



Estudantes: Amanda Vieceli, Laura Benincá e Nicolý Monteiro
Orientadores: Profa Ma. Gabriela Albara Lando e Profa. Dra. Joséli Schwambach

Centro Tecnológico Universidade de Caxias do Sul - Escola de Ensino Médio e Técnico

INTRODUÇÃO E REFERENCIAL TEÓRICO

O Brasil é o quinto colocado dentre os países com maior consumo de uvas (AGRIANUAL, 2018), sendo também importante produtor da fruta, com cultivo das videiras de alta qualidade, que resultam em produtos apreciados e premiados no País e no exterior. A uva, depois de colhida, pode ser transportada para diversos destinos, como vinícolas, mercados e feiras, etc. Um grande impeditivo para esses destinos são as doenças de final de ciclo da fruta.

Uma das doenças é a podridão cinzenta, ocasionada pelo fungo *Botrytis cinerea*. Tal patologia se desenvolve antes ou após a colheita da uva, podendo causar grandes perdas econômicas. O controle da doença ocorre majoritariamente pelo uso de fungicidas químicos, ocasionando problemas para o meio ambiente, para o aplicador do produto e/ou para o consumidor da fruta. Assim, surge a necessidade do estudo e aplicação de maneiras sustentáveis de controle de fitopatógenos em substituição aos produtos agroquímicos, como o uso de bioagentes com capacidade de biocontrole de patógenos.

O controle biológico de *B. cinerea* é bem documentado em várias culturas agrícolas, tais como morango e uva (GARRIDO, 2019). Dentre estes estudos estão o uso de várias espécies de bactérias *Bacillus* com capacidade fungicida. Em um experimento testando diferentes doses de *Bacillus sp.*, entre 1, g/L e 2,4 g/L, a incidência de *Botrytis* foi reduzida entre 18,05 a 23,40% em morangos (KASFI et al., 2018). Nesse contexto, a presente pesquisa tem como objetivo a avaliação do potencial controle biológico de *Bacillus sp.* sobre a doença conhecida como podridão cinzenta, utilizando-se de testes *in vitro* e simulação *in vivo*.

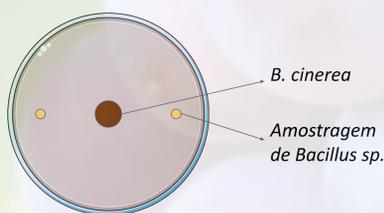
METODOLOGIA

A pesquisa é caracterizada como de natureza aplicada, com apresentação de forma quantitativa, de abordagem explicativa e desenvolvida em caráter experimental (SILVA, 2005) e teve o desenvolvimento realizado no Laboratório de Biotecnologia Vegetal (LBV), no bloco 74, na Universidade de Caxias do Sul (UCS), Caxias do Sul/RS, no período de 16 de abril até 30 de julho.

Foram realizados testes *in vitro* de controle biológico e de inibição a partir da possível emissão de compostos voláteis com o fungo *B. cinerea*, frente a sete diferentes cepas de bactéria *Bacillus sp.* (codificadas em P121, P334, P311, PBFK, P26FK, P232 e P321), isoladas previamente e armazenadas na micoteca da universidade para posterior completa identificação. A partir dos resultados obtidos, foram realizados tratamentos *in vivo* nas bagas da uva com a bactéria que apresentou maior inibição para o controle da doença, codificados como:

T1 - controle, somente com água destilada estéril; T2 - controle somente com meio LB líquido estéril; T3 - controle apenas com adição do patógeno; T4 - controle apenas com adição de bactéria; T5 - simultâneo, com inoculação de fungo e bactéria ao mesmo tempo; T6 - preventivo, com adição de bactéria e 4 horas depois adicionado o patógeno; e T7 - curativo, com adição de patógeno e 4 horas depois adicionada a bactéria). Todos os testes foram realizados em sete replicatas.

TESTE IN VITRO DE CULTURA PAREADA



Para a realização do teste de cultura pareada, a metodologia foi conforme Simonetti et al. (2012), mas com modificações.

TESTE IN VITRO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS



Para a realização do teste de avaliação de inibição por compostos voláteis foi empregado o protocolo descrito por Russi et al. (2020).

TESTE IN VIVO EM BAGAS DE UVAS

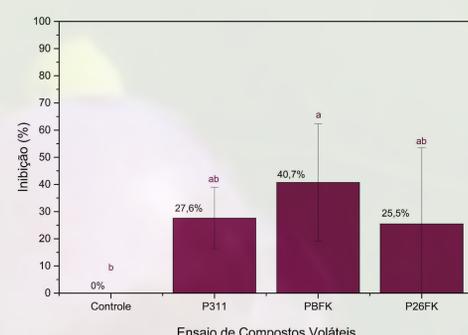
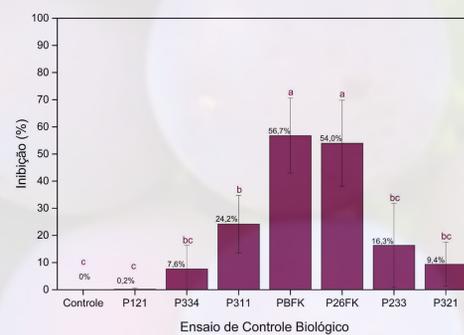


Foram realizados diferentes tratamentos controle (T1 a T4) e tratamentos para verificar a ação do *Bacillus sp.* em presença do patógeno *B. cinerea* (T5 a T7).

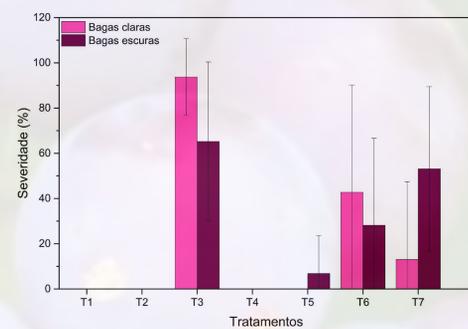
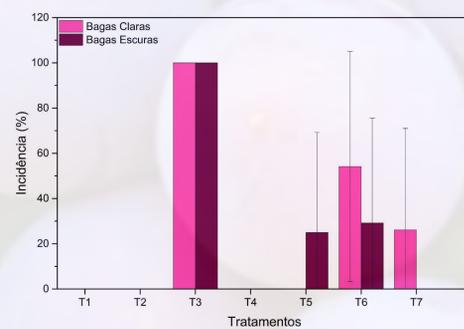
RESULTADOS DE DISCUSSÃO

No confronto entre patógeno contra bactérias, três delas (P311, PBFK e P26FK) apresentaram eficiência no controle do crescimento micelial do *B. cinerea*, alcançando inibições de 24,16; 56,74 e 53,96%, respectivamente, em comparação ao teste de controle. As bactérias que melhor reduziram o índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM) do patógeno foram PBFK, com 3,74, e P26FK, com 4,12, diferindo do controle.

As mesmas três bactérias foram colocadas na presença do patógeno, a fim de avaliar se os compostos voláteis secretados também apresentariam resposta inibitória. A bactéria codificada como PBFK promoveu a inibição do patógeno em mais de 40%, sendo então a escolhida para a realização dos testes *in vivo*.



Os testes *in vivo* indicam que a bactéria selecionada como de maior potencial de biocontrole promoveu a redução da presença do fungo tanto nas bagas claras como nas escuras. Esta classificação se deu através da coloração das bagas, característica que também está relacionada com o teor de sólidos totais e açúcares da fruta (medidos em °Brix).



Quando o patógeno infecta o tecido da planta, ou seja, vence as barreiras da uva, há a liberação de enzimas que decompõem as células vegetais provocando lesão, manchas, escurecimentos e necrose. Nos testes realizados, a bactéria PBFK promoveu redução da severidade de *B. cinerea*.

CONCLUSÃO

Considerando os resultados na inibição do crescimento micelial e compostos voláteis na esporulação de conídios de *Botrytis cinerea*, conforme testes *in vitro*, conclui-se que cepas de bactérias do gênero *Bacillus sp.* possuem capacidade inibitória frente ao patógeno *Botrytis cinerea*. De acordo com os resultados obtidos, foi confirmada a hipótese que foi suposta no início do projeto.

Entretanto, são necessários mais estudos antes que essa cepa de bactéria possa ser recomendada como agente antifúngico comercial e natural, para que a vida útil das uvas no pós-colheita aumente, de forma sustentável.

REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL: Anuário da agricultura brasileira. 23. ed. São Paulo: FNP Consultoria & Agroinformatos, 2018, 440 p.
- GARRIDO, C. C. Microbial Antagonism Toward Botrytis Bunch Rot of Grapes in Multiple Field Tests Using One *Bacillus ginsengihumi* Strain and Formulated Biological Control Products. 2019.
- KASFI, K. et al., Identification of epiphytic yeasts and bacteria with potential for biocontrol of grey mold disease on table grapes caused by *Botrytis cinerea*. 2018.
- RUSSEI, A. et al., Biocontrol of black foot disease on grapevine rootstocks using *Bacillus subtilis* strain F62. Tropical Plant Pathology, 45, 103-111, 2020.
- SILVA, E. L. da; MENEZES, E. M. Metodologia da pesquisa e elaboração de dissertação. 4ª ed. Florianópolis: UFSC, 2005, 138p.
- SIMONETTI, E. et al., Protection of canola (*Brassica napus*) against fungal pathogens by strains of biocontrol rhizobacteria. Biocontrol Science and Technology 22,111-115, 2012.