

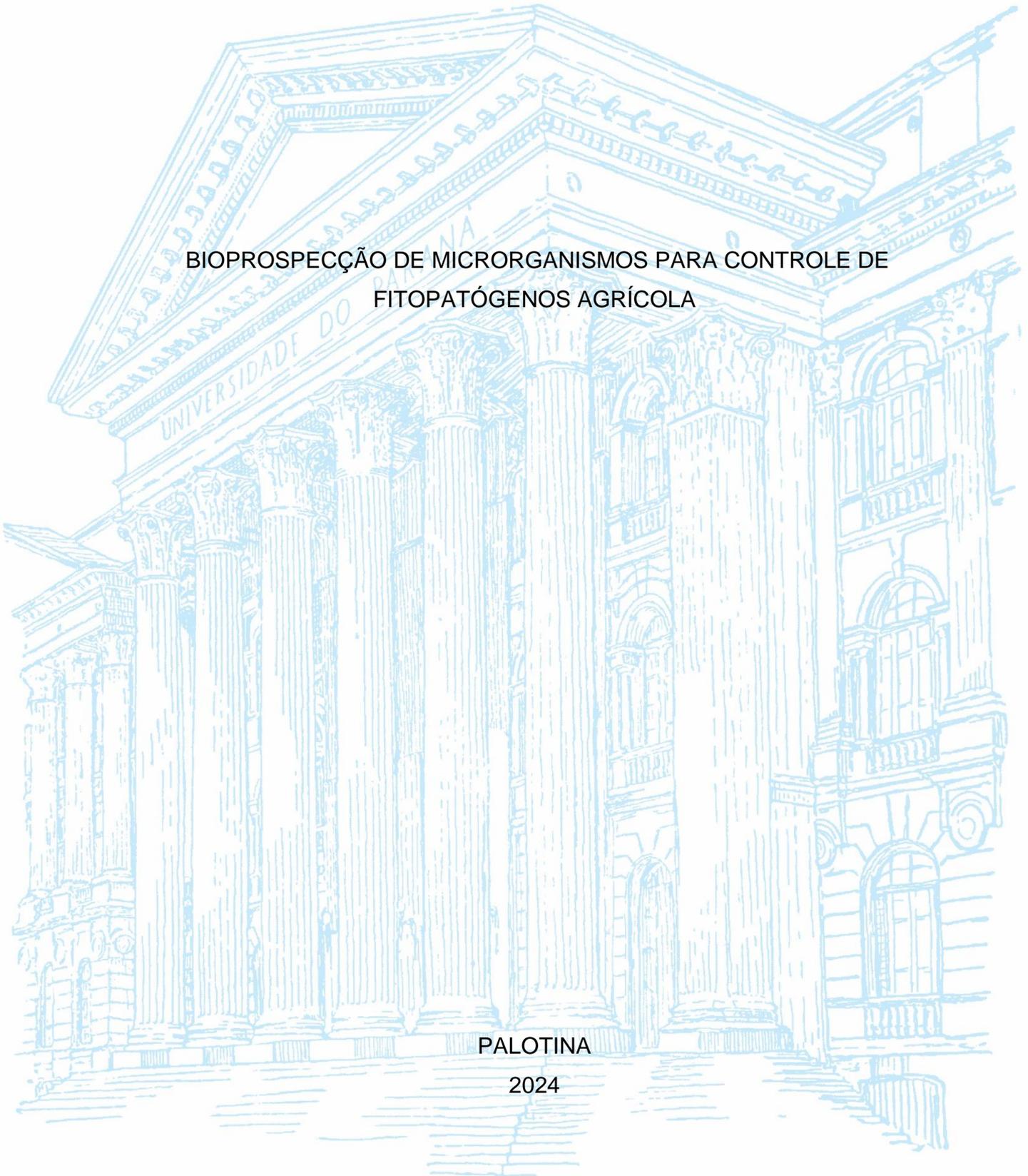
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

AMANDA RODRIGUES DE MEDEIROS

BIOPROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS PARA CONTROLE DE  
FITOPATÓGENOS AGRÍCOLA

PALOTINA

2024



AMANDA RODRIGUES DE MEDEIROS

BIOPROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS PARA CONTROLE DE  
FITOPATÓGENOS AGRÍCOLA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Setor de Palotina, Universidade Federal do Paraná, como requisito à obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia.

Orientador(a): Profa. Dra. Luciana Grange

PALOTINA

2024

**PÁGINA RESERVADA PARA O TERMO DE APROVAÇÃO**

Aos meus pais que sempre me incentivaram a buscar de forma constante novos conhecimentos.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus e Nossa Senhora, por me abençoarem e protegerem ao longo de toda minha vida.

A realização deste trabalho não seria possível sem o apoio e incentivo de diversas pessoas e instituições, às quais expresso minha mais profunda gratidão.

Agradeço a Prof. Luciana Grange, por sua orientação, ensinamentos, paciência, apoio e sem dúvidas pela amizade construída ao longo destes anos.

Aos professores Marco Antônio Bacellar Barreiros, pelas análises estatísticas e Vivian Carré Missio, pelos fungos cedidos.

A Universidade Federal do Paraná, e pela infraestrutura e recursos que possibilitaram a execução deste projeto.

Ao INCT MicroAgro, pela bolsa de pesquisa a qual possibilitou minha total dedicação a pesquisa, em especial aos cientistas parceiros deste pelo conhecimento e oportunidades compartilhadas.

Aos meus Familiares, em especial meus pais Priscila Luzia Milani Rodrigues de Medeiros, Rodrigo Rosa Rocha de Medeiros e meu irmão Lucas Rodrigues Rocha de Medeiros, meus avós e a toda minha família, por serem minha fonte de inspiração, amor e apoio incondicional, vocês me incentivam a ser uma pessoa cada dia melhor.

Ao meu namorado Andrey Dorigan, o qual foi fonte de conselhos, incentivos e apoio durante a escrita e realização deste trabalho e de minha graduação.

Aos participantes do grupo de pesquisa FIXTEC, em especial, minhas amigas de bancada Lais Furtado, Luciana Prado, Sandy Pivetta, Vivian Kaufert, e Gustavo Freitas e Hariel Dorigan pela ajuda na realização deste trabalho.

As minhas amigas Juliana Tamamoto, Paula Akimura, Rafaela Merini, Thaiany Shoten, pelas risadas e memórias inesquecíveis de nossas parcerias (a parte das lágrimas pelas provas e trabalhos não vamos citar...).

Não é possível citar todos os quais sou grata de forma detalhada, logo, encerro agradecendo a todos professores, técnicos, amigos e conhecidos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

- MUITO OBRIGADO!

*“Tente uma, duas, três vezes e se possível tente a quarta, a quinta e quantas vezes for necessário. Só não desista nas primeiras tentativas, a persistência é amiga da conquista. Se você quer chegar aonde a maioria não chega, faça o que a maioria não faz.”*

*- Bill Gates*

## RESUMO

A bioprospecção de bactérias com potencial para controle de fitopatógenos agrícolas tem se tornado fundamental para oferecer ao mercado e ao produtor, materiais biológicos selecionados, eficientes e ambientalmente seguros. O presente estudo buscou realizar a bioprospecção de quatro isolados de bactérias provenientes da coleção de cultura do grupo de pesquisa FIXTEC da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Setor Palotina. As bactérias analisadas foram as cepas 04- *Enterobacter* sp., 25- *Enterobacter* sp., 203- *Delftia* sp. e 208- *Enterobacter* sp. avaliadas como potenciais agentes biocontroladores de fitopatógenos por meio de testes de antagonismo *in vitro* com a técnica de crescimento pareado. As cepas foram crescidas em meio de cultivo sólido DIGS e os fungos fitopatogênicos (*Fusarium solani*, *Sclerotinea* sp., *Phomopsis* sp., *Sclerotium rolfsii*) em meio Batata Dextrose Ágar (BDA). Por meio dos resultados apresentados foi possível comprovar o potencial das 4 bactérias como agentes de controle biológico. A bactéria 4 destaca-se quanto ao potencial de amplo espectro pelos seus percentuais frente aos diferentes fungos, não distante a bactéria 208 controlou de modo satisfatório o *F. solani*, *Sclerotinea* sp. e o *S. rolfsii*, a qual é seguida pela bactéria 25, que apresentou melhor eficiência no controle da *Sclerotinea* sp. e do *S. rolfsii*, já a bactéria 203 obteve bons resultados pareada com o *F. solani* e a *Sclerotinea* sp., sob o qual obteve o melhor percentual de controle. A fim de dar continuidade na bioprospecção destas devem ser realizados testes para identificação dos mecanismos de ação pelo qual a inibição é gerada.

Palavras-chave: Agricultura; Antagonismo; Biocontrole; *Enterobacter* sp.; Sustentabilidade.

## ABSTRACT

The bioprospecting of bacteria with potential for controlling agricultural phytopathogens has become essential for providing the market and producers with selected, efficient, and environmentally safe biological materials. This study aimed to bioprospect four bacterial isolates from the culture collection of the FIXTEC research group at the Federal University of Paraná (UFPR), Palotina Campus. The analyzed bacteria were strains 04- *Enterobacter sp.*, 25- *Enterobacter sp.*, 203- *Delftia sp.*, and 208- *Enterobacter sp.*, evaluated as potential biocontrol agents through in vitro antagonism tests using the dual culture technique. The bacterial strains were grown on DIGS solid medium, while the phytopathogenic fungi (*Fusarium solani*, *Sclerotinea sp.*, *Phomopsis sp.*, *Sclerotium rolfsii*) were cultivated on Potato Dextrose Agar (PDA) medium. The results demonstrated the potential of all four bacteria as biological control agents. Strain 04 stood out for its broad-spectrum potential, showing high efficacy against various fungi. Strain 208 also exhibited satisfactory control of *F. solani*, *Sclerotinea sp.*, and *S. rolfsii*, followed by strain 25, which showed better efficiency in controlling *Sclerotinea sp.* and *S. rolfsii*. Strain 203 achieved the highest control percentage against *F. solani* and *Sclerotinea sp.*, with good overall performance. To further advance the bioprospecting of these bacteria, additional studies are needed to identify the mechanisms of action underlying their inhibitory effects.

**Keywords:** Agriculture; Antagonism; Biocontrol; *Enterobacter sp.*; Sustainability.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>9</b>
1.1 OBJETIVOS .....	10
1.1.1 Objetivo geral .....	10
1.1.2 Objetivo específico .....	10
<b>2 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>11</b>
<b>3 METODOLOGIA .....</b>	<b>17</b>
3.1 COMPOSIÇÃO DOS MEIOS UTILIZADOS .....	17
3.2 CRESCIMENTO DOS ISOLADOS E MANUTENÇÃO DAS AMOSTRAS.....	18
3.3 CRESCIMENTO DOS FITOPATÓGENOS .....	18
3.4 TESTE DE ANTAGONISMO FRENTE A FUNGOS FITOPATOGÊNICOS.....	19
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>33</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>34</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A busca por soluções sustentáveis e ambientalmente responsáveis tem impulsionado uma revolução na produção de alimentos (Hardoim; Martins; Martins, 2023). Nesse contexto, a utilização de bioinsumos tem emergido como uma estratégia promissora para promover maior eficiência agrícola, redução dos impactos ecológicos e melhorias da saúde humana.

Bioinsumos, se compreende por produtos derivados de organismos vivos, como microrganismos, plantas e animais, em sua maioria, obtidos a partir de estudos de bioprospecção, de acordo com o Decreto nº 10.375, de 26 de maio de 2020 (Brasil, 2020). Esta frente da biotecnologia envolve a busca sistemática por organismos ou compostos naturais que possam ter aplicações benéficas em setores da agricultura, farmacologia e indústria.

