

# COMPOSTOS VOLÁTEIS PRODUZIDOS POR BACTÉRIAS BIOCONTROLADORAS DE DOENÇAS DO FEIJÃO NÃO INIBEM CRESCIMENTO MICELIAL DE *SCLEROTINIA SCLEROTIUM*

RAFAEL A. CHAVES<sup>1</sup>; FERNANDO UEHARA<sup>2</sup>; ANDRÉA B. MOURA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [rafa.chaves2009@hotmail.com](mailto:rafa.chaves2009@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [fernando.uehara@hotmail.com](mailto:fernando.uehara@hotmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [abmoura@ufpel.edu.br](mailto:abmoura@ufpel.edu.br)

## 1. INTRODUÇÃO

O mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) é uma doença que ataca todos os órgãos da planta, como hastes, flores e raízes. Seu ataque pode ocorrer em praticamente todo ciclo, desde as fases de emergência e vegetativa, até os estádios reprodutivos, onde é visto com mais frequência (AGRO BAYER, 2018).

O patógeno produz escleródios, que são agregações de hifas protegidas por células melanizadas, que podem sobreviver no solo por vários anos (DEFESA VEGETAL, 2016). Além disso, possui uma alta taxa de dano às culturas, principalmente quando as medidas de manejo, tais como sementes certificadas, cobertura de solo com palhada, rotação e sucessão de culturas, revolvimento do solo, entre outras, não são bem executadas (PIONEER SEMENTES, 2019).

Pesquisas vêm mostrando ótimos resultados referentes ao controle biológico. Uma forma de controle, é através do uso de *Trichoderma* spp. Algumas linhagens desse fungo vêm recebendo grande atenção, uma vez que são capazes de produzir enzimas que degradam paredes celulares de outros fungos e produzem substâncias antifúngicas (antibióticos). Além disso, apresentam uma vasta diversidade de estratégias de sobrevivência que as tornam altamente competitivas no ambiente e uma extraordinária capacidade de proliferação da rizosfera. (MELO, 1996; RESENDE et al. 2004). No entanto, o controle não é absoluto pois as espécies de *Trichoderma* não atuam sobre o crescimento micelial, e desta forma os escleródios que germinam continuam o ciclo do fungo fitopatogênico e perpetuam o prejuízo. O controle biológico pode ser alcançado por uma ou mais formas de atuação, incluindo antibiose, parasitismo, competição e indução de resistência (JAMALIZADEH et al., 2011). Bactérias biocontroladoras, em especial dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas*, são conhecidas pela sua eficiência e diversidade em produzir antibióticos responsáveis pelo efetivo controle de várias doenças.

Considerando o exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de bactérias pré-selecionadas para o controle de doenças do feijão e que produzem compostos voláteis, sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*.

## 2. METODOLOGIA

Inicialmente escleródios de *S. sclerotiorum* previamente produzidos e armazenados foram postos a germinar em meio de cultura BDA, onde foi colocado um escleródio no centro de cada placa e, após, incubando-os sob temperatura de 23°C, por 48 horas. Dado este período, houve produção de micélio, que foi utilizado posteriormente.

O experimento foi conduzido *in vitro* com 8 isolados provenientes da coleção do Laboratório de Bacteriologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, previamente selecionados por ZANATTA (2004) DFs093 e DFs769 - *Bacillus cereus*; DFs348 - *Bacillus* sp., DFs831 - *Pseudomonas fluorescens*, DFs843 e DFs912 - *Rhodococcus* sp. + Controle (água estéril).

As bactérias foram cultivadas em placas contendo meio de cultura 523 (KADO; HESKETT, 1970) e incubadas por 24 e 48 horas à temperatura de 28°C. Após isso, os isolados foram suspensos em água esterelizada e 100µL da suspensão foram espalhados em uma das partes de placas bipartidas, onde se encontrava meio de cultura 523 previamente vertido.

