



Controle biológico de *Sclerotium cepivorum* mediado por *Bacillus* sp. na cultura do alho

Alice Rafaela Pereira^{1*}; João Pedro Fernandes¹; Cristian Soldi¹; Glória Regina Botelho¹

¹ Universidade Federal de Santa Catarina – Curitiba-SC

*alicer14pereira@gmail.com

RESUMO

O alho (*Allium sativum*) é a hortaliça que ocupa o quarto lugar em importância econômica no Brasil. A região Sul possui maior relevância quanto à produção e à qualidade de cultivares. Suas características de clima frio e úmido durante a época de produção favorece a maior incidência de doenças. Dentre essas, uma das mais agressivas é a Podridão Branca, causada pelo fungo *Sclerotium cepivorum*. Esse fungo tem poder destrutivo elevado por formar escleródios, fazendo com que permaneça por muitos anos nas lavouras por serem resistentes a vários fatores edafoclimáticos. O controle usual para a doença é o método químico, qual não possuem resultados satisfatórios em campo e com alto custo. Neste sentido, o controle biológico vem crescendo gradualmente por ser um método com manuseio mais seguro (PAVAN, 2015) e de menor custo. Algumas Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCP) possuem a capacidade de produzir antibióticos que protege as plantas de patógenos, como o gênero *Bacillus*. Este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade de isolados de *Bacillus* sp., assim como extratos de culturas bacterianas no controle de *S. cepivorum* *in vitro*. Resultados preliminares mostraram que os extratos de isolados de *Pseudomonas* e *Actinobactérias* não apresentaram efeito de inibição do fungo. Entretanto, os isolados de *Bacillus* EB01, EB21 e EB22, inibiram significativamente o crescimento de *S. cepivorum*.

Palavras-chave: Liliacea; Podridão branca; Biocontrole; Rizobactérias.

INTRODUÇÃO

O alho (*Allium sativum* L) é a hortaliça que ocupa o quarto lugar em importância econômica no Brasil (SEDOGUCHI *et al.*, 2002). A região sul do país tem maior relevância em produção e qualidade de cultivares. As variedades utilizadas nessa região são chamadas de alho nobre (RESENDE, 2013).



CNPq



fapesc
Fundação de Amparo à
Pesquisa e Inovação do
Estado de Santa Catarina



Unfold Software Development



A incidência de doenças na lavoura causa preocupações aos produtores pela perda significativa de produtividade e ao seu alto valor de produção, dentre essas a Podridão Branca (*Sclerotium cepivorum*) é uma das principais doenças que causam grandes perdas de produtividade. O fungo *Sclerotium cepivorum* possui grande resistência no campo através de estruturas chamadas de escleródio, o qual nas épocas mais frias, de alta umidade e na presença das plantas de alho, germinam podendo infectar a base da planta, afetar a formação do bulbo e causar a podridão. (RODRIGUES, 2019).

O método químico vem sendo pouco viável por não possuir eficiência significativa no controle desta doença, elevar os gastos nas lavouras, e o alto risco à saúde humana, animal e ambiental. Neste sentido, o controle biológico vem se expandindo por ser um método mais seguro (PAVAN, 2015). O controle biológico é uma junção de atividades de diferentes microrganismos que possuem a capacidade de produzir antibióticos e de induzir a defesa de plantas à patógenos (RODRIGUES, 2019). A utilização de microrganismos, vem tornando o controle biológico mais comum nas lavouras de diversas culturas, incluindo a do alho. Dentre as BPCP diversos estudos destacam o gênero *Bacillus* (RODRIGUES, 2019). Essas bactérias possuem a capacidade de formar endósporo e apresentar uma pluralidade de mecanismos antagônicos (FILHO; FERRO; PINHO, 2010), capacitando-a a combater doenças fúngicas como a de podridão branca. Neste sentido, o objetivo com este trabalho foi avaliar a capacidade de isolados de *Bacillus* sp., assim como extratos de culturas bacterianas de *Pseudomonas* fluorescente e *Actinobactérias*, no controle de *S. cepivorum in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Microrganismos Promotores de Crescimento de Plantas (LMPCP) da Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Curitibanos. Primeiramente foi realizada a purificação do fungo *Sclerotium cepivorum*, o qual foi obtido do estoque utilizado no Trabalho de Conclusão de Curso da atual eng. agrônoma