O aumento no número de estudos em microbiologia do solo, reforçados pelas ferramentas da metabolômica e da compreensão das interações ecológicas, vêm revelando cada vez mais os serviços ecossistêmicos do solo e suas distintas magnitudes nos biomas (Bhattacharyya; Furtak, 2022). Em condições agrícolas, onde a pressão seletiva promovida pelo excesso de agentes sanitários é grande e constante, pode ocorrer o favorecimento de organismos que acabam, ao longo do tempo, se tornando dominantes e resilientes no sistema. Somados a condições de crescimento, como temperatura, umidade e cultivares susceptíveis, estes indivíduos podem se tornar fitopatogênicos causando doenças nas plantas e prejuízo nas lavouras (Chen; Modi; Picot, 2023).

De acordo com Bettiol e Morandi (2009), a busca pela produção de alimentos livres de agrotóxicos tem impulsionado a utilização de produtos biológicos, sendo alguns já comercializados para atuarem como ferramenta efetiva no controle de pragas e doenças, porém este número ainda é limitado. Nesse contexto, pesquisas relacionadas a bioprospecção de novos microrganismos com potencial para serem utilizados como agentes de controle biológico, devem ser desenvolvidas como alternativa para reduzir o uso de defensivos (Glick, 2012).

O controle biológico de doenças de plantas pode ser definido como qualquer prática ou condição na qual a sobrevivência ou atividade de um patógeno é reduzido devido a ação de outro organismo. De maneira geral, este pode ser realizado através de manejos que incrementem a população edáfica como um todo na busca pela

supressão no solo ou pode ser promovido pela introdução de organismos selecionados, especializados e aplicados para a prestação de serviços ambientais específicos na forma de produtos biológicos ou também chamados de bioinsumos (Bettiol; Ghini, 2003; Van Lenteren *et al.*, 2018; Ayaz M. *et al.*, 2023).

A comprovação e quantificação destas relações bioquímicas vem promovendo a descoberta e a seleção de microrganismos mais eficientes com potencial biotecnológico para aplicação como biopesticidas em busca de uma agricultura mais sustentável (Fenibo *et al.*, 2021). Diante disso, bancos de coleções de cultura precisam cada vez mais, testar suas estirpes para oferecer novas alternativas viáveis e eficientes para o produtor.

O grupo de estudo e pesquisa FIXTEC, da UFPR – Setor Palotina, atua há 13 anos na organização e manutenção de uma coleção de estirpes isoladas de solos regionais. Atualmente, 35 dessas estirpes estão depositadas na plataforma SisGen e oficialmente armazenadas no banco de cultura da Embrapa Soja, sob a curadoria da Dra. Mariangela Hungria. As estirpes utilizadas neste trabalho estão em fase de testes para pré-incubação. Com isso, a pesquisa retomou as linhas de prospecção para biocontrole, com o objetivo de avaliar o potencial de cada estirpe por meio de testes antagonísticos *in vitro* contra patógenos de diferentes culturas.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Avaliar, *in vitro*, o controle por antagonismo de quatro isolados de bactérias da coleção de cultura do grupo de pesquisa FIXTEC da UFPR, Setor Palotina no crescimento dos fungos fitopatogênicos: *Fusarium solani*, *Sclerotinia* sp., *Phomopsis* sp. e *Sclerotium rolfsii*.

### 1.1.2 Objetivos específicos

1. Realizar a manutenção das amostras das cepas bioprospectadas na coleção de cultura;
2. Realizar teste de antagonismo frente a fungos fitopatogênicos;

## 2 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

A agricultura intensiva dos últimos 50 anos impulsionou as safras recorde de produtividade e forneceu milhões de toneladas de alimentos. Técnicas e tecnologias foram embargadas nas sementes, no manejo dos solos e nos produtos fitossanitários e o mundo passou a produzir mais em menos espaços. Porém, neste modelo de produção, onde as plantas são conduzidas em sistema de monocultivo, sob intensa adubação química, de forma adensada, o microclima propicia oportunidades de pressão seletiva sobre insetos, fungos e bactérias, que existiam na cadeia alimentar destes ambientes muito antes da agricultura se instalar.

A preferência alimentar de alguns destes organismos pelas culturas que se repetiam ao longo dos anos, foi criando os chamados oportunistas. A falta de rotação de culturas e de manejos, somados ao uso intensivo de sanitários e adubos químicos foram favorecendo determinadas espécies até que estes passem a ser considerados, pragas e/ou doenças.

Dentre as principais doenças da cultura da soja temos a “Podridão-vermelhada-raiz” a qual é causada pelo fungo *Fusarium solani*, este tem ganhado notoriedade por seu nível de dano as lavouras (Universidade Federal de Santa Maria, 2022). Este também afeta a cultura do meloeiro causando podridão-do-colo do meloeiro além de ser associado a ocorrência do colapso do meloeiro (Nogueira *et al.*, 2019).

Outro importante fitopatógeno é *S. sclerotiorum*, popularmente conhecido como mofo branco, afeta grandes culturas como o algodão e soja, ocorre principalmente em regiões com alta umidade, na cultura da soja quando não controlada pode acarretar a redução de até 70% na produção de grãos (Bayer, 2022). Nesta a transmissão pela semente é baixa, quando presente nas o principal problema são seus escleródios misturados ás sementes (Henning, 2024).

Henning (2024) ainda apresenta que o patógeno de maior incidência nas sementes de soja é o *Phomopsis* sp., conhecido causador da mancha foliar, o qual quando na semente afeta sua germinação. O patógeno *S. rolfsii* é conhecido por ocasionar a murcha e podridão em raízes e no colo, este sobrevive mesmo sem a presença da planta hospedeira, causando assim grandes prejuízos as diversas culturas as quais afeta, como a do meloeiro, pimentão e feijoeiro (Dantas *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2017; Nogueira *et al.*, 2019;).

Os bioinsumos são definidos como produtos, processos ou tecnologias de origem biológica destinados a promover o crescimento de plantas, a saúde do solo e o controle de pragas e doenças na agricultura. Esses insumos são compostos por organismos vivos, como bactérias, fungos e vírus, ou por substâncias derivadas deles, aplicáveis em diferentes sistemas de produção agrícola e pecuária (Vidal; Saldanha; Veríssimo, 2020).

Além disso, conforme apresentado por Valente (2024) e Vidal e Dias (2023) a palavra “bioinsumo” tem sido frequentemente utilizada como sinônimo para “produto biológico”, “bioproduto” e “produto de base biológica”, sobretudo com aplicações agrônômicas. No entanto, Vidal e Dias (2023) ressaltam que os bioinsumos abrangem também produtos destinados a produção animal e industrial.

Neste contexto, no ano de 2020 foi instituído o Programa Nacional de Bioinsumos e o Conselho Estratégico do Programa Nacional de Bioinsumos pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Estes instrumentos foram desenvolvidos com o intuito de impulsionar o uso da biodiversidade brasileira para produção de biotecnologias, fomentando a bioeconomia e auxiliando na produção de alimentos (MAPA, 2020). Com base no Programa Nacional de Bioinsumos, os bioinsumos visam reduzir a dependência de agroquímicos, incentivando práticas mais sustentáveis na produção agropecuária brasileira (Bavaresco, 2024).

O conceito adotado pelo Brasil, particularmente sob a orientação do Programa Nacional de Bioinsumos, está alinhado com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), especialmente no que diz respeito à segurança alimentar e à sustentabilidade ambiental. A definição brasileira, ao integrar processos e tecnologias, possibilita maior flexibilidade para inovação e adaptação a diferentes sistemas produtivos (Vidal; Dias, 2023).

A adoção de bioinsumos está contribuindo significativamente para uma economia agrícola mais equilibrada, ao possibilitar práticas produtivas que reduzem custos e geram menos impacto ambiental (Vidal; Saldanha; Veríssimo, 2020). Além disso, tecnologias baseadas em bioinsumos têm permitido um manejo mais eficiente de pragas e doenças em culturas de larga escala, como a ferrugem asiática na soja (Rocha *et al.*, 2024).

Por outro lado, as grandes culturas, como soja, milho e cana-de-açúcar, são as principais consumidoras de bioinsumos no Brasil, evidenciando seu impacto no

agronegócio (Bettiol; Morandi, 2009). Entretanto, o uso crescente desses insumos tem fomentado uma agricultura mais inclusiva, ao integrar pequenos e médios produtores nas cadeias de produtos sustentáveis (Bortoloti; Sampaio, 2024).

O estabelecimento deste programa representou um marco significativo para o setor, pois busca fomentar o uso de bioinsumos, ampliar a oferta de produtos biológicos no mercado e aproveitar o potencial da biodiversidade brasileira (Vidal; Saldanha; Veríssimo, 2020). Além disso, foi projetado não apenas para promover a produção de bioinsumos, mas também para facilitar o desenvolvimento de novas tecnologias e processos que pudessem substituir, total ou parcialmente, o uso de insumos químicos (Bavaresco, 2024).

A criação deste foi vista como uma resposta à demanda por práticas agrícolas sustentáveis e à crescente necessidade de reduzir a dependência de produtos químicos importados e de alto custo. A iniciativa também foi fundamental para integrar esforços de pesquisa e inovação, consolidando o setor e fomentando a adoção de bioinsumos em larga escala no Brasil (Santos; Oliveira; Putti, 2024).

Nos últimos anos, o Brasil vem se destacando no cenário internacional pelo crescimento expressivo do mercado de bioinsumos. Esses insumos vêm ganhando popularidade em resposta à demanda por práticas agrícolas sustentáveis que minimizem os impactos ambientais e promovem a saúde do solo e das culturas agrícolas (Vidal; Saldanha; Veríssimo, 2020; Bavaresco, 2024).

Abordagem normativa é especialmente relevante para consolidar o papel dos bioinsumos como tecnologia de ponta no agronegócio sustentável (Rocha *et al.*, 2024). Além disso, a bioeconomia oferece oportunidades de crescimento industrial nos países em desenvolvimento, destacando o papel de tecnologias biológicas (Medina; Rotondo; Rodríguez, 2024).

Inovações em bioinsumos, como biofertilizantes e biopesticidas têm fortalecido o agronegócio brasileiro, promovendo soluções econômicas e sustentáveis (Santos; Oliveira; Putti, 2024). Como descrito por Santos, Oliveira e Putti (2024), os bioinsumos atuam tanto no fortalecimento das plantas contra estresses bióticos e abióticos quanto no aumento da eficiência do uso de nutrientes.

Podem ser classificados em várias vertentes de acordo com suas funções específicas, incluindo biofertilizantes, bioestimulantes, biopesticidas e biocontroladores. Cada uma dessas categorias oferece uma solução biológica distinta

para as necessidades do sistema produtivo, com foco na sustentabilidade e na eficiência do uso de recursos (Bettiol; Morandi, 2009).

Biofertilizantes são produtos que contêm organismos vivos, como bactérias e fungos, que promovem o crescimento das plantas por meio do aumento da disponibilidade de nutrientes no solo, reduzindo a necessidade de fertilizantes químicos e minimizando os impactos ambientais (Madigan *et al.*, 2015). Já os bioestimulantes são compostos que não fornecem nutrientes diretamente, mas agem no metabolismo das plantas para aumentar sua eficiência em processos fisiológicos. Bem como os hormônios vegetais produzidos por fungos, usados como bioestimulantes para promover o crescimento vegetal (Silva; Malta, 2016).

Os biopesticidas são definidos como substâncias derivadas de microrganismos, plantas ou materiais biológicos que controlam pragas de maneira específica (Madigan *et al.*, 2015). Enquanto os biocontroladores referem-se a organismos vivos, como predadores, parasitas ou microrganismos, que suprimem populações não apenas de pragas quanto de patógenos de maneira natural. Como exemplo podem ser citados os fungos micorrízicos, que competem com patógenos do solo, aumentando a resistência das plantas e promovendo práticas agrícolas sustentáveis (Souza *et al.*, 2023).

Historicamente, o uso de biocontroladores no Brasil começou com a introdução de parasitoides para controle de pragas nas décadas de 1960 e 1970" (Bettiol; Morandi, 2009). Um exemplo clássico é o uso do fungo *Metarhizium anisopliae* no combate a insetos, que marcou o início de uma série de pesquisas com outros organismos, como *Bacillus thuringiensis* e *Trichoderma spp.*, todos amplamente aplicados para o manejo de pragas e doenças (Bettiol; Maffia; Castro, 2014).

