

UniRV - UNIVERSIDADE DE RIO VERDE
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

**DESEMPENHO DE *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 NO CONTROLE
IN VITRO DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS DA CULTURA DA SOJA**

LEANDRO CARDOSO GOMES

Magister Scientiae

RIO VERDE
GOIÁS – BRASIL

2026

LEANDRO CARDOSO GOMES

**DESEMPENHO DE *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 NO CONTROLE *IN VITRO* DE
FUNGOS FITOPATOGÊNICOS DA CULTURA DA SOJA**

Dissertação apresentada à UniRV – Universidade de
Rio Verde, como parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção
do título de *Magister Scientiae*

**RIO VERDE
GOIÁS – BRASIL
2026**

Universidade de Rio Verde
Biblioteca Luiza Carlinda de Oliveira
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação – (CIP)

G615d Gomes, Leandro Cardoso

Desempenho de *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 no controle *in vitro* de fungos fitopatogênicos da cultura da soja. / Leandro Cardoso Gomes. – 2026.

96 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Lima do Carmo.

Coorientadora: Profa. Dra. Juliana Silva Rodrigues Cabral.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Rio Verde - UniRV, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Faculdade de Direito, 2026.

Inclui índice de figuras e tabelas.

1. Biofungicida. 2. Controle biológico. 3. *Glycine max*. 4. Patógenos de plantas. I. Carmo, Eduardo Lima do. II. Cabral, Juliana Silva Rodrigues. III. Título.

CDD: 632.95


Bibliotecário: Juatan Tiago da Silva – CRB 1/3158

LEANDRO CARDOSO GOMES


“DESEMPENHO DE *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 NO CONTROLE IN VITRO DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS DA SOJA”

Dissertação apresentada à UniRV – Universidade de Rio Verde, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.


APROVAÇÃO: 09 de fevereiro de 2026

Documento assinado digitalmente
 EDUARDO LIMA DO CARMO
Data: 11/02/2026 14:08:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof. Dr. Eduardo Lima do Carmo
Presidente da Banca Examinadora
Membro – PPGPV/UniRV

Documento assinado digitalmente
 JULIANA SILVA RODRIGUES CABRAL
Data: 23/02/2026 13:55:05-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Juliana S. Rodrigues Cabral
Coorientadora
Membro – PPGPV/UniRV

Documento assinado digitalmente
 DANIEL HENRIQUE RIBEIRO
Data: 12/02/2026 08:47:25-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Daniel Henrique Ribeiro
Membro Externo – UFU

Documento assinado digitalmente
 GUSTAVO ANDRE SIMON
Data: 12/02/2026 17:02:20-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Gustavo André Simon
Membro – PPGPV/UniRV

HERCULES DINIZ
CAMPOS:69866163687

Assinado de forma digital por HERCULES
DINIZ CAMPOS:69866163687
Dados: 2026.02.23 09:02:16 -03'00'

Prof. Dr. Hercules Diniz Campos
Membro - PPGPV/UniRV

DEDICATÓRIA

A Deus, cuja graça me sustentou em cada momento de dificuldade e sua presença minha maior motivação.

“Pois d’Ele, por Ele e para Ele são todas as coisas.” Romanos 11:36.

AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte inesgotável de toda a minha força, fé e sabedoria. A Ele, toda a honra e glória por me permitir vivenciar este sonho.

Aos meus amados filhos Helena e Davi, minha razão de ser e o motor que me impulsionou a seguir em frente. Cada momento de superação foi por vocês. Vocês são a prova de que o amor é a maior força para não desistir.

A minha esposa Nathália, por sua paciência, incentivo inabalável e por todo o companheirismo, amor e suporte que me permitiram conciliar família, trabalho e estudos.

Aos meus pais e familiares, por acreditarem, incentivarem e apoiarem esta jornada.

Ao meu orientador Dr. Eduardo Lima, por todo o suporte necessário.

A minha coorientadora Juliana Silva Rodrigues Cabral, por sua generosidade intelectual e boa vontade em partilhar seu conhecimento e, especialmente, por acreditar em mim, mesmo nos momentos em que pensei em desistir, o seu incentivo e confiança foram decisivos para a conclusão deste trabalho.

Aos professores Gustavo André Simon e Givanildo Zildo da Silva, pela disponibilidade e contribuição com os resultados obtidos.

Ao amigo Carlos Marcelo Soares, executivo de Inovação e Tecnologia na Nooa Ciência e Tecnologia, e a sua equipe, por acreditar, confiar e permitir que este projeto acontecesse.

A toda a equipe da Universidade de Rio Verde, que direta ou indiretamente contribuiu para a minha jornada e formação.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	ix
RESUMO GERAL.....	xii
GENERAL ABSTRACT.....	xiii
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Cultura da soja.....	2
2.2 Fungos Fitopatogênicos presentes no solo.....	3
2.2.1 <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Fusarium solani</i> e <i>Fusarium graminearum</i>	3
2.2.2 <i>Macrophomina phaseolina</i>	4
2.2.3 <i>Rhizoctonia solani</i>	5
2.2.4 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	5
2.3 Fungos fitopatogênicos causadores de manchas foliares.....	6
2.3.1 <i>Phomopsis sojae</i>	6
2.3.2 <i>Corynespora cassiicola</i>	7
2.3.3 <i>Colletotrichum truncatum</i>	7
2.4 Controle biológico na agricultura.....	7
2.4.1 <i>Bacillus</i> sp. e traços de promoção do crescimento vegetal.....	8
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	12
CAPÍTULO I - TRAÇOS DE PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL DE <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-402.....	19
RESUMO.....	19
ABSTRACT.....	20
1 INTRODUÇÃO.....	21
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
2.1 Origem de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-402.....	22
2.2 Caracterização de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-402.....	22
2.3 Caracterização dos traços de promoção do crescimento vegetal de <i>Bacillus</i> <i>amyloliquefaciens</i> CN-402.....	22
2.3.1 Produção de fosfatase.....	22

2.3.2 Produção de amilase.....	23
2.3.3 Produção de protease.....	23
2.3.4 Produção de celulase.....	23
2.3.5 Produção de pectinase.....	24
2.3.6 Produção de quitinase.....	24
2.3.7 Produção de catalase.....	25
2.3.8 Solubilização de fosfato.....	25
2.3.9 Produção de ácido indolacético (AIA).....	25
3 RESULTADOS.....	26
3.1 Características morfológicas de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-402.....	26
3.2 Produção de enzimas extracelulares.....	27
4 DISCUSSÃO.....	29
5 CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32
CAPÍTULO II - CAPACIDADE ANTAGÔNICA DE <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-402 NO CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS <i>in vitro</i>	36
RESUMO.....	36
ABSTRACT.....	37
1 INTRODUÇÃO.....	38
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	39
2.1 Obtenção dos isolados fúngicos e bacterianos.....	39
2.2 Teste de antagonismo por cultivo pareado de microrganismos <i>in vitro</i>	39
2.3 Análise estatística.....	40
2.3 Proteção de sementes de soja contra fungos fitopatogênicos.....	41
2.4.1 Obtenção dos inóculos bacteriano e fúngicos.....	41
2.4.2 Tratamento de sementes.....	41
2.4.2.1 Teste de germinação de sementes em caixas gerbox.....	41
2.4.2.2 Teste de germinação de sementes em placas de Petri.....	42
2.5 Análise estatística.....	43
3 RESULTADOS.....	43
3.1 Capacidade antagônica de <i>B. amyloliquefaciens</i> CN-402 no controle de fungos fitopatogênicos <i>in vitro</i>	43
3.2 Proteção de sementes de soja contra fungos fitopatogênicos.....	48

3.2.1 Germinação de sementes de soja tratadas com <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-402 em areia.....	48
3.2.2 Germinação de sementes de soja com <i>B. amyloliquefaciens</i> CN-402 em placa de Petri.....	51
4 DISCUSSÃO.....	55
5 CONCLUSÃO.....	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
CAPÍTULO III - CONTROLE DE <i>SCLEROTINIA SCLEROTIORUM</i> POR <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-402.....	62
RESUMO.....	62
ABSTRACT.....	63
1 INTRODUÇÃO.....	64
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	65
2.1 Testes de detecção de compostos orgânicos voláteis (COV's).....	66
2.1.1 Análise estatística.....	66
2.2 Testes de identificação da produção de oxalato-oxidase por <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-402.....	66
2.2.1 Teste de identificação da produção de oxalato-oxidase por <i>B. amyloliquefaciens</i> CN-402 contra escleródios de <i>S. sclerotiorum</i>	66
2.2.2 Teste de identificação da produção de oxalato-oxidase por <i>B. amyloliquefaciens</i> CN-402 contra micélio de <i>S. sclerotiorum</i>	67
2.2.3 Avaliação da germinação carpogênica de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	67
2.3 Análise estatística.....	68
3 RESULTADOS.....	68
3.1 Produção de compostos orgânicos voláteis (COV's).....	68
3.2 Produção de oxalato-oxidase para escleródios de <i>S. sclerotiorum</i>	70
3.3 Produção de oxalato-oxidase para micélio de <i>S. sclerotiorum</i>	71
3.4 Controle de escleródios por <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-402.....	72
4 DISCUSSÃO.....	74
5 CONCLUSÃO.....	75
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76
CONCLUSÃO GERAL.....	79

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402. A – Microscopia de coloração de gram, células bacterianas no formato de bastonetes (b) no aumento de 100x. B – Colônias em meio TSA. C – Colônias em meio HiCrome..... 27
- FIGURA 2 Traços funcionais de *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402. A – Solubilização de fosfato de alumínio. B – Ausência de solubilização de fosfato de cálcio. C – Solubilização de fosfato de ferro. D – Produção de AIA em meio líquido. E – Produção de fosfatase. F – Produção de amilase. G – Produção de protease. H - Produção de celulase. I - Produção de pectinase. J – Ausência de crescimento bacteriano no meio seletivo para avaliação de quitinase. K - Produção de catalase..... 28
- FIGURA 3 Ensaio de confronto direto de *B. amyloliquefaciens* CN-402 contra fungos fitopatogênicos em meio ágar triptona de soja. A – *Sclerotinia sclerotiorum*. B – *Fusarium oxysporum*. C – *Fusarium solani*. D – *Fusarium graminearum*. E - *Macrophomina phaseolina*. F – *Phomopsis sojae*. G – *Corynespora cassiicola*. H – *Colletotrichum truncatum*. I – *Rhizoctonia solani*. J – *Trichoderma harzianum* IBLF1917..... 47
- FIGURA 4 Ensaio de confronto direto de *B. amyloliquefaciens* CN-402 contra fungos fitopatogênicos em meio batata dextrose ágar. A – *Sclerotinia sclerotiorum*. B – *Fusarium oxysporum*. C – *Fusarium solani*. D – *Fusarium graminearum*. E - *Macrophomina phaseolina*. F – *Phomopsis sojae*. G – *Corynespora cassiicola*. H – *Colletotrichum truncatum*. I – *Rhizoctonia solani*. J – *Trichoderma harzianum* IBLF1917..... 48
- FIGURA 5 Ensaio de germinação de sementes de soja tratadas com *B. amyloliquefaciens* CN-402 contra fungos fitopatogênicos em areia. Imagem à esquerda corresponde ao tratamento controle, imagem à direita corresponde as sementes tratadas com o antagonista. A – Tratamento controle. B – *Sclerotinia sclerotiorum*. C – *Fusarium oxysporum*. D – *Fusarium solani*. E – *Fusarium graminearum*. F - *Macrophomina phaseolina*. G – *Phomopsis sojae*. H – *Corynespora cassiicola*. I – *Colletotrichum truncatum*. J – *Rhizoctonia solani*..... 51

- FIGURA 6 Ensaio de germinação de sementes de soja tratadas com *B. amyloliquefaciens* CN-402 contra fungos fitopatogênicos em placa de Petri. Imagem à esquerda corresponde ao tratamento controle, imagem à direita corresponde as sementes tratadas com o antagonista. Imagem da frente e verso das placas. A – *Sclerotinia sclerotiorum*. B – *Fusarium oxysporum*. C – *Fusarium solani*. D – *Fusarium graminearum*. E – *Macrophomina phaseolina*. F – *Phomopsis sojae*. G – *Corynespora cassiicola*. H – *Colletotrichum truncatum*. I – *Rhizoctonia solani*. J – *Trichoderma harzianum* IBLF1917..... 54
- FIGURA 7 Teste de detecção de produção de compostos orgânicos voláteis (COV's) por *B. amyloliquefaciens* CN-402. A – T1: Controle versus meio de cultura ágar nutriente (NA). B – Controle versus meio de cultura ágar triptona de soja (TSA). C – Micélio de *S. sclerotiorum* versus antagonista em meio de cultura ágar nutriente (NA). D – Micélio de *S. sclerotiorum* versus antagonista em meio de cultura ágar triptona de soja (TSA). E – Escleródio de *S. sclerotiorum* versus antagonista em meio de cultura ágar nutriente (NA). F – Escleródio de *S. sclerotiorum* versus antagonista em meio de cultura ágar triptona de soja (TSA)..... 70
- FIGURA 8 Ensaio de detecção de produção de oxalato-oxidase por *B. amyloliquefaciens* CN-402. A – T1: Antagonista sobre o meio de cultura versus escleródios de *S. sclerotiorum*. B – T2: Escleródios de *S. sclerotiorum* imersos em solução do antagonista. C – Tratamento controle com escleródios *S. sclerotiorum* imersos em água..... 71
- FIGURA 9 Ensaio de detecção de produção de oxalato-oxidase por *B. amyloliquefaciens* CN-402. A – T1: Antagonista sobre o meio de cultura versus micélio de *S. sclerotiorum*. B – T2: Antagonista versus *S. sclerotiorum* em confronto direto. C – Tratamento controle com micélio *S. sclerotiorum*..... 71

FIGURA 10 Ensaio de controle de escleródios de *S. sclerotiorum* em caixa gerbox. A – T1: Tratamento controle com escleródios de *S. sclerotiorum* imersos em água. B – T2: Escleródios de *S. sclerotiorum* imersos em solução de *B. amyloliquefaciens* CN-402. C – T3: *B. amyloliquefaciens* CN-402 aplicado via pulverização sobre os escleródios de *S. sclerotiorum*. D – T4: Escleródios de *S. sclerotiorum* imersos em solução de *T. harzianum* IBLF1917. E – T5: *T. harzianum* IBLF1917 aplicado via pulverização sobre os escleródios de *S. sclerotiorum*..... 72

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Características fisiológicas e bioquímicas de <i>B. amyloliquefaciens</i> CN-402.....	29
TABELA 2	Contrastes para diâmetro médio (DMéd) da colônia fúngica, no teste de confronto direto entre <i>B. amyloliquefaciens</i> CN-402 e fungos fitopatogênicos nos meios BDA e TSA, aos 3, 5 e 7 dias de incubação..	44
TABELA 3	Diâmetro médio (DMéd) da colônia fúngica e Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) no teste de confronto direto entre <i>B. amyloliquefaciens</i> CN-402 e fungos fitopatogênicos nos meios BDA E TSA, aos 3, 5 e 7 dias de incubação.....	45
TABELA 4	Análise de Variância para Diâmetro médio (DMéd) da colônia fúngica no teste de confronto direto entre <i>B. amyloliquefaciens</i> CN-402 e fungos fitopatogênicos nos meios BDA e TSA, aos 3, 5 e 7 dias de incubação..	46
TABELA 5	Porcentagem de sementes germinadas, plântulas emergidas, atacadas e mortas de soja tratadas com <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-402, sob ataque de fungos fitopatogênicos em substrato de areia, aos 7 dias após a semeadura.....	49
TABELA 6	Análise de Variância para porcentagem de sementes germinadas, plântulas emergidas, atacadas e mortas de soja tratadas, com <i>B. amyloliquefaciens</i> CN-402, contra o ataque de fungos fitopatogênicos, em areia 7 dias após a semeadura.....	50
TABELA 7	Contrastes para número de sementes germinadas, plântulas emergidas, plântulas atacadas e plântulas mortas de soja tratadas com <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-402, sob ataque de fungos fitopatogênicos em areia, aos 7 dias após a semeadura.....	50
TABELA 8	Contrastes para diâmetro médio (DMéd) da colônia de fungos fitopatogênicos, número de plântulas de soja normais (PN) e atacadas (PA) tratadas com <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-402 em teste de confronto direto em placa de Petri aos 7 dias após a semeadura.....	52

