

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS

JOYCE HERCULANO LOPES

CONTROLE BIOLÓGICO DA PODRIDÃO FLORAL DOS CITROS

RIO LARGO-AL

2025

JOYCE HERCULANO LOPES

CONTROLE BIOLÓGICO DA PODRIDÃO FLORAL DOS CITROS

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Proteção de Plantas.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Gagliardi.

RIO LARGO-AL

2025

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana - CRB4 - 1512

L864c Lopes, Joyce Herculano.

Controle biológico da podridão floral dos citros. / Joyce Herculano Lopes. – 2025.
41f.: il.

Orientador(a): Paulo Roberto Gagliardi.

Dissertação (Mestrado em Proteção de plantas) – Programa de Pós -Graduação em Proteção de plantas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2025.

Inclui bibliografia.

1. Antagonismo. 2. Bioensaio. 3. Bioprodutos. 4. Estrelinha dos citros. 5. Citricultura.
I. Título.

CDU: 632.9

Folha de Aprovação

JOYCE HERCULANO LOPES

Controle biológico da podridão floral dos citros

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Proteção de Plantas apresentada em 26/03/2025.

Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 PAULO ROBERTO GAGLIARDI
Data: 13/05/2025 12:03:33-0300
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Gagliardi

(Universidade Federal de Sergipe)

Documento assinado digitalmente
 ADRIANO MARCIO FREIRE SILVA
Data: 03/06/2025 11:47:53-0300
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

Examinador Interno: Prof. Dr. Adriano Márcio Freire Silva

(Universidade Federal de Alagoas)

Documento assinado digitalmente
 FREDERICO ALBERTO DE OLIVEIRA
Data: 16/06/2025 12:17:19-0300
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

Examinador Externo: Prof. Dr. Frederico Alberto de Oliveira

(Universidade Federal de Sergipe)

AGRADECIMENTOS

A realização desta dissertação foi um desafio significativo, repleto de aprendizados e conquistas, que só foram possíveis graças ao apoio e incentivo de muitas pessoas. A todos, minha mais sincera gratidão.

Primeiramente, agradeço a Deus, pela força e resiliência que me permitiram concluir mais esta etapa da minha vida acadêmica.

Ao meu orientador, Dr. Paulo Roberto Gagliardi, pela orientação precisa, paciência e incentivo contínuo, sempre me desafiando a buscar a excelência e o pensamento crítico. Sua dedicação e conhecimento foram fundamentais para a construção deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora, Dr. Adriano Márcio Silva Freire e Dr. Frederico Alberto de Oliveira, por aceitarem participar deste momento tão importante, contribuindo com suas sugestões e questionamentos enriquecedores para a melhoria desta dissertação.

Aos colegas e amigos de laboratório e do programa de pós-graduação, que tornaram os desafios da pesquisa mais leves e contribuíram com discussões, trocas de experiências e momentos de descontração. Em especial, Jackelyne Panta, Jackeline Moreira, Michele Santos, Gleicy Menezes, Deivid Oliveira, Pedro Vinícius, Matheus Emmanuel e Conceição Góes.

À Universidade Federal de Alagoas, ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas e a Universidade Federal de Sergipe por fornecerem a estrutura necessária para o desenvolvimento deste trabalho, assim como à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas que apoiou financeiramente esta pesquisa.

À minha família, pelo amor incondicional, apoio inabalável e compreensão ao longo desta jornada. Em especial, minha mãe Vera Lúcia, minha irmã Vitória Beatriz, meu parceiro de vida Gustavo Santos, por sempre acreditarem em mim e me motivarem a seguir em frente. Com um carinho especial, dedico este trabalho à memória de José Maria, meu pai, que foi uma fonte de inspiração e apoio.

Por fim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, meus mais sinceros agradecimentos!

Mesmo a menor das criaturas pode mudar o curso do futuro.

(J. R. R. Tolkien)

RESUMO

A compreensão das populações antagônicas tem potencial para a elaboração de estratégias de gerenciamento de campo e aumento da eficácia do controle biológico. Assim, esta pesquisa teve como objetivo avaliar a eficiência de isolados de bactérias provenientes de diferentes ambientes no estado de Sergipe no controle biológico de fitopatógenos do gênero *Colletotrichum*, agente causal da podridão floral dos citros e busca contribuir para a identificação de microrganismos promissores que possam ser utilizados como alternativas ao controle químico convencional, promovendo uma abordagem ambientalmente segura e potencialmente aplicável em larga escala. A pesquisa experimental foi dividida em cinco etapas principais: caracterização morfológica dos microrganismos selecionados, seleção *in vitro* de isolados bacterianos com potencial antagonista, avaliação da suscetibilidade a antibióticos, capacidade de formação de biofilme e produção de inóculo para aplicação em campo. Os experimentos de antagonismo seguiram um delineamento inteiramente casualizado, conduzidos sob condições controladas. Parâmetros como crescimento micelial e formação de halo de inibição foram avaliados para identificar instâncias de antagonismo. Isolados antagônicos foram caracterizados quanto à morfologia da colônia, pigmentação e coloração de Gram e testados quanto à suscetibilidade a antibióticos e capacidade de formação de biofilme. Os resultados indicaram que diversos microrganismos testados apresentaram efeito antagônico sendo *Streptomyces avermitilis* e *Azospirillum brasilense* os que se destacaram com médias de inibição de 94,3 e 79,5% respectivamente. Observou-se que a maioria das bactérias estudadas foi classificada como forte produtora de biofilme, o que pode favorecer sua persistência no ambiente e eficácia no controle biológico. Os resultados deste estudo reforçam o potencial do controle biológico como alternativa sustentável ao uso de fungicidas sintéticos no manejo da podridão floral dos citros, reduzindo impactos ambientais e riscos de resistência do fitopatógeno.

Palavras-chave: antagonismo; bioensaio; bioprodutos; estrelinha dos citros; citricultura.

ABSTRACT

Understanding antagonistic populations has the potential to support the development of field management strategies and enhance the effectiveness of biological control. Thus, this research aimed to evaluate the efficiency of bacterial isolates from different environments in the state of Sergipe in the biological control of phytopathogens of the genus *Colletotrichum*, the causal agent of citrus blossom-end rot. The study seeks to contribute to the identification of promising microorganisms that may serve as alternatives to conventional chemical control, promoting an environmentally safe approach with potential for large-scale application. The experimental research was divided into five main stages: morphological characterization of selected microorganisms, *in vitro* selection of bacterial isolates with antagonistic potential, evaluation of antibiotic susceptibility, biofilm-forming capacity, and inoculum production for field application. Antagonism experiments followed a completely randomized design and were conducted under controlled conditions. Parameters such as mycelial growth and inhibition halo formation were evaluated to identify instances of antagonism. Antagonistic isolates were characterized in terms of colony morphology, pigmentation, and Gram staining, and were tested for antibiotic susceptibility and biofilm-forming capacity. The results indicated that several tested microorganisms exhibited antagonistic effects, with *Streptomyces avermitilis* and *Azospirillum brasilense* standing out with inhibition averages of 94.3% and 79.5%, respectively. Most studied bacteria were classified as strong biofilm producers, which may favor their persistence in the environment and effectiveness in biological control. The findings of this study reinforce the potential of biological control as a sustainable alternative to synthetic fungicides in the management of citrus blossom-end rot, reducing environmental impacts and the risk of pathogen resistance.

Keywords: antagonism; bioassay; bioproducts; citrus blossom-end rot; citrus farming.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 REFERENCIAL TEÓRICO	10
2.1 Histórico da citricultura no Brasil	10
2.2 Importância econômica da cultura	10
2.3 Podridão floral dos citros	12
2.4 Etiologia	12
2.5 Sintomatologia	14
2.6 Controle	15
2.7 Controle biológico no semiárido brasileiro	18
2.8 Microrganismos no biocontrole de doenças de plantas	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 Caracterização morfológica dos isolados bacterianos	23
3.2 Teste de antibiose <i>in vitro</i>	25
3.3 Teste de sensibilidade a antibiótico	25
3.4 Capacidade de formação de biofilme	26
3.5 Produção de inóculo para aplicação em campo	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 Caracterização morfológica dos isolados bacterianos	28
4.2 Teste de antibiose <i>in vitro</i>	29
4.3 Teste de sensibilidade a antibiótico	32
4.4 Capacidade de formação de biofilme	34
4.5 Produção de inóculo para aplicação em campo	36
5 CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

Os números expressivos da citricultura nacional traduzem a sua importância na economia do país. O Brasil tem sido líder mundial de produção de laranjas, com uma produção de 15,8 milhões de toneladas, seguido pela China com 7,3 milhões e Estados Unidos com 5,8 milhões (CONAB, 2020). No ano de 2024 a produção nacional gerou um valor bruto de 28,57 bilhões de reais (MAPA, 2025).

O Brasil é responsável por cerca de 50% da produção mundial de suco de laranja e exporta 98% do que produz, alcançando assim 85% de participação no mercado mundial. O que não vai para indústria, como as laranjas de mesa, é destinado principalmente ao mercado interno para atender o consumo in natura, representando cerca de 30% da produção nacional (CROPLIFE, 2024).

Nos primeiros seis meses da safra 2024/2025 (julho a dezembro de 2024), o Brasil exportou 535.604 toneladas de suco de laranja, uma redução de 20% em relação ao mesmo período da safra anterior. Apesar da queda no volume exportado, a receita aumentou 43%, totalizando US\$ 1,88 bilhão, devido aos altos preços nacionais (CITRUSBR, 2024).

Embora reúna grande estrutura e tecnologia, a cultura dos citros é afetada por diversos patógenos como fungos, bactérias e vírus. Dentre as principais doenças fúngicas destaca-se a Podridão Floral dos Citros (PFC), responsável por perdas de até 80% de produção quando as condições climáticas são muito favoráveis ao patógeno (BEHLAU et al., 2021) como é frequentemente observado na região Nordeste do Brasil. Considerando que os citros representam uma das principais *commodities* brasileiras, tais perdas se traduzem em prejuízos substanciais que devem ser evitados (FUNDECITROS, 2021).

O *Colletotrichum acutatum* é o patógeno causador da PFC e representa uma ameaça significativa para a indústria citrícola. Essa doença é caracterizada pela infecção dos tecidos florais das plantas de citros, resultando em sintomas como a necrose dos órgãos reprodutivos. O fungo é capaz de sobreviver em diferentes partes da planta, incluindo flores e frutos, levando a perdas substanciais na produção (CANALE et al., 2022). Hoje é sabido que há um complexo de fungos deste gênero, Silveira et al. (2016) associou a espécie de *C. gloeosporioides* à PFC, demonstrando que, além de *C. acutatum*, *C. gloeosporioides* também pode estar envolvido na etiologia da doença. No entanto, a presença e a predominância de cada espécie podem variar conforme as condições ambientais e os tecidos vegetais analisados.

Diante destes fatores é possível inferir que essa doença contribui para o decréscimo da produção na citricultura. Assim surge a necessidade de se buscar alternativas para se minimizar seus efeitos, como por exemplo realizar podas na parte baixa da copa para facilitar a circulação do ar e poda de limpeza para retirar do pomar todos os ramos secos e as "estrelinhas" que permanecem nos ramos por muito tempo e queimá-los ou enterrá-los e, evitar as cortinas quebra-ventos muito próximas ao pomar.

Os fungicidas recomendados para o manejo da PFC são pertencentes aos grupos dos triazóis (inibidores da desmetilação de esteróis, - DMI) e das estrobilurinas (inibidores de quinona externa, - QoI). As misturas formuladas dos dois grupos de fungicidas são as mais eficientes e empregadas no controle da doença (BEHLAU et al., 2021).

Levando em consideração esses aspectos pode-se concluir que é uma doença de difícil controle, exigindo diferentes estratégias de manejo. Os métodos contemporâneos utilizados têm sido dispendiosos e com eficiência decrescente. Além disso, o uso excessivo e contínuo de agrotóxicos tem desencadeado diversos problemas ambientais como a contaminação de alimentos, do solo, da água e de animais, além do desenvolvimento de resistência de patógenos, pragas e de plantas invasoras. Também contribui para o desequilíbrio biológico, alterando a ciclagem de nutrientes e da matéria orgânica, a eliminação de organismos benéficos e a redução da biodiversidade, além de causar a intoxicação de agricultores (BETTIOL et al., 2019).

Com isso, diante do impacto presente da agricultura convencional no meio ambiente e da crescente contaminação da cadeia alimentar, o cenário agrícola brasileiro vem mudando mediante o elevado anseio da sociedade por novas tecnologias, visando uma agricultura mais sustentável (ZANUNCIO JUNIOR et al., 2022).

Dentre os métodos do manejo integrado de doenças (MID), que são medidas realizadas em conjunto para reduzir danos empregado por patógenos sobre culturas vegetais, está o controle biológico (FONSECA e ARAUJO, 2020). O fundamento do controle biológico baseia-se em utilizar recursos naturais para reduzir a população de agentes considerados pragas, tais como: insetos e plantas daninhas (LANDERS e OLIVEIRA, 2021).

O uso de bioinsumos está em ascensão global, e no Brasil essa tendência se evidencia de maneira ainda mais acentuada. Em 2020, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) registrou 95 defensivos de baixo risco, englobando uma gama de produtos biológicos, microbianos, semioquímicos, bioquímicos, extratos vegetais e reguladores de crescimento. Isso representa um aumento de 121% em comparação com o ano anterior. Enquanto a taxa de crescimento global se mantém em torno de 15% ao ano, no Brasil, esse crescimento é aproximadamente o dobro, alcançando 28%, com um mercado que movimenta

mais de R\$ 1 bilhão (MAPA, 2021).

O Brasil, até 2020, possuía 256 produtos de controle biológico registrados, no entanto, mais de 50% dos produtores rurais brasileiros dizem não conhecer tais produtos. Dentre os que já empregaram biodefensivos, 76% relatam que consideram o controle biológico eficiente e 60% acham a aplicação segura. Os produtores que adotaram o controle biológico afirmam que a decisão foi motivada pela valorização na pós-venda, segurança, proteção do meio ambiente e aumento da produtividade. Para 96% deles, a tendência é de crescimento do mercado nos próximos cinco anos (MAPA, 2020).

O controle biológico de doenças é uma área ascendente cujas pesquisas são cruciais para desenvolvimento de produtos comerciais. No Brasil, o primeiro estudo de controle biológico de doenças de planta foi publicado em 1950 pelo pesquisador Reginaldo Foster sobre a atuação do fungo *Trichoderma* sp. sob o vírus do mosaico em fumo, porém, o primeiro produto biológico comercial só foi registrado em 2009, e este microrganismo é ainda até hoje o mais estudado no Brasil quando se trata de controle biológico (MORANDI e BETTIOL, 2020).

Nesse contexto, a bioprospecção de isolados nativos surge como uma estratégia promissora, uma vez que microrganismos isolados da mesma região onde a doença ocorre podem apresentar maior adaptabilidade às condições ambientais locais. Isso pode resultar em maior eficiência no controle biológico e melhor sobrevivência no campo, favorecendo o desenvolvimento de agentes de biocontrole mais sustentáveis e competitivos.

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar a eficiência de isolados de bactérias provenientes de diferentes ambientes no estado de Sergipe no controle biológico de fitopatógenos do gênero *Colletotrichum*, agente causal da podridão floral dos citros. Considerando o impacto econômico da doença na citricultura e a necessidade de estratégias sustentáveis de manejo, este estudo busca contribuir para a identificação de microrganismos promissores que possam ser utilizados como alternativas ao controle químico convencional, promovendo uma abordagem ambientalmente segura e potencialmente aplicável em larga escala.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Histórico da citricultura no Brasil

As frutas cítricas são muito populares em todo o mundo. Elas são originárias da Ásia, e alguns estudos indicam que as árvores de citros surgiram no leste asiático, sendo mencionadas pela primeira vez na literatura chinesa há 2000 a.C. (VASHISTH E KADYAMPAKENI, 2020).

Os citros pertencem ao gênero *Citrus*, que faz parte da família *Rutaceae*. Este gênero engloba uma variedade de árvores e arbustos perenes, conhecidos por suas frutas cítricas comestíveis e suculentas. As espécies mais comuns incluem laranjas (*Citrus sinensis*), limões (*Citrus limon*), limas (*Citrus aurantiifolia*), grapefruits (*Citrus paradisi*) e tangerinas (*Citrus reticulata*) (SOUZA, 2022).

A classificação botânica dos citros é caracterizada por folhas alternadas, flores brancas e perfumadas, além de frutas com uma casca exterior espessa e polpa interna suculenta. Essas plantas podem ser propagadas por sementes, mas a maioria das variedades comerciais é cultivada através de técnicas de enxertia para preservar características desejáveis (SOUZA, 2022).

A história da citricultura no Brasil é rica e está intrinsecamente relacionada à própria evolução do país. Cerca de 1530 após o descobrimento, os portugueses introduziram as primeiras sementes de laranja doce nas áreas que atualmente são os estados da Bahia e São Paulo. As árvores se beneficiaram de condições ecológicas propícias e geraram frutos de alta qualidade. No entanto, o desenvolvimento comercial da citricultura começou apenas na década de 1930, começando nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Bahia, e posteriormente se expandindo para outras áreas do Brasil (SANTOS, 2019).

O cultivo dos citros no Brasil, concentra cerca de 77% no Estado de São Paulo, e o restante distribuído nos estados: Sergipe, Bahia, Minas Gerais, Paraná e Rio Grande do Sul. O Estado de São Paulo possui mais de 80% da capacidade de processamento (FAESP, 2023). As laranjas Pêra, Natal e Valência são as variedades comerciais mais cultivadas, nas regiões centro, leste e sul do estado de São Paulo, que representam quase 75% do total da produção brasileira de laranja doce (IBGE, 2019). As laranjas doces ‘Pêra’, ‘Natal’ e ‘Valência’ correspondem a 73% das áreas produtoras de citros no estado de São Paulo segundo a Fundecitrus (2020).

2.2 Importância econômica da cultura

O Brasil é o líder mundial na produção e na exportação de laranja com produção de 15,8 milhões de toneladas de laranja em 2020 (CONAB, 2020); bem mais que a China e os Estados

Unidos, que produziram 7,3 e 5,8 milhões de toneladas respectivamente. O país também tem o maior número de produtores e a maior área plantada de citros do mundo, com 1,44 milhões de estabelecimentos produtores de laranja, limão ou tangerina, totalizando uma área plantada de 2,9 milhões de hectares. Todo esse volume gerou um valor bruto de 14,9 bilhões de reais em 2019 (SANTOS, 2019).

O país também é o líder mundial na exportação de suco de laranja. De acordo com o Comex Stat (2020), as vendas externas ultrapassaram US\$ 1,4 bilhão. E no primeiro quadrimestre de 2021, a exportação já supera 21,2% o registrado no mesmo período do ano passado. Segundo a CitrusBR (2020), o Brasil responde por 79% do suco de laranja comercializado no mundo. Essa riqueza está distribuída em centenas de empresas ligadas diretamente ao setor, em milhares de propriedades rurais, gerando milhares de empregos diretos e indiretos, recolhendo impostos, movimentando estabelecimentos dedicados ao cultivo da laranja.

Em todo o Brasil são mais de 3.000 municípios onde a cultura está presente. Segundo o CAGED (2022), o estado de São Paulo detém cerca de 80% da produção nacional de sucos de laranja, responsável por empregar aproximadamente 200.000 mil pessoas sendo o setor da agricultura. No período de julho a setembro de 2021, período que marca o primeiro trimestre da safra 2021/2022, a produção de laranjas gerou 11.469 novos postos de trabalho o que corresponde a 6,18% dos 185.677 postos de trabalho gerados pela agricultura no Brasil no período (CAGED, 2022).

Embora São Paulo se destaque como principal produtor nacional, outras regiões também apresentam significativa importância na citricultura, como o polo citrícola de Sergipe. O estado se destaca como o segundo maior fornecedor de laranja para as Centrais de Abastecimento (Ceasas) do Brasil, refletindo a importância da citricultura sergipana no mercado nacional, com plantações que se estendem da Região Centro-Sul para o Sul do estado, formando um contínuo com o polo citrícola fronteiriço da Bahia. Sergipe contribui com 6,96% da área colhida e 4,16% da produção nacional, além de dispor de um relevante parque agroindustrial para o processamento da fruta, com duas fábricas no município de Estância e uma no município de Boquim (EMDAGRO, 2024).

De acordo com a Secretaria de Estado da Agricultura, Desenvolvimento Agrário e de Pesca (Seagri) (2024) e a Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe (Emdagro) (2024), a produção de laranja em Sergipe em 2024 atingiu aproximadamente 439 mil toneladas, representando um aumento de cerca de 15% em relação a 2023, quando a produção foi de 382 mil toneladas. Este crescimento contraria a previsão inicial do Instituto Brasileiro de Geografia

e Estatística (IBGE), que estimava uma queda de 3,9% na produção do estado para 2024. Este excelente desempenho pode ser atribuído a fatores como a sanidade dos pomares, o rigoroso controle sanitário nas fronteiras realizado pela Emdagro e a produção de mudas saudáveis em viveiros telados. Além disso, condições climáticas favoráveis também contribuíram para o aumento da produção.

Com essa produção, Sergipe mantém-se como o quinto maior produtor nacional de laranja e o segundo do Nordeste. A cultura da fruta representa 14% do valor total da produção agrícola sergipana, e o suco de laranja foi responsável por 68,5% do valor total das exportações do estado em março de 2024, totalizando aproximadamente US\$ 9,8 milhões. Em 2023, Sergipe respondeu por 99% do valor das exportações nordestinas de suco de laranja (SEAGRI, 2024).

2.3 Podridão floral dos citros

A podridão floral dos citros (PFC) é uma doença que surgiu em 1956 na América Central em Belize (FAGAN, 1979). Ela se tornou endêmica e importante em muitas regiões produtoras com clima tropical úmido. No Brasil, a PFC tem afetado principalmente as plantas de lima ácida Tahiti. O primeiro relato ocorreu em 1977, no Rio Grande do Sul e em São Paulo, e depois se espalhou para o Rio de Janeiro e Sergipe.

A doença é encontrada em todos os estados brasileiros produtores de citros. (FEICHTENBERGER et al., 1997; MELO e MORAIS, 1999). Além disso, regiões litorâneas, como as do estado de Sergipe, apresentam condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento da doença, como alta umidade e temperaturas amenas, tornando as plantas mais suscetíveis. Sergipe, um dos principais polos citrícolas do Brasil, tem grande relevância na produção nacional, o que reforça a necessidade de estratégias eficazes de manejo fitossanitário para reduzir os impactos da PFC (FUNDECITRUS, 2023).

2.4 Etiologia

Espécies de fungo do gênero *Colletotrichum* colonizam uma grande diversidade de espécies vegetais, e podem obter nutrientes de forma necrotrófica, hemibiotrófica e endofítica, e até mesmo de forma biotrófica (JAYAWARDENA, 2016).

A podridão floral dos citros é acometida por duas diferentes espécies do gênero *Colletotrichum*: *C. acutatum* e *C. gloeosporioides* (LIMA et al., 2011). Estudos mostraram que as espécies *C. fructicola* e *C. siemense* também estão associadas à doença (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012). Na região citrícola paulista, por exemplo, mais de 80% dos ataques de podridão floral são causados por espécies do fungo *C. acutatum* (SILVA JUNIOR, 2018).

Lima et al., (2011) constataram que os isolados de *C. gloeosporioides* que causam PFC são aparentemente menos agressivos que os de *C. acutatum*. A incidência da doença, avaliada pelas flores atacadas ou por cálices persistentes, foi menor quando as plantas foram inoculadas com *C. gloeosporioides* do que aquelas inoculadas com *C. acutatum*. Tal comportamento pode explicar a menor incidência do *C. gloeosporioides* em comparação ao *C. acutatum*.

As diferenças nas proporções das espécies do gênero *Colletotrichum* em pomares de citros também podem estar relacionadas ao controle químico da doença. Fungicidas à base de benzimidazol são comumente aplicados no Estado de São Paulo para o controle da PFC. No entanto, apenas *C. gloeosporioides* é sensível a esses produtos (PERES et al., 2005).

Gonçalves et al. (2021) concluíram que as espécies *C. acutatum* e *C. gloeosporioides* têm temperaturas ótimas para crescimento *in vitro* de 23-27 °C, mas podem crescer numa faixa de 15-30 °C, e nas flores a germinação de conídios se inicia após um período de molhamento de 12 a 24 horas (FEICHTENBERGER et al., 1997).

Estudos agroclimáticos realizados por Soares-Colletti et al. (2016) no estado de São Paulo, mostraram que sob temperatura de 22 °C $\pm$ 30 °C e precipitação acumulada de 40 mm, entre o pico de floração e 50% de flores restantes, a incidência da PFC pode chegar a 10%. No entanto, sob as mesmas condições, se a precipitação acumulada for de 80 mm, a incidência da doença pode atingir até 60%. De acordo com os autores, estes dados refletem a característica explosiva da PFC sob condições ambientais favoráveis ao fungo.

Entretanto, tem-se observado manifestações da doença mesmo em áreas cujo ambiente mostra-se menos propício a esses patógenos, notadamente sob períodos de umidade foliar de menor duração. Pressupõe-se desta forma que tal comportamento poderia estar associado ao envolvimento de uma espécie adicional do patógeno, ou a uma melhor adaptação do agente causal às condições ambientais prevalentes, resultante, pois, de sua diversidade genética (SILVEIRA et al., 2016).

A infecção por *C. acutatum* ocorre apenas em pétalas de flores e origina acérvulos 4 a 5 dias após o estabelecimento do fungo. Estes, passam a produzir conídios em abundância, os quais são dispersos por respingos de chuvas para outras flores durante o período de floração (FEICHTENBERGER et al., 1997).

Peres et al. (2005) verificaram que o fungo se comporta como necrotrófico nas flores e como biotrófico nas folhas. Assim, o fungo se reproduz principalmente nas pétalas das flores e não coloniza prontamente e não forma acérvulos em outros tecidos. Os acérvulos só se formam em outros tecidos quando o tecido é morto em condições artificiais, e o fungo não se reproduz na ausência de flores. A sobrevivência do fungo durante os períodos de não floração ocorre por

meio de apressórios que se formam na superfície das folhas, galhos e cálices persistentes formados como resultado da infecção das flores.

Agostini e Timmer (1994) relataram que durante o florescimento, os respingos de água oriundos das flores induzem o apressório a germinar sobre as folhas e produzir “conídios secundários” sem formação de acérvulo. Esses conídios secundários, através de respingos atingem as flores sadias e iniciam o processo de infecção, formando os sintomas de lesões alaranjadas nas pétalas após 3 a 4 dias.

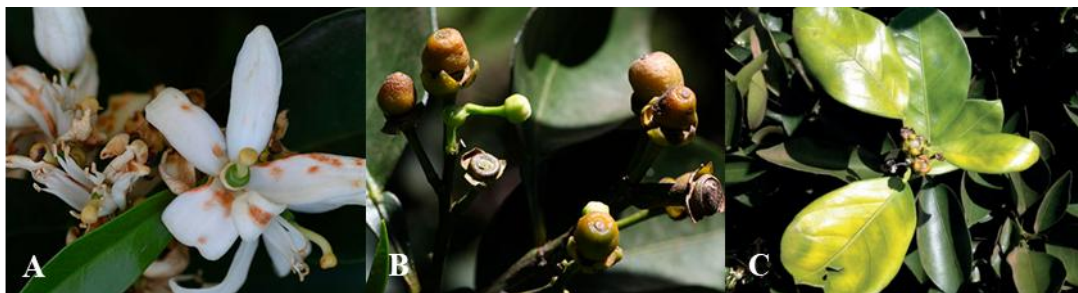
Se tratando da disseminação da doença alguns insetos foram estudados e aproximadamente 2% destes tinham esporos de *Colletotrichum* externamente em seu corpo e a maioria dos insetos eram pertencentes às famílias *Drosophilidae*, *Apidae* e *Formicidae*, com destaque para *Drosophila melanogaster* e *Apis melífera* que poderia ser um agente disseminador a longas distâncias (PEÑA e DUNCAN, 1989). Apesar destes autores terem constatado de que alguns insetos continham esporos de *Colletotrichum*, nenhuma evidência clara pode confirmar se eles estão envolvidos realmente na disseminação, porém podemos inferir como Silva Junior, (2011) de que há grande possibilidade de alguns insetos como as abelhas estarem relacionados a disseminação primária de *C. acutatum* em pomares de citros.

2.5 Sintomatologia

Silva Jr. et al. (2014) constataram que tanto os sintomas causados tanto por *C. acutatum* quanto por *C. gloeosporioides* são de difícil distinção e não há nenhuma evidência de diferenças de dispersão entre as duas espécies.

Silva Jr. (2018), relatou sobre os sintomas e descreveu como inicialmente se formam lesões alaranjadas nas pétalas, e lesões negras no estigma e estilete (Figura 1A). Os frutos ainda jovens ficam amarelos e caem prematuramente (Figura 1B). E após essa queda, os cálices permanecem retidos na planta por vários meses e a partir daí a doença ficou conhecida como “estrelinha” (Figura 1C). Descrição parecida com a de Feichtenberger et al. (1997), que relataram que a doença causa lesões necróticas de coloração róseo-alaranjada. As lesões geralmente aparecem em pétalas, após a abertura dos botões florais, embora, em ataques severos, as lesões possam ocorrer antes mesmo da abertura das flores, provocando completa podridão dos botões florais.

Figura 1 - Sintomas de Podridão Floral dos Citros: A) sintomas nas pétalas e no estigma da flor; B) Sintomas nos frutos, e; C) Sintomas de estrelinha - cálices remanescentes.



Fonte: FUNDECITRUS (2021).

Foi constatado também por Silva Jr. (2018), que os danos causados na planta pela PFC estão diretamente ligados a consecutivas chuvas com o período de molhamento prolongado. Assim as epidemias dessa doença explodem quando esse período de umidade prolongada ocorre muitas vezes durante a floração.

2.6 Controle

Para se controlar uma doença é importante sempre ter estabelecido o entendimento das relações patógeno-hospedeiro-ambiente, além de definir também a etiologia correta da doença, tendo em vista que as decisões de controle podem ser tomadas de maneira errônea, como no caso da podridão floral que inicialmente foi controlado pelo 2,4-D (FAGAN,1984). Somente quando a etiologia foi esclarecida que a doença passou a ser controlado com fungicidas.

A AGROFIT, Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários, em dezembro de 2021, apresentou oito produtos indicados para o controle da podridão floral dos citros ou estrelinha, apresentados na tabela 1.

A Fundecitrus juntamente com a ESALQ/USP e a Universidade da Florida, desenvolveram um sistema gratuito que ajuda o produtor da região paulista a monitorar os riscos de infecção da doença, assim, com esse sistema, o produtor pode ter acesso a dados de temperatura e molhamento, que vão estimar a germinação de esporos do fungo. Esses dados são coletados por meio de estações meteorológicas instaladas em várias propriedades da região. Os dados são processados e enviados de forma intuitiva para o produtor (SILVA JR, 2018).

Tabela 1 - Produtos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para controle da podridão floral dos citros.

Produto	Ingrediente Ativo (Grupo Químico)	Titular do Registro
Bendazol	<u>carbendazim (benzimidazol)</u>	<u>Adama Brasil S.A. - Londrina</u>

Cuantiva	<u>fluxapiroxade (carboxamida) + piraclostrobina (estrobilurina)</u>	<u>Basf S.A. – São Paulo</u>
Fitter	<u>ciprodinil (anilinopirimidina) + fludioxonil (fenilpirrol)</u>	<u>Syngenta Proteção de Cultivos Ltda. – São Paulo</u>
Helmstar Plus	<u>Azoxistrobina (estrobilurina) + tebuconazol (triazol)</u>	<u>Helm do Brasil Mercantil Ltda</u>
Nativo	<u>tebuconazol (triazol) + trifloxistrobina (estrobilurina)</u>	<u>Bayer S.A. - São Paulo/ SP</u>
Orkestra SC	<u>fluxapiroxade (carboxamida) + piraclostrobina (estrobilurina)</u>	<u>Basf S.A. – São Paulo</u>
Switch	<u>ciprodinil (anilinopirimidina) + fludioxonil (fenilpirrol)</u>	<u>Syngenta Proteção de Cultivos Ltda. – São Paulo</u>
Veldara	<u>fluxapiroxade (carboxamida) + piraclostrobina (estrobilurina)</u>	<u>Basf S.A. – São Paulo</u>

Fonte: Agrofít – MAPA.

Uma estratégia de manejo é uniformizar e antecipar o florescimento com a irrigação, além de manter a sanidade do pomar e a nutrição equilibrada das plantas também contribui para reduzir os danos da doença (SILVA JR, 2016).

Realizar podas na parte baixa da copa para facilitar a circulação do ar e poda de limpeza para retirar do pomar todos os ramos secos e as "estrelinhas" que permanecem nos ramos por muito tempo e queimá-los ou enterrá-los. Evitar as cortinas quebra-ventos muito próximas ao pomar (AGROFIT, 2021).

2.7 Controle biológico no semiárido brasileiro

O semiárido brasileiro corresponde a 11,5% do território nacional e seu clima é caracterizado por altas temperaturas e insolação, baixa umidade do ar, chuvas escassas e elevadas taxas de evaporação. O bioma que predominante é a Caatinga, que engloba 70% do nordeste brasileiro (CAVALCANTE et al., 2013; CORREIA et al., 2012). A região semiárida do Brasil comporta diversos segmentos de sistema agrário, indo da agricultura familiar a monocultivos extensos, sendo uma importante fonte produtora de alimentos, principalmente devido implementação de áreas irrigadas (NASUTI et al., 2013; SILVA e SILVA, 2016).

Com a expansão visível desse setor, essa região também sofre os efeitos do emprego intensivo de agrotóxicos, derivado do modelo químico-dependente predominante no Brasil (LIMA et al., 2019). Estudos demonstram que a poluição ambiental tem sido proporcional à intensidade da produção agrícola e do uso de agrotóxicos, e a expansão agrícola no Nordeste do Brasil, centrado em monocultivos, tem gerado consequências negativas a nível de contaminação ambiental e humana (ARAÚJO e OLIVEIRA, 2017; LOPES e ALBUQUERQUE, 2018).

Apesar dos esforços em realizar maior implementação do uso de controles biológicos na produção agrícola, objetivando uma agricultura mais sustentável e segura do ponto de vista ambiental e alimentar, o investimento na área é desigual comparando aos defensivos químicos, os controles biológicos sendo viáveis, a produção comercial segue em ritmo lento (MAZZOLA e FREILICH, 2017).

No geral, o Brasil precisa avançar nos estudos sobre controle biológico de doenças de plantas. Porém, o semiárido vem apresentando potencial para o desenvolvimento de pesquisas no setor. Nesse sentido, estudos utilizando microrganismo com potencial para o controle de doenças de plantas vêm sendo desenvolvidas na região semiárida com diversas culturas de interesse, como por exemplo De Sá et al. (2019ab) que relataram que isolados de *Bacillus* spp. e *Trichoderma* sp. apresentaram potencial antagônico contra *Fusarium* sp., agente patológico de doenças em plantas de *Vigna unguiculata* (Feijão-caupi) no semiárido de Pernambuco. Nesta mesma cultura (Feijão-caupi), estes autores citam que estes mesmos isolados foram eficientes em inibir o crescimento micelial do fungo *Sclerotium rolfsii*, sendo que a espécie *B. subtilis* apresentou maior inibição deste fungo, causador da podridão de esclerócio em *V. unguiculata*.

Também nesta região, Silva et al. (2014), obtiveram resultados positivos com relação ao controle da podridão mole do pimentão causada pela *Pectobacterium carotovorum*, utilizando a *Bacillus pumilus* e a levedura *Rhodotorula glutinis*, indicando que estas podem atuar como possíveis alternativas no manejo pós-colheita dessa doença. Já Gava e Menezes (2012), em estudo no Vale submédio do São Francisco, relataram que isolados de *Trichoderma* spp. apresentaram controle significativo da ocorrência de tombamento e murcha de plantas de meloeiro causados principalmente por *Fusarium oxysporum*.

As bactérias *Bacillus subtilis* e *B. pumilus* também atuaram no controle preventivo do fungo fitopatogênico *Podosphaera xanthii*, o oídio do meloeiro (*Cucumis melo* L.), no semiárido do Rio Grande do Norte (NOGUEIRA et al., 2011). A *Bacillus subtilis* também, mostrou-se eficiente na redução da reprodução de fitonematóides (*Radopholus similis*,

Meloidogyne spp., *Pratylenchus* spp. e *Helicotylenchus* spp.) em raízes e rizoma de mudas bananeira no estado de Alagoas (ARAÚJO et al., 2018).

Na região semiárida da Bahia, Barbosa et al. (2018), em estudos voltados para podridão vermelha do sisal (*Agave sisalana*), causada por *Aspergillus welwitschiae*, relatam que bactérias dos gêneros *Brevibacterium* sp., *Bacillus* sp., *Paenibacillus* sp. em conjunto e individualmente apresentaram capacidade reduzir a podridão de 44 a 75%. Já Damasceno et al. (2019) cita que o fungo *Penicillium citrinum*, isolado endófiticamente de plantas de sisal advindas do semiárido baiano, inibiu de 65,8% a 90%, a depender do método de inoculação. Tais resultados demonstram que esses isolados bacterianos e fúngicos possuem potencial para ser utilizado como controle biológico contra essa doença no semiárido.

2.8 Microrganismos no biocontrole de doenças de plantas

Diante da atual busca da sociedade por alimentos orgânicos e sem resíduos químicos, é cada vez mais necessária a reformulação da agricultura, visando a cultura da sustentabilidade, para tal, é imprescindível a utilização de técnicas de cultivo e de controle de pragas e doenças de forma ecológica. Portanto, as interações planta-microrganismos vem sendo objeto de diversos estudos biotecnológicos, visando o desenvolvimento de uma agricultura sustentável e a conservação ambiental (LANDERS e OLIVEIRA, 2018).

A inoculação de microrganismos no biocontrole de fitopatógenos e promoção de crescimento vegetal é considerada uma alternativa ecológica ao uso de fertilizantes e defensivos químicos, pois podem atuar em associação com a planta de forma biológica e benéfica (LOPES et al., 2021; FONSECA e ARAÚJO, 2015; SYED e TOLLAMADUGU, 2019).

O controle biológico de doenças de plantas é definido como a “redução de inóculo ou das atividades determinantes da doença, realizada por um ou mais organismos que não o homem” (COOK e BAKER, 1983), ou também como a eliminação total ou parcial de patógenos por organismos comumente presentes na natureza. Os principais microrganismos estudados no biocontrole de doenças de plantas são os fungos e bactérias. Dentre os fungos, destacam-se os dos gêneros *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Clonostachys*, *Penicillium* e *Pythium*. Já entre as bactérias estão espécies de *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Streptomyces*, *Rhizobium*, *Pasteuria* e *Enterobacter* (SILVA e MELO, 2013.; MEDEIROS et al., 2018).

O biocontrole dificilmente elimina o patógeno completamente do local, mas atua principalmente reduzindo a veemência do inóculo ou a incitação do patógeno em provocar a doença e ocorre por meio interações antagônicas como competição, parasitismo, predação, antibiose, indução a resistência e promoção de crescimento (SANTIAGO et al., 2019).

O parasitismo consiste em uma interação nutricional entre dois seres vivos, onde o parasita se alimenta totalmente ou parcialmente às custas do hospedeiro. A competição refere-se à relação entre dois ou mais organismos, visando um objetivo (espaço, alimentação etc.). A antibiose é a interação na qual um agente libera metabólitos de efeito nocivo sobre outro organismo. A indução de resistência do hospedeiro deriva da ativação da resistência da planta ao patógeno por meio de agentes externos, que podem ser bióticos ou abióticos. A promoção de crescimento não atua diretamente sobre o microrganismo patogênico, e sim auxiliando a planta a se recuperar mais rapidamente do ataque através da liberação de hormônios e aquisição de nutrientes e água (MEDEIROS et al., 2018; POZZEBON, 2019).

Os modos de ação utilizados pelos microrganismos para favorecer o crescimento das plantas podem ser classificados como diretos ou indiretos. De forma direta, eles aprimoram a absorção e acúmulo de nutrientes essenciais, a fixação de nitrogênio, solubilização de fosfato, secreção de sideróforos e produção de fitormônios. Já de forma indireta, atuam no biocontrole de pragas e doenças e na promoção de resistência das plantas aos estresses bióticos e abióticos, como metais pesados, deficiência hídrica e salinidade (REZENDE et al., 2021; SOUZA et al., 2020).

Os mecanismos, como antibióticos, sideróforos, hormônios e enzimas, empregados pelos microrganismos que atuam como agentes biológicos podem induzir a resistência em plantas por agir como estimulantes do sistema imune, interferindo no funcionamento dos principais sistemas de defesa vegetal, como a resistência sistêmica induzida (WILLE et al., 2019; PINHO et al., 2020).

Os principais componentes requeridos em um biocontrolador de doenças de plantas é ser geneticamente estável, efetivo em baixas concentrações, não ter exigências nutricionais, ser hábil para sobreviver em condições adversas, apresentar eficiência contra vários patógenos em diversos hospedeiros, se desenvolver em um meio de culturas acessível, ser de fácil preparo e armazenamento, tolerante a pesticidas, compatível com controles físicos e químicos e não ser patogênico ao homem (CARMONA-HERNANDEZ et al., 2019). Algumas dessas características necessárias também dificulta os desenvolvimentos de produtos deste segmento (LOPES, 2009; MEDEIROS et al., 2018).

3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa experimental foi dividida em cinco etapas principais: (i) caracterização morfológica dos microrganismos selecionados, (ii) seleção *in vitro* de isolados bacterianos com potencial antagonista, (iii) avaliação da suscetibilidade a antibióticos, (iv) capacidade de formação de biofilme e (v) produção de inóculo para aplicação em campo.

Para os ensaios, foram utilizados isolados bacterianos obtidos de regiões do estado de Sergipe armazenados na coleção do Laboratório de Fitopatologia e Bioinsumos (LAFiBiO) da Universidade Federal de Sergipe e isolados comerciais fornecidos pela empresa BioWorld® Soluções Regenerativas (Tabela 2). Os isolados foram submetidos a testes de caracterização morfológica, incluindo a observação do crescimento em meio sólido, da morfologia celular e Teste de Gram. As bactérias foram testadas quanto à capacidade de inibição do crescimento micelial das espécies de fungo: *Colletotrichum fructicola* e *Colletotrichum siamense* obtidas da Coleção da Universidade Federal de Alagoas (COUFAL) em meio de cultura sólido, após foram feitas avaliações de sensibilidade a antibióticos e formação de biofilme.

Tabela 2 – Códigos de identificação, espécies bacterianas e local de armazenamento.

Código	Espécie	Origem
BW001	<i>Streptomyces avermitilis</i>	BioWorld®
BW002	<i>Azospirillum brasilense</i>	BioWorld®
BW003	<i>Bacillus thuringiensis</i>	BioWorld®
BW004	<i>Bacillus subtilis</i>	BioWorld®
BW005	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	BioWorld®
BW006	<i>Bacillus licheniformis</i>	BioWorld®
BW007	<i>Bacillus aryabhatai</i>	BioWorld®
BW008	<i>Bacillus pumilus</i>	BioWorld®
BW009	<i>Bacillus velezensis</i>	BioWorld®
BW010	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	BioWorld®
LAFB009	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	LAFiBiO
LAFB016	<i>Bacillus sp.</i>	LAFiBiO
LAFB002	<i>Bacillus siamensis</i>	LAFiBiO
LAFB001	<i>Paenibacillus mucilaginosus</i>	LAFiBiO
LAFB015	<i>Bacillus safensis</i> subsp. <i>safensis</i>	LAFiBiO
LAFB018	<i>Bacillus safensis</i>	LAFiBiO

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

3.1 Caracterização morfológica dos isolados bacterianos

Os isolados bacterianos foram caracterizados quanto ao crescimento em meio sólido, morfologia celular e coloração de Gram.

Para a avaliação do crescimento em meio sólido, as bactérias foram cultivadas em meio Luria Bertani (LB), sendo incubadas a 28 °C por 48 horas em estufa BOD. Após o período de incubação, foram observadas características macroscópicas das colônias, como formato, coloração e textura.

A morfologia celular foi determinada por microscopia óptica a partir da coloração de Gram. O procedimento envolveu a aplicação dos reagentes cristal violeta, solução de lugol, álcool-etílico e safranina. Após a coloração, as lâminas foram observadas em microscópio óptico com aumento de 1000× com óleo de imersão, sendo registradas a morfologia celular, o arranjo das células e a resposta à coloração de Gram (positiva ou negativa).

3.2 Teste de antibiose *in vitro*

Os microrganismos isolados foram confrontados sendo submetidos a pareamento de cultura com os fungos fitopatogênicos, para avaliar sua capacidade de inibição. Para o teste, foi riscada a bactéria controladora em placa de Petri contendo meio LB em uma extremidade, em seguida foi inoculado um disco de micélio do fungo na outra extremidade. O fitopatógeno sem agente de biocontrole também foi inoculado para ser utilizado como controle. As placas do ensaio foram incubadas a 28°C em estufa BOD por sete dias e foram feitas observações sobre a inibição de crescimento do patógeno. Após a incubação, o crescimento do microrganismo alvo foi medido com auxílio de paquímetro e a porcentagem de inibição do patógeno definida com base na seguinte fórmula: $\% \text{Inibição} = (C - T/C) \times 100$, onde C é o crescimento em controle e T é o crescimento em tratamento.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com 17 tratamentos e 5 repetições onde cada espécie bacteriana em confronto com os fungos representou um tratamento mais um controle, e cada placa de Petri compôs uma repetição. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística no programa SISVAR versão 5.6 (FERREIRA, 2011), utilizando o teste de Scott-Knott a um nível de significância de 5%.

3.3 Teste de sensibilidade a antibiótico

A suscetibilidade a antibiótico foi avaliada por meio de quatro discos pré-impregnados com uma concentração padrão do antibiótico Cloranfenicol, estes foram depositados uniformemente e levemente sobre a superfície do ágar Mueller-Hinton contendo 1 mL de cultura bacteriana na concentração padrão (10^8 UFCmL⁻¹). As placas foram incubadas por 24 horas e após foi observado o crescimento bacteriano em torno de cada disco. Quando sensível

a um antibiótico específico, uma área clara (sem crescimento) foi observada em torno de cada disco aplicado.

As zonas de inibição ao redor dos discos de antibiótico foram medidas em mm e comparadas com base nos pontos de corte estabelecidos pelo BrCAST (Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos) / EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) onde os isolados foram classificados como suscetíveis (S) ou resistentes (R). O experimento foi composto por 16 tratamentos e 5 repetições onde cada espécie bacteriana representou um tratamento, e cada placa de Petri compôs uma repetição.

3.4 Capacidade de formação de biofilme

A formação de biofilme foi avaliada em placa de cultura de células de 96 poços. Para tal, as bactérias cresceram *overnight* em meio líquido LB, com agitação a 30 °C em *shaker* orbital. Após, a suspensão bacteriana foi ajustada a concentração de 10^8 UFCmL⁻¹ (densidade óptica de 600 nm) e 100 µL da suspensão foi adicionada aos poços da microplaca e esta foi selada e incubada a 30 °C por 24 h sem agitação. Posteriormente, foi observado a formação do biofilme por leitura visual. O biofilme resultante foi centrifugado a 2250 rpm por 10 minutos e o sobrenadante cuidadosamente removido e então foi adicionado 200 µL de etanol 95% por 15 minutos, para que o biofilme aderisse ao fundo dos poços. O etanol foi completamente removido e o biofilme corado com 100 µL de solução de cristal violeta em concentração de 0,1% e mantido por 20 minutos em temperatura ambiente. O excesso da solução de cristal violeta foi removido e os poços lavados três vezes com água destilada. Após, 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) foi adicionado a cada poço e a placa incubada em *shaker* orbital por 5 minutos a 150 rpm e 30 °C, para solubilização do biofilme, então suas densidades ópticas foram medidas a 562 nm, utilizando espectrofotômetro para medir os níveis de biofilme para cada amostra.

A avaliação da capacidade de formação de biofilme pelos isolados bacterianos foi realizada com base na leitura da densidade óptica (DO) a 570 nm, seguindo o critério estabelecido por Stepanović et al. (2000). Inicialmente, a média e o desvio padrão das leituras do controle negativo foram calculados para determinar o valor de OD_c (densidade óptica de corte) e classificar os isolados em quatro categorias: não produtores de biofilme, fraco produtor de biofilme, moderado produtor de biofilme e forte produtor de biofilme.

3.5 Produção de inóculo para aplicação em campo

A produção do inóculo foi realizada a partir de isolados bacterianos previamente selecionados com potencial para controle biológico. O cultivo das bactérias foi conduzido em meio líquido LB, sob condições controladas. Inicialmente, os isolados foram reativados a partir de estoques preservados em glicerol a 20%. Para isso, uma alçada do isolado foi inoculada em meio sólido (LB) e incubada a 28 °C por 24 horas em estufa BOD.

Após o crescimento, uma colônia isolada foi transferida para frascos de vidro contendo 1000 mL de meio líquido estéril e incubada sob agitação a uma velocidade de 150 rpm a 28 °C por 24 horas em incubadora *shaker*. O crescimento bacteriano foi monitorado por absorbância a 600 nm em espectrofotômetro, sendo ajustado para uma densidade óptica (DO) de 0,5, correspondente a aproximadamente 10^8 UFC/mL. O inóculo preparado foi mantido sob refrigeração a 4 °C até o momento da aplicação em campo, respeitando um intervalo entre a preparação e a aplicação para garantir a viabilidade das células.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização morfológica dos isolados bacterianos

A maioria dos isolados pertencentes ao gênero *Bacillus* apresentou colônias opacas e rugosas em meio sólido, com células em forma de bacilos e capacidade de esporulação, sendo todos Gram-positivos. O gênero *Streptomyces* caracterizou-se pelo crescimento filamentoso, com colônias de aspecto seco e pulverulento, enquanto *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium japonicum* apresentaram colônias lisas e mucoides, sendo ambos Gram-negativos.

A caracterização morfológica dos isolados revelou padrões típicos dentro de cada gênero. Os isolados do gênero *Bacillus*, incluindo *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. amyloliquefaciens* e outros, apresentaram colônias opacas e rugosas, característica comum a esse grupo devido à produção de esporos e compostos extracelulares, como biossurfactantes e enzimas hidrolíticas (CHEN et al., 2020). Esses resultados estão de acordo com estudos anteriores, que descrevem a morfologia das colônias de *Bacillus* como sendo altamente variável dependendo das condições de crescimento, mas geralmente opacas e de coloração creme a amarelada (PÉREZ-GARCÍA et al., 2011).

A presença de esporos nos isolados de *Bacillus* e *Paenibacillus* é um indicativo de sua capacidade de sobrevivência em ambientes adversos, como solos e superfícies vegetais, fator relevante para sua aplicação como bioinsumos no controle biológico (HOLT et al., 2018). Além disso, a coloração de Gram confirmou a predominância de bactérias Gram-positivas nesse grupo, o que corrobora a literatura, que aponta a espessa camada de peptidoglicano na parede celular como responsável por essa coloração (MADIGAN et al., 2019).

Por outro lado, *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium japonicum* apresentaram colônias lisas e mucoides, sendo ambos Gram-negativos. Essa característica está associada à produção de exopolissacarídeos, essenciais para a formação de biofilmes e interação com plantas hospedeiras, o que é coerente com seu papel na fixação biológica de nitrogênio (ROSENBERG et al., 2014). Estudos prévios demonstram que a estrutura da parede celular das bactérias Gram-negativas confere maior resistência a certos estresses ambientais, mas também pode influenciar na sua capacidade de colonização radicular (SOUZA et al., 2021).

Já *Streptomyces avermitilis* diferenciou-se dos demais isolados pelo crescimento filamentoso, com colônias de aspecto seco e pulverulento. Esse padrão é característico do gênero *Streptomyces*, que forma hifas e esporos aéreos, sendo amplamente reconhecido pela produção de metabólitos bioativos com potencial antimicrobiano (BALTZ, 2017). A presença dessa estrutura filamentosa pode contribuir para sua persistência no solo e sua capacidade de

competição com outros microrganismos, favorecendo seu uso como bioinsumo no controle de patógenos (BARKA et al., 2016).

Os resultados obtidos reforçam a importância da caracterização morfológica na seleção de isolados para controle biológico, contribuindo diretamente para o controle de qualidade dos bioprodutos. A identificação de padrões morfológicos e da coloração de Gram permite a triagem eficiente dos microrganismos, garantindo que apenas isolados com características desejáveis sejam utilizados nas formulações. Essa padronização é essencial para assegurar a estabilidade e a eficácia do produto, além de possibilitar a escolha de métodos de aplicação mais adequados ao ambiente alvo.

Além disso, a bioprospecção de cepas nativas, como as isoladas no presente estudo, apresenta uma vantagem estratégica, pois esses microrganismos já estão adaptados às condições ambientais locais, aumentando sua competitividade contra os fitopatógenos e melhorando sua eficiência no campo. Estudos indicam que microrganismos provenientes da mesma região onde a doença ocorre possuem maior taxa de estabelecimento e persistência, além de menor impacto na microbiota local (SOUZA et al., 2019). Dessa forma, o uso de isolados regionais pode ser uma alternativa promissora para otimizar a eficácia do controle biológico, reduzindo a dependência de produtos comerciais importados ou de formulações que não consideram a adaptação ao ambiente alvo.

Além disso, a caracterização morfológica auxilia na definição das condições ideais para armazenamento e viabilidade dos microrganismos, evitando variações na sua performance ao longo do tempo. O controle de qualidade de produtos biológicos deve considerar não apenas a identificação precisa dos isolados, mas também sua adaptação às condições ambientais e seu desempenho em campo.

Dessa forma, os resultados obtidos reforçam a necessidade de integrar análises complementares, como testes moleculares e bioquímicos, para validar a identidade e funcionalidade dos isolados. Essas abordagens contribuirão para o desenvolvimento de bioprodutos mais eficazes e seguros, garantindo um controle biológico consistente e sustentável.

4.2 Teste de antibiose *in vitro*

A avaliação do potencial de antibiose dos isolados bacterianos contra as duas espécies de *Colletotrichum* (*C. fructicola* e *C. siamense*) revelou diferenças significativas na porcentagem de inibição do crescimento micelial ($p < 0,05$), conforme determinado pela análise de variância (ANOVA). A interação entre os tratamentos (isolados bacterianos) e os fungos foi

significativa ($p < 0,05$), indicando que o efeito dos tratamentos variou entre as espécies do patógeno.

Os resultados do teste de Scott-Knott mostraram que determinados isolados bacterianos apresentaram maior eficiência no controle dos fungos testados. Para *C. fructicola* o tratamento 11 apresentou o maior desempenho, sendo estatisticamente superior a todos os demais, com média de inibição de 94,3%. Já o tratamento 8 teve o pior desempenho (7,5%), diferindo significativamente dos outros grupos. Os demais tratamentos foram agrupados em níveis intermediários, com médias entre 36,3 e 77,7%.

No caso do *C. siamense*, os tratamentos 4, 6, 16, 3 e 5 apresentaram melhor desempenho com destaque para o tratamento 5 que mostrou a maior média (79,5%), mas não diferiu estatisticamente dos outros do grupo. O tratamento 8 também apresentou a pior média (7,8%) diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Outros tratamentos com médias que variaram entre 40,5 e 76% foram agrupados em níveis intermediários.

Os dados evidenciam que certos isolados bacterianos possuem potencial promissor para o controle biológico de *Colletotrichum* spp., destacando-se como candidatos para futuras aplicações no manejo sustentável de doenças em citros. As tabelas 3 e 4 listam a diferença na porcentagem de inibição entre os tratamentos para cada espécie fúngica testada.

Tabela 3 – Porcentagens médias de inibição do crescimento micelial da espécie *Colletotrichum fructicola* em resposta aos diferentes tratamentos com isolados bacterianos.

Tratamento	Isolado	% de inibição
		<i>C. fructicola</i>
8	BW007	7,5 ^{a1*}
13	LAFB016	36,3 ^{a2}
1	CT00	46,1 ^{a2}
2	BW001	56,7 ^{a3}
6	BW005	57,6 ^{a3}
4	BW003	61,2 ^{a3}
15	LAFB001	66,1 ^{a3}
16	LAFB015	67,7 ^{a3}
17	LAFB018	68,8 ^{a3}
10	BW009	69,4 ^{a3}
3	BW002	69,7 ^{a3}
14	LAFB002	73,4 ^{a4}
12	LAFB009	73,4 ^{a4}
7	BW006	74,5 ^{a4}
9	BW008	75,8 ^{a4}

5	BW004	77,2 ^{a4}
11	BW010	94,3 ^{a5}

*Médias seguidas de letras e números iguais não diferem entre si ao nível de 5% de significância.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Tabela 4 – Porcentagens médias de inibição do crescimento micelial da espécie *Colletotrichum siamense* em resposta aos diferentes tratamentos com isolados bacterianos.

Tratamento	Isolado	% de inibição
		<i>C. siamense</i>
8	BW007	7,8 ^{a1*}
2	BW001	40,5 ^{a2}
1	CT00	45,8 ^{a2}
13	LAFB016	48,6 ^{a2}
15	LAFB001	49,5 ^{a2}
11	BW010	49,7 ^{a2}
17	LAFB018	50,7 ^{a2}
10	BW009	51,4 ^{a2}
7	BW006	57,5 ^{a3}
14	LAFB002	58,3 ^{a3}
9	BW008	60,8 ^{a3}
12	LAFB009	61,1 ^{a3}
4	BW003	65,7 ^{a4}
6	BW005	70,4 ^{a4}
16	LAFB015	70,4 ^{a4}
3	BW002	76,0 ^{a4}
5	BW004	79,5 ^{a4}

*Médias seguidas de letras e números iguais não diferem entre si ao nível de 5% de significância.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Os resultados obtidos são consistentes com estudos anteriores que demonstram o potencial de isolados bacterianos no controle de *Colletotrichum* spp. A literatura reporta que espécies de *Bacillus* e *Pseudomonas* são capazes de produzir metabólitos antifúngicos, como surfactina, iturina e fengicina, que podem atuar na inibição do crescimento fúngico (SANTOS et al., 2020; LIU et al., 2019). A alta eficiência do isolado BW010 contra *C. fructicola* pode estar relacionada à produção desses compostos e à capacidade de colonização do meio, reduzindo a disponibilidade de espaço e nutrientes para o patógeno (OLIVEIRA et al., 2021).

A diferença de resposta entre as espécies de *Colletotrichum* sugere que variações genéticas e fisiológicas influenciam a suscetibilidade dos fungos aos antagonistas. Por exemplo,

C. fruticola apresentou maior sensibilidade aos isolados LAFB002, LAFB009, BW006, BW008 e BW004, possivelmente devido a uma menor resistência a compostos antifúngicos ou diferenças na estrutura da parede celular (SOUZA et al., 2018). Já *C. siamense* mostrou um padrão de resposta diferente, destacando os isolados BW003, BW005, LAFB015, BW002 e BW004 como os mais eficazes, o que pode estar relacionado a interações específicas entre os antagonistas e o patógeno (FERREIRA et al., 2022).

A partir desses achados, os isolados com maior potencial podem ser testados em condições de casa de vegetação e campo, a fim de avaliar sua viabilidade para formulações comerciais e aplicação no manejo biológico de *Colletotrichum* spp. em citros.

4.3 Teste de sensibilidade a antibiótico

A interpretação dos resultados foi feita com base nos pontos de corte estabelecidos pelo BrCAST/EUCAST para bactérias, onde isolados com halos de inibição ≥ 28 mm foram considerados sensíveis e aqueles com halos < 28 mm foram classificados como resistentes.

Os valores médios dos diâmetros dos halos de inibição variaram entre 20,21 mm e 32,7 mm, conforme apresentado na Tabela 5. Dos 16 isolados testados, oito apresentaram halos superiores ao ponto de corte estabelecido, sendo classificados como suscetíveis e oito apresentaram halos inferiores ao ponto de corte, sendo classificados como resistentes.

Tabela 5 – Valores médios dos diâmetros dos halos de inibição e classificação dos isolados bacterianos testados com o antibiótico Cloranfenicol.

Tratamento	Média do halo (mm)	Classificação
1	20,1	R
2	20,7	R
3	21,4	R
4	22,6	R
5	23,2	R
6	23,9	R
7	25,4	R
8	26,8	R
9	28	S
10	28,3	S
11	28,7	S
12	29	S
13	30,2	S
14	31,3	S
15	31,4	S
16	32,7	S

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Os resultados indicam que a maioria dos isolados testados apresentou suscetibilidade ao cloranfenicol, conforme os critérios estabelecidos. A predominância de isolados suscetíveis sugere que este antibiótico pode ser uma alternativa eficaz para o controle dessas bactérias. No entanto, a presença de isolados classificados como resistentes alerta para a necessidade de monitoramento contínuo e a realização de testes complementares.

O cloranfenicol é um antibiótico de amplo espectro que atua na inibição da síntese proteica bacteriana por meio da ligação à subunidade 50S do ribossomo. Embora seja eficaz contra diversas espécies bacterianas, seu uso tem sido reduzido devido aos riscos de efeitos adversos (GARCÍA et al., 2020). No contexto agropecuário, o cloranfenicol ainda pode ser encontrado como resíduo em alimentos de origem animal, especialmente quando há uso irregular em produções agrícolas e pecuárias (SMITH et al., 2021). Assim, a identificação de isolados resistentes pode indicar pressão seletiva associada à contaminação ambiental ou ao uso indiscriminado de antimicrobianos.

No caso dos bioinsumos, a detecção de microrganismos resistentes ao cloranfenicol pode sinalizar possíveis contaminações durante a produção ou manipulação desses produtos, comprometendo sua qualidade e segurança. Dessa forma, a avaliação da resistência a antibióticos pode ser incorporada como um critério essencial no controle de qualidade, prevenindo a introdução de microrganismos indesejáveis e garantindo a eficiência dos bioinsumos na agricultura.

Pesquisas anteriores demonstraram que diferentes espécies de *Bacillus* spp. apresentam variabilidade na resistência ao cloranfenicol. Em estudos com *Bacillus cereus*, por exemplo, foram encontrados isolados resistentes ao cloranfenicol devido à presença de genes *cat* (cloranfenicol acetiltransferase), que inativam o antibiótico (ZHANG et al., 2019). Investigações recentes apontam que isolados ambientais podem apresentar resistência natural a diversos antibióticos, incluindo tetraciclinas e beta-lactâmicos (PÉREZ et al., 2022).

Os valores de halo de inibição observados no presente estudo demonstram uma distribuição heterogênea. Essa variação pode estar relacionada a diferentes fatores intrínsecos dos isolados, como mecanismos de resistência adquiridos ou variações genéticas na população bacteriana analisada. Além disso, a presença de isolados classificados como resistentes reforça a necessidade de estudos futuros para identificar os possíveis mecanismos envolvidos na resistência ao cloranfenicol.

Embora a metade dos isolados seja suscetível ao cloranfenicol, a presença de isolados resistentes sugere a necessidade de monitoramento contínuo, de estratégias para evitar a disseminação de resistência e compreender os mecanismos genéticos envolvidos e as possíveis implicações ambientais.

4.4 Capacidade de formação de biofilme

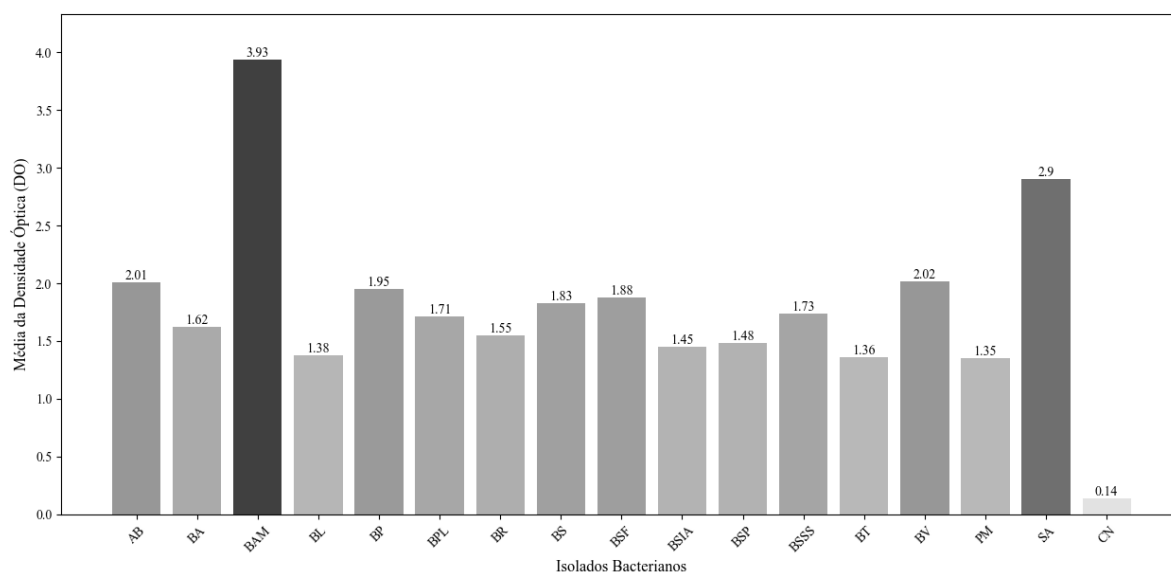
Para garantir uma avaliação mais precisa, a classificação foi realizada com base na média da densidade óptica de cada isolado, considerando as repetições experimentais. Os resultados indicaram que 100% dos isolados foram classificados como fortes produtores de biofilme.

Dentre os isolados analisados, destacaram-se *Bacillus amylolichefaciens*, *Streptomyces avermitilis*, *Bacillus velezensis*, *Azospirillum brasilense* como os mais eficientes na formação de biofilme, evidenciando um alto potencial para adesão e colonização de superfícies. Esses resultados são fundamentais para a compreensão do comportamento das cepas bacterianas estudadas, auxiliando na definição de estratégias de controle ou aplicação biotecnológica.

A formação de biofilme por bactérias é um fator determinante para sua sobrevivência em diferentes ambientes, conferindo resistência a estresses físicos e químicos, incluindo a ação de antimicrobianos. Neste estudo, a capacidade de formação de biofilme dos isolados foi avaliada utilizando a metodologia de Stepanović et al. (2000), com a classificação baseada nos valores de densidade óptica obtidos nas leituras espectrofotométricas.

O gráfico ilustrativo (Figura 2) destaca os isolados classificados como fortes produtores de biofilme, permitindo uma melhor visualização da capacidade de cada tratamento em formar biofilme. Como esperado, o controle negativo apresentou baixa densidade óptica, confirmando a adequação dos parâmetros experimentais utilizados para a determinação do OD₆₀₀.

Figura 2 – Isolados bacterianos classificados de acordo com a formação de biofilme.



(AB= *Azospirillum brasilense*, BA= *Bacillus aryabhattai*, BAM= *Bacillus amyloliquefaciens*, BL= *Bacillus licheniformis*, BP= *Bacillus pumilus*, BPL= *Bacillus paralicheniformis*, BR= *Bradyrhizobium japonicum*, BS= *Bacillus subtilis*, BSF= *Bacillus safensis*, BSIA= *Bacillus siamensis*, BSP= *Bacillus sp.*, BSSS= *Bacillus safensis* subsp. *safensis*, BT= *Bacillus thuringiensis*, BV= *Bacillus velezensis*, PM= *Paenibacillus mucilaginosus*, SA= *Streptomyces avermitilis*, CN= Controle negativo).

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Estudos anteriores apontam que bactérias com alta capacidade de formação de biofilme apresentam vantagens adaptativas, como maior resistência a antimicrobianos e maior persistência em superfícies inertes (SILVA et al., 2023; SOUZA & ALMEIDA, 2021). Dessa forma, os isolados identificados como fortes produtores de biofilme podem representar desafios adicionais em contextos em que o controle microbiológico é essencial na agricultura.

Os resultados obtidos corroboram as investigações semelhantes conduzidas por Santos et al. (2022) e Pereira et al. (2020), nos quais bactérias pertencentes a *Escherichia*, *Pseudomonas* e *Staphylococcus* apresentaram comportamento semelhante no que diz respeito à capacidade de aderência e formação de biofilme.

Portanto, a identificação de isolados bacterianos com forte capacidade de formação de biofilme reforça a importância de estratégias eficazes para controle e monitoramento dessas populações em ambientes suscetíveis à contaminação microbiana (MENDES et al., 2019).

4.5 Produção de inóculo para aplicação em campo

A produção do inóculo foi realizada seguindo as condições estabelecidas para o crescimento dos isolados bacterianos. O cultivo em meio de cultura líquido resultou em uma suspensão com densidade óptica ajustada a 10^8 UFC/mL, garantindo a viabilidade celular para

aplicação. No entanto, a etapa de aplicação em campo não pôde ser conduzida devido as condições climáticas desfavoráveis e limitações logísticas, o que impediu a avaliação da eficácia dos isolados em condições naturais.

A ausência dessa etapa limita a análise do desempenho dos microrganismos no ambiente alvo, uma vez que fatores como competição microbiana, condições edafoclimáticas e estabilidade do inóculo poderiam influenciar seus efeitos (SOLUSOLO, 2023). Estudos anteriores destacam que a formulação e o método de aplicação são determinantes para o sucesso dos bioinsumos no campo, sendo necessário validar sua eficácia além das condições controladas de laboratório (BARROS et al., 2023).

Diante disso, recomenda-se que ensaios futuros contemplem estratégias para garantir a viabilidade da aplicação, como testes em ambiente protegido antes da experimentação em campo ou ajustes na logística de produção e armazenamento do inóculo. Além disso, a caracterização da estabilidade do inóculo ao longo do tempo pode fornecer informações valiosas para a definição do melhor período para sua utilização (HUNGRIA et al., 2022).

5 CONCLUSÃO

O estudo demonstrou que isolados bacterianos provenientes de regiões do estado de Sergipe possuem potencial para o controle biológico de *Colletotrichum* spp., agente causal da podridão floral dos citros. Os testes *in vitro* indicaram que os isolados *Streptomyces avermitilis* e *Azospirillum brasilense*, apresentaram elevada inibição do crescimento micelial dos patógenos, destacando-se como candidatos promissores para biocontrole. A utilização de cepas nativas, oriundas da mesma região onde a doença ocorre, pode favorecer sua adaptação e competitividade no ambiente, aumentando a eficácia do controle biológico. Além disso, a capacidade de formação de biofilme pode favorecer a sobrevivência e eficácia desses microrganismos no ambiente. Apesar da impossibilidade de testes em campo, os resultados obtidos reforçam a viabilidade do uso dessas bactérias para o manejo sustentável da doença, indicando a necessidade de estudos adicionais para validação em condições naturais.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS EXPORTADORES DE SUCOS CÍTRICOS (CitrusBR).** Comunicado ao mercado: Estoques auditados em 30 de junho de 2024. São Paulo, 2024. Disponível em: <https://citrusbr.com/noticias/comunicado-ao-mercado-estoques-auditados-em-30-de-junho-de-2024/>. Acesso em: 3 mar. 2025.
- AGRIOS, G. N.** *Plant pathology*. Burlington, MA: Elsevier Academic, 2005. 922 p.
- ARAÚJO, I. M. M. A.; OLIVEIRA, A. G. R. C.** Agronegócio e agrotóxicos: impactos à saúde dos trabalhadores agrícolas no Nordeste brasileiro. *Trabalho, Educação e Saúde*, v. 15, n. 1, p. 117-129, 2017.
- ARAÚJO, J. J. S.; MUNIZ, M. F. S.; FILHO, G. M.; ROCHA, F. S.; CASTRO, J. M. C.** *Bacillus subtilis* no tratamento de mudas de bananeira infectadas por fitonematoides. *Revista Ceres*, v. 65, n. 1, p. 99-103, 2018.
- AZEVEDO, J. L.; MACCHERONI JÚNIOR, W.; ARAÚJO, W. L.** Importância dos microrganismos endofíticos na agricultura. In: **LUZ, W. C.** et al. (Org.). *RAPP: revisão anual de patologia de plantas*. v. 11, p. 333-371, 2003.
- BALTZ, R. H.** *Streptomyces* and the discovery of novel antibiotics. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, v. 44, n. 4-5, p. 563-581, 2017.
- BARKA, E. A.** et al. *Streptomyces* as potential biocontrol agents against plant pathogens. *Environmental Microbiology Reports*, v. 8, n. 2, p. 193-204, 2016.
- BARBOSA, L. O.; LIMA, J. S.; MAGALHÃES, V. C.; GAVA, C. A. T.; SOARES, A. C. F.; MARBACH, P. A. S.; SOUZA, J. T.** Compatibility and combination of selected bacterial antagonists in the biocontrol of sisal bole rot disease. *BioControl*, v. 63, n. 4, p. 595-605, 2018.
- BARROS, C. M.; SILVA, A. L.; SOUZA, P. R.** Avanços na produção e formulação de inoculantes microbianos. *Química Nova*, v. 46, n. 3, p. 420-435, 2023. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/y3NDqQZ3NRgXyStGvqfLKHS>. Acesso em: 23 fev. 2025.
- BEBENDO, I. P.; AMORIM, L.; MATTOS JR, D.** Ambiente e doença. In: **AMORIM, L.; RESENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.** (Org.). *Manual de fitopatologia*. v. 1. Piracicaba: Agronômica Ceres, 5. ed., p. 27-43, 2018.
- BEHLAU, F.; ESPINOSA, J.; RAETANO, C. G.** Manejo da podridão floral dos citros (*Colletotrichum acutatum*). *Summa Phytopathologica*, v. 47, n. 1, p. 1-10, 2021.

CANALE, M. C.; BRUGNARA, E. C.; SABIÃO, R. R. Ocorrência da podridão floral dos citros em diferentes cultivares de *Citrus* spp. *FRUSUL - Simpósio de Fruticultura da Região Sul*, v. 3, n. 1, 2022. ISSN 2526-9909.

CANALE, M. C.; SILVA, J. B.; BEHLAU, F. Epidemiologia e controle de *Colletotrichum acutatum* em citros. *Tropical Plant Pathology*, v. 47, n. 3, p. 321-330, 2022.

CARMONA-HERNANDEZ, S.; REYES-PÉREZ, J. J.; CHIQUITO-CONTRERAS, R. G.; RINCON-ENRIQUEZ, G.; CERDAN-CABRERA, C. R.; HERNANDEZ-MONTIE, L. G. Biocontrol of postharvest fruit fungal diseases by bacterial antagonists: a review. *Agronomy*, v. 9, n. 121, p. 1-15, 2019.

CAVALCANTE, A.; TELES, M.; MACHADO, M. *Cactos do semiárido do Brasil: guia ilustrado*. Campina Grande: INSA, 2013. 54 p.

CHEN, X. H. et al. Biosurfactants from *Bacillus* species: a review of their properties, applications and modes of action. *Biotechnology Advances*, v. 38, p. 107394, 2020.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. *The nature and practice of biological control of plant pathogens*. St. Paul: APS, 1983.

CORREIA, D.; SILVA, I. C.; NASCIMENTO, E. H. S.; MORAIS, J. P. *Produção de mudas de mandacaru*. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012. 6 p. (Comunicado Técnico, 39).

DAMASCENO, C. L.; DE SÁ, J. O.; SILVA, R. M.; CARMO, C. O.; HADDAD, L. A. M.; SOARES, A. C. F.; DUARTE, E. A. D. *Penicillium citrinum* as a potential biocontrol agent for sisal bole rot disease. *Journal of Agricultural Science*, v. 11, n. 10, p. 206-216, 2019.

DE SÁ, M. N. F.; LIMA, J. S.; JESUS, F. N.; PEREZ, J. O.; GAVA, C. A. T. Efeito de *Bacillus* sp. e *Trichoderma* sp. no crescimento micelial de *Sclerotium rolfsii*. *Acta Brasiliensis*, v. 3, n. 2, p. 79-81, 2019b.

DE SÁ, M. N. F.; LIMA, J. S.; JESUS, F. N.; PEREZ, J. O.; GAVA, C. A. T. Seleção *in vitro* de agentes de biocontrole visando o controle de *Fusarium* sp. *Acta Brasiliensis*, v. 3, n. 1, p. 14-16, 2019a.

FERREIRA, L. G. et al. Biocontrole de *Colletotrichum siamense* por bactérias do gênero *Bacillus*. *Journal of Applied Microbiology*, v. 134, n. 6, p. 1675-1689, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/jam.15678>.

FONSECA, E. M. S.; ARAÚJO, R. C. *Fitossanidade: princípios básicos e métodos de controle de doenças e pragas*. 1. ed. São Paulo: Saraiva Educação S.A., 2015. 249 p.

FONSECA, R. C.; ARAÚJO, J. P. Controle biológico no manejo integrado de doenças. *Revista Brasileira de Fitopatologia*, v. 45, p. 120-130, 2020.

FAESP. Citricultura Paulista em recuperação. São Paulo, 2023. Disponível em: <https://faespsenar.com.br/citricultura-paulista-em-recuperacao>. Acesso em: 5 fev. 2025.

GAVA, C. A. T.; MENEZES, M. E. L. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. *Revista Ciência Agronômica*, v. 43, n. 4, p. 633-640, 2012.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 2018.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAÚJO, R. S. *Manual de análises de bioinsumos para uso agrícola*. Londrina: Embrapa Soja, 2022. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1163171/1/Livro-Analises-Bioinsumos-completo-final.pdf>. Acesso em: 22 fev. 2025.

LANDERS, J. N.; OLIVEIRA, H. N. Controle biológico: o próximo pulo do gato. *Revista Plantio Direto & Tecnologia Agrícola*, v. 28, n. 162, p. 2-4, 2018.

LANDERS, A. J.; OLIVEIRA, R. S. Controle biológico de doenças na agricultura brasileira: desafios e perspectivas. *Agricultura Sustentável*, v. 35, n. 4, p. 98-110, 2021.

LIMA, L. G.; MIRANDA, A. R.; LIMA, E. F. S.; SANTOS, J. R. S.; NASCIMENTO, J. A. Agrotóxicos no Semiárido de Alagoas: agricultura químico-dependente e suas contradições. *Diversitas Journal*, v. 4, n. 3, p. 829-847, 2019.

LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. *Saúde em Debate*, v. 42, n. 117, p. 518-534, 2018.

LOPES, M. J. S.; DIAS-FILHO, M. B.; GURGEL, E. S. C. Successful plant growth-promoting microbes: inoculation methods and abiotic factors. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, v. 5, n. 606454, p. 1-13, 2021.

LOPES, R. B. A indústria no controle biológico: produção e comercialização de microrganismos no Brasil. In: **BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.** (Org.). *Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, v. 1, 1. ed., p. 15-28, 2009.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S. *Brock biology of microorganisms*. 15. ed. New York: Pearson, 2019.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Brasil deve ser destaque mundial no uso de bioinsumos nos próximos anos. MAPA, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/brasil-deve-ser-destaque-mundial-no-uso-de-bioinsumos-nos-proximos-anos>. Acesso em: 30 out. 2023.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Mercado de biodefensivos cresce mais de 70% no Brasil em um ano. MAPA, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/feffmercado-de-biodefensivos-cresce-em-mais-de-50-no-brasil>. Acesso em: 26 out. 2023.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Registros de defensivos agrícolas de baixo impacto no Brasil. 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br>. Acesso em: 22 jun. 2024.

MAZZOLA, M.; FREILICH, S. Prospects for biological soilborne disease control: application of indigenous versus synthetic microbiomes. *Phytopathology*, v. 107, n. 3, p. 256-263, 2017.

MEDEIROS, F. H. V.; SILVA, J. C. P.; PASCHOLATI, S. F. Controle biológico de doenças de plantas. In: **AMORIM, L.; RESENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.** (Org.). *Manual de fitopatologia*. Piracicaba: Agronômica Ceres, v. 1, 5. ed., p. 261-272, 2018.

MENDES, R. T.; SILVA, L. G.; COSTA, P. A. Biofilme e células *persisters*: da persistência à resistência microbiana. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, v. 51, n. 3, p. 78-85, 2019. Disponível em: <https://www.rbac.org.br/artigos/biofilme-e-celulas-persisters-da-persistencia-a-resistencia-microbiana>. Acesso em: 28 jan. 2025.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças: avanços e desafios. *Fitopatologia Brasileira*, v. 45, p. 75-85, 2020.

NASUTI, S.; EIRÓ, F.; LINDOSO, D. Os desafios da agricultura no Semiárido brasileiro. *Sustentabilidade em Debate*, v. 4, n. 2, p. 276-298, 2013.

NOGUEIRA, D. R. S.; ALBUQUERQUE, L. B.; ARAÚJO, J. A. M.; VALE, E. V. G.; SALES JÚNIOR, R. Eficiência de *Bacillus subtilis* e *B. pumilus* no controle de *Podosphaera xanthii* em meloeiro. *Revista Verde*, v. 6, n. 3, p. 125-130, 2011.

PÉREZ-GARCÍA, A.; ROMBOUTS, F. M.; WISSELINK, H. W. Morphological characteristics of *Bacillus* colonies under different environmental conditions. *Microbial Ecology*, v. 62, n. 3, p. 585-597, 2011.

PINHO, R. S. C.; POZZEBON, B. C.; RODRIGUES, K. R. R.; ARNS, R. B.; ALVES, C. A.; BERGMANN, M. B. Rizobactérias no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e efeitos no desenvolvimento vegetativo de plântulas de soja. *Colloquium Agrariae*, v. 16, n. 4, p. 110-120, 2020.

POZZEBON, B. C. *Fitopatologia geral*. Londrina: Educacional S.A., 2019. 200 p.

PEREIRA, A. C.; LIMA, T. R.; FERREIRA, J. P. Formação de biofilmes bacterianos e sua importância na resistência a antimicrobianos. *Microbiologia Aplicada*, v. 45, n. 2, p. 150-167, 2020. Disponível em: <https://microbiologia.icb.usp.br/cultura-e-extensao/textos-de-divulgacao/bacteriologia/bacteriologia-oral/biofilmes-bacterianos-vivendo-em-comunidade>. Acesso em: 28 jan. 2025.

REZENDE, C. C.; SILVA, M. A.; FRASCA, L. L. C.; FARIA, D. R.; FILIPPI, M. C. C.; LANNA, A. C.; NASCENTE, A. S. Microrganismos multifuncionais: utilização na agricultura. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 2, p. 1-15, 2021.

RESENDE, J. A. M.; MASSOLA JR, N. S.; BEDENDO, I. P. Conceito de doença, sintomatologia e diagnose. In: **AMORIM, L.; RESENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.** (Org.). *Manual de fitopatologia*. Piracicaba: Agronômica Ceres, v. 1, 5. ed., p. 27-43, 2018.

ROSENBERG, E.; DELONG, E. F.; LORY, S.; STACKEBRANDT, E.; THOMPSON, F. *The Prokaryotes: Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria*. 4. ed. Berlin: Springer, 2014.

SANTIAGO, M. F.; SANTOS, A. M. G.; ANDRADE, D. E. G. T.; ASSIS, T. C.; LARANJEIRA, D. Manejo integrado da fusariose da palma forrageira em Pernambuco. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica*, v. 16, n. 2, p. 51-64, 2019.

SANTOS, A. C. et al. Produção de metabólitos antifúngicos por *Bacillus* spp. *Revista Ciência Agrícola*, v. 15, n. 2, p. 45-58, 2020. Disponível em: <https://periodicoselétronicos.ufma.br/index.php/ccatropica/article/download/145/96/362>. Acesso em: 2 fev. 2025.

SANTOS, D. F.; RIBEIRO, M. J.; OLIVEIRA, B. C. Formação de biofilme e resistência a antimicrobianos de isolados de *Escherichia coli* de origem suína. *Cadernos de Agrociências e Biotecnologia*, v. 39, n. 1, p. 45-60, 2022. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cab/a/4YFpJ7jDmzdhjxZzKHjyd4D>. Acesso em: 25 fev. 2025.

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DESENVOLVIMENTO AGRÁRIO E DA PESCA (SEAGRI). Governo do Estado prevê crescimento de cerca de 15% na safra de laranja em Sergipe em 2024. 2024. Disponível em: <https://www.se.gov.br/noticias/agricultura>. Acesso em: 4 mar. 2025.

SILVA, A. F.; SILVA, M. C. B. C. Agricultura no nordeste semiárido e os resíduos orgânicos aproveitáveis. *Revista Equador (UFPI)*, v. 5, n. 2, p. 102-119, 2016.

SILVA, E. K. C.; MELO, L. G. L. Manejo de doenças de plantas: um enfoque agroecológico. *Revista EDUCamazônia - Educação Sociedade e Meio Ambiente*, v. 10, n. 1, p. 143-157, 2013.

SILVA, M. S.; CARVALHO, F. C. Q.; SILVA, J. R.; LINS, S. R. O.; OLIVEIRA, S. M. A. Uso de antagonistas e produtos alternativos no manejo pós-colheita de podridão mole em pimentão. *Revista Ciência Agronômica*, v. 45, n. 4, p. 718-725, 2014.

SILVEIRA, A. L. da; STRACIERI, J.; PEREIRA, F. D.; SOUZA, A. de; GOES, A. Caracterização molecular de isolados de *Colletotrichum* spp. associados à podridão floral dos citros. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 38, n. 1, p. 64-71, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-2945-041/15>. Acesso em: 3 mar. 2025.

SOUZA, E. L.; SANTOS, J. B.; SILVA, L. A. Bioprospecção de actinobactérias endofíticas para o controle biológico de fitopatógenos fúngicos. *Revista Brasileira de Microbiologia*, v. 52, n. 4, p. 2025-2035, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00456-7>. Acesso em: 4 mar. 2025.

SOUZA, J. P.; ALMEIDA, R. T. Formação de biofilmes bacterianos e suas implicações para a indústria e a saúde pública. *Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 29, n. 3, p. 75-89, 2021. Disponível em: <https://diversey.com.br/pt-br/blog/formacao-de-biofilmes-bacterianos>. Acesso em: 24 fev. 2025.

SOUZA, R. F. et al. Diferenças na suscetibilidade de espécies de *Colletotrichum* ao controle biológico. *Brazilian Journal of Plant Protection*, v. 21, n. 4, p. 233-245, 2018. Disponível em: https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UFPR_5b7316db3827706ba2b3c8ed433b99d7. Acesso em: 28 jan. 2025.

SOUZA, G. M. et al. Espécies medicinais do gênero *Zanthoxylum* (Rutaceae) no Brasil. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 1, p. e3306412791, 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/download/33064/27969/371181>. Acesso em: 5 mar. 2025.

SYED, S.; TOLLAMADUGU, N. V. K. V. P. Role of plant growth-promoting microorganisms as a tool for environmental sustainability. In: **Recent Developments in Applied Microbiology and Biochemistry**. p. 209-222, 2019.

VASHISTH, T.; KADYAMPAKENI, D. Diagnosis and management of nutrient constraints in citrus. In: **SRIVASTAVA, A. K.; HU, C. (Ed.). Fruit Crops**. 1. ed. Elsevier, 2020. cap. 49, p. 723-737. ISBN 9780128187326. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818732->

6.00049-6. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128187326000496>. Acesso em: 5 mar. 2025.

WEIR, B. S.; JOHNSTON, P. R.; DAMM, U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology*, v. 73, n. 1, p. 115-180, 2012. DOI: <https://doi.org/10.3114/sim0011>.

ZANUNCIO JUNIOR, J. S.; SILVA, J. M.; LIMA, P. R. Tendências e inovações no manejo sustentável de doenças em citros. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 57, p. 211-225, 2022.