Os biocontroladores desempenham um papel crucial no manejo sustentável de pragas e doenças. Diferentemente dos defensivos agrícolas tradicionais, que podem ter efeitos colaterais na saúde humana e no ambiente, pois utilizam microrganismos e agentes naturais para inibir o desenvolvimento de organismos indesejados nas culturas (Bettiol; Maffia; Castro, 2014). Segundo Parra *et al.* (2024), o Brasil conta com uma diversidade de biocontroladores, incluindo bactérias e fungos eficazes no combate a pragas específicas, com menor impacto ambiental.

Além de serem ferramentas seguras para o manejo de pragas, os biocontroladores fortalecem o sistema de produção, aumentando a resiliência das

plantas contra doenças e promovendo a biodiversidade no solo. Alguns destes produtos têm se mostrado eficazes em culturas como a soja e o milho, controlando desde pragas de folhas até patógenos do solo e contribuindo para uma agricultura mais sustentável e produtiva (Bueno; Lorenzoni; Vidal, 2020).

A agricultura sustentável considera práticas que minimizem os impactos ambientais e promovam a conservação dos ecossistemas, além de assegurar a viabilidade econômica e o bem-estar social dos produtores e das comunidades locais (Bavaresco, 2024). Segundo Gindri, Moreira e Veríssimo (2021), a sustentabilidade na agricultura busca uma integração equilibrada entre produtividade e preservação ambiental, destacando-se pela eficiência no uso da água, no controle de pragas e na recuperação do solo.

Segundo o MAPA (2022), o aumento na adoção de biocontroladores em culturas como a soja reflete a necessidade de práticas agrícolas mais sustentáveis e alinhadas às demandas do mercado internacional. O fungo *Metarhizium anisopliae*, utilizado desde 1930, para o controle biológico de pragas e doenças, marcou o início de uma série de pesquisas que impulsionaram o uso de outros organismos de controle, como *Beauveria bassiana* e *Bacillus thuringiensis* (LI *et al.*, 2010; Bettiol; Maffia; Castro, 2014). Bueno, Lorenzoni e Vidal (2020) apresenta que, no Brasil, estes agentes biológicos são amplamente aplicados no manejo de pragas e doenças.

As primeiras tentativas de introdução de biocontroladores datam do início do século XX, quando técnicas biológicas eram experimentadas para controlar pragas agrícolas, como no caso do parasitoide *Neodusmetia sangwani* introduzido em 1967 para o controle da cochonilha das pastagens (*Antonina graminis*) (Bueno; Lorenzoni; Vidal, 2020).

Com o incentivo à fabricação local de bioinsumos, a cadeia produtiva interna tem se fortalecido, gerando empregos e estimulando a economia regional (Souza; Carvalho, 2023). Este avanço na produção está gradativamente reduzindo a dependência de fertilizantes químicos importados, uma vez que produtos biológicos podem ser desenvolvidos com a biodiversidade brasileira (Rocha *et al.*, 2024).

Os bioinsumos têm se consolidado como uma área estratégica para o crescimento sustentável, especialmente em países em desenvolvimento, onde seu uso contribui para o fortalecimento do setor agroindustrial e para atender às demandas de um mercado agrícola global em expansão (Medina; Rotondo; Rodríguez, 2024).

Rocha *et al.* (2024) destacam que os bioinsumos têm um papel essencial na regeneração, promovendo a atividade microbiológica e melhorando a capacidade de retenção de nutrientes. Neste sentido, Hungria (2024) acrescenta que, além de contribuir para a recuperação do solo degradado, o uso contínuo dos bioinsumos gera um aumento na produtividade ao longo do tempo.

O alinhamento das políticas brasileiras com padrões internacionais de certificação tem sido uma prioridade para tornar os bioinsumos mais competitivos globalmente (Souza; Carvalho, 2023). O mercado brasileiro de bioinsumos registrou um crescimento médio anual de 21% nos últimos três anos, superando a média global. Para a safra 2023/2024, as vendas no varejo de ferramentas de biocontrole alcançaram R\$ 5 bilhões (CropLife, 2024).

Esse aumento é impulsionado tanto pela demanda do mercado por soluções mais ecológicas quanto pela regulamentação que facilita o registro desses produtos (Bortoloti; Sampaio, 2022). A substituição de defensivos agrícolas por biopesticidas contribui para a segurança alimentar, ao oferecer alimentos mais saudáveis e alinhados às exigências dos consumidores conscientes (Hungria, 2024).

Com o avanço do setor, o Brasil tem se tornado um modelo para outros países em desenvolvimento que buscam reduzir suas dependências externas (Hungria, 2024). Entretanto o Brasil enfrenta desafios significativos, como a regulamentação, aceitação por parte dos agricultores, a infraestrutura de produção e a certificação da qualidade dos produtos oferecidos no mercado (Santos; Nogueira e Hungria, 2019).

Embora o registro de bioinsumos tenha crescido nos últimos anos, ele ainda é limitado em comparação com o número de produtos químicos disponíveis. A produção regional e a adaptação de bioinsumos às condições locais são vistas como estratégias para superar esses desafios (Bortoloti; Sampaio, 2022). Porém as biofábricas enfrentam altos custos de instalação e desafios regulatórios complexos em níveis federal, estadual e municipal, impactando sua expansão no Brasil (Rocha *et al.*, 2024).

Além disso, o transporte adequado de bioinsumos, especialmente em condições controladas de temperatura e umidade, é fundamental para manter sua eficácia até o ponto de uso, mas continua sendo um obstáculo significativo no Brasil (Hungria, 2024). A concentração de bioinsumos em grandes propriedades e regiões economicamente privilegiadas evidencia uma disparidade na sua disponibilidade, limitando o acesso de pequenos agricultores (Bettoli; Morandi, 2009).

Outro ponto importante é a necessidade de promover a transferência de tecnologia e a educação dos agricultores sobre o uso adequado de bioinsumos. A parceria entre universidades, instituições de pesquisa como a Embrapa e empresas do setor privado é essencial para garantir a disseminação do conhecimento técnico e fomentar a inovação no setor (Lorenzoni *et al.*, 2024).

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 COMPOSIÇÃO DOS MEIOS UTILIZADOS

Para o crescimento de bactérias, montagem dos testes de antagonismo e manutenção das amostras da coleção de cultura foi preparado o meio de cultivo DIGS conforme descrito por Döbereiner, Andrade e Baldani (1999).

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO DO MEIO DIGS

<i>Reagente</i>	<i>g/L</i>
Glicose	2,0
Ácido málico	2,0
Peptona bacteriológica	1,5
Extrato de levedura	2,0
Fosfato de potássio dibásico	0,5
Sulfato de magnésio hidratado	0,5
Ácido glutâmico	1,5

FONTE: Döbereiner, Andrade e Baldani (1999)

Sendo preciso pesar os ingredientes, hidratá-los, regular o pH para 6,5 e então esterilizar por meio da autoclavagem. Quando necessária a utilização de meio sólido, foram adicionadas 15g/L de ágar a composição apresentada na TABELA 1 anteriormente a autoclavagem.

Para o crescimento dos fungos foi utilizado o meio de BDA de formulação pronta preparado com 27,0g de pó para 1L de água destilada, com pH final próximo de 5,1.

### 3.2 CRESCIMENTO DOS ISOLADOS E MANUTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Para os testes foram selecionadas quatro bactérias de interesse provenientes da coleção de cultura do grupo de pesquisa FIXTEC, sendo elas as bactérias 04, 25, 203 e 208.

As rizobactérias 203 e 208, respectivamente classificadas pelo sequenciamento parcial do 16S rRNA, como sendo uma *Delftia* sp. e uma *Enterobacter* sp. foram obtidas do estudo de Neiverth (2012). As bactérias 04 e 25, ambas classificadas pelo sequenciamento parcial do 16S rRNA como *Enterobacter* sp. foram obtidas por Freitas (2019) a partir do exoesqueleto de formigas cortadeiras (*Acromyrmex subterraneus subterraneus*), para estudo de biocontrole.

Estas foram riscadas em placas contendo meio DIGS sólido e colocadas na BOD a 28°C, com o objetivo de analisar possíveis contaminações existentes na coleção. Após isto uma colônia isolada foi alçada para tubos de ensaio contendo 10mL meio DIGS líquido, os quais posteriormente foram encubados em *shaker* a 28°C e 130rpm ao longo de 32h. Em seguida estes foram utilizados na produção de novas amostras para a coleção do laboratório de uso do grupo FIXTEC e novamente riscadas em placas para posterior utilização na montagem dos testes.

A renovação da coleção foi feita em triplicata com a utilização de microtubos de 2 microlitros contendo 1mL de meio DIGS líquido com a cepa crescida e 1 mL de glicerol, estes armazenados a -20°C estabelecendo as amostras da coleção.

### 3.3 CRESCIMENTO DOS FITOPATÓGENOS

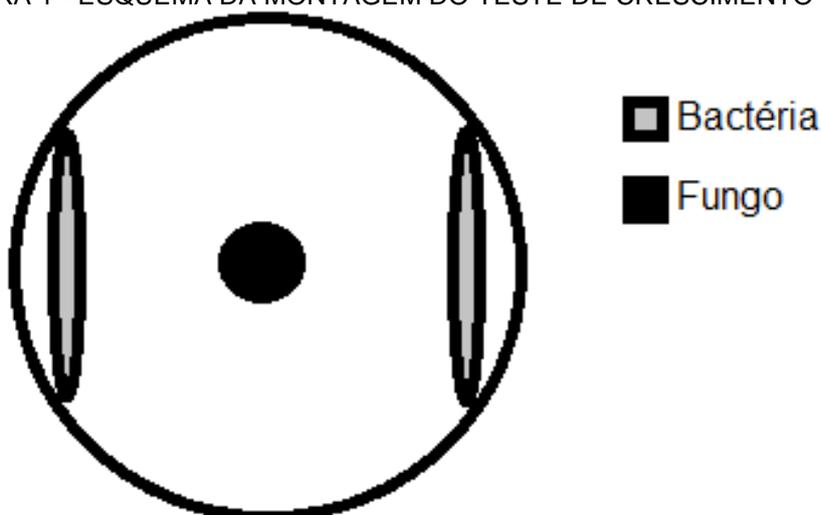
Os fungos fitopatogênicos *Fusarium solani*, *Sclerotinea* sp., *Phomopsis* sp. e *Sclerotium rolfsii*, foram obtidos do laboratório de fitopatologia da UFPR – setor Palotina, disponibilizados pela prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vivian Carré Missio.

Estes encontravam-se em discos de 5mm de diâmetro conservados em solução salina, os quais para a montagem dos testes foram inoculados em placas contendo o meio de cultivo BDA, estas foram incubadas a 25°C por 14 dias, com o intuito de que obtivessem um bom crescimento e uma boa viabilidade para uso nos embates.

### 3.4 TESTE DE ANTAGONISMO FRENTE A FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

Para a montagem do teste de antagonismo por meio de crescimento pareado (Dennis; Webster, 1971) as bactérias crescidas anteriormente em placas de meio de cultura DIGS sólido, foram utilizadas como fonte do inóculo para montagem dos testes, sendo repicadas com o auxílio da alça de platina nas duas extremidades da placa de petri com cerca de 10mm de comprimento. Em seguida, discos miceliais de 5 mm dos fungos fitopatogênicos previamente crescidos foram transferidos para o centro das placas de petri contendo as bactérias, para posterior incubação em BOD sob a temperatura de 28°C. O esquema de montagem das placas pode ser observado por meio da FIGURA 1, onde o potencial antagônico das estirpes foi observado pela inibição do crescimento dos fungos (Dennis; Webster, 1971).

FIGURA 1 - ESQUEMA DA MONTAGEM DO TESTE DE CRESCIMENTO PAREADO.



FONTE: A autora (2023).

Para cada fungo, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições para cada bactéria testada. Como controle, o fungo foi cultivado sem os isolados bacterianos em meio de cultura DIGS, com o intuito de analisar a viabilidade e o crescimento do fungo no meio utilizado para montagem do teste.

As avaliações foram realizadas observando a inibição ou contenção do crescimento fúngico, iniciadas 48 horas após a instalação do experimento e realizadas posteriormente a cada dois dias, perdurando até o momento em que as colônias fúngicas das placas de controle tivessem seu crescimento estagnado ou limitado pela superfície do meio de cultura (Stangarlin *et al.*, 1999).

Após esse período, foi calculada a porcentagem de inibição, medindo o raio de crescimento do patógeno para calcular o percentual de inibição (por meio da equação apresentada abaixo), utilizando o parâmetro formulado por Whipps (1987).

$$\text{Percentual de Inibição} = ((R1 - R2) / R1) \times 100$$

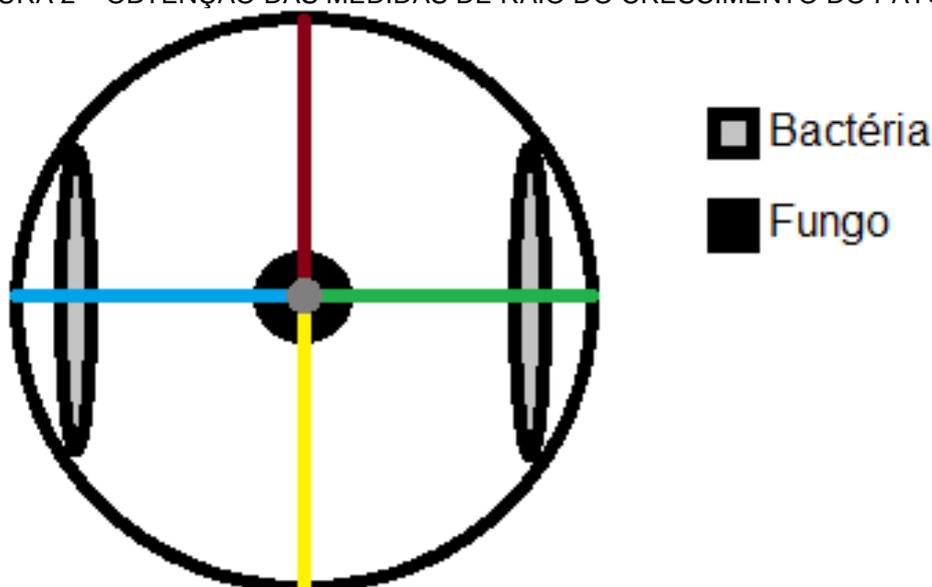
Onde:

R1: raio do patógeno obtido no controle (mm);

R2: raio do patógeno obtido no tratamento testado (mm).

A medida dos raios foi feita conforme representada na FIGURA 2, deste modo foram obtidos 4 raios a partir do centro da placa. Para o cálculo da inibição foi feita uma média simples dos 4, para obtenção de um único raio que represente da melhor forma o crescimento do patógeno.

FIGURA 2 – OBTENÇÃO DAS MEDIDAS DE RAIO DO CRESCIMENTO DO PATÓGENO.



FONTE: A autora (2024).

Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) para avaliar diferenças entre os tratamentos, para as comparações múltiplas, foi aplicado o teste de Tukey ao nível de significância de 5%. Adicionalmente, os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias foram verificados utilizando, respectivamente, os testes de Shapiro-Wilk e Levene. Todas as análises foram realizadas por meio de um código em *Python*, e os resultados foram confirmados pelo *software Sisvar*.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise estatística realizada para o teste com o fungo *Sclerotinea* sp. não revelou diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA:  $F = 2,430$ ,  $p = 0,123 > 0,05$ ). Como o valor  $p$  foi maior que o nível de significância adotado (0,05), não houve necessidade de realizar o teste de comparações múltiplas de Tukey.

Os resultados variaram de acordo com a espécie de fungo avaliada, na TABELA 2 são apresentadas as médias de crescimento de cada fungo e o percentual de inibição gerado pela bactéria sob o patógeno.

TABELA 2 – MÉDIA DOS RAIOS DE CRESCIMENTO DA *Sclerotinea* sp. E PERCENTUAL DE INIBIÇÃO POR BACTÉRIA TESTADA.

Bactéria	Raio de crescimento do fungo (cm)	Percentual de inibição (%)
4	2,50	44,38
25	3,62	19,35
203	3,14	30,09
208	2,76	38,52
Controle	4,50	-

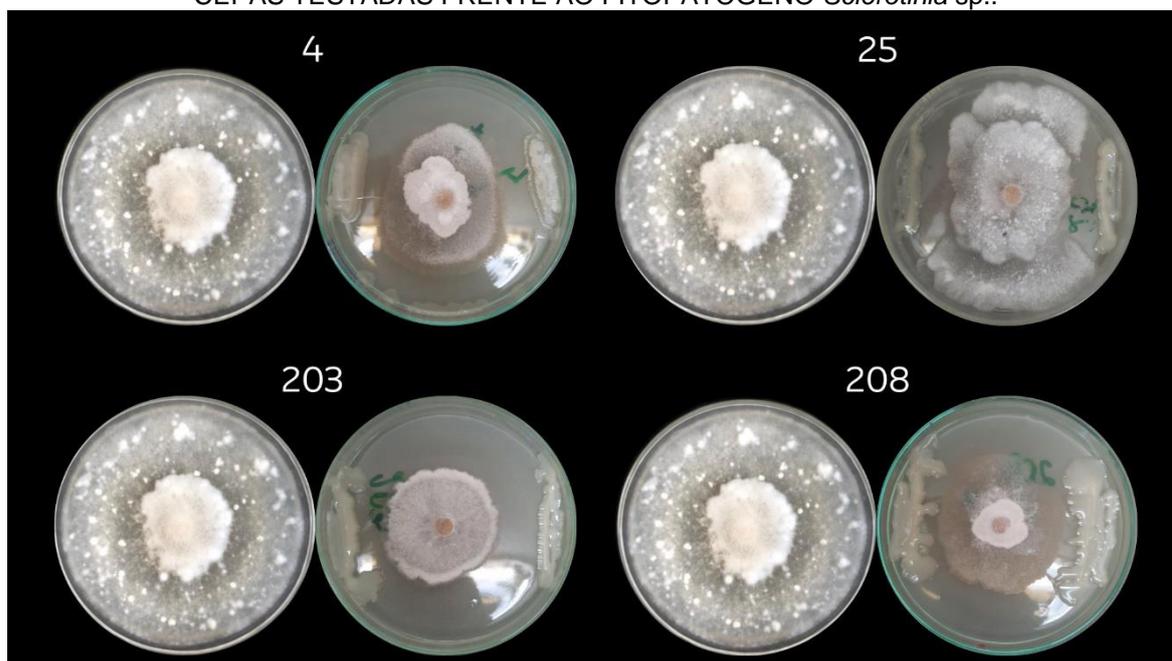
FONTE: A autora (2024).

Embora a média do raio de crescimento do fungo tenha sido menor na presença de algumas bactérias, como bactéria 04 (2,50 cm) e bactéria 208 (2,76 cm), quando comparadas ao controle (4,50 cm), essas diferenças não foram estatisticamente significativas.

Em estudo anterior as bactérias 04 e 25 demonstraram potencial antagônico referente a este patógeno (FREITAS, 2019). No trabalho de Tomazi *et al.* (2022) ao testar diferentes cepas de *Trichoderma* spp. os mesmos apresentaram o percentual de inibição de crescimento próximos a 50%.

Complementando os resultados apresentados na TABELA 2, as imagens a seguir (FIGURA 3) ilustram visualmente o desenvolvimento de *Sclerotinia* sp. nas placas de Petri, na presença dos isolados bacterianos testados (04, 25, 203 e 208) e possibilitam a análise qualitativa dos testes.

FIGURA 3 – IMAGENS DE REGISTRO DAS ATIVIDADES DE INIBIÇÃO PROMOVIDAS PELAS CEPAS TESTADAS FRENTE AO FITOPATÓGENO *Sclerotinia* sp..

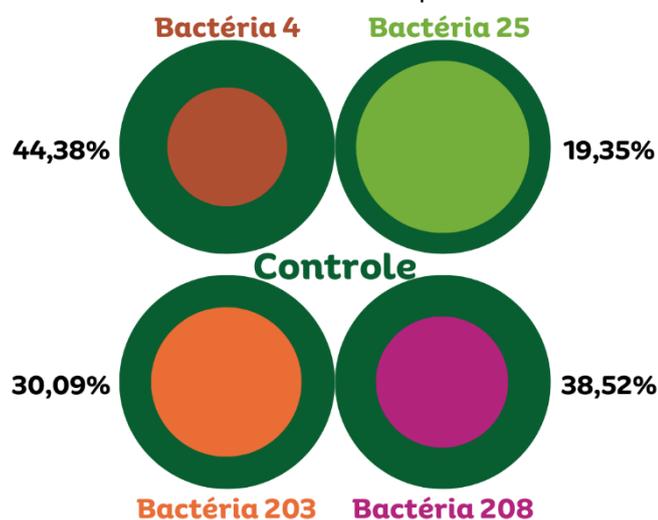


FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: Abaixo do número de identificação de cada bactéria é apresentado a esquerda a imagem da placa controle e na direita a placa contendo o fitopatógeno e com a respectiva bactéria.

Com as imagens é evidente que na presença das bactérias o fungo não conseguiu se desenvolver tanto quanto sem a presença delas. Para complementar a visualização do potencial das cepas tem-se na FIGURA 4 a representação gráfica do percentual de inibição gerado por cada bactéria, para a montagem deste modelo de representação foram convertidos os raios obtidos em centímetros para pixels, a fim de possibilitar uma visão mais realista do percentual de inibição.

FIGURA 4 – REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DO PERCENTUAL DE INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DA *Sclerotinia* sp..



FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: As áreas em verde escuro representam o quanto o fungo cresceu na placa controle e ao centro o quanto o mesmo cresceu com a presença da bactéria na placa, ao lado de cada círculo é apresentado o percentual de inibição gerado pela bactéria.

Na FIGURA 4 acima temos o crescimento da placa controle sendo representado na cor verde escuro e as demais cores marrom, verde claro, laranja e rosa representando o crescimento do fungo em quando na presença respectivamente das bactérias 4, 25, 203, 208, ao centro de cada uma tem o percentual de inibição que foi exercido, as FIGURAS 6, 8 e 10 seguirão o mesmo esquema de cores.

Com a observação das figuras acima é possível ver 3 intensidades de inibição, sendo a bactéria 4 a com potencial de inibição superior a 40%, as bactérias 203 e 208 ficando com um potencial razoável sendo maior que 30%, porém menor que 40% e a bactéria 25 com o percentual de inibição inferior a 20%, o qual acaba destoando dos outros resultados. No estudo de Shiomi, Ferreira e Melo (2017), ao avaliar o potencial de isolados obtidos a partir de biodigestores aeróbicos, observaram a porcentagem de inibição, variando de 3,5 a 46% de inibição. Já no estudo de Vieira (2022) o qual foi realizado com o posicionamento rizobactérias do gênero *Bacillus* sp., os quais obtiveram percentuais de inibição de 55,1% a 66,61%.

Em um estudo de Krishnamoorthy, Sankaralingam e Nakkeeran (2017) sobre os percentuais de inibição do *S. sclerotiorum* causados por fungicidas, os mesmos conseguiram inibir 100% do crescimento do fungo em altas concentrações, entretanto quando em baixas concentrações os percentuais variaram de 15 a 54%.

Apesar de não terem sido observadas diferenças estatisticamente significativas nos valores médios do crescimento fúngico, como descrito na análise anterior, os halos de inibição destacados na FIGURA 4 reforçam a importância de otimizações no protocolo experimental para futuras investigações.

Os resultados da análise estatística para *Fusarium solani* revelaram diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA:  $F = 5,222$ ,  $p = 0,004 < 0,05$ ), indicando que os isolados bacterianos testados apresentaram distintos níveis de eficácia na inibição do crescimento radial do fungo. Justificando assim a realização do teste de comparações múltiplas de Tukey.