As placas foram incubadas a 27°C por 12 horas. Após 12 horas, as placas foram abertas e discos de micélio obtidos a partir da germinação de escleródios (como inicialmente descrito) foram depositados na borda da outra metade da placa, onde já havia sido vertido meio BDA. As placas foram então vedadas com filme de PVC para minimizar trocas gasosas com o exterior e colocadas em sacos de plásticos *zip* individualmente e incubadas a 23°C por 72 horas. A cada 24 horas, foi observado o crescimento bacteriano (biocontrolador) e micelial (patógeno).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas primeiras 24 e 48 horas, não se observou crescimento dos biocontroladores e não houve desenvolvimento de micélio. No entanto, após 72 horas, foi observado amplo crescimento bacteriano e do fungo, tomando toda a superfície da placa (Fig. 1).

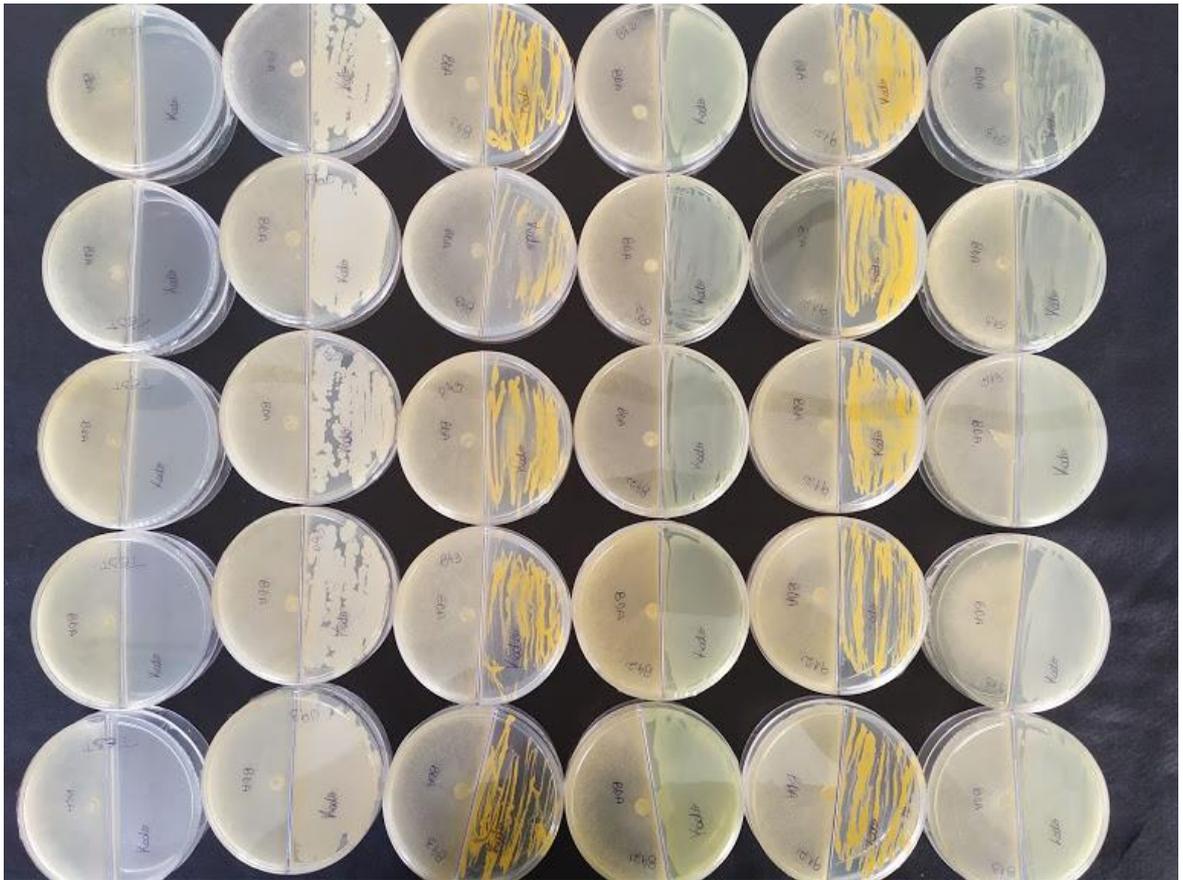


Fig. 1 – Crescimento de *Sclerotinia sclerotiorum* em meio BDA sob efeito de compostos voláteis produzidos por bactérias biocontroladoras de doenças de feijão crescidas em meio 523 de Kado e Heskett por 72 horas. Isolados DFs093 e DFs 769 – *Bacillus cereus*; DFs348 – *Bacillus sp.*, DFs831 – *Pseudomonas fluorescens*, DFs843 e DFs912 – *Rhodococcus sp.*

É sabido que estas bactérias são produtoras de compostos voláteis que inibiram o crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum* em ágar-nutriente sob diferentes temperaturas (17 a 37°C) e que, de modo geral, o percentual de controle foi maior com o aumento da temperatura de incubação, sendo no mínimo de 60% na maior temperatura (FASOLIN, 2017).

Portanto, algumas hipóteses para explicar os resultados aqui encontrados podem ser consideradas: i) os compostos voláteis produzidos pelas bactérias aqui estudadas não sejam efetivos contra *S. sclerotiorum*; ii) os compostos podem ter sido produzidos em quantidade insuficiente para que seu efeito fosse detectado; iii) os compostos não serem produzidos em meio 523 (meio nutricionalmente rico), enquanto que em meio ágar nutriente (menos rico).