CNPq



fapesc
Fundação de Amparo à
Pesquisa e Inovação do
Estado de Santa Catarina



Unfold Software Development



Sabrina Rodrigues no ano de 2019. A purificação do fungo foi efetuada em laboratório, em placas de Petri contendo meio BDA (batata, dextrose e Agar), nas quais o fungo foi inoculado com o auxílio de uma alça de platina, colocados ao centro da placa, incubado em BOD, em temperatura de 25°C com fotoperíodo de 12 horas (XAVIER, 2016) (Figura 1).

No primeiro teste de antagonismo utilizou-se extratos de culturas, sendo RLB02, isolado de actinobactéria e CBS05, isolado de *Pseudomonas* sp. Fluorescente, obtidos através da Metodologia geral para a obtenção dos extratos do caldo de crescimento das bactérias, metodologia qual foi realizada pelo Prof. Dr. Cristian Soldi e o acadêmico João Pedro no laboratório de química da Universidade Federal de Santa Catarina, *campus* Curitibanos. Os isolados foram selecionados para extração de compostos, através de testes de antibiose anteriores. O teste de antagonismo com as extrações iniciou com uma alíquota da colônia do fungo sendo transferidas com o auxílio de alça de platina para outras 10 placas de Petri com BDA. Essas foram incubadas por 24h à temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12h. Após esse período, 100uL de cada extrato diluído em água destilada esterilizada foram inoculados em quatro pontos equidistantes das placas, havendo cinco repetições por extrato do isolado. As avaliações foram feitas 24h, 48h e 72h após a inoculação.

O segundo teste realizado foi com a inoculação de isolados de *Bacillus* da coleção LMPCP, sendo esses EB01, EB15, EB17, EB21, EB22, EB25, EB26 e EB27. Esses foram selecionados em testes de antibiose anteriores (RODRIGUES, 2019). Vinte e quatro horas antes do teste de antibiose, tubos contendo 5 mL de LB líquido foram inoculados com isolados a 28°C. Em seguida, cada suspensão bacteriana foi inoculada 50uL de isolados em quatro pontos equidistantes das placas, havendo cinco repetições para cada grupo de quatro isolados.

Foi observada a presença de halos de inibição ao crescimento do fungo ao redor das colônias bacterianas. As avaliações foram feitas 24h, 48h e 72h após a inoculação.





RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos testes realizados em laboratório com o intuito de avaliar extratos de bactérias e isolados de *Bacillus* da coleção LMPCP, com capacidade de controle de crescimento do fungo *S. cepivorum*, pretende-se quantificar o potencial *in vitro*, selecionar os mais expressivos para experimentos em plantas de alho cultivadas em casa-de-vegetação.

Para os resultados das extrações dos isolados RLB02 e CBS05 não foi observado inibição ao crescimento do fungo ao longo do tempo de inoculação (de 24h, 48h e 72h), com as doses diferentes inoculadas (100uL, 200uL, 400uL e 800uL) e quanto das concentrações testadas de 12,4mg/mL e 10mg/mL (Figura 2). Em relação ao teste utilizando os isolados EB01, EB15, EB17, EB21, EB22, EB25, EB26 e EB27, destacaram-se as EB01, EB21 e EB22 com a presença de halo de inibição ao redor da colônia, restringindo o crescimento do fungo *S. cepivorum* (Figura 3). Observou-se maior halo de inibição ao redor de EB01 e EB21.

Figura 1 – *S. cepivorum* purificado em placas de meio BDA.



Fonte: Autor

Figura 2 – Placas contendo *S. cepivorum* e a inoculação de doses de 100, 200, 400 e 800uL com concentrações 12,4mg/mL e 10mg/mL de extratos bacterianos.