TABELA 9	Diâmetro médio da colônia (DMéd) e porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de fungos fitopatogênicos, bem como a porcentagem de plântulas de soja normais e infectadas, tratadas com <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-402, em teste de confronto direto em placa de Petri, aos 7 dias após a semeadura.....	52
TABELA 10	A análise de variância (ANOVA) foi realizada para avaliar os efeitos do tratamento com <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-402 sobre o diâmetro médio da colônia fúngica (DMéd), a porcentagem de plântulas de soja normais (PN) e a porcentagem de plântulas atacadas (PA), em teste de confronto direto em placa de Petri, aos 7 dias após a semeadura.....	53
TABELA 11	Valores médios para diâmetro médio (DM) e porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em confrontação em placa com <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-402, nos testes de produção de compostos orgânicos voláteis, nos meios Ágar de triptona de soja (TSA) e Ágar nutriente (NA).....	69
TABELA 12	Análise de Variância para diâmetro médio (DM), aos 7 dias de incubação, de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , em placa com <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-402, nos testes de produção de compostos orgânicos voláteis.....	69
TABELA 13	Análise de Variância para diâmetro médio (DM), aos 7 dias de incubação, de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , em placa com <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-402, nos testes de produção de compostos orgânicos voláteis, nos meios Ágar de triptona de soja (TSA), Ágar nutriente (NA) e Batata dextrose Ágar (BDA).....	69
TABELA 14	Número de escleródios germinados (NEG), porcentagem de germinação miceliogênica (GM) e carpogênica (GC) de escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , aos 28 e 42 dias de incubação, em câmara gerbox com substrato solo-areia úmido.....	72
TABELA 15	Análise de Variância para número de escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> com germinação miceliogênica (GM) e carpogênica (GC), aos 28 e 42 dias de incubação, em câmara gerbox com substrato solo-areia úmido.....	73

TABELA 16	Germinação miceliogênica (GM) de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , aos 28 e 42 dias de incubação, em câmara gerbox com substrato solo-areia úmido	73
TABELA 17	Germinação carpogênica (GC) de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , aos 28 e 42 dias de incubação, em câmara gerbox com substrato solo-areia úmido...	74

RESUMO GERAL

GOMES, L. C., UniRV – Universidade de Rio Verde, fevereiro de 2026. ***Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 no controle de fungos fitopatogênicos da cultura da soja.** Orientador: Prof. Dr. Eduardo Lima do Carmo. Coorientadora: Profa. Dra. Juliana Silva Rodrigues Cabral.

Doenças de plantas são fatores que reduzem a produtividade na cultura da soja, sendo estes: a escolha da variedade, ambiente produtivo, histórico da área e práticas de manejo, que influenciam na ocorrência e severidade de doenças no campo. *Bacillus* sp. constitui gênero de bactérias promotoras de crescimento de plantas, com efeito antagonista atuando por competição, indução de resistência, antibiose, entre outros mecanismos de ação, além de solubilizar nutrientes, sintetizar fitormônios e induzir resistência sistêmica em plantas. Assim, objetivou-se com este projeto analisar os traços de promoção do crescimento vegetal e eficácia do *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 no controle *in vitro* de *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium graminearum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Phomopsis sojae*, *Corynespora cassicola* e *Colletotrichum truncatum*. *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 tem a capacidade de solubilizar fosfato de ferro, alumínio e sintetizar ácido indolacético. Entre as enzimas extracelulares tem capacidade de síntese de fosfatase, amilase, protease, celulase, pectinase e catalase. Os testes bioquímicos demonstraram o potencial de controle de fungos fitopatogênicos por *B. amyloliquefaciens* CN-402 devido a presença de traços funcionais bioquímicos. *B. amyloliquefaciens* CN-402 sendo capaz de inibir o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* e *Corynephora cassicola*. Nos ensaios de germinação, o tratamento das sementes de soja com *B. amyloliquefaciens* CN-402 promoveu redução na ocorrência de plântulas atacadas e mortas para *Sclerotinia sclerotiorum*, mostrando seu potencial promissor como biofungicida de solo, além de ter capacidade antagônica sobre *S. sclerotiorum* através da produção de oxalato-oxidase, que inibiu o desenvolvimento do fungo nos testes em placa de Petri. *B. amyloliquefaciens* CN-402 não produziu compostos orgânicos voláteis, mas demonstrou eficiência de controle, inibindo a germinação de escleródios em cerca de 30% em condições *in vitro*.

Palavras-chave: Biofungicida. Controle biológico. *Glycine max*. Patógenos de plantas.

GENERAL ABSTRACT

GOMES, L. C., UniRV – University of Rio Verde, February 2026. ***Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 in the control of phytopathogenic fungi in soybean crops.** Advisor: Prof. Dr. Eduardo Lima do Carmo. Co-advisor: Prof. Dr. Juliana Silva Rodrigues Cabral.

Plant diseases are a major factor in reduced productivity in soybean cultivation, where factors such as variety selection, growing conditions, the field's history, and management practices influence the occurrence and severity of diseases in the field. *Bacillus* sp. is a genus of plant growth-promoting bacteria with an antagonistic effect that acts through competition, resistance induction, and antibiosis, among other mechanisms of action, in addition to solubilizing nutrients, synthesizing phytohormones, and inducing systemic resistance in plants. The objective of this project was to analyze the plant growth-promoting traits and efficacy of *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 in the in vitro control of *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium graminearum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Phomopsis sojae*, *Corynespora cassiicola*, and *Colletotrichum truncatum*. *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 has the ability to solubilize iron and aluminum phosphate and to synthesize indoleacetic acid. Among its extracellular enzymes, it has the capacity to synthesize phosphatase, amylase, protease, cellulase, pectinase, and catalase. Biochemical tests demonstrate the potential of *B. amyloliquefaciens* CN-402 to control phytopathogenic fungi due to the presence of functional biochemical traits. *B. amyloliquefaciens* CN-402 was able to inhibit the mycelial growth of *Rhizoctonia solani* and *Corynespora cassiicola*. In germination assays, the treatment of soybean seeds with *B. amyloliquefaciens* CN-402 reduced the occurrence of seedlings attacked and killed by *Sclerotinia sclerotiorum*, demonstrating its promising potential as a soil biofungicide, in addition to exhibiting antagonistic activity against *S. sclerotiorum* through the production of oxalate oxidase, which inhibited fungal development in Petri dish tests. *B. amyloliquefaciens* CN-402 did not produce volatile organic compounds but demonstrated control efficacy, inhibiting sclerotia germination by approximately 30% under in vitro conditions.

Keywords: Biofungicide. Biological control. *Glycine max*. Pathogen plants.

1 INTRODUÇÃO GERAL

Fungos fitopatogênicos são importante fator de perda de produtividade nas lavouras, uma vez que esses organismos afetam diretamente as plantas comprometendo seu desenvolvimento (Mais soja, 2022). Assim, a ocorrência desses fungos de solo pode causar prejuízos econômicos a agricultura (Araújo, 2022).

Estima-se que as perdas anuais em rendimento de grãos na cultura, causadas por esses organismos, podem chegar a 11% da produção mundial. Fatores como escolha da variedade, ambiente produtivo, histórico da área e práticas de manejo podem influenciar na ocorrência e severidade das doenças no campo (Bandara, 2020). Outros agentes bióticos como nematoides, ácaros, insetos praga e plantas infestantes, além de fatores abióticos, como a ocorrência de secas, altas temperaturas e qualidade dos solos se somam aos prejuízos ocorridos em cultivos em todo o mundo.

Dentre os gêneros mais comuns amplamente distribuídos nos sistemas agrícolas estão fungos como *Sclerotinia* sp., *Macrophomina* sp., *Fusarium* sp., *Botrytis* sp., *Colletotrichum* sp., *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Verticillium* sp., *Alternaria* sp., *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Puccinia* sp., entre outros, causadores de doenças como tombamentos, podridões radiculares, manchas foliares e necroses, podendo causar redução de até 40% na produtividade das culturas (Tyskiewicz, 2022).

Várias espécies do gênero *Bacillus* tem se mostrado promissoras no controle de doenças de plantas, devido o efeito antagonista que podem exercer sobre fitopatógenos, atuando por competição, indução de resistência, antibiose, entre outros mecanismos de ação, eficientes na supressão desses fungos. Esses microrganismos solubilizam nutrientes, sintetizam fitormônios e diversas outras substâncias capazes de promover o crescimento das plantas, sendo conhecidas como rizobactérias promotoras do crescimento vegetal (RPCV) (Andrade, 2023).

Além disso, *Bacillus* geralmente produzem enzimas hidrolíticas de interesse industrial, como amilases, proteases, celulasas, entre outras. Esses microrganismos liberam enzimas no ambiente para obtenção de nutrientes e energia (Acharya, 2025). Essas enzimas são valiosas em processos de produção de alimentos, detergentes, têxtil, ração e biocombustíveis, sendo obtidas em sua grande parte de processos fermentativos biológicos, pelo uso desses microrganismos (Yao, 2025).

Nesse contexto, objetivou-se com este projeto analisar os traços de promoção do crescimento vegetal e eficácia do *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 no controle *in vitro* de

Sclerotinia sclerotiorum, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium graminearum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Phomopsis sojae*, *Corynespora cassiicola* e *Colletotrichum truncatum*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultura da soja

A Soja (*Glycine max* L. Merrill) é a cultura de maior importância econômica, com área plantada, em torno de 143,8 milhões de hectares, por ano em cerca de 427 milhões de toneladas produzidas na safra 2024-2025, com projeção de estabilidade nos números para a safra 2025-2026 (USDA, 2026).

O Brasil é o maior produtor, com expectativa de colher na safra 25/26, por volta de 176 milhões de toneladas do grão em 48,7 milhões de hectares plantados (CONAB, 2026). A commodity constitui principal fonte de proteína vegetal, sendo utilizada na alimentação humana e composição das rações para produção de proteína animal, como por exemplo: criação de bovinos, suínos, aves e peixes.

Em 2023, Brasil, Estados Unidos e Argentina responderam por 80% da produção mundial, sendo a China a maior consumidora do grão, com cerca de 90 milhões de toneladas importadas em 2023. Segundo Conab (2026), na safra 2024/2025 o Brasil exportou 108 milhões de toneladas.

A produtividade da soja é afetada por inúmeros fatores de origem abiótica e biótica. Dentre os bióticos, a competição com plantas infestantes, ocorrência de pragas e doenças têm o maior potencial de redução do rendimento da cultura. Atualmente, são mencionadas na literatura mais de 300 espécies de microrganismos capazes de causar doenças em soja, o que se deve a intensificação do cultivo da oleaginosa em todo o mundo (Hosseine, 2023).

Estudo feito por Bandara et. al (2020), revelou prejuízo anual na ordem de US\$ 4,55 bilhões nos Estados Unidos, considerando-se o período de 1996 até 2016, devido a ocorrência de doenças na soja, dentre elas, a maioria de origem fúngica, o que reforça o impacto causado por fitopatógenos. Esses valores médios correspondem a 11% da produção de grãos, permitindo dimensionar como os danos causados por doenças impactam financeiramente na produção do grão, reforçando a importância econômica global da fitossanidade para a cultura.

2.2 Fungos Fitopatogênicos presentes no solo

O reino fungi, constitui principal grupo de microrganismos causadores de doenças em plantas, afetando culturas de interesse agrícola, provocando perdas no rendimento e qualidade de grãos e frutos, devido aos danos nas raízes das plantas, causando doenças como murchas, tombamentos e podridões, além de sua alta sobrevivência no ambiente, o que dificulta o controle (AGAPTO, 2021).

Na agricultura, são responsáveis por mais de 70% das doenças de plantas, podendo reduzir a produtividade entre 10 e 40%. *Sclerotinia* sp., *Macrophomina* sp., *Fusarium* sp., *Botrytis* sp., *Colletotrichum* sp., *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Verticillium* sp., *Alternaria* sp., entre outros, pertencentes ao filo Ascomycota, e *Rhizoctonia* sp., *Puccinia* sp., entre outros, ao filo Basidiomycota, constituem os principais gêneros de interesse agrícola (Tyskiewicz, 2022).

2.2.1 *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* e *Fusarium graminearum*

O gênero *Fusarium* compreende fungos saprófitos, endofíticos, parasitas de plantas e animais, que podem infectar diversas partes das plantas, como raízes, caule, folhas e estruturas reprodutivas, causando doenças conhecidas como podridões radiculares, em frutas e grãos e cancrios (Nikitin, 2023).

A maioria das espécies são hemibiotróficas, que inicialmente colonizam o tecido vivo do hospedeiro, podendo eventualmente matar a planta. Com a morte da planta, o organismo passa a consumir os tecidos mortos (necrotrofia). Algumas espécies, atuam como mutualistas ou agentes de biocontrole, outras como entomopatógenos para o controle de insetos, mostrando a diversidade do gênero, com elevada persistência e disseminação no ambiente devido a produção de conídios e estruturas de resistência conhecidas como clamidósporos (Zakaria, 2023).

Fusarium oxysporum é uma das principais espécies de importância agrícola, com capacidade de causar doença em diversas plantas cultivadas em todo o mundo (Boulahouat, 2023). É responsável por doenças vasculares, conhecidas como murcha de Fusarium em plantas como tomateiro (*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*), soja (*F. oxysporum* f. sp. *glycines*), feijoeiro (*F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*), bananeira (*F. oxysporum* f. sp. *cubense*), algodoeiro (*F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) e melancia (*F. oxysporum* f. sp. *niveum*), causando prejuízos importantes nas áreas em que ocorre.

O *Fusarium solani*, mais comum em culturas como soja e batata (*F. solani* f. sp. *glycines*), feijão (*F. solani* f.sp. *phaseoli*) e citrus, causa doença conhecida como podridão vermelha das raízes, que compromete o sistema vascular podendo levar a planta a perder em produtividade e morte (Bahadur, 2021; Coleman, 2016). Segundo Balardin (2005), pode ser disseminado através de sementes e clamidósporos aderidos a superfície e mudas contaminadas.

Fusarium graminearum, mais associado a gramíneas como milho, trigo, aveia, cevada, entre outros, ocorre em condições ambientais de alta umidade, com longos períodos de chuva coincidentes com a floração das culturas. No milho é responsável pela podridão vermelha da espiga levando a perda de rendimento e qualidade, aumentando a porcentagem de grãos ardidos na colheita. Em culturas como trigo e cevada, o principal dano causado é a contaminação dos grãos com micotoxina, já que são usados na alimentação humana, podendo causar intoxicações (Ekwomadu, 2023; Logfren, 2017).

2.2.2 *Macrophomina phaseolina*

Conhecida como podridão cinzenta do caule, *Macrophomina phaseolina* está associada a condições de altas temperaturas e baixa umidade no solo, podendo ocorrer redução de produtividade de até 100% (Marquez, 2021). É capaz de infectar espécies cultivadas como soja, feijão, girassol, amendoim, algodão, milho, sorgo, entre outras.

É uma doença vascular, infectando a planta pelas raízes e colo. Segundo Almeida (2014), sua disseminação no solo ocorre pela produção de picnídios e micro escleródios nos tecidos colonizados, que por sua vez, aumentam a persistência do fungo no ambiente. É também saprófita, sobrevivendo em restos culturais na ausência do hospedeiro.

