



Bactérias endofíticas e de solo no controle *in vitro* de *Neofusicoccum parvum*, agente da podridão-descendente da videira

TrichoSolo

Bárbara Grusag, André Luiz Montes (co-orientador) e Joséli Schwambach (orientadora)
Laboratório de Biotecnologia Vegetal



PIBIC - CNPq

INTRODUÇÃO

O *Neofusicoccum parvum* é um dos fungos fitopatogênicos que provoca a podridão-descendente, doença de lenho que ocorre em videiras, que diminui a produtividade e causa prejuízos socioeconômicos. O controle da doença envolve o uso de fungicidas em ferimentos, porém nem sempre são efetivos e podem gerar impactos negativos ao meio ambiente. Nesse contexto, alternativas mais sustentáveis vêm sendo estudadas e o uso de microrganismos como bioagentes contra fitopatógenos tem apresentado resultados para os sistemas de produção agrícola⁽¹⁾. Vários mecanismos de ação estão envolvidos na ação antagonista do bioagente, como a produção de lipase, que é capaz de degradar a membrana celular do patógeno.



OBJETIVO

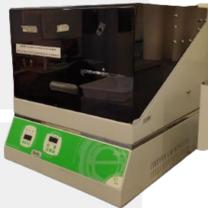
O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antagonico de sete bactérias endofíticas e duas de solo sobre o crescimento micelial de *N. parvum* e sua atividade lipolítica.

MATERIAIS E MÉTODOS

1 Pré-inóculo (bactérias)



10mL de meio LB
24h a 28°C



Agitador orbital

2 Inóculo



100mL de meio LB
24h a 28°C

3 *Neofusicoccum parvum*



crecido em meio BDA
25°C
7 dias

4 O ensaio de cultivo pareado foi realizado em placas de Petri com meio BDA, sendo eles:

Controle - apenas o fungo

Teste 1 - inoculação antecipada (24h antes da bactéria)

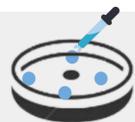
Teste 2 - inoculação tardia (24h após a bactéria)

Totalizando 10 tratamentos para cada teste, com 4 repetições



Em todos os testes, um disco de 5 mm do fungo foi inoculado no centro de uma placa.

A bactéria foi adicionada por meio de quatro gotas de 20 µL da solução bacteriana ajustada (1×10^8 UFC mL⁻¹) equidistantes ao disco de micélio.



5 As placas foram mantidas a 25 °C com fotoperíodo de 12 h em câmara de incubação⁽²⁾.



MATERIAIS E MÉTODOS

6 As avaliações do diâmetro ortogonal do crescimento micelial ocorreram do 3° ao 14° dia com o auxílio de um paquímetro digital.



7 O teste de atividade lipolítica foi realizado nas bactérias em placas contendo como fonte de carbono o Tween 20, com 4 repetições⁽³⁾.



Os parâmetros avaliados foram, inibição do crescimento micelial, Índice da Velocidade do Crescimento Micelial (IVCM) e o índice enzimático da atividade lipolítica.

RESULTADOS

As maiores inibições foram promovidas pelas bactérias P121 e *Bacillus subtilis* F62, com 36,05 e 33,75%, para o teste 1, e 54,74 e 43,48%, no teste 2, respectivamente. Em relação ao IVCM, em ambos os testes não houve diminuição significativa na velocidade do crescimento do patógeno.

Tabela 1 - Antagonismo, Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) e atividade lipolítica *in vitro* de bactérias selecionadas contra *Neofusicoccum parvum*

Tratamento	Inoculação tardia do patógeno (preventivo)		Inoculação antecipada do patógeno (curativo)		Atividade lipolítica Índice Enzimático
	Inibição (%)	IVCM (cm/dia)	Inibição (%)	IVCM (cm/dia)	
Controle	0,00 ± 0,00 bc*	1,67 ± 1,53 cde	0,00 ± 0,00 b	0,43 ± 0,98 a	
P121	54,74 ± 6,16 a	0,39 ± 0,24 cde	36,05 ± 9,72 a	0,69 ± 0,46 a	1,11 ± 0,04 ab
P321	0,00 ± 0,00 bc	1,91 ± 1,84 cde	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 a	1,49 ± 0,25 ab
P134	0,00 ± 0,00 bc	0,84 ± 1,04 cde	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 a	0,96 ± 0,85 ab
S26	0,00 ± 0,00 bc	2,16 ± 1,31 bcd	0,00 ± 0,00 b	0,02 ± 0,04 a	1,25 ± 0,12 ab
<i>Bacillus subtilis</i> F62	43,48 ± 12,21 a	0,88 ± 0,76 cde	33,75 ± 3,55 a	0,67 ± 0,33 a	0,00 ± 0,00 b
P334	35,44 ± 7,28 ab	0,77 ± 0,22 cde	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 a	1,52 ± 0,10 a
P311	0,00 ± 0,00 bc	4,19 ± 0,85 abc	0,00 ± 0,00 b	0,83 ± 0,88 a	1,38 ± 0,10 ab
P232	0,00 ± 0,00 bc	2,64 ± 2,85 cde	0,00 ± 0,00 b	0,18 ± 0,39 a	1,50 ± 0,12 ab
P322	0,00 ± 0,00 bc	0,39 ± 0,58 cde	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 b

* Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si segundo o teste de Kruskal Wallis a 5%. Fonte: autora, 2022.

Houve atividade enzimática da maioria das bactérias, com exceção de *Bacillus subtilis* F62 e P322 que não apresentaram halo de degradação do Tween 20.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados indicam que as bactérias P121 e de *Bacillus subtilis* F62 são promissoras para o controle do agente causador da podridão-descendente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; & PINHO, R. S. C.; Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. In: **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**. Chapadinha, v. 4, n. 2, p. 12-20, 2010.
- (2) RUSSI, A., ALMANÇA, M. A. K., GROHS, D. S. et al. Biocontrol of black foot disease on grapevine rootstocks using *Bacillus subtilis* strain F62. *Trop. plant pathol.* **45**, 103–111, 2020.
- (3) ARAUJO, W. L. et al. (eds.). **Guia Prático: Isolamento e caracterização de microrganismos endofíticos**. 2 ed. Piracicaba: Copiadora Luiz de Queiroz, 2010.