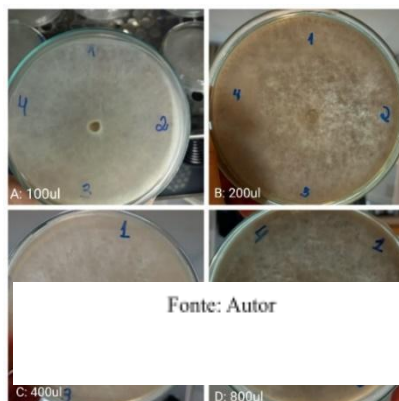
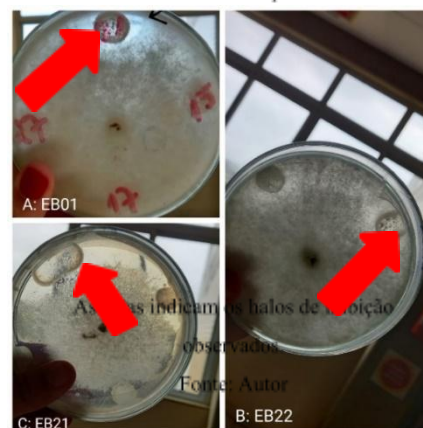


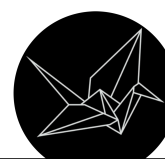
Figura 3 – Placas contendo *S. Cepivorum* e a inoculação dos isolados EB01, EB21 e EB22 de *Bacillus* sp.



Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina



Semeando Confiança



Unfold Software Development



REFERÊNCIAS

FILHO, R. L.; FERRO, H. M.; PINHO, R. S. C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. Lavras, MG: **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**; v.4, n.2, p.12, abr. 2010. Disponível em: <http://www.periodicoseletronicos.ufma.br/index.php/ccaatropica/article/viewFile/145/96>. Acesso em: 9 nov. 2020.

PAVAN, J. Estímulo ao controle biológico. **Revista UCS**, Caxias do Sul – RS, ano 3, n. 16, mar-abr 2015. Disponível em: <https://www.ucs.br/site/revista-ucs/revista-ucs-16a-edicao/estimulo-ao-controle-biologico/>. Acesso em 9 nov. 2020.

RESENDE, F. V.; HABER, L. L.; PINHEIRO, J. B. **A cultura do alho**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/documents/1355126/9124396/Sistema+de+Produ%C3%A7%C3%A3o+de+Alho/64258d94-6bb8-4826-a0e9-ece47aa434ff>. Acesso em: 9 nov. 2020.

RODRIGUES, S. **Bacillus spp. como promotores de crescimento e no controle de Sclerotium cepivorum in vitro**. 2019. 40f. Trabalho de conclusão de curso (graduação em Agronomia). Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, SC. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/197814>. Acesso em: 9 nov. 2020.

SEDOGUCHI, E. T.; *et al.* **Características morfológicas, de produção e efeitos da vernalização sobre cultivares de alho em duas épocas de plantio em Seropédica-RJ**. Rio de Janeiro, v.36, n.º.1/2, p.42-47, 2002. Disponível em: http://www.ia.ufrj.br/revista/artigos/2002-12/20_29.pdf. Acesso em: 9 nov. 2020.

XAVIER, V. **Efeito da temperatura e do fotoperíodo no desenvolvimento micelial de Sclerotium cepivorum, agente da podridão branca do alho e da cebola**. 2016. 32f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia). Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Catarinense, Rio do Sul, SC. Disponível em: <http://agronomia.ifc-riodosul.edu.br/wp-content/uploads/2018/07/EFEITO-DA-TEMPERATURA-E-DO-FOTOPER%3%8DODO-NO-DESENVOLVIMENTO-MICELIAL-DE-Sclerotium-cepivorum-AGENTE-DA-PODRID%3%83O-BRANCA-DO-ALHO-E-DA-CEBOLA.pdf>. Acesso em 9 nov. 2020



CNPq



fapesc
Fundação de Amparo à
Pesquisa e Inovação do
Estado de Santa Catarina



COOCAM
Semeadando Confiança



Unfold Software Development