Em soja, os sintomas podem variar de acordo com a idade da planta, no momento da infecção, observando-se lesões superficiais de coloração marrom-escura na região do colo em plantas jovens. As plantas que sobrevivem a infecção inicial têm amarelecimento progressivo, levando a murcha, principalmente na fase de enchimento de grãos. Quando ocorre a morte da planta por ocasião da doença as folhas ficam caídas aderidas ao caule, com epiderme solta na região do colo, córtex escurecido e pontuações negras caracterizadas pela formação dos microescleródios. Sua ocorrência apresenta-se de forma desuniforme ou em reboleiras devido a distribuição dos propágulos no ambiente (Almeida *et al.*, 2014).

2.2.3 *Rhizoctonia solani*

Rhizoctonia solani, causadora da podridão radicular, é um fungo necrotrófico distribuído em áreas agrícolas, atacando diversas culturas de interesse agrícola (Ajayi-Oyetunde, 2018). É separada em grupos geneticamente distintos e incompatíveis, chamados grupos de anastomose, de acordo com sua especificidade de hospedeiros.

Ataca as plantas desde a germinação causando podridão de sementes, raízes e lesões necróticas escuras no hipocótilo (podridão de colo), podendo levar a planta a morte, o que reduz o estande inicial de plantas, impactando no rendimento final de grãos da cultura.

2.2.4 *Sclerotinia sclerotiorum*

O mofo-branco é a doença com capacidade de infectar mais de 600 espécies de plantas. O agente causal da doença é o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, fitopatogênico e necrotrófico, que se manifesta em qualquer parte da planta com abundante formação de micélio cotonoso de coloração branca, característica que dá origem ao nome comum (Schmmoler, 2021; Ferreira, 2023). Ocorre com maior intensidade em regiões com temperaturas noturnas inferiores a 20°C e alta umidade relativa do ar (Vaz, 2023).

Sclerotinia sp. tem capacidade de sobrevivência no solo, produzindo estruturas de resistência chamadas escleródios, que podem persistir por vários anos, aguardando condições ideais para germinar e infectar novo hospedeiro (Rissato, 2017). Após a infecção da planta, a doença é de difícil controle, podendo levá-la à morte. As estratégias de manejo devem focar na prevenção, impedindo que o fungo contamine novas áreas e redução do inóculo presente (Meyer et al., 2020).

Em soja, a infecção ocorre de forma indireta pela germinação dos escleródios presentes no solo. O escleródio emite corpos de frutificação chamados apotécios que produzem os ascósporos, que por sua vez são levados pelo vento até as flores, folhas e pecíolos, preferencialmente de tecidos senescentes. Ao germinar, o fungo secreta uma série de enzimas como celulasas, pectinases e proteases que degradam o tecido vegetal, iniciando a colonização do hospedeiro. O patógeno produz também ácido oxálico, responsável por acidificar o meio facilitando a degradação das paredes celulares por enzimas hidrolíticas e impedir a ativação das defesas do hospedeiro (Westrick, 2019; Ranjan, 2019).

As perdas de produtividade na cultura da soja podem chegar a 70%, estando a doença presente em cerca de 28% das áreas brasileiras cultivadas (Meyer et al., 2020). As estratégias

de manejo da doença devem focar na prevenção, impedindo que o fungo entre na área por meio de maquinário ou sementes contaminadas, e redução do inóculo presente na área, uma vez que após a infecção a doença é de difícil controle, levando a planta a morte antes de completar o ciclo produtivo (Meyer, 2015).

O uso de fungicidas químicos de forma preventiva quanto curativa, tem se mostrado uma alternativa de baixa viabilidade para o controle de mofo-branco, devido a limitações como tecnologias de aplicação e eficácia dos princípios ativos (Schmmoler, 2021). O impacto ambiental devido a alta toxicidade e persistência dessas moléculas no ambiente torna essa prática insustentável reduzindo a microbiota do solo (Nascimento, 2016).

2.3 Fungos fitopatogênicos causadores de manchas foliares

Fungos fitopatogênicos que atacam folhas, caules, flores e frutos são responsáveis por grande parte das perdas na agricultura, causando manchas foliares, ferrugens, murchas, podridões e desfolha precoce. A parte aérea é vulnerável a esporos dispersos pelo ar, água de chuva e práticas de cultivo. Mais de 19.000 espécies de fungos causam doenças em culturas, muitas delas em folhas (manchas, ferrugens, míldios, antracnoses, requeimas) e ramos (cancros e necroses) (Jain, 2019).

Segundo Doehlemann (2017) e Fallahi (2025), os gêneros mais comuns encontrados nos cultivos são *Colletotrichum* sp. (antracnoses), *Fusarium* sp. (murchas, podridões de colmo e de frutos), *Alternaria* sp. (manchas foliares), *Puccinia* sp. (ferrugens), *Pyrenophora* sp. e *Phytophthora* sp. causando requeimas, podridão de frutos e necroses de ramos.

2.3.1 *Phomopsis sojae*

Conhecida como podridão seca, ou seca da haste, *Phomopsis sojae* causa danos na cultura da soja, ocasionando a morte prematura de estruturas como caules e vagens, afetando também as sementes, reduzindo o rendimento de grãos. Podem ser disseminadas para novas áreas por sementes contaminadas e água da chuva na lavoura (Vidic, 2011).

Caracteriza-se pela formação de picnídios sobre os tecidos infectados, utilizando restos culturais como substrato para crescimento, disseminação e sobrevivência. A contaminação das sementes ocorre pelo contato com esporos e hifas produzidos na própria planta, o que afeta a qualidade da semente (Galli, 2006).

2.3.2 *Corynespora cassiicola*

Corynespora cassiicola é um fungo necrotrófico com fases saprofíticas e endofíticas, e ampla gama de hospedeiros. É favorecido por condições ambientais de altas temperaturas e umidade elevada, com alta diversidade genética e fenotípica, com múltiplas linhagens filogenéticas e grupos especializados em determinados hospedeiros (Rondon, 2021). As principais doenças incluem a mancha alvo da soja, algodão, tomate, pepino, tabaco e queda de folhas da seringueira, causando perdas de produção (Sierra-Orozco, 2023).

Em soja, é caracterizada pela formação de lesões que iniciam como pontuações pardas com um halo amarelado evoluindo para manchas circulares de coloração castanha com anéis concêntricos no centro, devido o fungo matar o tecido para consumir os nutrientes. A infecção por *C. cassiicola* causa desfolha precoce, podendo em alguns casos matar a planta, reduzindo a área fotossinteticamente ativa, afetando a produtividade.

2.3.3 *Colletotrichum truncatum*

Conhecido como antracnose na soja, é uma doença disseminada principalmente por sementes, capaz de causar perdas em produtividade de até 50% em condições mais severas. É um fungo hemibiotrófico que pode causar tombamento de plântulas, lesões necróticas nos cotilédones, caule, pecíolo e nervuras das folhas, além de atacar vagens, evoluindo para podridão de sementes (BoufleuR, 2021).

Pode-se desenvolver de forma latente nos tecidos não manifestando sintomas até fases mais avançadas de desenvolvimento da planta, dependendo das condições edafoclimáticas. O fungo sobrevive principalmente em restos culturais e se dissemina através de sementes (Perez, 2023), podendo também infectar raízes formando conídios que permanecem no solo aguardando condições favoráveis para seu desenvolvimento (Rogério, 2017).

2.4 Controle biológico na agricultura

Uma ferramenta que vem ganhando espaço na agricultura é a utilização de bioinsumos (Russi, 2024). Esses organismos podem ser aplicados com diversas finalidades, como controle de pragas e doenças, controle de nematoides, solubilização de nutrientes, promoção de crescimento, proteção contra estresses abióticos, dentre outros.

Para o controle de doenças principalmente de solo, como tombamentos e podridões de colo, existem microrganismos no mercado como os do gênero *Trichoderma* sp. (Schmmoler, 2021) e *Bacillus* sp. Devido à baixa eficiência e alto custo do controle químico e impacto ambiental, torna-se necessário estudar alternativas de controle, sendo utilizadas como novas estratégias para reduzir prejuízos.

2.4.1 *Bacillus* sp. e traços de promoção do crescimento vegetal

Bacillus sp. compreende um gênero de bactérias em forma de bastonetes, gram-positivas, generalistas e cosmopolitas do solo, encontradas livres ou associadas ao sistema radicular das plantas, sendo consideradas rizosféricas quando colonizam a superfície da raiz, ou endofíticas, quando vivem no interior dos tecidos vegetais, podendo ter ação de promoção de crescimento de plantas (Araújo, 2008).

Produzem estrutura de resistência chamada endósporo, uma cápsula composta de peptideoglicanos e proteínas que envolve o material genético da bactéria, capaz de resistir a condições ambientais adversas, formando novas células, o que facilita o desenvolvimento de produtos comerciais, devido a facilidade de multiplicação, elevado tempo de prateleira e ausência de necessidade de refrigeração de produtos comerciais (Schmmoler, 2021).

São capazes de sintetizar substâncias que interagem de forma positiva com o ambiente e plantas, como fitormônios, enzimas, antibióticos, dentre outros, atuando como antagonistas, controlando patógenos por múltiplos mecanismos de ação ou promovendo o crescimento de plantas (Silva, 2022).

Um dos mecanismos conhecidos de *Bacillus* sp. no controle de fitopatógenos é a produção de metabólitos secundários, como por exemplo lipopeptídeos, que podem atuar como antibióticos, com amplo espectro de ação sobre fungos. Essas substâncias podem induzir resistência sistêmica nas plantas, fazendo com que seja produzida mais lignina na parede celular, dificultando a penetração do patógeno (Abreu *et al.*, 2022).

Além disso, podem potencializar a ação antifúngica de outras substâncias, como o exemplo das surfactinas (Torres *et al.*, 2016). Essas substâncias têm baixa ação antibiótica, porém aumentam a ação de outras substâncias produzidas em conjunto. Dentre as substâncias mais conhecidas e estudadas, estão surfactinas, iturinas e fengicinas (Abreu *et al.*, 2022). Bactérias do gênero *Bacillus* sp., geralmente produzem grandes quantidades de enzimas hidrolíticas (amilases, proteases, celulasas, entre outras). Esses microrganismos liberam enzimas extracelulares no ambiente para obter nutrientes utilizados no seu metabolismo,

realizando a quebra de moléculas como celulose, quitina, lignina e proteínas, e disponibilização de nutrientes como nitrogênio, fósforo e enxofre (Acharya, 2025).

Essas enzimas são estáveis em ampla faixa de pH e temperatura, o que as torna valiosas em processos industriais. Por esse motivo, são alguns dos principais microrganismos utilizados na fabricação de enzimas extracelulares em indústrias de alimentos, detergentes, têxtil, ração e biocombustíveis (Yao, 2025).

Segundo Acharya (2025), as amilases, divididas em vários grupos com locais específicos de atuação, são utilizadas na quebra de carboidratos de cadeia mais longa por meio da hidrólise de polissacarídeos em açúcares menores. Além de bactérias e fungos, são encontradas também em todos os animais, sendo utilizadas de forma intra e extracelular por microrganismos, especialmente *Bacillus*, para obtenção de energia para o seu metabolismo.

Já as proteases, são empregadas em processos de proteólise, quebrando as ligações peptídicas das proteínas. São divididas em três principais grupos, proteases ácidas, neutras e alcalinas, sendo as alcalinas importantes em processos industriais, devido a sua elevada termo estabilidade (Acharya, 2025).

Segundo Yao (2025), celulasas são biocatalisadores de alta atividade, utilizados na quebra de celulose em açúcares, sendo uma das enzimas mais utilizadas em processos industriais, sendo empregada pelos microrganismos para obtenção de energia, e controle de fitopatógenos, degradando a parede celular dos fungos, o que causa danos estruturais e facilita a penetração do antagonista, muitas vezes atuando em conjunto com quitinases.

As quitinases são produzidas por diversos microrganismos com a finalidade de degradar a quitina presente em exoesqueletos de insetos, auxiliando na penetração no hospedeiro (Aktuganov, 2025). Vale ressaltar que as quitinas têm alto potencial de controle de insetos e nematoides, já que a cutícula desses organismos é composta majoritariamente de quitina, agindo como inseticidas e nematicidas (Gomma, 2012).

Alguns estudos relatam também, o sinergismo das quitinases com outras enzimas, como proteases e glucanases, potencializando os efeitos antimicrobianos, o que torna microrganismos capazes de produzir maior gama dessas enzimas, mais promissores para aplicação como ferramentas de controle biológico (Ajuna, 2023.)

A pectina é um polissacarídeo complexo, participando como componente estrutural da parede celular dos tecidos de plantas. A degradação dessa molécula é um dos fatores na fitossimbiose e fitopatogenicidade fúngica, sendo um dos principais mecanismos de colonização e obtenção de fontes de carbono (Schmitz, 2019).

As pectinases são produzidas por fungos e bactérias para infectar plantas, usando a enzima para degradar e colonizar os tecidos vegetais (Annis, 1997; Kubicek, 2014), sendo descritas como importante fator de virulência para fitopatógenos, estando presentes em estruturas especializadas de penetração, como por exemplo haustórios e apressórios (Mishra, 2023), presentes em diversos fungos fitopatogênicos.

As pectinas estão presentes em microrganismos benéficos, como mecanismo de relações simbióticas com as plantas, sendo secretadas para a degradação da parede celular, da qual obtém-se açúcares empregados como fonte de carbono, permitindo seu estabelecimento e desenvolvimento na colonização do hospedeiro. Algumas pectinases produzidas por *Bacillus* sp. nas raízes, sintetizam subprodutos que ativam defesas sistêmicas na planta, contra patógenos na parte aérea, porém, a nível local a resposta é mais fraca, o que permite a colonização do simbionte sem danos ao hospedeiro (Hugovieux, 2014; Boubsi, 2025).

Algumas espécies de *Bacillus* sp. podem produzir enzimas como celulases, xilases e quitinases em conjunto com as pectinases, atuando de forma antagônica sobre fitopatógenos na competição por espaço e substrato no ambiente (Khan, 2018).

A catalase é comumente encontrada no perfil bioquímico de bactérias empregadas no controle de fungos fitopatogênicos, mesmo não tendo diretamente ação antifúngica, desempenhando papel em seu metabolismo oxidativo (Yuan, 2021). Essa enzima também atua no metabolismo antioxidante de plantas, degradando o excesso de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) formado nas células das plantas em condições de estresse biótico (ataque de fitopatógenos) e abiótico (secas e altas temperaturas), sendo produzida pela própria planta e podendo ser fornecida por microrganismo exógenos associados a elas (Saeed, 2023).

Apesar da complexidade da composição da parede celular dos fungos fitopatogênicos, seus componentes são alvos para a aplicação de agentes de biocontrole, destacando-se o uso de microrganismos capazes de produzir enzimas hidrolíticas como proteases, lipases, celulases, glucanases, entre outras, que vão agir diretamente sobre os componentes das membranas, alterando suas características, prejudicando ou paralisando o crescimento do patógeno (Melo, 2000).

Fungos e bactérias promotoras do crescimento têm mecanismos de solubilização do fósforo do solo, como a produção de enzimas extracelulares (fosfatases) e ácidos orgânicos (ácido glucônico, ácido cítrico, ácido lático, ácido oxálico, ácido acético, entre outros) (Saeid, 2018), sendo alternativas frente a limitações de fontes aplicadas como fertilizantes devido a sua solubilidade e imobilização no solo, custo dos fertilizantes e possível escassez, devido a limitação das reservas presentes no mundo (Khan, 2023).

Segundo Han (2024), essa capacidade está ligada a nutrição e promoção de crescimento de plantas (PGPR), com maior disponibilização do fósforo, deixando o elemento em formas absorvíveis pelas plantas. Grande parte do fósforo no solo está ligado à matéria orgânica na forma de ésteres de fosfato e fitatos, ou precipitados na forma de fosfatos de cálcio em solos alcalinos, e fosfatos de ferro e alumínio em solos ácidos. A maioria das bactérias tem capacidade tanto de solubilizar o fósforo inorgânico, quanto mineralizar fontes orgânicas do elemento.