#### 4. CONCLUSÕES

As bactérias DFs093, DFs348, DFs769, DFs831, DFs843 e DFs912 não inibiram o crescimento micelial de *S. Sclerotiorum* quando crescendo fisicamente separadas em meio 523.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAYER. **Mofobranco**. Agro Bayer Brasil, São Paulo, 18 jan. 2018. Especiais. Acessado em 25 set. 2020. Online. Disponível em: <https://www.agro.bayer.com.br/alvos/mofobranco>
- DEFESA VEGETAL. **Sclerotinia sclerotiorum**. Defesa Vegetal, Brasília, 01 jun. 2016. Especiais. Acessado em 25 set. 2020. Online. Disponível em: <https://www.defesavegetal.net/single-post/2016/07/01/Sclerotinia-sclerotiorum-por-quanto-tempo-os-escler%C3%B3dios-sobrevivem-no-campo>.
- FASOLIN, J. P.; **Influência da temperatura na produção de compostos antimicrobianos e no controle da antracnose e do crestamento bacteriano do feijão por bactérias biocontroladoras**. 2017. 66f Tese. Fitossanidade. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas.
- JAMALIZADEH, M.; ETEBARIAN, H.R.; AMINIAN, H.; ALIZADEH, H. Uma revisão dos mecanismos de ação dos organismos de controle biológico contra a deterioração pós-colheita dos frutos. **EPPO Bulletin**. v.41, p.65-71, 2011.
- KADO, C.I.; HESKETT, M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**. v.60, p. 24-30, 1970.
- MELO, I.S.; *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas.**, Passo Fundo, v.4, p. 261- 295, 1996.
- PIONEER SEMENTES. **Manejo de mofobranco na cultura da soja**. Blog Agronegócio em foco, Santa Cruz do Sul, 24 out. 2019. Especiais. Acessado em 25 set. 2020. Online. Disponível em: <http://www.pioneersementes.com.br/blog/119/manejo-de-mofobranco-na-cultura-da-soja>
- RESENDE, M.L.; OLIVEIRA, J.A.; GUIMARÃES, R.M.; VON, R.G.P & VIEIRA. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v.28, n.4, p. 793- 798, 2004.
- ZANATTA, Z. G. C.N.; **Potencial de bactérias para bicontrol de *Xanthomonas axonopodis* pv. *Phaseolie* promoção de crescimento na cultura do feijão**. 2004. 64f. Tese (Doutorado). Fitossanidade. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas.