



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018  
Marília - SP

## BIOCONTROLE DE MOFO BRANCO EM SOJA COM *Bacillus* spp.

Pedro Otávio<sup>1</sup>, Renata Froio<sup>2</sup>, Ana Flávia Rufino Tamara<sup>3</sup>, Regiane Iost<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Engenheiro Agrônomo. sampaiosegredo@gmail.com <sup>2</sup>Discente do curso de Agronomia da Faculdade de Ensino Superior e Formação Integral – FAEF. renatafroio@hotmail.com <sup>3</sup>Discente do curso de Agronomia da Faculdade de Ensino Superior e Formação Integral – FAEF. aninha.hsg@hotmail.com <sup>4</sup> Docente do curso de Agronomia da Faculdade de Ensino Superior e Formação Integral – FAEF. regianeios@gmail.com

**RESUMO** - O mofo branco da soja *Sclerotinia sclerotiorum*, trata-se de uma doença disseminada por praticamente todo o território nacional, e o seu controle tem se dado, principalmente, através da aplicação de inseticidas químicos. Todavia, relatos apontam a existência de populações do patógeno cada vez mais resistentes às moléculas envolvidas no controle químico, além da ocorrência de impactos negativos ao ambiente e à saúde pública, o que tem demonstrado a importância da adoção de novos métodos para o seu controle. Neste cenário, a utilização de agentes de biocontrole tornam-se potenciais ferramentas para o manejo da doença. Diante do exposto, o presente trabalho objetivou avaliar a eficiência de *Bacillus subtilis* e *Bacillus pumilus* no controle preventivo e curativo do mofo branco da soja em comparação ao fungicida comercial de ingrediente ativo azoxistrobina - ciproconazol e a testemunha (água destilada). O experimento foi realizado no Laboratório de Microbiologia Agrícola (LMA) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária EMBRAPA - Unidade Meio Ambiente, localizada na cidade de Jaguariúna no estado de São Paulo, e teve por base o delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições. O antagonismo dos isolados de *Bacillus* spp. com relação ao patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* foi obtido pelo método de confrontação direta e a avaliação se deu por meio da determinação do diâmetro médio das colônias dos fitopatógenos, com o auxílio da régua milimétrica. Em ambos os testes, os antagonistas foram melhores que a testemunha quanto à inibição do crescimento micelial do fitopatógeno e não houve diferença estatística entre os isolados.

**Palavras-chave:** mofo branco, biocontrole, inoculação, fungo.

## INTRODUÇÃO

Atualmente, a cultura da soja assume o papel de maior commodity agrícola produzida pelo Brasil, atingindo a casa de 86,70 milhões de toneladas na safra 2013/2014 e com estimativa de 94 milhões de toneladas para a safra 2014/2015, destacando-se como importante fonte de renda para o país e como o principal produto agrícola exportado (CONAB, 2015).

A partir disso, existe uma demanda crescente pela obtenção de alta produtividade no cenário agrícola do país, direcionando maior atenção aos fatores envolvidos no desenvolvimento da cultura da soja, inclusive os fitossanitários. Desta maneira, ressalta-se a importância da condução da cultura baseada no uso de sementes saudáveis e tratadas, além do manejo adequado de maquinários agrícolas em locais de infestação, com o objetivo de reduzir



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

## 20 a 22 de fevereiro de 2018

### Marília - SP

a disseminação e a incidência de doenças, como é o caso do mofo branco causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (PAULA JÚNIOR et. al., 2010).

A doença conhecida como mofo branco, podridão da haste de esclerotinia ou podridão branca de esclerotinia é causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, pertencente ao Filo Ascomycota, Classe Discomycetes, podendo infectar mais de 408 espécies de plantas monocotiledôneas ou dicotiledôneas. A espécie *S. sclerotiorum* é conhecida e estudada desde 1837 e está amplamente distribuída geograficamente (GÖRGEN, 2009). Atualmente, o mofo branco ou podridão branca de esclerotinia, após a ferrugem asiática, figura como a principal doença da cultura da soja devido aos prejuízos causados nas últimas safras (XIMENES, 2013).

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* define-se como um patógeno de difícil controle pelo grande número de plantas hospedeiras que possui, e também por apresentar estruturas de resistência chamadas de escleródios, responsáveis por permitir o seu desenvolvimento na presença de ambiente favorável e garantir a sua sobrevivência no solo por períodos de até oito anos (ROCHA, 2007).

De acordo com estudos anteriores há a maior ocorrência de mofo branco em casos de alta densidade de plantio, em períodos prolongados de precipitação, em situações de alta umidade do ar e em temperaturas amenas; condições edafoclimáticas estas que se destacam também como favoráveis ao desenvolvimento da cultura da soja no Rio Grande do Sul (MACHADO & CASSETARI NETO, 2010).

A erradicação da doença por completo é praticamente impossível, sendo então necessária a adoção de estratégias voltadas à minimização de prejuízos relacionados à obtenção da produtividade. Desta forma, o manejo integrado de doenças define-se como alternativa eficaz envolvendo o uso de diversas práticas culturais, dentre elas, o manejo de palhada, que proporciona a formação de uma camada responsável por impedir a passagem da luz e limitar a formação dos apotécios que causam a infecção da planta (COSTA & COSTA, 1999).

Além disso, o uso inadequado e extensivo do controle químico na cultura da soja pode acarretar sérios problemas a médio e longo prazo, como o risco de selecionar populações cada vez mais resistentes às moléculas dos produtos químicos, destacando a necessidade da adoção de métodos alternativos para o controle. Neste contexto, considera-se o uso de microrganismos e substâncias naturais que apresentam potencial para atuar em conjunto ou em substituição aos fungicidas químicos (BOLTON et. al., 2006).



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

## 20 a 22 de fevereiro de 2018

### Marília - SP

Diante do exposto, o gênero *Bacillus* spp. se destaca como o antagonista de maior prevalência em casos de controle biológico por sua capacidade de formar endósporo, além de apresentar uma multiplicidade de mecanismos antagônicos. O endósporo se define em uma estrutura que propicia a sua sobrevivência em diferentes situações, além de proporcionar que as bactérias driblem as defesas dos fitopatógenos. No que diz respeito à espécie *B. subtilis*, a mesma destaca-se como eficiente agente no biocontrole, sendo encontrada em rizobactérias promotoras do crescimento em plantas, bactérias epífitas e endofíticas (CAMPOS SILVA et al., 2008). Da mesma forma, *Bacillus pumilus* apresenta colonização e atividade eficientes como agente de biocontrole (LUGTEMBERG et al., 2001).

Desta maneira, o presente trabalho objetivou avaliar a aplicação de *Bacillus* spp. para o controle de mofo branco em soja, sendo consideradas diferentes épocas de tratamento.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado no Laboratório de Microbiologia Agrícola (LMA) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária EMBRAPA - Unidade Meio Ambiente, localizada na cidade de Jaguariúna, no estado de São Paulo e teve por base o delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições. O fungo analisado *Sclerotinia sclerotiorum* foi isolado de plantas de soja com sintomas e sinais da doença, sendo mantido em placas de Petri contendo meio BDA repicados conforme a necessidade.

Os antagonistas avaliados foram os *Bacillus pumillus* e *Bacillus subtilis*, sendo que o antagonismo dos isolados de *Bacillus* spp. realizou-se através do método de confrontação direta, no qual o isolado fúngico patogênico foi transferido com estilete para as placas de Petri contendo meio de cultura BDA em apenas uma de suas extremidades. Após este procedimento, cada antagonista foi inoculado a partir de estrias com alça de platina contra o disco do fungo fitopatogênico, com exceção das placas controle sem a presença dos antagonistas.

As placas foram vedadas lateralmente com uma membrana plástica e incubadas em ambiente com fotoperíodo natural de 12 horas, em temperatura de aproximadamente 25°C. A avaliação se deu por meio da determinação do diâmetro médio das colônias dos fitopatógenos, com o auxílio da régua milimétrica. As avaliações foram feitas diariamente até que a testemunha ocupasse toda a área da placa.

Com relação à eficiência dos agentes de biocontrole em folhas destacadas, trifólios de plantas de soja cv. BMX Potência foram coletados e acondicionados em placas de Petri com



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018  
Marília - SP

15 cm de diâmetro, tendo sido considerada a aplicação dos produtos obtidos nas concentrações de  $10^8$ . Comparativamente ao fungicida Procimidona ( $5 \text{ g L}^{-1}$ ) aplicado em dose comercial, o mesmo foi realizado com água destilada como testemunha, sendo as aplicações realizadas 24 horas antes da inoculação (24 HAI). A inoculação, foi efetuada com um disco de micélio do patógeno com 10 dias sobre cada unifólio. Após a aplicação dos produtos, as placas foram dispostas em sala de crescimento a  $22 \text{ °C} \pm 2$ . A avaliação teve início quatro dias após a inoculação e realizada diariamente por meio de escala diagramática.

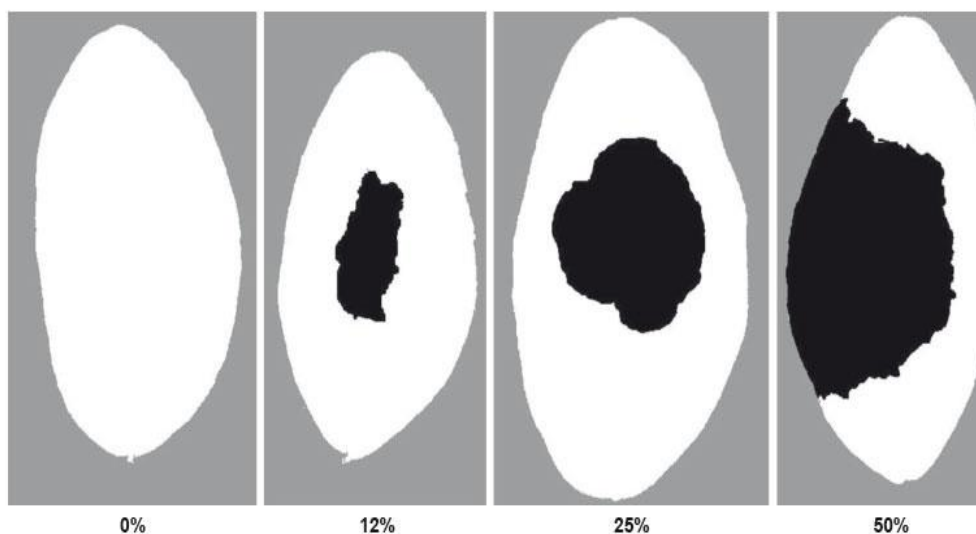


FIGURA 1 - Escala diagramática para avaliação de sintomas de *Sclerotinia sclerotiorum* em folíolos de soja (*Glycine max*) (Garcia & Juliati, 2008)

Para a análise dos resultados, recorreu-se ao uso do pacote estatístico ASSISTAT 7.7 beta, registro INPI 0004051-2. Os tratamentos foram comparados através do teste de Tukey e Duncan a 1% e 5% de probabilidade.

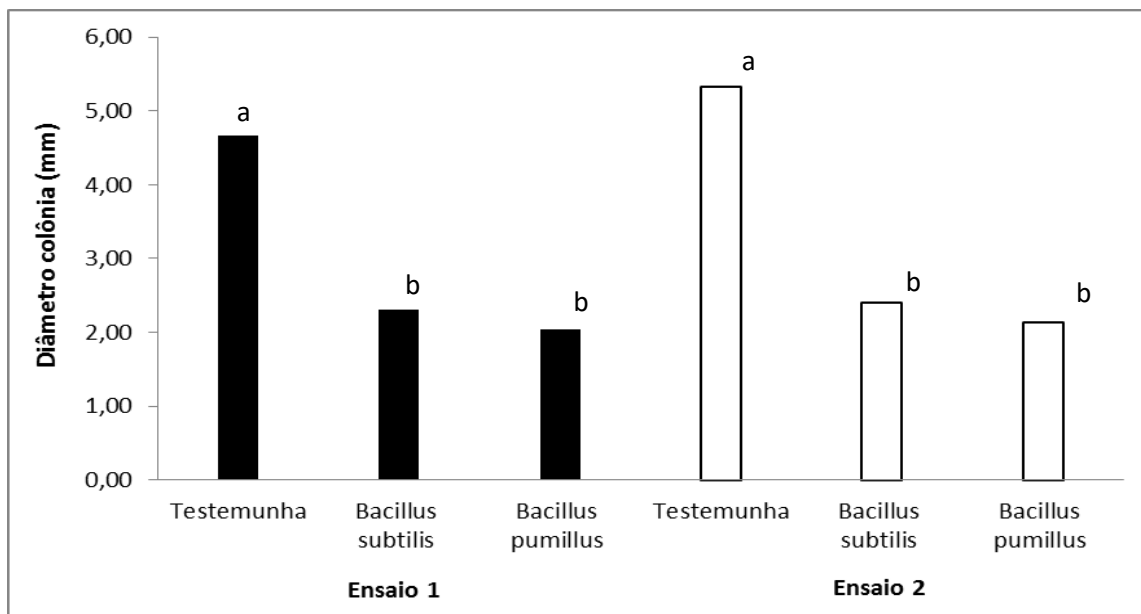
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação aos testes de antagonismo com confrontação direta, em ambos os antagonistas foram melhores que a testemunha quanto à inibição do crescimento micelial do fitopatógeno. Não houve diferença estatística entre os isolados (Figura 2).