Como principal mecanismo de ação, elas secretam uma variedade de ácidos orgânicos, que quebram as ligações dos cátions (Ca^{2+} , Fe^{3+} e Al^{3+}) com os fosfatos, deixando o ortofosfato disponível na solução do solo (Han, 2024). Além disso, esses microrganismos produzem fosfatases de três tipos, ácidas, alcalinas e fitases, responsáveis por hidrolisar as formas orgânicas do fósforo no solo. No entanto, a produção dessas enzimas é regulada pela disponibilidade do nutriente na solução do solo (Timofeeva, 2023).

A combinação de mecanismos de biocontrole e produção de fosfatases por bactérias pode resultar em menor severidade de doenças devido aos efeitos promovidos pela maior disponibilidade de fósforo para a planta e maior acúmulo de biomassa (Jan, 2023; Pengproh, 2023; Petkova, 2024; Figueiredo, 2025).

A capacidade de promover crescimento em plantas envolve vários mecanismos de ação, que podem atuar de forma indireta, como por exemplo, a solubilização de nutrientes, fixação biológica de nitrogênio, controle de fitopatógenos e indução de resistência, quanto direta, sintetizando fitormônios que estimulam o crescimento. Essas bactérias são denominadas PGPR, sigla em inglês (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) para rizobactérias promotoras do crescimento vegetal (De Andrade, 2023).

Dentre os fitormônios sintetizados por microrganismos benéficos, destacam-se as giberelinas, importantes em processos como a germinação das sementes e alongamento do caule, auxinas, como o ácido indolacético (AIA), que estimulam o crescimento vegetal, principalmente das raízes e citocininas, que dentre muitas funções estimulam a divisão celular e atrasam a senescência foliar (Tsoetsi, 2022).

A síntese de ácido indol-3-acético por bactérias do gênero *Bacillus* sp., geralmente ocorre a partir do aminoácido triptofano exsudado pelas raízes das plantas. Rotas metabólicas envolvendo enzimas bacterianas convertem os triptofano em precursores da auxina como indol-3-piruvato (IPyA), indol-3-acetamida (IAM) e triptamina (TAM), transformando-as até gerar AIA ativo, que fica disponível para a planta (Kejela, 2024).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, L. D. P. S. *et al.* Alternativa sustentável de uso da *Bacillus amyloliquefaciens* no biocontrole de fungos fitopatogênicos: uma revisão. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 16, n. 1, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.18316/rca.v16i1.8339>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- ACHARYA, A. *et al.* Efficient extraction and optimization of amylase and protease from *Bacillus* species: a comprehensive study. **Journal of Applied Research in Plant Sciences**, v. 6, n. 1, p. 34–47, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.25131.14883>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- AGÁPTO, J. P. *et al.* Fungos fitopatogênicos de solo em sistemas agroflorestais: revisão de literatura. **Diversitas Journal**, v. 6, n. 3, p. 3052–3079, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.48017/Diversitas_Journal-v6i3-1787. Acesso em: 5 jan. 2026.
- AJAYI-OYETUNDE, O. O.; BRADLEY, C. A. *Rhizoctonia solani*: taxonomy, population biology and management of rhizoctonia seedling disease of soybean. **Plant Pathology**, v. 67, n. 1, p. 3–17, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ppa.12733>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- AJUNA, H. B. *et al.* The prospect of hydrolytic enzymes from *Bacillus* species in the biological control of pests and diseases in forest and fruit tree production. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 23, p. 16889, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms242316889>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- AKTUGANOV, G. *et al.* Comparative potential of chitinase and chitosanase from the strain *Bacillus thuringiensis* B-387 for the production of antifungal chitosan oligomers. **BioTech**, v. 14, n. 2, p. 35, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biotech14020035>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- ALMEIDA, Á. M. R. *et al.* **Macrophomina phaseolina em soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 55 p. (Embrapa Soja. Documentos, 346).
- ANNIS, S. L.; GOODWIN, P. H. Recent advances in the molecular genetics of plant cell wall-degrading enzymes produced by plant pathogenic fungi. **European Journal of Plant Pathology**, v. 103, n. 1, p. 1–14, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1008656013255>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- ARAUJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras, e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p. 456–462, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542008000200017>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- ARAÚJO, M. C. J. **Avaliação da eficiência de fungicidas no controle de mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) na cultura da soja**. 2022. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/35256>. Acesso em: 5 jan. 2026.

BAHADUR, A. Current status of *Fusarium* and their management strategies. In: ***Fusarium – an overview of the genus***. London: IntechOpen, 2021.

BANDARA, A. Y. *et al.* Dissecting the economic impact of soybean diseases in the United States over two decades. **PLOS One**, v. 15, n. 4, p. e0231141, 2020.

Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231141>. Acesso em: 5 jan. 2026.

BOLETIM DA SAFRA DE GRÃOS 2025/2026. Acompanhamento da safra brasileira de grãos, v. 13, safra 2025/26, n. 4, quarto levantamento, jan. 2026. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB, 2026. Disponível em: <https://www.gov.br/conab/pt-br/atuacao/informacoes-agropecuarias/safra/safra-de-graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 5 jan. 2026.

BOUBSI, F. *et al.* Pectin-derived oligogalacturonides shape mutualistic interactions between *Bacillus* and its host plant. **The ISME Journal**, v. 19, n. 1, p. wraf232, 2025.

Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ismejo/wraf232>. Acesso em: 5 jan. 2026.

BOUFLEUR, T. R. *et al.* Soybean anthracnose caused by *Colletotrichum* species: current status and future prospects. **Molecular Plant Pathology**, v. 22, n. 4, p. 393–409, 2021.

Disponível em: <https://doi.org/10.1111/mpp.13036>. Acesso em: 5 jan. 2026.

BOULAHOUAT, S. *et al.* Biocontrol efficiency of rhizospheric *Bacillus* against the plant pathogen *Fusarium oxysporum*: a promising approach for sustainable agriculture.

Microbiology Research, v. 14, n. 3, p. 892–908, 2023. Disponível em:

<https://doi.org/10.3390/microbiolres14030062>. Acesso em: 5 jan. 2026.

COLEMAN, J. J. The *Fusarium solani* species complex: ubiquitous pathogens of agricultural importance. **Molecular Plant Pathology**, v. 17, n. 2, p. 146–158, 2016.

Disponível em: <https://doi.org/10.1111/mpp.12289>. Acesso em: 5 jan. 2026.

DE ANDRADE, L. A. *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production. **Microorganisms**, v. 11, n. 4, p. 1088, 2023. Disponível em:

Acesso em: 5 jan. 2026.

DOEHLEMANN, G. *et al.* Plant pathogenic fungi. In: ***The fungal kingdom***. Washington, DC: ASM Press, 2017. p. 701–726.

EKWOMADU, T. I.; MWANZA, M. *Fusarium* fungi pathogens, identification, adverse effects, disease management, and global food security: a review of the latest research.

Agriculture, v. 13, n. 9, p. 1810, 2023. Disponível em:

<https://doi.org/10.3390/agriculture13091810>. Acesso em: 5 jan. 2026.

FALLAHI, M. *et al.* Pathogenic fungi (Sordariomycetes) associated with annual and perennial crops in Northern Thailand. **MycoKeys**, v. 117, p. 191, 2025. Disponível em:

<https://mycokeys.pensoft.net/article/137112/>. Acesso em: 5 jan. 2026.

FERREIRA, A. C. A. *et al.* Atualizações nas recomendações e sucesso do manejo de mofo branco em soja na região de Rio Verde-GO. 2023. Disponível em:

<https://repositorio.ifgoiano.edu.br/handle/prefix/3640>. Acesso em: 5 jan. 2026.

FIGUEIREDO, J. E. F. *et al.* *Bacillus velezensis* CNPMS-22 as biocontrol agent of pathogenic fungi and plant growth promoter. **Frontiers in Microbiology**, v. 16, p. 1522136, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1522136>. Acesso em: 5 jan. 2026.

GALLI, J. A.; PANIZZI, R. C.; VIEIRA, R. D. Efeito de *Colletotrichum dematium* var. *truncata* e *Phomopsis sojae* na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja. **Summa Phytopathologica**, v. 33, p. 40–46, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052007000100006>. Acesso em: 5 jan. 2026.

GOMAA, E. Z. Chitinase production by *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus licheniformis*: their potential in antifungal biocontrol. **The Journal of Microbiology**, v. 50, n. 1, p. 103–111, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12275-012-1343-y>. Acesso em: 5 jan. 2026.

HAN, S. E.; KIM, K. Y.; MAUNG, C. E. H. *Bacillus subtilis* PE7-mediated alleviation of phosphate starvation and growth promotion of netted melon (*Cucumis melo* L. var. *reticulatus* Naud.). **Microorganisms**, v. 12, n. 12, p. 2384, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms12122384>. Acesso em: 5 jan. 2026.

HOSSEINI, B.; VOEGELE, R. T.; LINK, T. I. Diagnosis of soybean diseases caused by fungal and oomycete pathogens: existing methods and new developments. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 5, p. 587, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof9050587>. Acesso em: 5 jan. 2026.

HUGOUVIEUX-COTTE-PATTAT, N.; CONDEMINE, G.; SHEVCHIK, V. E. Bacterial pectate lyases, structural and functional diversity. **Environmental Microbiology Reports**, v. 6, n. 5, p. 427–440, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12166>. Acesso em: 5 jan. 2026.

JAN, F. *et al.* In vitro assessment of *Bacillus subtilis* FJ3 affirms its biocontrol and plant growth-promoting potential. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1205894, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1205894>. Acesso em: 5 jan. 2026.

JAIN, A. *et al.* A review of plant leaf fungal diseases and its environment speciation. **Bioengineered**, v. 10, n. 1, p. 409–424, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/21655979.2019.1649520>. Acesso em: 5 jan. 2026.

KEJELA, T. Phytohormone-producing rhizobacteria and their role in plant growth. In: **New insights into phytohormones**. London: IntechOpen, 2024.

KHAN, N. *et al.* Antifungal activity of *Bacillus* species against *Fusarium* and analysis of the potential mechanisms used in biocontrol. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 2363, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02363>. Acesso em: 5 jan. 2026.

KUBICEK, C. P.; STARR, T. L.; GLASS, N. L. Plant cell wall-degrading enzymes and their secretion in plant-pathogenic fungi. **Annual Review of Phytopathology**, v. 52, n. 1, p. 427–451, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045831>. Acesso em: 5 jan. 2026.

LOFGREN, L. A. *et al.* *Fusarium graminearum*: pathogen or endophyte of North American grasses? **New Phytologist**, v. 217, n. 3, p. 1203–1212, 2018.

Disponível em: <https://doi.org/10.1111/nph.14894>. Acesso em: 5 jan. 2026.

MAIS SOJA. Principais doenças da soja e perdas potenciais. 2019. Disponível em:

<https://maissoja.com.br/principais-doencas-da-soja-e-perdas-potenciais/>. Acesso em: 13 jul.

2023. Disponível em: <https://maissoja.com.br/principais-doencas-da-soja-e-perdas-potenciais/>.

Acesso em: 5 jan. 2026.

MARQUEZ, N. *et al.* *Macrophomina phaseolina*: general characteristics of pathogenicity and methods of control. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 634397, 2021.

Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.634397>. Acesso em: 5 jan. 2026.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle biológico**. v. 2. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000.

MEYER, M. C. *et al.* **Ensaio cooperativos de controle químico de mofo branco na cultura da soja: safras 2009 a 2012**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 100 p.

MEYER, M. C. *et al.* Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2019/2020: resultados sumarizados dos experimentos cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, 2020. (**Circular Técnica, n. 165**). Disponível em:

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/217684/1/Circ-Tec165.pdf>. Acesso em: 12 out. 2023.

MISHRA, A. K. *et al.* Diversity and industrial applications of fungal pectinases. 2023.

RONDON, M. N.; LAWRENCE, K. The fungal pathogen *Corynespora cassiicola*: a review and insights for target spot management on cotton and soybean. **Journal of Phytopathology**,

v. 169, n. 6, p. 329–338, 2021. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-fungal-pathogen-Corynespora-cassiicola/8ffb9687c185beee44654febd7b6ba37f1a8d6e9>.

Acesso em: 5 jan. 2026.

NASCIMENTO, S. R. C. *et al.* Sobrevivência de estruturas de resistência de *Macrophomina phaseolina* e *Sclerotium rolfsii* em solo tratado biologicamente. **Revista Agro@ambiente Online**,

v. 10, n. 1, p. 50–56, 2016. Disponível em: [https://doi.org/10.18227/1982-](https://doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v10i1.2947)

[8470ragro.v10i1.2947](https://doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v10i1.2947). Acesso em: 5 jan. 2026.

NIKITIN, D. A. *et al.* Diversity, ecological characteristics and identification of some

problematic phytopathogenic *Fusarium* in soil: a review. **Diversity**, v. 15, n. 1, p. 49, 2023.

Disponível em: <https://doi.org/10.3390/d15010049>. Acesso em: 5 jan. 2026.

PENGPROH, R. *et al.* Evaluation and genome mining of *Bacillus stercoris* isolate B. PNR1 as potential agent for fusarium wilt control and growth promotion of tomato. **The Plant Pathology Journal**,

v. 39, n. 5, p. 430, 2023.

Disponível em: <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.01.2023.0018>. Acesso em: 5 jan. 2026.

PÉREZ, L. *et al.* Influence of *Colletotrichum truncatum* on the physiological and chemical quality in different varieties of soy seed. **Agricultural Sciences**, v. 14, n. 10, p. 1393–1404, 2023. Disponível em: <https://www.scirp.org/journal/paperinformation?paperid=128631>. Acesso em: 5 jan. 2026.

PETKOVA, M. *et al.* Plant growth-promoting and biocontrol characteristics of four *Bacillus* strains and evaluation of their effects on wheat (*Triticum aestivum* L.). **International Journal of Plant Biology**, v. 16, n. 1, p. 1, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijpb16010001>. Acesso em: 5 jan. 2026.

RANJAN, A. *et al.* Resistance against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean involves a reprogramming of the phenylpropanoid pathway and up-regulation of antifungal activity targeting ergosterol biosynthesis. **Plant Biotechnology Journal**, v. 17, n. 8, p. 1567–1581, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/pbi.13082>. Acesso em: 5 jan. 2026.

RISSATO, B. B. *et al.* Atividade *in vitro* sobre *Sclerotinia sclerotiorum*, indução em mecanismos bioquímicos de defesa e controle de mofo branco em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) por soluções homeopáticas. 2017. Disponível em: <https://tede.unioeste.br/handle/tede/3208>. Acesso em: 5 jan. 2026.

ROGÉRIO, F. *et al.* Phylogeny and variability of *Colletotrichum truncatum* associated with soybean anthracnose in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 122, n. 2, p. 402–415, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jam.13346>. Acesso em: 5 jan. 2026.

RUSSI, A. Desenvolvimento de bioformulações contendo endósporos de *Bacillus velezensis* S26 para controle biológico de doenças e promoção do crescimento vegetal. 2024. Disponível em: <https://repositorio.ucs.br/items/8f795343-3cc6-4b06-a80b-c86120a103f8>. Acesso em: 5 jan. 2026.

SAEED, S. W. Z. *et al.* *Bacillus* strains with catalase enzyme improve the physiology and growth of rice (*Oryza sativa* L.). **Stresses**, v. 3, n. 4, p. 736–748, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/stresses3040050>. Acesso em: 5 jan. 2026.

SAEID, A.; PROCHOWNIK, E.; DOBROWOLSKA-IWANEK, J. Phosphorus solubilization by *Bacillus* species. **Molecules**, v. 23, n. 11, p. 2897, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules23112897>. Acesso em: 5 jan. 2026.

SCHMITZ, K. *et al.* Spotlight on fungal pectin utilization—from phytopathogenicity to molecular recognition and industrial applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 6, p. 2507–2524, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09622-4>. Acesso em: 5 jan. 2026.

SCHMOLLER, I. *et al.* **Biocontrole com *Trichoderma* e *Bacillus* a *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja**. 2021. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fagro.2023.1275906>. Acesso em: 5 jan. 2026.

SIERRA-OROZCO, E. *et al.* Need for disease resistance breeding against *Corynespora cassiicola* in crops. **Frontiers in Agronomy**, v. 5, p. 1275906, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fagro.2023.1275906>. Acesso em: 5 jan. 2026.

SILVA, M. C. T. S.; FERNANDES, L. M. G.; FIGUEIREDO, A. L. **Efeitos antagônicos de bactérias do gênero *Bacillus* no controle biológico de fungos fitopatogênicos**. 2022. Disponível em: <https://repositorio.ar%20Moreira%20Braga%20Junior%20-%20Disserta%C3%A7%C3%A3o.pdf>. Acesso em: 5 jan. 2026.

TIMOFEEVA, A. M.; GALYAMOVA, M. R.; SEDYKH, S. E. Plant growth-promoting soil bacteria: nitrogen fixation, phosphate solubilization, siderophore production, and other biological activities. **Plants**, v. 12, n. 24, p. 4074, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants12244074>. Acesso em: 5 jan. 2026.

TORRES, M. J. *et al.* Antagonistic effects of *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* and *B. amyloliquefaciens* against *Macrophomina phaseolina*: SEM study of fungal changes and UV-MALDI-TOF MS analysis of their bioactive compounds. **Microbiological Research**, v. 182, p. 31–39, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants11192482>. Acesso em: 5 jan. 2026.

TSOTETSI, T. *et al.* *Bacillus* for plant growth promotion and stress resilience: what have we learned? **Plants**, v. 11, n. 19, p. 2482, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants11192482>. Acesso em: 5 jan. 2026.

TYŚKIEWICZ, R. *et al.* *Trichoderma*: the current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 4, p. 2329, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms23042329>. Acesso em: 5 jan. 2026.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – FOREIGN AGRICULTURAL SERVICE (USDA-FAS). *World Agricultural Production*. Washington, DC: **USDA-FAS**, 2026. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>. Acesso em: 5 jan. 2026.

VAZ, M. H. D. M. **Avaliação de antibiose da bactéria *Bacillus* JAB01 sobre *Sclerotinia sclerotiorum* sob ensaio com soja (*Glycine max* L.) em casa de vegetação**. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrônoma) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2023. Disponível em: <http://educapes.capes.gov.br/handle/11449/244580>. Acesso em: 5 jan. 2026.

VIDIĆ, M. *et al.* *Diaporthe/Phomopsis* species on soybean in Serbia. **Pesticidi i Fitomedicina**, v. 26, n. 4, p. 301–315, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.2298/PIF1104301V>. Acesso em: 5 jan. 2026.

WESTRICK, N. M. *et al.* Gene regulation of *Sclerotinia sclerotiorum* during infection of *Glycine max*: on the road to pathogenesis. **BMC Genomics**, v. 20, n. 1, p. 157, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5517-4>. Acesso em: 5 jan. 2026.

YAO, X. *et al.* Genomic functional analysis and cellulase characterization for the enzyme-producing strain *Bacillus subtilis* Y4X3 isolated from saline–alkaline soil in Xinjiang, China. **Microorganisms**, v. 13, n. 3, p. 552, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms13030552>. Acesso em: 5 jan. 2026.

YUAN, F. *et al.* The richness and diversity of catalases in bacteria. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 645477, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.645477>. Acesso em: 5 jan. 2026.

ZAKARIA, L. *Fusarium* species associated with diseases of major tropical fruit crops. **Horticulturae**, v. 9, n. 3, p. 322, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/horticulturae9030322>. Acesso em: 5 jan. 2026.

CAPÍTULO I

TRAÇOS DE PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL DE *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402

RESUMO

As bactérias do gênero *Bacillus* sp. são amplamente estudadas pela capacidade de sintetizar diversos compostos, dentre eles, vitaminas, aminoácidos e enzimas, muito utilizadas na indústria em processos de produção de alimentos, detergentes, produção têxtil, ração e biocombustíveis. As enzimas extracelulares produzidas por esses microrganismos são liberadas no ambiente com a finalidade de obtenção de nutrientes e energia para o seu metabolismo. Na agricultura, são conhecidos pela capacidade de promover crescimento em plantas, através da solubilização de nutrientes e produção de fitormônios como as auxinas, e capacidade antagônica, devido a produção de metabólitos como antibióticos e diversas enzimas hidrolíticas, que atacam os patógenos, prejudicando sua capacidade de causar doença nas plantas. Objetivou-se com este trabalho analisar os traços de promoção do crescimento vegetal do *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 *in vitro*. *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 tem a capacidade de solubilizar fosfato de ferro e alumínio. Dentre os fitormônios o *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 foi capaz de sintetizar ácido indolacético. Nas enzimas extracelulares confirmou-se a capacidade de síntese de fosfatase, amilase, protease, celulase, pectinase e catalase. Os testes bioquímicos demonstraram o potencial de controle de fungos fitopatogênicos, por *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402, devido a presença de traços funcionais bioquímicos.

Palavras-chave: Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. Controle biológico. fitormônios. Enzimas bacterianas.

ABSTRACT

Bacteria of the genus *Bacillus* sp. are widely studied for their ability to synthesize various compounds, including vitamins, amino acids, and enzymes, which are widely used in industry in the production of food, detergents, textiles, animal feed, and biofuels. The extracellular enzymes produced by these microorganisms are released into the environment to obtain nutrients and energy for their metabolism. In agriculture, they are known for their ability to promote plant growth by solubilizing nutrients and producing phytohormones such as auxins, as well as for their antagonistic effects due to the production of metabolites such as antibiotics and various hydrolytic enzymes, which attack pathogens, impairing their ability to cause disease in plants. The objective of this study was to analyze the plant growth-promoting traits of *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 *in vitro*. *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 has the ability to solubilize iron and aluminum phosphate. Among the phytohormones, *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 was capable of synthesizing indoleacetic acid. Meanwhile, among extracellular enzymes, the ability to synthesize phosphatase, amylase, protease, cellulase, pectinase, and catalase was confirmed. Biochemical tests demonstrate the potential of *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 to control phytopathogenic fungi due to the presence of functional biochemical traits.

Keywords: Plant growth-promoting rhizobacteria. Biological control. Phytohormones. Bacterial enzymes.

1 INTRODUÇÃO

Dentre os microrganismos benéficos, as bactérias do gênero *Bacillus* sp., são amplamente estudadas pela gama de compostos produzidos, como por exemplo vitaminas, aminoácidos e enzimas, muito usadas na indústria geral em processos de produção de alimentos, detergentes, produção têxtil, ração e biocombustíveis. Essas enzimas extracelulares são liberadas no ambiente com a finalidade de obtenção de nutrientes e energia para o seu metabolismo (Acharya, 2025). Na indústria são obtidas em sua grande parte por processos fermentativos desses microrganismos (Yao, 2025).

Na agricultura, são utilizadas pela capacidade de promover crescimento de plantas, através da solubilização de nutrientes e produção de fitormônios, como auxinas e citocininas, capacidade antagonista devido a produção de metabólitos como antibióticos e diversas enzimas hidrolíticas que atacam os patógenos, prejudicando sua capacidade de causar doenças nas plantas, dentre outras funções (Harwood, 2018).

Esses microrganismos liberam enzimas extracelulares no ambiente para obtenção de nutrientes usados no seu metabolismo, realizando a quebra de moléculas como celulose, quitina, lignina e proteínas, e disponibilização de nutrientes como nitrogênio, fósforo e enxofre (Acharya, 2025). Enzimas como amilases e proteases podem agir em conjunto com quitinases e celulasas potencializando o efeito de degradação da parede celular de fungos fitopatogênicos (Ajuna, 2023), o que torna interessante o uso de microrganismos que produzam maior gama desses compostos, elevando o potencial de controle de doenças.

Apesar da complexidade da composição da parede celular dos fungos fitopatogênicos, diversos estudos têm mostrado que seus componentes são alvos promissores para a aplicação de agentes de biocontrole, ressaltando-se o uso de microrganismos capazes de produzir compostos que agirão diretamente sobre os componentes das membranas, alterando suas características estruturais e prejudicando ou paralisando o crescimento do patógeno (Melo, 2000).

Além do efeito antagonista, fungos e bactérias têm capacidade de solubilização de nutrientes, através da produção de fosfatase e ácidos orgânicos que disponibilizam fósforo e outros nutrientes para as plantas, que aliados a produção de fitormônios e indução de resistência promovem o crescimento de plantas (De Andrade, 2023). O conjunto de mecanismos de ação de microrganismos benéficos pode resultar em menor severidade de doenças pela supressão do patógeno e maior desenvolvimento da planta (Jan, 2023; Petkova, 2024; Figueiredo, 2025).

Com isto, objetivou-se com este trabalho analisar os traços de promoção do crescimento vegetal do *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 *in vitro*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Origem de *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402

Bacillus amyloliquefaciens CN-402, de propriedade intelectual da Nooa Ciência e Tecnologia ®, foi cedido a Universidade de Rio Verde - UniRV para este projeto.

Os testes foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Solo da Universidade de Rio Verde.

2.2 Caracterização de *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402

Para caracterização morfológica foi feito o cultivo do isolado bacteriano em meio ágar triptocaseína de soja (TSA) e Hicrome para caracterização da colônia e coloração de gram (Castro, 2025).

2.3 Caracterização dos traços de promoção do crescimento vegetal de *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402

2.3.1 Produção de fosfatase

Meio de cultura triptocaseína de soja (TSA) foi preparado, corrigindo seu pH para 7,3 antes da autoclavagem. Antes de verter, o meio foi adicionado ao volume 2% de uma solução de difosfato de fenolftaleína (5g.L^{-1}), deixando-se as placas incubadas por 24 horas para verificação da ausência de contaminantes. A bactéria foi inoculada retirando-se 1 disco de 9 milímetros de uma placa contendo cultivo puro e adicionando-o ao centro da placa (Romeiro, 2007).

Após 96 horas de incubação a 28°C , adicionou-se a tampa das placas 3 mL de solução de hidróxido de amônio (8,4%), deixando-as incubadas por 15 minutos, em temperatura

ambiente. A produção de fosfatase foi indicada pela formação de halo de coloração rosácea em torno das colônias bacterianas.

2.3.2 Produção de amilase

Foi preparado meio de cultura GL, constituído de glicose (10 g.L^{-1}), extrato de levedura (2 g.L^{-1}) e ágar bacteriológico (15 g.L^{-1}), enriquecido com 1% de amido solúvel (10 g.L^{-1}). A bactéria foi inoculada retirando-se 1 disco de 9 milímetros de uma placa contendo um cultivo puro e adicionando-o ao centro da placa.

Após 96 horas de incubação a 28°C , foram adicionados 3 mL de solução de lugol (1%) por placa, deixando-as incubadas por cinco minutos em temperatura ambiente. A produção da enzima amilase foi confirmada pela descoloração do meio, em torno da colônia (formação de halo), devido à hidrólise do amido, conforme descrito por Coon et al. (1957).

2.3.3 Produção de protease

Utilizou-se meio de cultura constituído por 20 g.L^{-1} de caseína, 5 g.L^{-1} de peptona, 3 g.L^{-1} de extrato de levedura, 10 g.L^{-1} de glicose e 15 g.L^{-1} de ágar, ajustando-se o pH do meio para 5, antes da autoclavagem. A bactéria foi inoculada retirando-se 1 disco de 9 milímetros de uma placa contendo cultivo puro e adicionando-o ao centro desta.

A produção de protease foi confirmada pela descoloração do meio em torno da colônia (formação de halo mais claro), conforme Strauss et al. (2001).

2.3.4 Produção de celulase

Adaptado de Durairaj (2017), foi preparado meio de cultura triptocaseína de soja (TSA) enriquecido com 10 g.L^{-1} de celulose em pó. A bactéria foi inoculada retirando-se 1 disco de 9 milímetros de uma placa contendo um cultivo puro e adicionando-o ao centro da placa.

Após 96 horas de incubação a 28°C , foram adicionados 3 mL de solução vermelho congo a 0,5 % em cada placa, deixando-as incubadas por 15 minutos em temperatura ambiente. Em seguida retirou-se o excesso da solução e adicionou-se 10 ml da solução NaCl 1M, deixando as placas incubadas por 30 minutos. Após esse período, o excesso da solução foi drenado, observando-se a formação de um halo de coloração alaranjada ao redor da colônia bacteriana, o que foi considerado indicativo positivo para a produção de celulase.

2.3.5 Produção de pectinase

Foi utilizado meio de cultura GL, constituído de glicose (10 g.L⁻¹), extrato de levedura (2 g.L⁻¹) e ágar bacteriológico (15 g.L⁻¹), enriquecido com 10 g.L⁻¹ de pectina, adicionada, após a correção do pH do meio para 5, antes da autoclavagem. A bactéria foi inoculada retirando-se 1 disco de 9 milímetros de uma placa contendo um cultivo puro e adicionando-o ao centro da mesma.

Após 96 horas de incubação a 28°C, foram adicionados 3 mL de solução de lugol (1%) por placa, deixando-as incubadas por 15 minutos, em temperatura ambiente. A produção de pectinase foi confirmada pela descoloração do meio em torno da colônia (formação de halo mais claro), conforme metodologia de Lima Junior (2020).

2.3.6 Produção de quitinase

Conforme metodologia de Moka (2021), foi preparado meio de cultura constituído de sulfato de magnésio hepta-hidratado (0,3 g.L⁻¹), sulfato de amônio (3 g.L⁻¹), fosfato de potássio dihidratado (2 g.L⁻¹), ácido cítrico monohidratado (1 g.L⁻¹), tween-80% (200 ul.L⁻¹), púrpura de bromocresol (0,15 g.L⁻¹) e ágar bacteriológico (15 g.L⁻¹), enriquecido com quitina coloidal (4,5 g.L⁻¹), sendo ajustado o pH para 4,7 antes da autoclavagem.

A quitina coloidal foi obtida adicionando-se gradualmente 20 gramas de quitina comercial a 200 mL de ácido clorídrico concentrado sob agitação constante por 50 minutos, conforme descrito por Roberts e Selitrennikoff (1988) e De Castro et al. (2011). Em seguida, a solução foi vertida lentamente em álcool etílico (95%) gelado, agitando-se durante 10 minutos e posteriormente deixado em repouso por 12 horas em temperatura ambiente. A solução foi filtrada a vácuo e lavada repetidamente com água destilada, até a completa remoção do ácido clorídrico, verificado pela ausência completa do odor característico do ácido e pela coloração da água. Antes da última filtragem, o pH foi ajustado para 7. A quitina resultante foi armazenada em geladeira até o uso.

A bactéria foi inoculada retirando-se 4 discos de 9 milímetros de uma placa contendo um cultivo puro e adicionando-os em pontos equidistantes nas placas a cerca de 1,5 centímetros da borda. A produção da enzima pelo isolado é caracterizada pela alteração de coloração do meio da cor amarela para roxo, caracterizado pela mudança de pH promovido pela degradação da quitina em N-acetilglucosamina, resultando na mudança de cor promovida pelo indicador púrpura de bromocresol.

2.3.7 Produção de catalase

Para o cultivo bacteriano foram preparados 3 frascos contendo meio líquido GL, constituído de glicose (10 g.L^{-1}) e extrato de levedura (2 g.L^{-1}). A bactéria foi inoculada retirando-se 1 disco de 9 milímetros de placa contendo cultivo puro e adicionando-o ao erlenmeyer. Os frascos foram mantidos sob agitação constante de 90 rpm a 28°C por 96 horas.

Para verificar a produção da enzima catalase, $15 \mu\text{L}$ de cada cultivo foram colocados sobre uma lâmina bacteriológica, adicionando-se em seguida $15 \mu\text{L}$ de uma solução de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 30%. A produção de bolhas no líquido indicou a produção da enzima, conforme descrito por Mariano et al. (2000).

2.3.8 Solubilização de fosfato

Para os testes de solubilização de fosfato de cálcio (CaHPO_4), utilizou-se meio de cultura GL, constituído de glicose (10 g.L^{-1}), extrato de levedura (2 g.L^{-1}), e ágar bacteriológico (15 g.L^{-1}), enriquecido com 50 mL.L^{-1} de solução de 10% de difosfato de potássio (K_2HPO_4) e 100 mL.L^{-1} de solução de 10% de cloreto de cálcio (CaCl_2), adicionados após a correção do pH do meio para 7, conforme descrito por Sylvester-Bradley et al (1982).

Para os testes de solubilização de fosfatos de ferro (FePO_4) e alumínio (AlPO_4) foram preparados dois frascos de meio de cultivo modificado por Gadagi e Sá (2002), constituído de glicose (30 g.L^{-1}), extrato de levedura ($0,2 \text{ g.L}^{-1}$), cloreto de sódio ($0,1 \text{ g.L}^{-1}$), sulfato de magnésio ($0,5 \text{ g.L}^{-1}$), cloreto de cálcio ($0,1 \text{ g.L}^{-1}$), sulfato de manganês ($0,1 \text{ g.L}^{-1}$) e cloreto de amônio ($0,5 \text{ g.L}^{-1}$), sendo adicionado a 1 frasco 2 g.L^{-1} de fosfato de ferro (FePO_4) e ao segundo frasco 5 g.L^{-1} de fosfato de alumínio (AlPO_4). O pH do meio foi ajustado para 7 e então adicionou-se ágar bacteriológico (15 g.L^{-1}) e verde de bromocresol (5 mL.L^{-1}).

A bactéria foi inoculada retirando-se 1 disco de 9 milímetros de placa contendo cultivo puro e adicionando-o ao centro desta. As placas foram incubadas a 28°C , sendo avaliado o aparecimento de halo ao redor da colônia.

2.3.9 Produção de ácido indolacético (AIA)

Para o cultivo bacteriano foram preparados 3 frascos contendo meio líquido DYGS, constituído de glicose (2 g.L^{-1}), peptona ($1,5 \text{ g.L}^{-1}$), extrato de levedura (2 g.L^{-1}), $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

(0,5 g.L⁻¹), e MgSO₄.7H₂O (0,5 g.L⁻¹), adicionando-se após a autoclavagem 2,5 mg.L⁻¹ de triptofano, adaptado de Araújo (2012).

A bactéria foi inoculada retirando-se 1 disco de 9 milímetros de placa contendo cultivo puro e adicionando-o ao erlenmeyer. Os frascos foram mantidos sob agitação constante de 90 rpm a 28 °C por 7 dias.

Para detecção da produção de AIA foram retiradas alíquotas de 50 mL dos cultivos, centrifugando-as a 10000 rpm durante 2 minutos por dois ciclos. Preparou-se uma solução misturando 1,35 gramas de cloreto de ferro (FeCl₃) em 10 mL de água destilada. Em seguida adicionou-se 1 mL dessa mistura em 50 mL de uma solução de ácido perclórico (HClO₄) a 35%. Essa mistura constituiu o reagente de Salkowski (Ehmann, 1977). Após a centrifugação das amostras de cultivo da bactéria, foram transferidos 3 mL do sobrenadante para tubos de ensaio, adicionando-se 6 mL do reagente Salkowski e os tubos foram mantidos no escuro em temperatura ambiente por 30 minutos. A mudança de coloração do líquido para a coloração rosa indicou a produção de ácido indolacético pelo microrganismo.

3 RESULTADOS

3.1 Características morfológicas de *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402

Bacillus amyloliquefaciens CN-402, cultivado em meio ágar tripton de soja (TSA), apresentou colônias de coloração branco-acinzentada, com centro mais escuro e bordas irregulares, mais claras e opacas, conferindo aspecto semelhante a nuvem (Figura 1B). No meio HiCrome (Figura 1C), as colônias apresentaram coloração branca opaca, crescimento irregular e distribuição mais dispersa na placa, além de promover alteração na coloração do meio para um tom azulado.

A análise microscópica revelou células Gram-positivas, evidenciadas pela coloração roxa após a coloração de Gram, confirmando características típicas do gênero *Bacillus*. As células apresentaram formato de bastonetes, sem formação de cadeias (Figura 1.A).

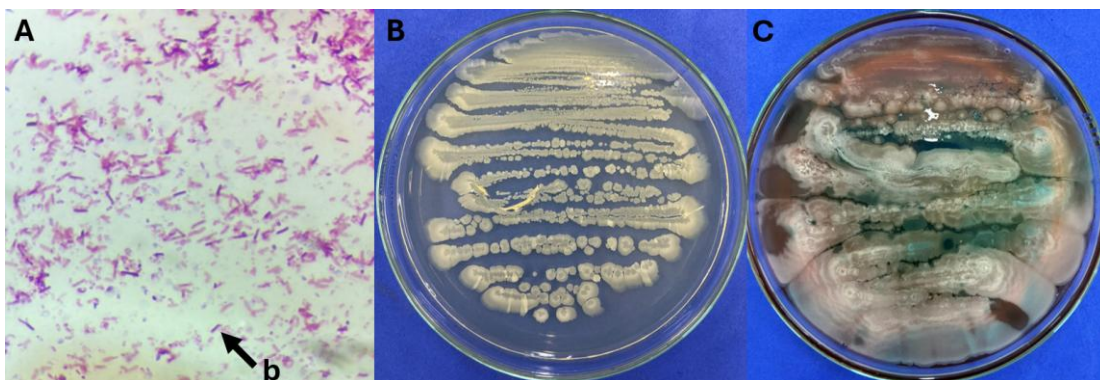


FIGURA 1 - *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402. A – Microscopia de coloração de gram, células bacterianas no formato de bastonetes (b) no aumento de 100x. B – Colônias em meio TSA. C – Colônias em meio HiCrome.

3.2 Produção de enzimas extracelulares

Bacillus amyloliquefaciens CN-402 foi capaz de solubilizar fosfato de alumínio (Figura 2.A) e ferro (Figura 2.C) demonstrado pela formação de halo mais claro ao redor da colônia bacteriana. O resultado para solubilização de fosfato de cálcio foi negativo devido à ausência de formação de halo ao redor do crescimento bacteriano (Figura 2.B). A produção de fosfatase foi confirmada pela formação de halo na coloração rosácea, após adição de solução de hidróxido de amônio a placa de Petri (Figura 2.E).

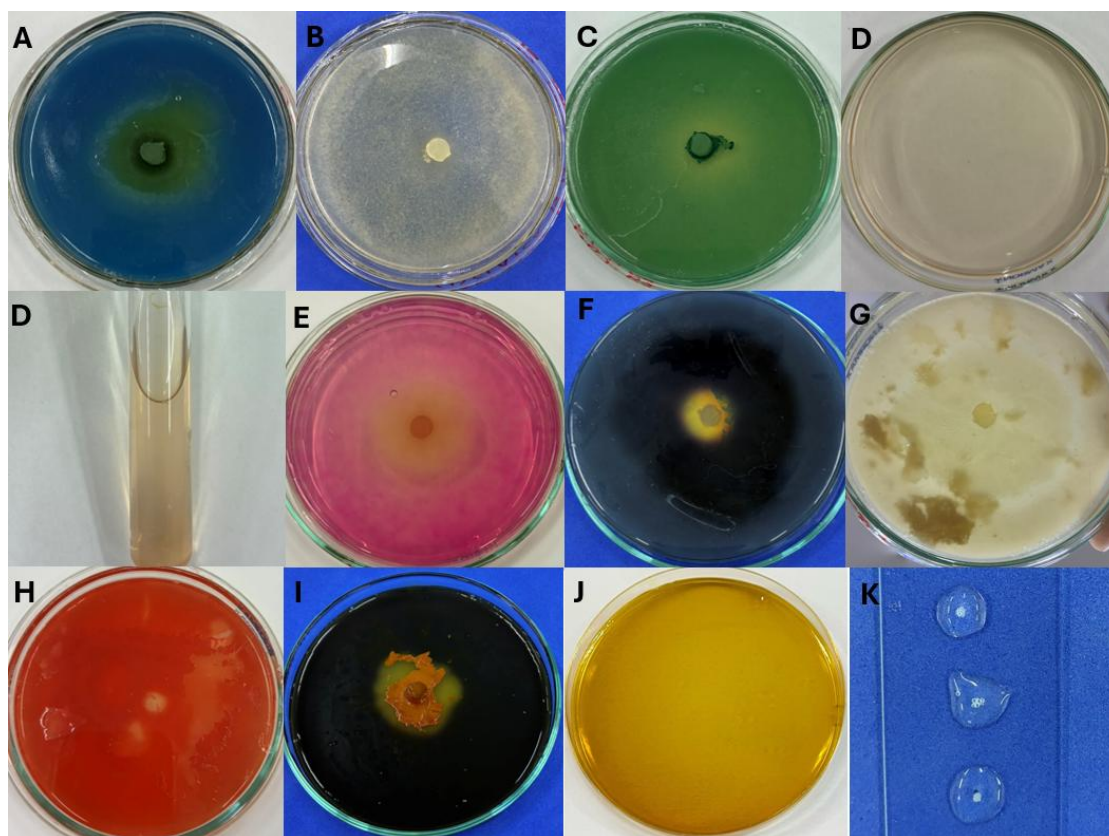


FIGURA 2 - Traços funcionais de *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402. A – Solubilização de fosfato de alumínio. B – Ausência de solubilização de fosfato de cálcio. C – Solubilização de fosfato de ferro. D – Produção de AIA em meio líquido. E – Produção de fosfatase. F – Produção de amilase. G – Produção de protease. H - Produção de celulase. I - Produção de pectinase. J – Ausência de crescimento bacteriano no meio seletivo para avaliação de quitinase. K - Produção de catalase.

Os resultados obtidos foram positivos para produção de ácido indol-acético, conforme imagem mostrada na Figura 2.D, com o surgimento da coloração de tonalidade rosácea após a adição do reagente de Salkowski ao sobrenadante do cultivo líquido bacteriano.

A produção de enzimas extracelulares como amilase (Figura 2F), protease (Figura 2.G), celulase (Figura 2.H) e pectinase (Figura 2.I) pelo isolado CN-402 foi confirmada pela formação de halos de coloração mais clara ao redor das colônias bacterianas nos respectivos meios de cultivo. A ausência de crescimento bacteriano no meio de cultivo seletivo para o teste de produção de quitinase (Figura 2.J) mostrou que a bactéria não tem a capacidade de produzir a enzima.

A produção de catalase foi confirmada pela formação de bolhas após a adição de solução de peróxido de hidrogênio a uma amostra do cultivo líquido do isolado, previamente cultivado em meio GL, sobre uma lâmina de microscopia. (Figura 2.K).

Na tabela 1 é possível verificar os resultados para as características bioquímicas do isolado.

TABELA 1 - Características fisiológicas e bioquímicas de *B. amyloliquefaciens* CN-402

Traços funcionais	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-402
Solubilização	
Fosfato de alumínio	+
Fosfato de cálcio	-
Fosfato de ferro	+
Síntese	
Ácido indolacético	+
Enzimas	
Fosfatase	+
Amilase	+
Protease	+
Celulase	+
Pectinase	+
Quitinase	-
Catalase	+

4 DISCUSSÃO

A capacidade de solubilizar fosfatos inorgânicos é uma característica essencial de bactérias promotoras de crescimento em plantas, promovido pela secreção de ácidos capazes de romper as ligações dos fosfatos com cátions de alumínio, cálcio e ferro. As fosfatases são responsáveis pela disponibilização do fósforo orgânico no solo (Petkova, 2024). Nos testes, o isolado CN-402 teve resultados positivos para solubilização do fósforo em meio contendo fosfato de alumínio e ferro, corroborando com os resultados encontrados por Jan (2023) e Timofeeva (2023), os quais avaliaram a capacidade de bio-disponibilização do nutriente por bactérias do gênero *Bacillus*. Já *Bacillus velezensis* K01, testado em laboratório por Xue (2023) não foi capaz de solubilizar fósforo em meio contendo fosfato tricálcico, o que também não ocorreu no presente estudo com *B. amyloliquefaciens* CN-402.

A produção de fitormônios por rizobactérias pode alterar o equilíbrio hormonal das plantas. Segundo De Andrade (2023), a auxina bacteriana pode estimular o crescimento de raízes laterais ou secundárias, melhorando a absorção de água e nutrientes pela planta. Araujo (2012), prospectando microrganismos promotores de crescimento em plantas de *Urochloa*

brizantha, encontrou sete isolados de *Bacillus* produtores de ácido indol-acético, selecionando dois mais eficientes segundo a quantidade secretada, o que também foi observado no teste feito com *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402.

A capacidade amilolítica de microrganismos benéficos é importante, pois a produção de enzimas extracelulares está relacionada ao controle de fitopatógenos (Santoyo, 2012). Rafanomantsoa (2023) constatou a produção de amilase por isolados de *Bacillus* halotolerans utilizados no controle de fungos fitopatogênicos, o que também foi confirmado no presente estudo.

Um estudo de Huang (2022), realizado em trigo, demonstrou que a produção de amilases extracelulares por *Bacillus cereus* está associada à sua capacidade competitiva frente a microrganismos fitopatogênicos. Nesse contexto, ao colonizar o substrato, o antagonista limita o acesso dos patógenos a recursos nutricionais e espaço, prevenindo ou reduzindo a ocorrência de doenças em plantas. Além disso, as amilases podem desempenhar papel na promoção do crescimento vegetal, ao degradarem carboidratos complexos em açúcares simples, que são mais facilmente assimilados pelas plantas e pela microbiota do solo (Rafanomantsoa, 2023).

A parede celular dos fungos é composta por uma camada externa de glicoproteínas, suscetível à ação hidrolítica de proteases, que as degradam em peptídeos menores. Esse processo leva ao rompimento e extravasamento do conteúdo celular, comprometendo a integridade estrutural das hifas, a capacidade de germinação dos esporos, a formação de apressórios e as interações com o ambiente (Ajuna, 2023). De acordo com Xue (2023), *Bacillus velezensis* produz diversas proteases, além de outras enzimas, capazes de inibir o crescimento de diferentes fungos fitopatogênicos.

Vários estudos têm relatado o sinergismo das proteases secretadas em conjunto com outras enzimas como quitinases e glucanases, no controle de fungos fitopatogênicos, degradando componentes da parede celular, o que compromete a integridade estrutural das células, reduzindo a capacidade de crescimento e infecção do hospedeiro. No presente estudo ficou evidenciado a produção de um conjunto de enzimas hidrolíticas por CN-402, sugerindo ação conjunta como mecanismo de ação de controle de fungos fitopatogênicos.

As celulasas bacterianas estão envolvidas em processos de controle biológico de fitopatógenos como antibiose e micoparasitismo, sendo responsáveis pela degradação da celulose presente na estrutura da parede celular de fungos (Malik, 2023). Granada (2025), avaliando a eficiência de *B. velezensis*, no controle de *Fusarium oxysporum*, observou a produção de celulase pelo isolado bacteriano, com resultados negativos para outras enzimas

hidrolíticas como amilase, fosfatase e lipase, o que mostra a eficácia dessa enzima nos processos de controle.

As quitinases desempenham papel importante no controle biológico, degradando a quitina presente na parede celular de fungos fitopatogênicos e cutícula de insetos praga e fitonematoides (Ajuna, 2023). Embora CN-402 não produza quitinase, a síntese de outras enzimas hidrolíticas como amilases, pectinases, celulases e proteases tem efeitos antagônicos similares sobre esses patógenos (Haddoudi, 2021).

As pectinas são componentes estruturais conferindo rigidez a parede celular de plantas (Abbott, 2008). Conforme relatado por Khan (2018), enzimas degradadoras da parede celular como celulases, quitinases e pectinases são comumente produzidas por microrganismos benéficos, incluindo bactérias do gênero *Bacillus*, sendo empregadas para obtenção de fontes de carbono, mas principalmente para penetração no tecido vegetal estabelecendo relações simbióticas, o que também foi confirmado pelos testes realizados neste estudo com CN-402.

Segundo Saeed (2023), as catalases produzidas por bactérias promotoras de crescimento em plantas constituem importante fator de mitigação de estresses oxidativos causados por fatores abióticos, atuando no combate da formação excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROS), que podem causar danos celulares às plantas, e bióticos, como o ataque de fitopatógenos, desencadeando respostas de indução de resistência sistêmica na planta. Em estudo de Babiker (2016), cerca de 50% dos isolados de *Bacillus* obtidos de amostras de solo tem atividade catalase-positiva, o que também foi confirmado no teste realizado no presente trabalho.

5 CONCLUSÃO

Bacillus amyloliquefaciens CN-402 tem a capacidade de solubilizar fosfato de ferro e alumínio.

Dentre os fitormônios o *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 foi capaz de sintetizar ácido indolacético. Enquanto entre enzimas extracelulares confirmou-se a capacidade de síntese de fosfatase, amilase, protease, celulase, pectinase e catalase.

Os testes bioquímicos demonstraram o potencial de controle de fungos fitopatogênicos por *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402, em razão da presença de traços funcionais bioquímicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, D. W.; BORASTON, A. B. Structural biology of pectin degradation by Enterobacteriaceae. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 72, n. 2, p. 301–316, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/MMBR.00038-07>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- ACHARYA, A. *et al.* Efficient extraction and optimization of amylase and protease from *Bacillus* species: a comprehensive study. **Journal of Applied Research in Plant Sciences**, v. 6, n. 1, p. 34–47, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.25131.14883>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- AJUNA, H. B. *et al.* The prospect of hydrolytic enzymes from *Bacillus* species in the biological control of pests and diseases in forest and fruit tree production. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 23, p. 16889, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms242316889>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- ARAÚJO, F. F. de; GUABERTO, L. M.; SILVA, I. F. da. Bioprospecção de rizobactérias promotoras de crescimento em *Brachiaria brizantha*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, p. 521–527, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbz/a/nVQrb6VggBk7yct3hgHhggx/?lang=pt>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- BABIKER, B. M.; AHMED, M. A. E.; IBRAHIM, H. M. Isolation and identification of catalase producing *Bacillus* spp.: a comparative study. **International Journal of Advanced Research**, v. 4, n. 2, p. 1206–1211, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/316474719_Isolation_Identification_of_Catalase_Producing_Bacillus_spp_A_Comparative_Study. Acesso em: 5 jan. 2026.
- COON, H.J., JENNISON, M.W. & WEEK, O.B. Routine tests for the identification of bacteria. In: Society of American Bacteriologists ed. *Manual of Microbiological Methods*. New York. McGraw-Hal, p.239-262, 1957. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-41582005000300011>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- DE ANDRADE, L. A. *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production. **Microorganisms**, v. 11, n. 4, p. 1088, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041088>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- DE CASTRO, M. T. *et al.* *Bacillus velezensis* SBB80 affects the development of *Fusarium* and *Neocosmospora* species and controls *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae. **Biological Control**, v. 210, p. 105888, 2025. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1049964425001987>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- DURAIRAJ, K. *et al.* Potential for plant biocontrol activity of isolated *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus stratosphericus* strains against bacterial pathogens acting through both induced plant resistance and direct antagonism. **FEMS Microbiology Letters**, v. 364, n. 23, p. fnx225, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29069329>. Acesso em: 5 jan. 2026.

EHMANN, A. The Van Urk-Salkowski reagent—a sensitive and specific chromogenic reagent for silica gel thin-layer chromatographic detection and identification of indole derivatives. **Journal of Chromatography A**, v. 132, n. 2, p. 267–276, 1977. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967300893000>. Acesso em: 5 jan. 2026.

FIGUEIREDO, J. E. F. *et al.* *Bacillus velezensis* CNPMS-22 as biocontrol agent of pathogenic fungi and plant growth promoter. **Frontiers in Microbiology**, v. 16, p. 1522136, 2025. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11921153>. Acesso em: 5 jan. 2026.

GADAGI, R. S.; SA, T. New isolation method for microorganisms solubilizing iron and aluminum phosphates using dyes. **Soil Science and Plant Nutrition**, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00380768.2002.10409246>. Acesso em: 5 jan. 2026.

GRANADA, D. L. *et al.* *In vitro* and *in silico* investigation deciphering novel antifungal activity of endophyte *Bacillus velezensis* CBMB205 against *Fusarium oxysporum*. **Scientific Reports**, v. 15, n. 1, p. 1–25, 2025. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-024-77926-1>. Acesso em: 5 jan. 2026.

HADDOUDI, I. *et al.* Biological control of Fusarium wilt caused by *Fusarium equiseti* in *Vicia faba* with broad spectrum antifungal plant-associated *Bacillus* spp. **Biological Control**, v. 160, p. 104671, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104671>. Acesso em: 5 jan. 2026.

HARWOOD, C. R. *et al.* Secondary metabolite production and the safety of industrially important members of the *Bacillus subtilis* group. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 42, n. 6, p. 721–738, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy028>. Acesso em: 5 jan. 2026.

HUANG, Q. *et al.* Production of extracellular amylase contributes to the colonization of *Bacillus cereus* 0–9 in wheat roots. **BMC Microbiology**, v. 22, n. 1, p. 205, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35996113/>. Acesso em: 5 jan. 2026.

JAN, F. *et al.* In vitro assessment of *Bacillus subtilis* FJ3 affirms its biocontrol and plant growth promoting potential. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1205894, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1205894>. Acesso em: 5 jan. 2026.

KHAN, N. *et al.* Antifungal activity of *Bacillus* species against *Fusarium* and analysis of the potential mechanisms used in biocontrol. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 2363, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02363>. Acesso em: 5 jan. 2026.

LIMA JUNIOR, A. A. **Potencial biotecnológico de actinobactéria isolada da rizosfera de *Aniba parviflora* Syn. *Fragans* (macacaporanga) da Amazônia.** Tese (Dissertação de Doutorado) Universidade Federal do Pernambuco. Recife. 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/38483>. Acesso em: 5 jan. 2026.

MALIK, M. S. *et al.* Thermo-neutrophilic cellulases and chitinases characterized from a novel putative antifungal biocontrol agent: *Bacillus subtilis* TD11. **PLOS ONE**, v. 18, n. 1, p. e0281102, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0281102>. Acesso em: 5 jan. 2026.

MARIANO, R. *et al.* **Controle biológico**. v. 2. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000.

MOKA, S.; SINGH, N.; BUTTAR, D. S. Identification of potential native chitinase-producing *Trichoderma* spp. and its efficacy against damping-off in onion. **European Journal of Plant Pathology**, v. 161, p. 289–300, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02321-9>. Acesso em: 5 jan. 2026.

PETKOVA, M. *et al.* Plant growth-promoting and biocontrol characteristics of four *Bacillus* strains and evaluation of their effects on wheat (*Triticum aestivum* L.). **International Journal of Plant Biology**, v. 16, n. 1, p. 1, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijpb16010001>. Acesso em: 5 jan. 2026.

RAFANOMEZANTSOA, P. *et al.* Optimization of amylase production by the biological control agent *Bacillus halotolerans* RFP74 using response surface methodology. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 21, n. 1, p. 63, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1687157X23010594>. Acesso em: 5 jan. 2026.

ROBERTS, P. *et al.* Plant and bacterial chitinases differ in antifungal activity. **Microbiology**, v. 134, n. 1, p. 169-176, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/00221287-134-1-169>. Acesso em: 5 jan. 2026.

ROMEIRO, R.S. **Controle biológico de doenças de plantas: procedimentos**. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG: UFV, 2007. 172p.

SAEED, S. W. Z. *et al.* *Bacillus* strains with catalase enzyme improve the physiology and growth of rice (*Oryza sativa* L.). **Stresses**, v. 3, n. 4, p. 736–748, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/stresses3040050>. Acesso em: 5 jan. 2026.

SANTOYO, G.; OROZCO-MOSQUEDA, M. del C.; GOVINDAPPA, M. Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review. **Biocontrol Science and Technology**, v. 22, n. 8, p. 855–872, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09583157.2012.694413>. Acesso em: 5 jan. 2026.

STRAUSS, M. L. A. *et al.* Screening for the production of extracellular hydrolytic enzymes by non-Saccharomyces wine yeasts. **Journal of applied microbiology**, v. 91, n. 1, p. 182-190, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01379.x>. Acesso em: 5 jan. 2026.

SYLVESTER-BRADLEY, R. *et al.* Quantitative survey of phosphate solubilizing microorganisms in the rhizosphere... **Acta Amazonica**, v. 12, n. 1, p. 15–22, 1982. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1809-43921982121015>. Acesso em: 5 jan. 2026.

TIMOFEEVA, A. M.; GALYAMOVA, M. R.; SEDYKH, S. E. Plant growth-promoting soil bacteria: nitrogen fixation, phosphate solubilization, siderophore production, and other biological activities. **Plants**, v. 12, n. 24, p. 4074, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38140401/>. Acesso em: 5 jan. 2026.

YAO, X. *et al.* Genomic functional analysis and cellulase characterization for the enzyme-producing strain *Bacillus subtilis* Y4X3 isolated from saline–alkaline soil in Xinjiang, China. **Microorganisms**, v. 13, n. 3, p. 552, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms13030552>. Acesso em: 5 jan. 2026.

XUE, Y. *et al.* A novel biocontrol agent *Bacillus velezensis* K01 for management of gray mold caused by *Botrytis cinerea*. **AMB Express**, v. 13, n. 1, p. 91, 2023. Disponível em: [10.1186/s13568-023-01596-x](https://doi.org/10.1186/s13568-023-01596-x). Acesso em: 5 jan. 2026.

CAPÍTULO II

CAPACIDADE ANTAGÔNICA DE *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 NO CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS *in vitro*

RESUMO

Fitopatógenos são grandes limitadores da produtividade na cultura da soja, podendo causar perdas severas na ausência de manejo adequado. As plântulas de soja estão sujeitas ao ataque de fungos desde a germinação, o que prejudica diretamente o estabelecimento da cultura no campo. Em fases mais avançadas, outras doenças podem promover desfolha precoce e abortamento de estruturas reprodutivas, impactando negativamente o rendimento de grãos e reduzindo a produtividade. Diversos desses patógenos são disseminados por sementes ou atacam a cultura logo nas fases iniciais de desenvolvimento. Somente nessa fase, os prejuízos acumulados podem se aproximar de 20% das perdas econômicas totais causadas por todas as doenças relatadas na cultura. Diante disso, este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade antagônica de *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 no controle *in vitro* de fungos fitopatogênicos. Foi avaliada a atividade antagônica *in vitro* de *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 por meio de teste de confronto direto em placa de Petri contra os fungos *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium graminearum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Phomopsis sojae*, *Corynespora cassiicola* e *Colletotrichum truncatum*, bem como seu efeito no tratamento de sementes de soja. *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 foi capaz de inibir o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* e *Corynespora cassiicola*. No entanto, não apresentou efeito inibitório sobre todos os fungos fitopatogênicos testados em placa de Petri. Nos ensaios de germinação, o tratamento de sementes de soja com *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 promoveu redução na ocorrência de plântulas atacadas e mortas por *Sclerotinia sclerotiorum*, evidenciando seu potencial promissor como biofungicida de solo.

Palavras-chave: Biofungicida. Soja. Tratamento de sementes. Controle biológico.

ABSTRACT

Phytopathogens are major limiting factors for soybean productivity, potentially causing severe losses in the absence of proper management. Soybean seedlings are susceptible to fungal attack from germination onwards, directly hindering crop establishment in the field. In later stages, other diseases can promote premature defoliation and abortion of reproductive structures, directly impacting grain yield and reducing productivity. Several of these pathogens are seed-borne or attack the crop in its early stages. At this stage alone, accumulated losses can approach 20% of the total economic losses caused by all reported diseases in the crop. Therefore, this study aimed to evaluate the antagonistic capacity *in vitro* of *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 in the *in vitro* control of phytopathogenic fungi. The *in vitro* antagonistic capacity of *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 was evaluated in a direct confrontation test in Petri dishes against the fungi *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium graminearum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Phomopsis sojiae*, *Corynespora cassiicola*, *Colletotrichum truncatum*, and in the treatment of soybean seeds. *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 was able to inhibit the mycelial growth of *Rhizoctonia solani* and *Corynespora cassiicola*. *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 was not able to inhibit the mycelial growth of any of the phytopathogenic fungi tested in Petri dishes. In germination assays, treatment of soybean seeds with *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 reduced the occurrence of seedlings attacked and killed by *Sclerotinia sclerotiorum*, demonstrating its promising potential as a soil biofungicide.

Keywords: Biofungicide. Soybean. Seed treatment. Biological control.

1 INTRODUÇÃO

Fitopatógenos são grandes limitadores de produtividade na soja, o que pode causar perdas severas na ausência de manejo adequado. As sementes estão sujeitas ao ataque de fungos causadores de podridões e tombamentos, desde a germinação, impactando na sobrevivência das plântulas e estabelecimento da cultura. Nas fases mais avançadas, manchas foliares, necroses e podridões de vagens podem promover desfolha precoce, abortamento de estruturas reprodutivas, o que impacta diretamente no rendimento de grãos (Hosseine, 2023).

Dentre os gêneros mais comuns de interesse agrícola, estão fungos dos gêneros *Sclerotinia* sp., *Macrophomina* sp., *Fusarium* sp., *Botrytis* sp., *Colletotrichum* sp., *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Verticillium* sp., *Alternaria* sp., *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Puccinia* sp., entre outros, causadores de doenças como tombamentos, podridões radiculares, manchas foliares e necroses, podendo causar redução de até 40% na produtividade das culturas (Tyskiewicz, 2022).

Muitos desses patógenos são transmitidos por sementes, afetando sua qualidade ou atacando as plantas nas fases iniciais, o que impacta o estabelecimento da cultura. Somente as doenças de plântulas foram responsáveis por um prejuízo anual de 0,7 milhão de toneladas de grãos nos EUA, totalizando, em 20 anos, um montante de US\$ 17,6 bilhões, o que corresponde a 18,8% das perdas econômicas totais causadas por todas as doenças relatadas na cultura no período de 1996 a 2016 (Bandara, 2020).

Dentre as bactérias já estudadas, *Bacillus* sp. apresenta efeitos no controle de doenças de plantas, devido à capacidade antagônica que exerce sobre fitopatógenos, atuando por competição, indução de resistência, antibiose, entre outros mecanismos de ação, sendo eficiente na supressão desses fungos. Esses microrganismos podem, ainda, solubilizar nutrientes, produzir fitormônios e diversas outras substâncias capazes de promover o crescimento das plantas, sendo conhecidos como rizobactérias promotoras do crescimento vegetal (De Andrade, 2023).

Além disso, *Bacillus* geralmente produz grandes quantidades de enzimas hidrolíticas de interesse industrial, como amilases, proteases, celulases, entre outras, liberando essas substâncias no ambiente para a obtenção de nutrientes e energia utilizados em seu metabolismo (Acharya, 2025). Essas enzimas são valiosas em processos de produção de alimentos, detergentes, produtos têxteis, rações e biocombustíveis, sendo obtidas, em grande parte, por meio de processos fermentativos biológicos (Yao, 2025).

Assim, objetivou com este trabalho avaliar a capacidade antagônica de *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 no controle *in vitro* de fungos fitopatogênicos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção dos isolados fúngicos e bacterianos

Os isolados fúngicos *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium graminearum*, *Macrophomina phaseolina*, *Phomopsis sojae*, *Corynespora cassiicola* e *Colletotrichum truncatum* foram obtidos de colônias puras da coleção de microrganismos no Laboratório de Microbiologia do Solo da Universidade de Rio Verde (UniRV). *Rhizoctonia solani* foi cedido da coleção de fungos fitopatogênicos do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Goiás (UFG), campus de Goiânia-GO.