Tanto ao observar o GRÁFICO 1 e os dados da TABELA 3, o tratamento com Bactéria 203 resultou na menor média de crescimento do fungo (2,28 cm), diferindo significativamente do controle (4,17 cm;  $p < 0,05$ ), em assim apresentou a taxa de

45,38% de inibição do *F. solani*. Destaca-se também a bactéria 4 (2,59 cm), com o percentual de aproximadamente 38% de inibição do crescimento do fungo.

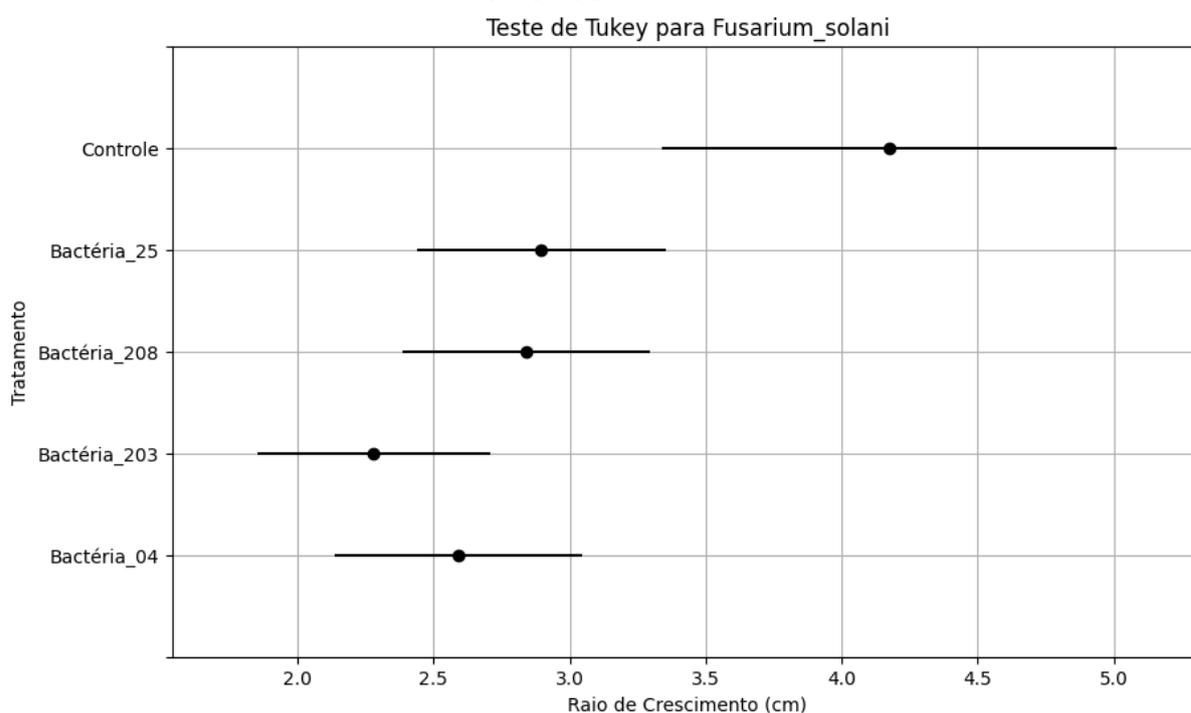
TABELA 3 – MÉDIA DOS RAIOS DE CRESCIMENTO DA *Fusarium solani* E PERCENTUAL DE INIBIÇÃO POR BACTÉRIA TESTADA.

Bactéria	Raio de crescimento do fungo (cm)	Percentual de inibição (%)
4	2,59*	37,92
25	2,89	30,64
203	2,28*	45,38
208	2,84*	31,94
Controle	4,17	-

FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: \* Sinaliza as médias que se diferiram do controle, utilizando ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey; CV=24,88%.

GRÁFICO 1 – GRÁFICO OBTIDO PELO TESTE DE TUKEY A 5% PELO CÓDIGO EM PYTHON PARA O FUNGO *Fusarium solani*.

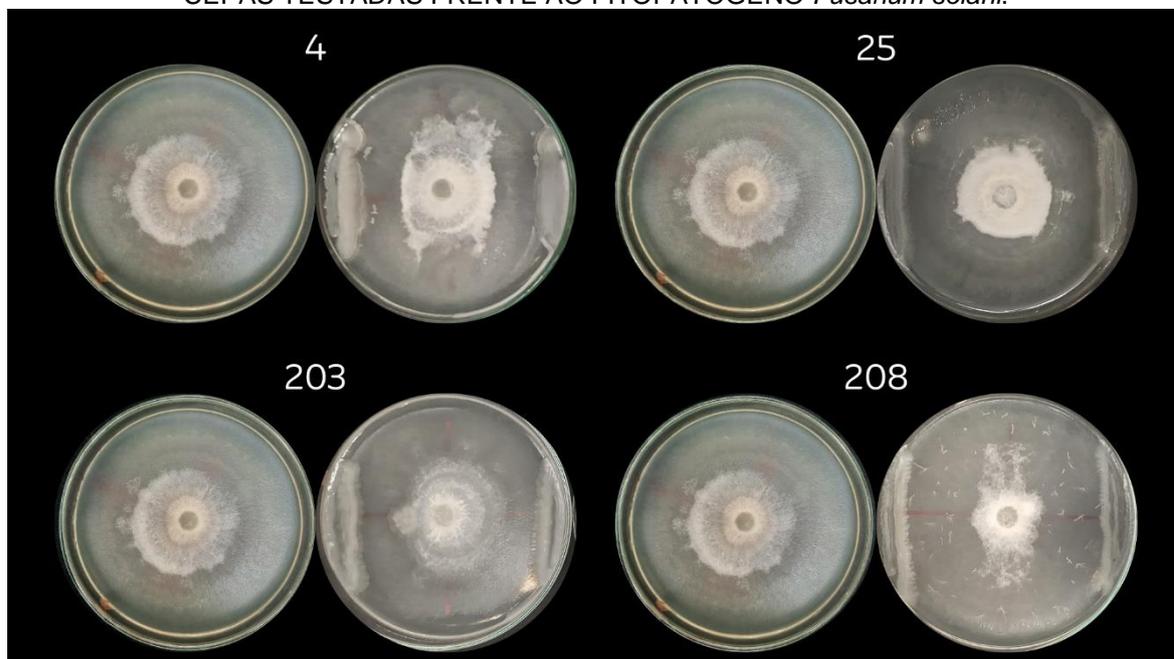


Fonte: A autora (2024)

Embora a bactéria 25 (2,89 cm) não tenha se diferenciado estatisticamente do controle, a bactéria 208 (2,84 cm) se diferenciou do controle estatisticamente mesmo tendo um raio de crescimento similar ao da bactéria 25.

A análise qualitativa deste também pode ser observada por meio da FIGURA 5, a qual apresenta os registros fotográficos do teste em questão.

FIGURA 5 – IMAGENS DE REGISTRO DAS ATIVIDADES DE INIBIÇÃO PROMOVIDAS PELAS CEPAS TESTADAS FRENTE AO FITOPATÓGENO *Fusarium solani*.



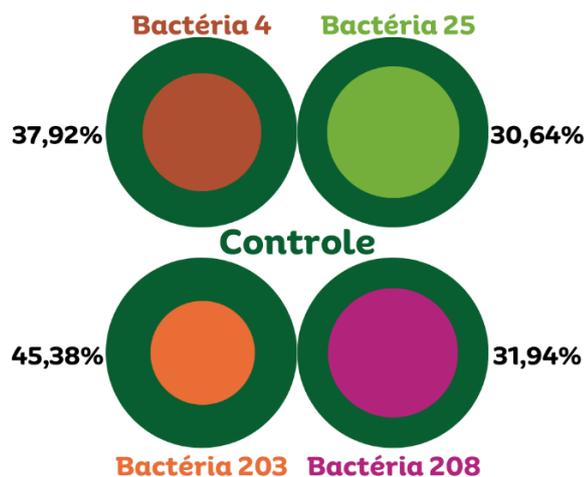
FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: Abaixo do número de identificação de cada bactéria é apresentada a esquerda a imagem da placa controle e na direita a placa contendo o fitopatógeno e com a respectiva bactéria.

Esses resultados destacam o potencial das bactérias testadas como agentes de controle biológico promissores para o controle de *F. solani*, considerando seu impacto na redução do crescimento do fungo. No entanto, estudos adicionais são necessários para avaliar os mecanismos de ação envolvidos, a estabilidade desse efeito em diferentes condições ambientais e sua eficácia em campo.

Conforme apresentado anteriormente, na FIGURA 6 tem-se o mesmo esquema de cores e de representação gráfica que apresentado na FIGURA 4. Pode ser observado que a inibição causada pelas bactérias 4, 25 e 203 são similares entre si, no entanto se diferem da 203 a qual apresentou o maior potencial inibitório.

FIGURA 6 – REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DO PERCENTUAL DE INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Fusarium solani*.



FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: As áreas em verde escuro representam o quanto o fungo cresceu na placa controle e ao centro o quanto o mesmo cresceu com a presença da bactéria na placa, ao lado de cada círculo é apresentado o percentual de inibição gerado pela bactéria.

Em um estudo com metodologia similar Zape *et al.* (2014) apresentaram 10 antagonistas que obtiveram desde 31,11% a 71,85% de inibição do *F. solani*, apesar das diferenças entre os percentuais ressalta que todos foram capazes de inibir o crescimento do fungo. Ainda no mesmo trabalho foi avaliado o impacto da produção de escleródios na presença do antagonista, neste caso fica evidente os diferentes tipos de ação antagônica, pois na inibição de crescimento o maior percentual apresentado foi pela ação da bactéria *Pseudomonas fluorescens*, seguido pelo *Trichoderma harzianum* o qual obteve 65,56% de inibição, o mesmo obteve a maior inibição de produção dos escleródios.

Com tudo apesar das bactérias 4, 25, 208 não apresentarem o percentual tão alto quanto ao da bactéria 203, as quais ainda inibem um percentual considerável do crescimento do fungo e podem apresentar outros fatores que afetem a dispersão do fungo.

A análise estatística para *Phomopsis* sp. revelou diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA:  $F = 8,252$ ,  $p = 0,001 < 0,05$ ), indicando que os isolados bacterianos testados apresentaram diferentes níveis de eficácia na inibição do crescimento radial do fungo.

O teste de comparações múltiplas de Tukey mostrou que o tratamento com Bactéria 04 resultou no menor crescimento radial do fungo (2,07 cm), sendo significativamente diferente do controle (4,10 cm;  $p < 0,05$ ) e dos demais tratamentos bacterianos (Bactéria 203, Bactéria 208 e Bactéria 25), que apresentaram médias de

crescimento mais elevadas (3,68 cm, 3,79 cm e 3,45 cm, respectivamente). Estes podendo ser observados na TABELA 4 e no GRÁFICO 2.

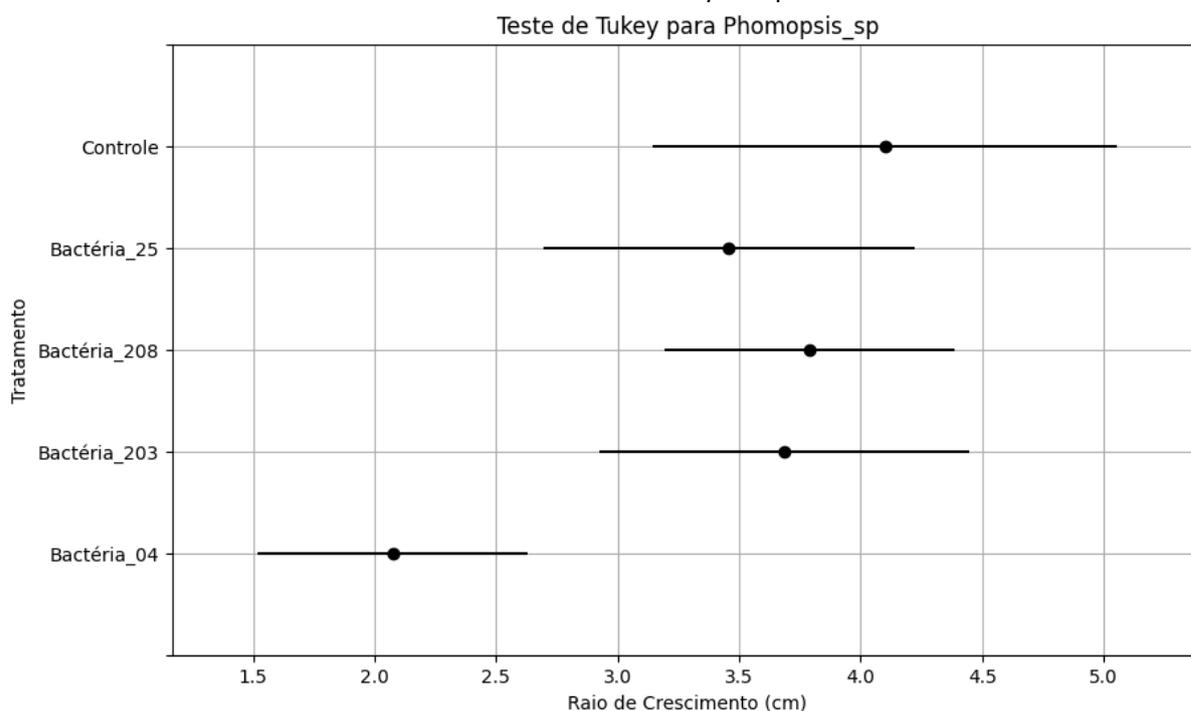
TABELA 4 – MÉDIA DOS RAIOS DE CRESCIMENTO DA *Phomopsis* sp. E PERCENTUAL DE INIBIÇÃO POR BACTÉRIA TESTADA.

Bactéria	Raio de crescimento do fungo (cm)	Percentual de inibição (%)
4	2,07*	49,39
25	3,43	16,22
203	3,64	11,22
208	3,79	7,56
Controle	4,10	-

FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: \* Sinaliza as médias que se diferiram do controle, utilizando ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey; CV= 30,15%.

GRÁFICO 2 – GRÁFICO OBTIDO PELO TESTE DE TUKEY A 5% PELO CÓDIGO EM PYTHON PARA O FUNGO *Phomopsis* sp..



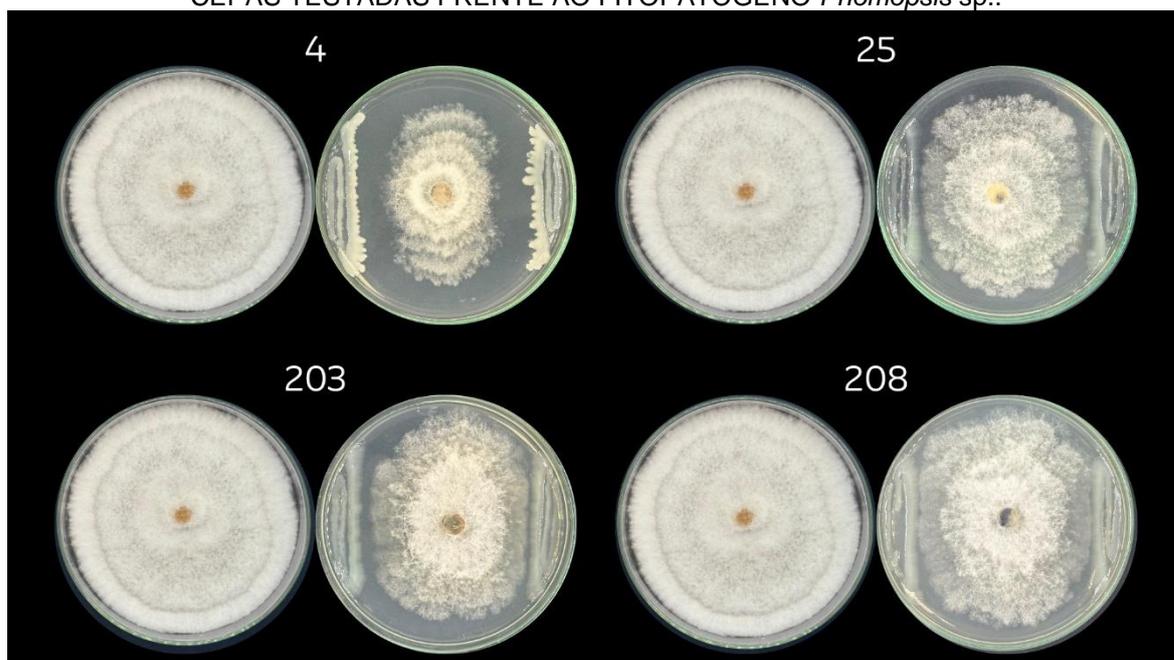
FONTE: A autora (2024).

Os resultados indicam que Bactéria 04 foi a mais eficaz em inibir o crescimento de *Phomopsis* sp., enquanto os demais isolados bacterianos, apesar de reduzirem o crescimento em relação ao controle, apresentaram eficácia similar entre si. No trabalho de Kolandasamy *et al.* (2023) foram testados os potenciais antagonistas

de 4 cepas diferentes frente ao fitopatógeno *Phomopsis theae*, neste os percentuais de inibição foram de 66,7% a 78,9%.

Pela análise visual dos registros fotográficos apresentados na FIGURA 7 corroboram com os dados obtidos estatisticamente, reafirmando assim a eficiência superior da bactéria 4 quando comparada as outras bactérias.

FIGURA 7 – IMAGENS DE REGISTRO DAS ATIVIDADES DE INIBIÇÃO PROMOVIDAS PELAS CEPAS TESTADAS FRENTE AO FITOPATÓGENO *Phomopsis sp.*.

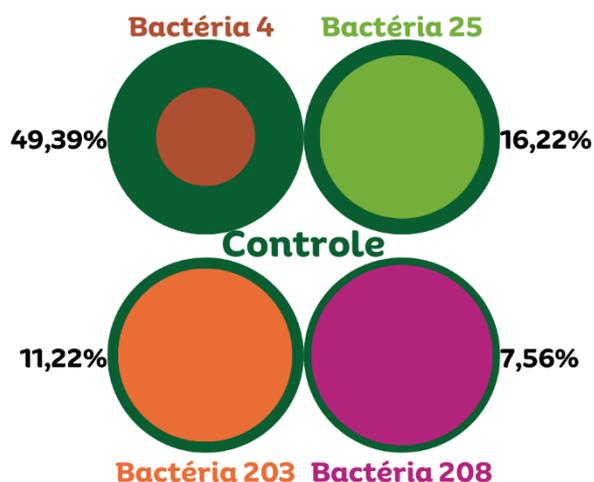


FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: Abaixo do número de identificação de cada bactéria é apresentada a esquerda a imagem da placa controle e na direita a placa contendo o fitopatógeno e com a respectiva bactéria.

De encontro com os registros visuais e tem-se a FIGURA 8, a qual possibilita uma ligação entre os percentuais obtidos e o raio médio representado visualmente além dos registros fotográficos.

FIGURA 8 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DO PERCENTUAL DE INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Phomopsis sp.*.



FONTE: A autora (2024)

LEGENDA: As áreas em verde escuro representam o quanto o fungo cresceu na placa controle e ao centro o quanto o mesmo cresceu com a presença da bactéria na placa, ao lado de cada círculo é apresentado o percentual de inibição gerado pela bactéria.

Os pressupostos para a aplicação da ANOVA foram avaliados, o teste de Shapiro-Wilk indicou que os resíduos não seguem uma distribuição normal, e o teste de Levene mostrou homogeneidade das variâncias entre os tratamentos. Como para cada uma das bactérias foram realizadas 5 repetições o impacto da não normalidade é reduzindo, sendo assim deu-se sequência com a análise estatística para *Sclerotium rolfsii*, a qual revelou diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA:  $F = 9,321$ ,  $p = 0,0002 < 0,05$ ), indicando que os isolados bacterianos apresentaram distintos níveis de eficácia na inibição do crescimento radial do fungo.

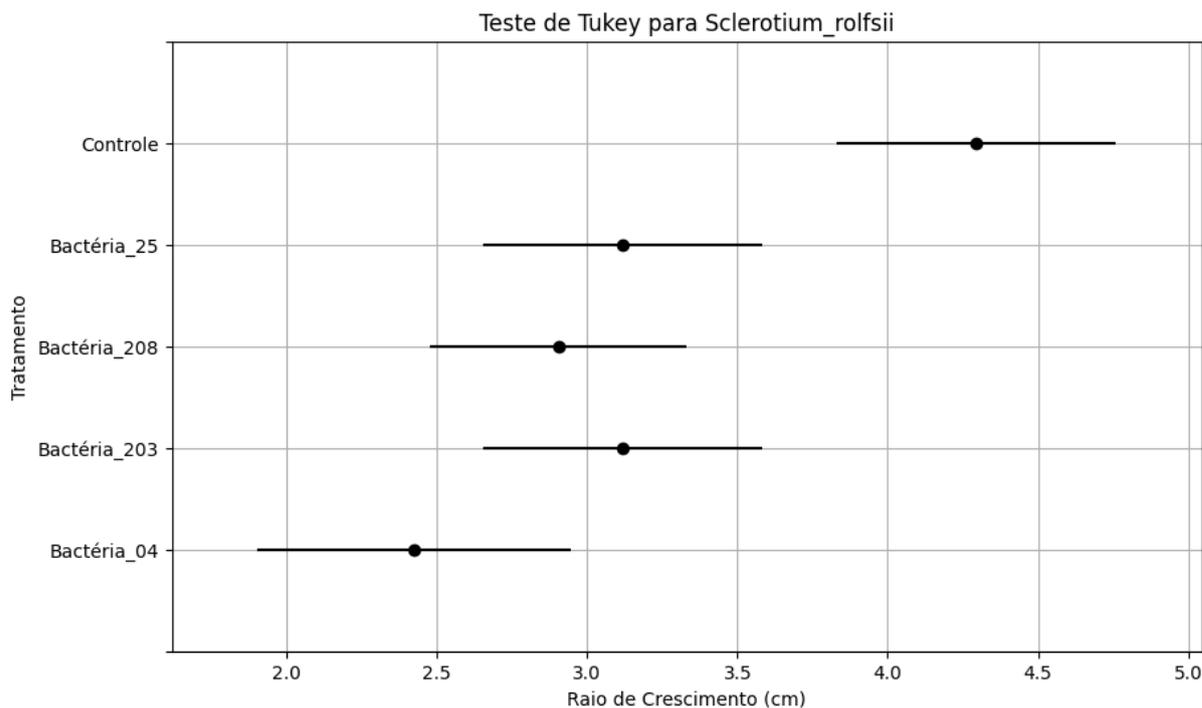
TABELA 5 – MÉDIA DOS RAIOS DE CRESCIMENTO DA *Sclerotium rolfsii* E PERCENTUAL DE INIBIÇÃO POR BACTÉRIA TESTADA.

Bactéria	Raio de crescimento do fungo (cm)	Percentual de inibição (%)
4	2,42*	44,53
25	3,12*	27,35
203	3,12*	27,35
208	2,9*	32,38

FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: \* Sinaliza as médias que se diferiram do controle, utilizando ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey; CV= 23,76%.

GRÁFICO 3 – GRÁFICO OBTIDO PELO TESTE DE TUKEY A 5% PELO CÓDIGO EM PYTHON PARA O FUNGO *Sclerotium rolfsii*.



FONTE: A autora (2024).

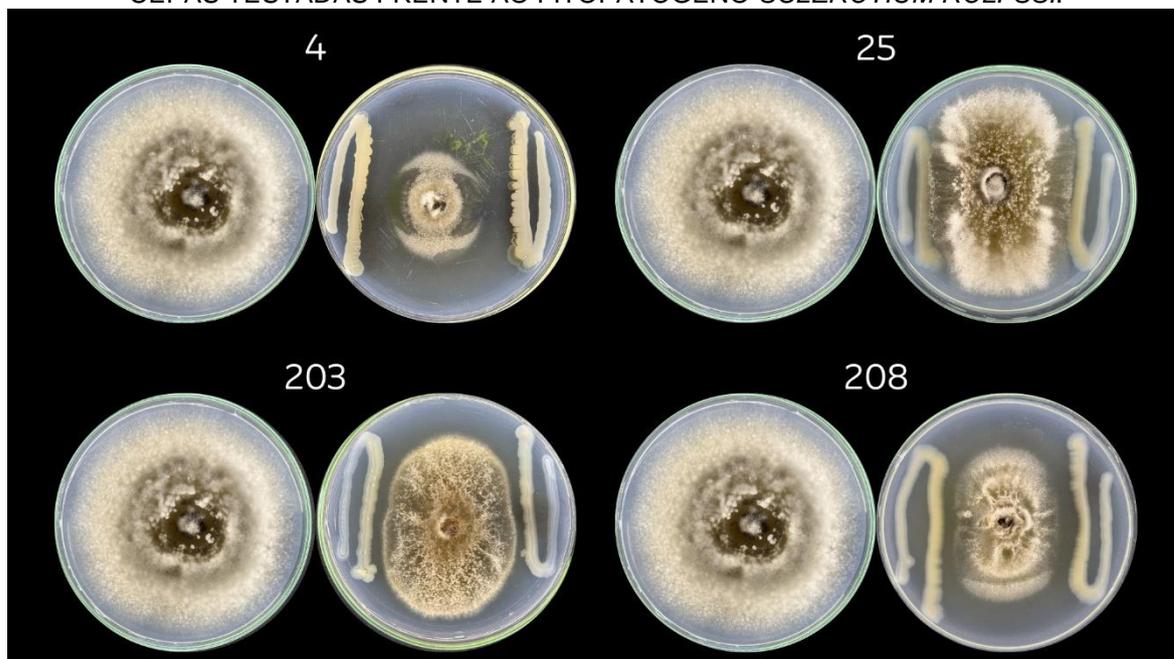
O teste de comparações múltiplas de Tukey mostrou que o tratamento com bactéria 04 resultou na maior redução do crescimento do fungo, apresentando a menor média de raio de crescimento (2,42 cm), sendo significativamente diferente do controle (4,29 cm;  $p < 0,05$ ).

Não menos importante tem-se a bactéria 208 com um raio de crescimento de 2,90 cm, o qual também apresentou diferença estatística significativa do grupo controle. As bactérias 203 (3,12 cm) e 25 (3,12 cm) também apresentaram diferenças significativas quanto ao controle estatisticamente mesmo que menores que as bactérias 04 e 208. O controle, como esperado, apresentou a maior média de crescimento (4,29 cm), evidenciando o impacto positivo das bactérias na restrição do crescimento do fungo.

No estudo de Sarita e Ratnoo (2018), observou-se por meio de estudos *in vitro* a ação de fungicidas como Tebuconazol, Hexaconazole e Carbendazim sobre o controle de *S. rolfsii*, em suas maiores concentrações inibiram respectivamente 94%, 77% e 28% de atividade inibitória. Ainda no estudo de Yaqub e Shahzad (2006) no qual é avaliada a eficácia de fungicidas, o percentual inibitório sob o fungo variou de 50% a 60%.

Para análises visuais temos o registro fotográfico e a representação gráfica dos percentuais de inibição obtidos por cada cepa, estes respectivamente apresentados nas figuras 9 e 10.

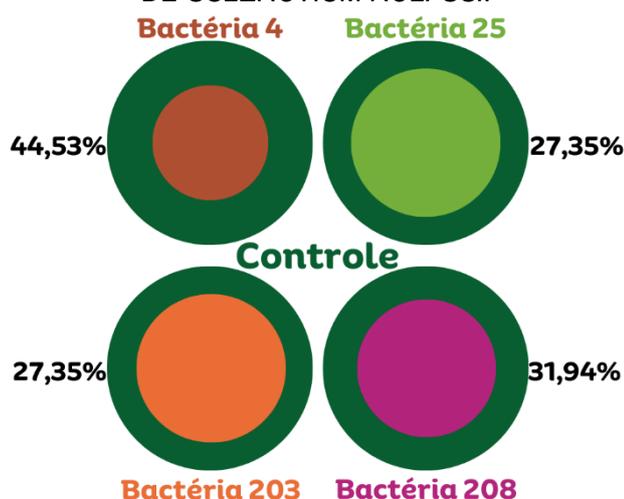
FIGURA 9 – IMAGENS DE REGISTRO DAS ATIVIDADES DE INIBIÇÃO PROMOVIDAS PELAS CEPAS TESTADAS FRENTE AO FITOPATÓGENO *SCLEROTIUM ROLFSSI*.



FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: Abaixo do número de identificação de cada bactéria é apresentada a esquerda a imagem da placa controle e na direita a placa contendo o fitopatógeno e com a respectiva bactéria.

FIGURA 10 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DO PERCENTUAL DE INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE *SCLEROTIUM ROLFSSI*.



FONTE: A autora (2024).

LEGENDA: As áreas em verde escuro representam o quanto o fungo cresceu na placa controle e ao centro o quanto o mesmo cresceu com a presença da bactéria na placa, ao lado de cada círculo é apresentado o percentual de inibição gerado pela bactéria.

Conforme pode ser observado tanto na FIGURA 9 quanto na 10, há a presença de inibição do crescimento do patógeno perante a presença das bactérias, por meio dos registros fotográficos na FIGURA 9 podem ser formados 3 grupos quanto ao potencial de inibição, sendo a de maior potencial a bactéria 4, seguida pela bactéria 208 e as bactéria 25 e 203, estes resultados qualitativos vão de encontro com os percentuais de inibição calculados.

Ainda com a FIGURA 10 é possível reafirmar a relação entre a análise visual do crescimento do fungo e os percentuais calculados apresentarem as mesmas relações, quanto menor o raio de crescimento do fungo maior o percentual de inibição causado pela bactéria, logo quanto menor o raio melhor é o potencial biocontrolador da bactéria.

Por meio da TABELA 6 obtém-se uma visão geral quanto ao desempenho antagônico de cada bactéria frente aos fitopatógenos testados. É evidenciada a ação inibitória da bactéria 4, a qual apenas não se sobressai dentre as demais quando posicionada com a *F. solani*, seus percentuais de inibição dos fitopatógenos testados variaram de 37,92% a 49,39%. No trabalho de Freitas (2019) a mesma apresentou percentual inibitório sob outros 3 fitopatógenos distintos, sendo eles, *Alternaria alternada*, *Colletotrichum lagernarium*, *Corynespora cassiolata*.

TABELA 6 – PERCENTUAIS DE INIBIÇÃO OBTIDOS AGRUPADOS PELAS BACTÉRIAS TESTADAS

	Bactéria 4 (%)	Bactéria 25 (%)	Bactéria 203 (%)	Bactéria 208 (%)
<b><i>Sclerotínea sp.</i></b>	44,38	14,35	30,09	38,09
<b><i>F. solani</i></b>	37,92	30,64	45,38	31,94
<b><i>Phomopsis sp.</i></b>	49,39	16,22	11,22	7,56
<b><i>S. rolfsii</i></b>	44,53	27,35	27,35	32,38

FONTE: A autora (2024).

Enquanto a Bactéria 25 teve a seu melhor percentual de inibição (30,64%) frente ao crescimento do fitopatógeno *F. solani*, não muito distante deste percentual, conseguiu conter o crescimento de 27,35% do *S. rolfsii*, quanto seus menores índices de inibição foram sob o crescimento do *Phomopsis sp.* e do *Sclerotínea sp.*. Frente aos cinco patógenos com os quais foi posicionada no trabalho de Freitas (2019) o percentual de inibição dos fitopatógenos variou de 28,33% a 67,77%, sendo que o único percentual abaixo de 45% foi perante *C. cassicola*.

Apesar das bactérias 04 e 25 terem sido isoladas do mesmo estudo e identificadas como pertencentes da mesma família, as diferenças entre as ações inibitórias corroboram com o pressuposto de que tratam-se de bactérias pertencentes a gêneros diferentes.

Já as rizobactérias 203 e 208 apresentaram comportamentos similares entre si, quando posicionadas com os fitopatógenos *Phomopsis* sp. (11,22% e 7,56%) e *S. rolfsii* (27,35% e 32,38%). No entanto a rizobactéria 203 apresentou seu melhor controle sob o crescimento do fungo *F. solani* e a 208 sob o fungo *Sclerotinea* sp..

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio dos resultados apresentados foi possível atestar o potencial das 4 bactérias testadas como agentes de controle biológico. A bactéria 4 destaca-se dentre as demais quanto ao potencial de amplo espectro pelos seus percentuais frente aos diferentes fungos, não distante a bactéria 208 controlou de modo satisfatório o *F. solani*, *Sclerotinea* sp., e o *S. rolfsii*, a qual por sua vez é seguida pela bactéria 25, que apresentou melhor eficiência no controle *F. solani* e do *S. rolfsii*, já a bactéria 203 obteve bons resultados ao ser pareada com a *Sclerotinea* sp. e o *F. Solani*, sob o qual foi a bactéria que obteve o melhor percentual de controle. A fim de dar continuidade na bioprospecção destas devem ser realizados testes para identificação dos mecanismos de ação pelo qual a inibição é gerada.

## REFERÊNCIAS

AYAZ, M. ; *et al.* Bacterial and Fungal Biocontrol Agents for Plant Disease Protection: Journey from Lab to Field, Current Status, Challenges, and Global Perspectives. **Molecules**, v. 28, n. 18, p. 6735, 2023. DOI: 10.3390/molecules28186735. Disponível em: <https://doaj.org/article/f8682bfd78b34a4291fa48a692091c4c>. Acesso em: 12 nov. 2024.

BAVARESCO, L. S.. **Compreensão da percepção sobre bioinsumos no Brasil: uma análise exploratória**. 2024. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2024. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/276263>. Acesso em: 15 nov. 2024.

BAYER. Mofo branco nas plantas: o que é e como identificar. **Bayer Agro**, 2022. Disponível em: <https://www.agro.bayer.com.br/conteudos/mofo-branco-plantas>. Acesso em: 12 nov. 2024.

BETTIOL, W.; MAFFIA, L. A.; CASTRO, M. L. M. P. Control biológico de enfermidades de plantas em Brasil. In: MARTÍNEZ, B. (Ed.). Avances en el control biológico de enfermidades de plantas en América Latina. Bogotá: **Editorial Agrícola**, 2014. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1008375/control-biologico-de-enfermedades-de-plantas-en-brasil>. Acesso em: 12 nov. 2024.

BETTIOL, W.; GHINI, R.. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. **Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente**, 2003. cap. 3, p. 79-95. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1076642/1/Bettiolprotecao.pdf>. Acesso em: 03 out. 2024.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. **Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente**, 2009. 341 p. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/579954/1/livrobiocontrol.pdf>. Acesso em: 18 out. 2024.

BHATTACHARYYA, S. S.; FURTAK, K. Soil–plant–microbe interactions determine soil biological fertility by altering rhizospheric nutrient cycling and biocrust formation. **Sustainability**, v. 15, n. 1, p. 625, 2022.

BORTOLOTTI, G.; SAMPAIO, R. M.. Demandas tecnológicas: os bioinsumos para controle biológico no Brasil. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 39, n. 1, 2022. Disponível em: <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/cct/article/view/26927>. Acesso em: 15 nov. 2024.

BORTOLOTTI, G.; SAMPAIO, R. M.. Desafios e estratégias no desenvolvimento dos bioinsumos para controle biológico no Brasil. **Tecnologia e Sociedade**, Curitiba, v. 20, n. 60, p. 291-307, abr./jun. 2024. Disponível em: <https://periodicos.utfpr.edu.br/rts/article/view/15792>. Acesso em: 15 nov. 2024.

BRASIL. **Decreto n.º 10.375, de 26 de maio de 2020**. Institui o Programa Nacional de Bioinsumos e dá outras providências. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF,

p. 3, 27 maio 2020. Disponível em: [https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2019-2022/2020/Decreto/D10375.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2019-2022/2020/Decreto/D10375.htm). Acesso em: 15 nov. 2024

BUENO, C. J.; LORENZONI, M.; VIDAL, M. Bioinsumos na agricultura: desafios e perspectivas. **AMB Express**, v. 9, p. 205, 2020. DOI: 10.1186/s13568-019-0932-0.

CHEN, W.; MODI, D.; PICOT, A. Soil and phytomicrobiome for plant disease suppression and management under climate change: A review. **Plants**, v. 12, n. 14, p. 2736, 2023.

CROPLIFE BRASIL. **Mercado de bioinsumos cresceu 15% na safra 2023/2024**. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/noticias/mercado-de-bioinsumos-cresceu-15-na-safra-2023-2024/>. Acesso em: 15 nov. 2024

DANTAS, S. A. F.; *et al.* Identificação de fontes de resistência em feijoeiro a *Sclerotium rolfsii*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 5, p. 535-537, 2002. DOI: 10.1590/S0100-41582002000500015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/fb/a/XGmRxHmnvbbMTq77WQZ56Fs/?lang=pt#ModalTutors>. Acesso em: 30 dec. 2024.

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of Trichoderma. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 57, n. 1, p. 25- IN3, 1971

DÖBEREINER, J.; ANDRADE, V. de O.; BALDANI, V. L. D. Protocolos para preparo de meios de cultura da Embrapa Agrobiologia. **Seropédica: Embrapa Agrobiologia**, 1999. 38 p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 110). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/624371/1/doc110.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2024

FENIBO, E. O.; IJOMA, G. N.; MATAMBO, T. Biopesticides in sustainable agriculture: A critical sustainable development driver governed by green chemistry principles. **Frontiers in sustainable food systems**, v. 5, 2021. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/sustainable-food-systems/articles/10.3389/fsufs.2021.619058/full>. Acesso em: 2 dez. 2024.

FREITAS, G. P.. **Bactérias isoladas do exoesqueleto de formigas cortadeiras (*Acromyrmex subterraneus*) com potencial para o biocontrole de fitopatógenos de interesse agrícola**. Orientador: Luciana Grange. 2019. 50 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Palotina -PR, 2017.

GINDRI, D. M.; MOREIRA, P. A. B.; VERÍSSIMO, M. Á. A.. **Sanidade vegetal: uma estratégia global para eliminar a fome, reduzir a pobreza, proteger o meio ambiente e estimular o desenvolvimento econômico sustentável**. CIDASC, 2020. Disponível em: <https://repositorio-dspace.agricultura.gov.br/handle/1/239>. Acesso em: 4 out. 2024

GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**, v. 2012, p. 963401, 2012.

HARDOIM, P. R.; MARTINS, É. De S.; MARTINS, E. de S.. **Agricultura Sustentável Tropical: casos de sucesso**. 2023. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1156764/1/Eder-Agricultura-sustentavel-tropical.pdf>. Acesso em: 4 out. 2024.

HENNING, A. A. **Guia prático para identificação de fungos mais frequentes em sementes de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2015. 33 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/documents/1354377/67771682/FOLHETO-Identificacao-de-fungos-OnLine.pdf>. Acesso em: 30 dec. 2024.

HUNGRIA, M. (Org.). **Segurança alimentar e nutricional: o papel da ciência brasileira no combate à fome**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 2024. Disponível em: <https://www.abc.org.br/wp-content/uploads/2024/03/Seguranca-Alimentar-e-Nutricional-O-Papel-da-Ciencia-Brasileira-no-Combate-a-Fome-LIVRO-ABC-2024.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2024

KOLANDASAMY, M. *et al.* Multifaceted plant growth-promoting traits of indigenous rhizospheric microbes against *Phomopsis theae*, a causal agent of stem canker in tea plants. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 39, n. 237, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03688-z>.

KRISHNAMOORTHY, K. K.; SANKARALINGAM, A.; NAKKEERAN, S. Management of head rot of Cabbage caused by *Sclerotinia sclerotiorum* through combined application of fungicides and biocontrol *Bacillus amyloliquefaciens*. **IJCS**, v. 5, n. 2, p. 401-404, 2017.

LI, Y. *et al.* O agente de biocontrole *Bacillus amyloliquefaciens* LJ02 induz resistência sistêmica contra o oídio de cucurbitáceas. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, artigo 883, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2015.00883>. Acesso em: 18 nov. 2024.

LORENZONI, L. P. *et al.* Revisão sistemática de literatura em transferência de tecnologia: o ciclo de desenvolvimento dos bioinsumos. **Revista Gestão e Desenvolvimento**, v. 21, n. 2, 2024. Disponível em: <https://periodicos.feevale.br/seer/index.php/revistagestaoedesenvolvimento/article/view/3887>. Acesso em: 10 nov. 2024.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 1032 p.

MAPA – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Programa Nacional de Bioinsumos**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/bioinsumos>. Acesso em: 13 nov. 2024.

MEDINA, G. da S.; ROTONDO, R.; RODRÍGUEZ, G. R. Innovations in agricultural bio-inputs: Commercial products developed in Argentina and Brazil. **Sustainability**, v. 16, n. 7, p. 2763, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2071-1050/16/7/2763/pdf>. Acesso em: 15 nov. 2024.

NEIVERTH, W.. **Diversidade morfológica e genética de rizobactérias endofíticas obtidas de solos de diferentes classes e manejos de cultivo**. 2012. 112 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2012. Disponível em: <https://tede.unioeste.br/handle/tede/1438>. Acesso em: 30 out. 2024

NOGUEIRA, G. A.; *et al.* Métodos de inoculação de *Fusarium solani* e *Sclerotium rolfsii* em meloeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 45, n. 1, p. 59-63, 2019. DOI: 10.1590/0100-5405/187147.

ROCHA, T. M.; *et al.* Agricultural bioinputs obtained by solid-state fermentation: From production in biorefineries to sustainable agriculture. **Sustainability**, v. 16, n. 3, p. 1076, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2071-1050/16/3/1076/pdf>. Acesso em: 15 nov. 2024.

SABATÉ, D. C.; *et al.* Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary on common bean by native lipopeptide-producer *Bacillus strains*. **Microbiological research**, v. 211, p. 21-30, 2018.

SANTOS, J. P. dos; OLIVEIRA, A. L. P. de; PUTTI, F. F.. Bioinsumos na agricultura: panorama tecnológico das patentes biológicas. **Revista de Gestão e Secretariado - GeSec**, v. 15, n. 9, p. 01-18, 2024. DOI: <http://doi.org/10.7769/gesec.v15i9.4137>.

SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. **Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present, and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture**. **AMB Express**, v. 9, 2019. DOI: 10.1186/s13568-019-0932-0. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13568-019-0932-0>. Acesso em: 20 nov. 2024.

SARITA, S.S; RATNOO, R. S. Bio-eficácia e manejo da podridão-do-caule (*Sclerotium rolfsii*) de amendoim com diferentes fungicidas e bioagentes. **IJCS**, v. 6, n. 5, p. 492-495, 2018.

SHIOMI, H. F.; FERREIRA, M. V. R.; MELO, I. S. Bioprospecting bacterial strains for biological control of white mold on soybean. **Scientific Electronic Archives**, v. 10, n. 2, p. 56-63, 2017.

SILVA, C. J. A.; MALTA, D. J. do N.. A importância dos fungos na biotecnologia. **Caderno de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde, UNIT - Pernambuco**, v. 2, n. 3, p. 49-66, 2016. Disponível em: <https://periodicos.set.edu.br/unitsaude/article/view/3210>. Acesso em: 12 dez. 2024.

SILVA, S. H. S.; *et al.* Reação de genótipos de *Capsicum* spp. à podridão do colo (*Sclerotium rolfsii*). **Summa Phytopathologica**, v. 43, n. 1, p. 58-59, 2017. DOI: 10.1590/0100-5405/2182. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sp/a/67sT9wBzZgzMWYNTHhnc8GP/>. Acesso em: 15 nov. 2024.

SOUZA, V. C. de; *et al.* Fungal interactions and their benefits in agricultural systems. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 27, n. 2, p. 129-135, 2023. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbeaa/a/ZzvSNNZwxpcvGT5kWFkSv8C/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 15 nov. 2024.

SOUZA, J.; CARVALHO, M. Desafios e potencialidades dos bioinsumos no contexto brasileiro. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 18, n. 3, p. 55-72, 2023.

STANGARLIN, J. R. *et al.* Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biociência**, ano II, n. 11, p. 16-21, nov./dez. 1999.

TOMAZI, G. L.; *et al.* **Avaliação do controle biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary com *Trichoderma* spp.**. In: ENCONTRO SUL-BRASILEIRO DE FITOSSANIDADE, 1.; WORKSHOP ESTADUAL SOBRE MANEJO FITOSSANITÁRIO, 3., 2022, Chapecó. Anais [...]. Chapecó: ENFIT-Sul, 2022. Disponível em: [https://eventos-antigo.uceff.edu.br/eventosfai\\_dados/artigos/enfit-sul-2020/1323.pdf#page=3.10](https://eventos-antigo.uceff.edu.br/eventosfai_dados/artigos/enfit-sul-2020/1323.pdf#page=3.10). Acesso em: 2 dez. 2024.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA (UFSM). ***Fusarium solani* na cultura da soja**. Disponível em: <https://www.ufsm.br/pet/agronomia/2022/05/10/fusarium-solani-na-cultura-da-soja>. Acesso em: 30 nov. 2024.

VALENTE, F.. Insumos biológicos no Brasil. **AgroANALYSIS**, v. 44, n. 3, 15 mar. 2024. Disponível em: <https://periodicos.fgv.br/agroanalysis/article/view/90936/85458>. Acesso em: 12 nov. 2024.

VAN LENTEREN, J. C.; *et al.* Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl** (Dordrecht, Netherlands), v. 63, n. 1, p. 39–59, 2018.

VIDAL, M. C.; DIAS, R. P. **Bioinsumos a partir das contribuições da Agroecologia. Embrapa Hortaliças**, 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1151844/bioinsumos-a-partir-das-contribicoes-da-agroecologia>. Acesso em: 18 set. 2024.

VIDAL, M. C.; SALDANHA, R.; VERÍSSIMO, M. Á. A.. Bioinsumos: o programa nacional e a sua relação com a produção sustentável. In: GINDRI, D. M.; MOREIRA, P. A. B.; VERÍSSIMO, M. Á. A.. **Sanidade vegetal: uma estratégia global para eliminar a fome, reduzir a pobreza, proteger o meio ambiente e estimular o desenvolvimento econômico sustentável**. CIDASC, 2020. p. 382-410. Disponível em: <https://repositorio-dspace.agricultura.gov.br/handle/1/239>. Acesso em: 15 nov. 2024.

WHIPPS, J. M. Behaviour of fungi antagonistic to *Sclerotinia sclerotiorum* on plant tissue segments. **Biochemical Journal**, v. 241, p. 835-845, 1987. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/00221287-133-6-1495>. Acesso em: 18 jun. 2024.

YAQUB, F.; SHAHZAD, S. Effect of fungicides on in vitro growth of *Sclerotium rolfsii*. **Pakistan Journal of Botany**, v. 38, n. 3, p. 881, 2006.

ZAPE, A. S.; *et al.* Efficacy of different antagonists against *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, and *Fusarium solani*. **The Bioscan**, v. 9, n. 4, p. 1431-1434, 2014. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/329339762\\_Efficacy\\_of\\_different\\_antagonist\\_against\\_the\\_Sclerotium\\_rolfsii\\_Rhizoctonia\\_solani\\_and\\_Fusarium\\_solani](https://www.researchgate.net/publication/329339762_Efficacy_of_different_antagonist_against_the_Sclerotium_rolfsii_Rhizoctonia_solani_and_Fusarium_solani). Acesso em: 28. nov 2024.