não havendo sobreposição de um sob o outro.
4	O patógeno coloniza 2/3 do meio de cultura e resiste a ação do agente de biocontrole.
5	O patógeno coloniza toda a superfície do meio de cultura, avançando sobre o agente de biocontrole.

Fonte: Adaptado de Bell *et al.*, 1982.

Os valores das médias dos tratamentos foram submetidos a análise de variância e comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, utilizando o software R.



VIII SEAPO

SEMINÁRIO DE AGROECOLOGIA E PRODUÇÃO ORGÂNICA

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos dados obtidos mostra que as bactérias solubilizadoras de fósforo apresentam diferentes capacidades de inibição do crescimento do *Fusarium*, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 – Potencial de inibição de Bactérias solubilizadoras de fósforo sobre *Fusarium solani passiflora* por pareamento direto, em bioensaio em placas de Petri, e notas atribuídas conforme escala de Bell *et al.*, Guanambi – BA, 2024.

Tratamento	Porcentagem de inibição do crescimento (PIC)	Nota
Bac 2	60,62a	2
Bac 4	50,70ab	2
Bac 3	48,87ab	3
Bac 1	38,51b	4
Controle	0c	5
CV (%)	17,25	

Fonte: RIBEIRO, M. E. B. S., 2024.

O tratamento utilizando Bac. 2, foi o que se apresentou mais eficaz, apresentando uma porcentagem de inibição de crescimento de 60,62% e uma nota segundo a escala de Bell de 2. Sugerindo um forte potencial como um agente biocontrolador, sua eficácia pode estar relacionada à sua capacidade de solubilizar o fósforo, o que pode gerar um ambiente desfavorável para o crescimento do *Fusarium*, conforme sugerido por Owen *et al.* (2015) que destaca microrganismos solubilizadores de fósforo como agentes capazes de melhorar a saúde do solo e controlar patógenos.

Os tratamentos Bac. 4 e Bac. 3, apesar de receberem notas distintas na escala de Bell, 2 e 3 respectivamente, não apresentam diferença estatística na porcentagem de inibição de crescimento, apresentando-se assim como promissores para o controle do patógeno. As notas diferentes na escala de Bell, demonstra uma diferença nos comportamentos antagonistas, o que sugere variação na produção de compostos antibióticos ou na capacidade de competição por nutrientes, como é elucidado no trabalho de Silva *et al.* (2023).





VIII SEAPO

SEMINÁRIO DE AGROECOLOGIA E PRODUÇÃO ORGÂNICA

Os resultados corroboram com o que foi observado por Ferreira *et al.* (2021) em cepas de *Bacillus* spp. que apresentaram uma inibição significativa do crescimento de *Fusarium* em milho.

Já o tratamento Bac. 1 apresentou menos eficaz, com uma nota 4 e um percentual de 38,51% de inibição, tendo uma menor capacidade de inibição do fungo. Isso pode se dar por uma menor produção de ácidos orgânicos ou outros metabólitos secundários, evidenciando que nem todas as cepas de BSP possuem o mesmo potencial de biocontrole. E o controle, como esperado não houve nenhuma inibição ao crescimento do *Fusarium*.

A promoção do uso de microrganismos benéficos apresenta-se como uma alternativa aos métodos tradicionais de controle de doenças de plantas, sendo uma prática mais sustentável.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho avaliou a capacidade de bactérias solubilizadoras de fósforo em inibir o crescimento do *Fusarium solani*, afim de encontrar uma alternativa biológica para o controle de doenças além de destacar a importância de microrganismos benéficos. Apresentando o tratamento Bac. 2 com potencial significativo em inibir o crescimento do patógeno, com um PIC de 60,62%, sendo promissoras para o desenvolvimento de agente biocontrolador.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, I. S. A. *et al.* Monitoramento de doenças na cultura do maracujá (*Passiflora* spp.) em duas cultivares diferentes submetidas a adubações distintas. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 9, p. 91224-91233, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n9-332>.

AMBRÓSIO, M. M. Q; BUENO, C. J.; PADOVANI, C. R.; SOUZA, N. L. Sobrevivência de fungos fitopatogênicos habitantes do solo, em microcosmo, simulando solarização com prévia de incorporação de materiais orgânicos.

Summa Phytopathologica, v. 35, n. 1, 2009. DOI:

<https://doi.org/10.1590/S0100-54052009000100003>.





VIII SEAPO

SEMINÁRIO DE AGROECOLOGIA E PRODUÇÃO ORGÂNICA

BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. In vitro antagonism of *Thichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, 1982.

CARVALHO, J. A. de. Reação de espécies de *Passiflora* a isolados de *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*. – Cáceres/MT: UNEMAT, 2015. 49p. **Dissertação** (Mestrado em Genética e melhoramento de plantas) – Universidade Do Estado de Mato Grosso, Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas. Disponível em: <https://portal.unemat.br/media/files/Dissertacao%20Juliana%20Avelar%20de%20Carvalho%20-%20Final.pdf>. Acesso em: 08 ago. 2024.

FERREIRA, T. C.; LAGO, L.; SILVA, L. G.; PACÍFICO, M. G.; FARIA, M. R.; BETIOL, W. Potencial de *Bacillus* spp. em promover o crescimento e controlar *Fusarium verticillioides* em milho. **Summa Phytopathologica**, v. 47, n. 4, p. 195-203, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/241384>.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção de maracujá no Brasil**. Brasília, DF: IBGE, 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/maracuja/br>. Acesso em: 08 ago. 2024.

MELO, T. A.; NASCIMENTO, I. T. V. S.; SERRA, I. M. R. S. O gênero *Bacillus* aplicado ao controle biológico de doenças. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, 2021. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i9.17817>.

OWEN, D.; WILLIAMS, A.; GRIFFITH, G.; WITHERS, P. Use of comercial bioinoculants to increase agricultural production through improved phosphorous acquisition. **Applied Soil Ecology**, v. 86, p. 41-54, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.09.012>.

RODRIGUES, R. **Principais doenças do maracujá e formas de controle**. Universidade Online de Viçosa, 2023. Disponível em: <https://www.uov.com.br/cursos-online-fruticultura/artigos/principais-doencas-do-maracuja-e-formas-de-controle>. Acesso em: 08 ago. 2024.

SILVA, L., I., *et al.* Phosphorus-Solubilizing Microorganisms: A Key to Sustainable Agriculture. **Agriculture**, v. 13, n.2, p. 462, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/agriculture13020462>.