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018  
Marília - SP



**FIGURA 2:** Efeito fungistático de antagonistas contra *Sclerotinia sclerotiorum* em teste de confrontação direta. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A capacidade de inibição do desenvolvimento de esporos pelos fitopatógenos isolados de *Bacillus subtilis* e *Bacillus pumilus* são reconhecidos na literatura (MARRONE, 2002; LAHLALI et al., 2011).

A principal diferença em relação aos tratamentos biológicos envolvendo os produtos a base de *Bacillus pumillus* e *Bacillus subtilis* diz respeito à produção de metabólitos antifúngicos como a iturina e a surfactina através do *Bacillus subtilis*, responsáveis por evitar a germinação dos esporos e interromper o crescimento de patógenos e do tubo germinativo. Já o *Bacillus pumillus* apresenta a capacidade de produzir açúcares aminados com ação fungicida, também indicado para o controle de diferentes patógenos (BETTIOL et al., 2012a).

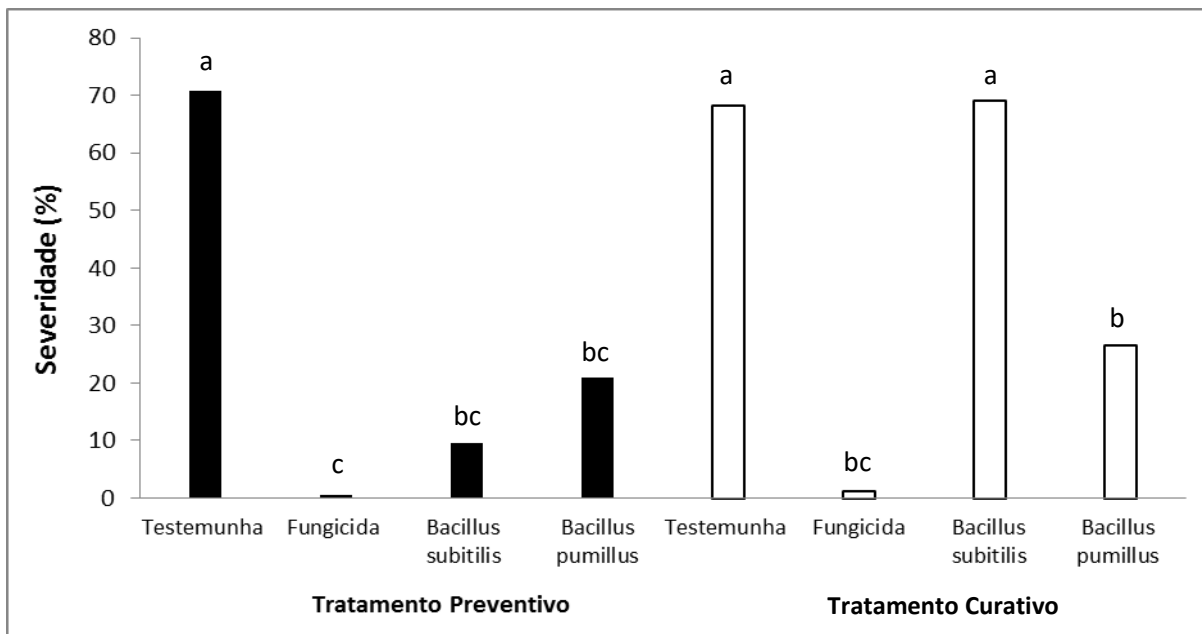
Tendo em vista a avaliação da eficiência dos agentes de biocontrole em folhas destacadas, no tratamento preventivo tanto os agentes de biocontrole quanto o fungicida obtiveram melhores resultados do que a testemunha, não havendo diferença entre os agentes de biocontrole. Já no tratamento curativo, o *Bacillus subtilis* não diferiu estatisticamente da testemunha, sendo possível concluir que esse agente não apresenta ação curativa expressiva. Os tratamentos realizados a base de *Bacillus pumillus* e do fungicida demonstraram melhores resultados do que a testemunha (Figura 3).





# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018  
Marília - SP



**FIGURA 3:** Severidade de *Sclerotinia sclerotiorum* quando controlada com antagonistas. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

De modo geral, no contexto do controle biológico para a ocorrência da doença pressupõe-se a ligação entre diversos fatores como patógenos, agentes não patógenos e hospedeiros. Os agentes não patógenos presentes na relação e que habitam o sítio de infecção, podem apresentar a capacidade de diminuir o desenvolvimento do patógeno ou promover a resistência do hospedeiro por conta das modificações no ambiente (BETTIOL & GHINI, 1995).

## CONCLUSÃO

Desta maneira a partir do experimento foi possível concluir que:

- *Bacillus subtilis* e *Bacillus pumillus* tem efeito fungistático contra *Sclerotinia sclerotiorum* quando em condições *in vitro*.
- *Bacillus subtilis* e *Bacillus pumillus* reduzem a severidade de *Sclerotinia sclerotiorum* quando aplicados preventivamente.
- *Bacillus pumillus* reduz a severidade de *Sclerotinia sclerotiorum* quando aplicado curativamente.



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018  
Marília - SP

- *Bacillus subtilis* não tem efeito na severidade de *Sclerotinia sclerotiorum* quando aplicado curativamente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle biológico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. v.1: Princípios e conceitos. 3ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, V. Z.; PAULA JUNIOR, T. J.; CORRÊA, E. D.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. **Produtos comerciais a base de agentes de biocontrole de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012a. 155 p. (Documentos, 88).

BOLTON, M. D.; THOMMA, B. P. H. J.; NELSON, B. D. **Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen**. Molecular Plant Pathology, Lancaster. N.7, Vol.11, p.1-16, 2006.

CAMPOS SILVA, J.R.; SOUZA, R.M.; ZACARONE, A.B.; SILVA, L.H.C.P.; CASTRO, A.M.S. Bactérias endofíticas no controle e inibição in vitro de *Pseudomonas syringae* pv. tomato, agente da pinta bacteriana do tomateiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, p.1062-1072, 2008.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de soja: safra 2014/2015: primeiro levantamento**. Brasília, DF, 2015.

COSTA, G. R.; COSTA, J. L.da S. **Efeito da aplicação de fungicidas no solo sobre a germinação carpogênica e miceliogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum***. Pesquisa Agropecuária Tropical, Brasília. Vol. 34: 133-138. 2004.

LAHLALI, R.; HAMADI, Y.; GUILLI, M. E.; JIJAKLI, M. H. **Efficacy assessment of *Pichia guilliermondii* strain Z1, a new biocontrol agent, against citrus blue mould in Morocco under the influence of temperatura and relative humidity**. Biological Control, Orlando, v. 56, n. 3, p. 217-224, 2011.

LUGTENBERG, B. J.; DEKKERS, L.; BLOEMBERG, G. V. Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas*. **Annual Review of Phytopathology**, v. 39, p. 461-490, 2001.

MACHADO, A.Q.; CASSETARI NETO, D. **Epidemia branca**. Cultivar Grandes Culturas. Ano 12, n. 130, março. p.20-23. 201.

MARRONE P. G. **An effective biofungicide with novel modes of action**. Pesticide Outlook, Cambridge, v. 13, n. 5, p. 193-194, 2002.

PAULA JÚNIOR, T. J. de; VIEIRA, R. F.; LOBO JUNIOR, M.; MORANDI, M. A. B.; CARNEIRO, J. E. de S. Mofa-branco. In: DALLA PRIA, M.; SILVA, O. C. da. (Org.). **Cultura do feijão: doenças e controle**. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2010. p. 101-105.



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018  
Marília - SP

ROCHA, R.P. **Manejo da podridão de sclerotinia (*Sclerotinia sclerotiorum*) e míldio (*Bremia lactucae*) na cultura da alface.** Dissertação (Mestrado em Agronomia, área de concentração em Agricultura) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná. 2007.

XIMENES, Lidiane Rodrigues. **Importância e Manejo de *Sclerotinia sclerotiorum* (mofobranco) nos cultivos de feijão e soja.** Monografia (Bacharelado em Agronomia, Universidade de Brasília). Brasília, 2013.