Trichoderma harzianum IBLF1917 e *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402, de propriedade intelectual da Nooa Ciência e Tecnologia[®], foram cedidos da UniRV para este projeto.

2.2 Teste de antagonismo por cultivo pareado de microrganismos *in vitro*

Os testes de laboratório foram realizados em delineamento inteiramente casualizado com 3 repetições, de acordo com metodologia desenvolvida por Gabardo et al. (2020) e Santos (2021), pelo cultivo pareado de microrganismos em placa de Petri. Neste teste, foram utilizados como alvo os fungos fitopatogênicos *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium graminearum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Phomopsis sojae*, *Corynespora cassiicola* e *Colletotrichum truncatum*, e como antagonista *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402. Um tratamento adicional de confronto direto entre *Bacillus* e *Trichoderma harzianum* foi realizado com a finalidade de testar a compatibilidade entre os dois antagonistas.

Os tratamentos foram constituídos por dois meios de cultura distintos: o Batata Dextrose Ágar (BDA), utilizado como meio padrão para o cultivo de fungos, e o Ágar Triptona de Soja (TSA), empregado no cultivo de bactérias. Essa diferenciação teve como objetivo avaliar a

interferência da composição nutricional do meio de cultura no desenvolvimento e na produção de metabólitos pelo antagonista (Fujimoto, 2017).

Discos de 9 mm de diâmetro foram retirados de placas contendo colônias puras do patógeno e transferidos para o centro de placas com os respectivos meios de cultura. Nas extremidades dessas placas, foram posicionados discos provenientes de culturas puras do antagonista, distribuídos em quatro pontos equidistantes, a aproximadamente 1 cm da borda.

As placas foram incubadas em câmara tipo BOD, a 22 °C, por 11 dias, sob fotoperíodo de 12 horas, até a interrupção do crescimento micelial do fungo.

As avaliações foram realizadas aos 3, 7, 9 e 11 dias após a inoculação. O diâmetro das colônias do patógeno foi mensurado por meio de duas medidas diametralmente opostas, com auxílio de paquímetro, sendo posteriormente calculado o diâmetro médio da colônia (Dm), conforme descrito por Braga Junior et al. (2017).

A percentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) foi determinada de acordo com a fórmula proposta por Menten et al. (1976), conforme utilizada por Fonseca et al. (2015).

A porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) consiste na equação de Menten et al., (1976), em que:

$$\text{PIC} = [(\text{diâmetro médio do controle} - \text{diâmetro médio do tratamento}) / \text{diâmetro médio do controle}] \times 100.$$

Para os tratamentos em que não observou-se inibição de crescimento do patógeno, adotou-se o valor de PIC igual a zero. A produção de compostos orgânicos difusíveis foi avaliada indiretamente pela presença de halos ou zonas de inibição do crescimento micelial do patógeno no cultivo pareado e da PIC obtida no Teste.

2.3 Análise estatística

Os dados foram submetidos primeiramente aos testes de Bartlett e Lilliefors para verificação das pressuposições da análise estatística quanto a homogeneidade e normalidade das variâncias residuais, respectivamente. Às características de pelo menos uma das pressuposições não foi atendida, os dados foram transformados em raiz quadrada de $X + 1$. Em seguida, realizou-se análise de variância e nas médias aplicou-se o teste de comparação de médias de Tukey a 5% de probabilidade. Aos contrastes entre patógenos com e sem o isolado CN-402, foi aplicado o teste de Scheffé a 5% de probabilidade.

2.4 Proteção de sementes de soja contra fungos fitopatogênicos

2.4.1 Obtenção dos inóculos bacteriano e fúngicos

O inóculo bacteriano foi obtido através do cultivo de *B. amyloliquefaciens* CN-402 em caldo triptona de soja (TSB) por 72 horas, obtendo concentração final de $3,3 \times 10^7$ UFC/mL para o tratamento de sementes.

Os inóculos fúngicos foram obtidos através da lavagem de placas de culturas puras dos respectivos fungos com solução salina com Tween (0,05%) previamente esterilizada, e padronizados para a concentração final de 1×10^3 UFC/mL. Os inóculos foram armazenados em geladeira até o uso, adaptado de Fernandes (2021) e Vaz (2023).

2.4.2 Tratamento de sementes

O tratamento de sementes consistiu na imersão das sementes de soja por 1 minuto em água esterilizada, por autoclavagem para o tratamento controle, e em solução de *B. amyloliquefaciens* CN-402 na concentração de $3,3 \times 10^7$ UFC/mL na proporção de 0,8 mL por grama de sementes, para os tratamentos de avaliação da capacidade antagônica contra os alvos definidos.

Os tratamentos consistiram em: (i) controle, com sementes de soja imersas em água esterilizada; (ii) sementes tratadas com solução do antagonista, na ausência de fungos fitopatogênicos; (iii) sementes tratadas apenas com água, na presença de fungos fitopatogênicos; e (iv) sementes de soja tratadas com o antagonista, na presença dos patógenos-alvo, conforme adaptado de Fernandes (2021) e Vaz (2023).

2.4.2.1 Teste de germinação de sementes em caixas gerbox

Em cada caixa gerbox foram adicionados 200 g de areia autoclavada, por três ciclos de 20 minutos a 121°C e posteriormente seca, após, adicionou-se 50% do volume calculado de água autoclavada para 80% da capacidade de campo, distribuiu-se 20 sementes por caixa tratadas de acordo com os tratamentos pré-estabelecidos, e em seguida adicionou-se mais 200 g da areia sobre as sementes e os 50% restantes do volume de água. As caixas foram mantidas em sala de germinação por 7 dias a 22°C com fotoperíodo de 12 horas até a avaliação final, não sendo necessário irrigação complementar nesse período.

Para os tratamentos com confrontação dos alvos, a inoculação foi realizada mediante a substituição de 50% do volume inicial de água pelo mesmo volume de uma solução pura, com concentração conhecida, de cada fungo fitopatogênico, seguindo o procedimento descrito anteriormente. A solução de inóculo de cada organismo foi obtida por meio da lavagem de culturas puras, mantidas em placas de Petri, dos fungos fitopatogênicos *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium graminearum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Phomopsis sojae*, *Corynespora cassiicola* e *Colletotrichum truncatum*, utilizando água previamente esterilizada.

A avaliação consistiu na contagem de sementes germinadas, plântulas mortas e plântulas danificadas, estas caracterizadas pela presença de lesões visuais típicas do ataque de cada fitopatógeno, aos 7 dias após a semeadura.

2.4.2.2 Teste de germinação de sementes em placas de Petri

Para os testes de germinação de sementes em placa de Petri seguiu-se o mesmo procedimento do tratamento de sementes de soja, sendo divididos os tratamentos em sementes tratadas com água ou inóculo do antagonista, ambas na presença dos fungos fitopatogênicos.

Seguindo a metodologia de Vaz (2023), foram distribuídas 4 sementes na parte central da placa de Petri contendo meio BDA em orifícios abertos com o auxílio de ponteiras estéreis para que as sementes ficassem acomodadas sem se movimentar. Posteriormente, foram adicionados em lados opostos das placas a 1 centímetro da borda dois discos de micélio obtidos de culturas puras de cada organismo. As placas foram mantidas em sala de germinação por 7 dias a 22°C com fotoperíodo de 12 horas até a avaliação final.

Os tratamentos 19 e 20 foram planejados para avaliar a capacidade do antagonista de inibir fungos do gênero *Trichoderma* sp.

As sementes foram avaliadas aos 7 dias, após a semeadura, quanto a germinação, sendo consideradas plântulas normais sementes que emitiram raízes e hipocótilos estando estas estruturas visivelmente desenvolvidas e plântulas atacadas, considerando-se plântulas com lesões visuais nas estruturas (radícula, hipocótilo e cotilédones) causadas pelos respectivos fungos inoculados.

2.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos primeiramente aos testes de Bartlett e Lilliefors para verificação das pressuposições da análise estatística quanto a homogeneidade e normalidade das variâncias residuais, respectivamente. As características de pelo menos uma das pressuposições não foi atendida, os dados foram transformados em raiz quadrada de $X + 1$. Em seguida, realizou-se a análise de variância e das médias, aplicando o teste de comparação de médias de Tukey a 5% de probabilidade. Aos contrastes entre patógenos com e sem o isolado CN-402, aplicou-se o teste de Scheffé a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS

3.1 Capacidade antagônica de *B. amyloliquefaciens* CN-402 no controle de fungos fitopatogênicos *in vitro*

Com exceção de *Rhizoctonia solani*, que atingiu crescimento máximo em todos os tratamentos já aos 3 dias de incubação, *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 apresentou atividade inibitória sobre o crescimento micelial aos 7 dias de incubação para *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. graminearum*, *Macrophomina phaseolina*, *Phomopsis sojae* e *Colletotrichum truncatum* (Tabelas 2 e 3).

Essa capacidade antagonista foi evidenciada pela redução do crescimento fúngico nas placas com confronto direto com o antagonista, bem como pela formação de halos de inibição ao redor das colônias bacterianas nos tratamentos em que ocorreu a interação entre antagonista e patógeno.

TABELA 2 - Contrastes para diâmetro médio (DMéd) da colônia fúngica, no teste de confronto direto entre *B. amyloliquifaciens* CN-402 e fungos fitopatogênicos nos meios BDA e TSA, aos 3, 5 e 7 dias de incubação

Contraste	Meio de cultura	Diferença de (DMéd) em milímetros entre testemunha e Fitopatógeno vs CN-402						
		3 dias		5 dias		7 dias		
C1	<i>Ss</i> vs CN-402	TSA	0,0	ns	0,0	ns	0,0	ns
C1	<i>Ss</i> vs CN-402	BDA	36,4	*	65,7	*	70,5	*
C2	<i>Fo</i> vs CN-402	TSA	17,7	*	43,5	ns	52,5	*
C2	<i>Fo</i> vs CN-402	BDA	14,5	*	42,0	ns	55,0	*
C3	<i>Fs</i> vs CN-402	TSA	14,8	*	36,3	ns	33,7	*
C3	<i>Fs</i> vs CN-402	BDA	10,6	ns	16,8	ns	17,2	ns
C4	<i>Fg</i> vs CN-402	TSA	23,5	*	56,8	*	58,7	*
C4	<i>Fg</i> vs CN-402	BDA	15,2	*	53,3	*	55,5	*
C5	<i>Mp</i> vs CN-402	TSA	16,0	*	50,7	*	64,7	*
C5	<i>Mp</i> vs CN-402	BDA	42,3	*	57,5	*	54,7	*
C6	<i>Ps</i> vs CN-402	TSA	13,0	*	32,3	ns	49,5	*
C6	<i>Ps</i> vs CN-402	BDA	24,1	*	56,0	ns	64,2	*
C7	<i>Cc</i> vs CN-402	TSA	2,1	ns	13,7	ns	24,0	ns
C7	<i>Cc</i> vs CN-402	BDA	4,8	ns	14,2	ns	31,3	ns
C8	<i>Ct</i> vs CN-402	TSA	25,9	*	57,5	*	61,8	*
C8	<i>Ct</i> vs CN-402	BDA	56,8	*	37,7	ns	37,5	ns
C9	<i>Rs</i> vs CN-402	TSA	0,0	ns	0,0	ns	0,0	ns
C9	<i>Rs</i> vs CN-402	BDA	0,0	ns	0,0	ns	0,0	ns
C10	<i>Th</i> vs CN-402	TSA	12,9	*	44,8	*	60,1	*
C10	<i>Th</i> vs CN-402	BDA	55,5	*	19,7	ns	0,0	ns

Estimativas de contraste seguido por * diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste de Scheffe. ns: não significativo.

Ss: *Sclerotinia sclerotiorum*; *Fo*: *Fusarium oxysporum*; *Fs*: *Fusarium solani*; *Fg*: *Fusarium graminearum*; *Mp*: *Macrophomina phaseolina*; *Ps*: *Phomopsis sojae*; *Cc*: *Corynespora cassiicola* e *Ct*: *Colletotrichum truncatum* *Rs*: *Rhizoctonia solani* e *Th*: *Trichoderma harzianum*.

TABELA 3 - Diâmetro médio (DMéd) da colônia fúngica e Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) no teste de confronto direto entre *B. amyloliquefaciens* CN-402 e fungos fitopatogênicos nos meios BDA E TSA, aos 3, 5 e 7 dias de incubação

Tratamento	Meio de cultura	3 dias		5 dias		7 dias	
		DMéd (mm)	PIC (%)	DMéd (mm)	PIC (%)	DMéd (mm)	PIC (%)
<i>S. sclerotiorum</i>	BDA	54,7 b	0	84,5 b	0	90,0 b	0
<i>S. sclerotiorum</i>	TSA	0,0 a	0	0,0 a	0	0,0 a	0
<i>S. sclerotiorum</i> x CN402	BDA	18,3 b	66,5	18,8 b	77,7	19,5 b	78,3
<i>S. sclerotiorum</i> x CN402	TSA	0,0 a	100	0,0 a	100	0,0 a	100
<i>F. oxysporum</i>	BDA	48,0 a	0	77,3 a	0	90,0 a	0
<i>F. oxysporum</i>	TSA	48,2 a	0	76,5 a	0	85,7 a	0
<i>F. oxysporum</i> x CN-402	BDA	33,5 a	30,2	35,3 a	54,3	35,0 a	61,1
<i>F. oxysporum</i> x CN-402	TSA	30,5 a	36,7	33,0 a	56,9	33,5 a	60,9
<i>F. solani</i>	BDA	41,3 a	0	66,8 a	0	67,7 a	0
<i>F. solani</i>	TSA	44,8 a	0	67,0 a	0	64,5 a	0
<i>F. solani</i> x CN-402	BDA	30,7 a	25,8	50,3 b	24,7	50,5 b	25,4
<i>F. solani</i> x CN-402	TSA	30,0 a	33,1	30,7 a	54,2	30,8 a	52,2
<i>F. graminearum</i>	BDA	44,0 a	0	84,5 a	0	90,0 a	0
<i>F. graminearum</i>	TSA	55,0 b	0	90,0 a	0	90,0 a	0
<i>F. graminearum</i> x CN-402	BDA	28,8 a	34,5	31,2 a	63,1	34,5 a	61,7
<i>F. graminearum</i> x CN-402	TSA	31,5 a	42,7	33,2 a	63,1	31,3 a	65,2
<i>M. phaseolina</i>	BDA	74,8 b	0	90,9 a	0	90,0 a	0
<i>M. phaseolina</i>	TSA	39,3 a	0	73,7 a	0	86,5 a	0
<i>M. phaseolina</i> x CN-402	BDA	32,5 b	56,6	32,5 a	63,9	35,3 b	60,7
<i>M. phaseolina</i> x CN-402	TSA	23,3 a	40,7	23,0 a	68,8	21,8 a	74,8
<i>P. sojae</i>	BDA	50,3 b	0	82,2 b	0	90,0 b	0
<i>P. sojae</i>	TSA	31,0 a	0	52,9 a	0	67,5 a	0
<i>P. sojae</i> x CN-402	BDA	26,2 b	48,0	26,2 a	68,2	25,8 a	71,3
<i>P. sojae</i> x CN-402	TSA	18,0 a	41,9	19,7 a	62,2	18,0 a	73,3
<i>C. cassiicola</i>	BDA	23,8 a	0	36,7 a	0	54,5 a	0
<i>C. cassiicola</i>	TSA	21,8 a	0	35,0 a	0	44,8 a	0
<i>C. cassiicola</i> x CN-402	BDA	19,0 a	20,3	22,5 a	38,6	23,2 a	57,5
<i>C. cassiicola</i> x CN-402	TSA	19,7 a	9,9	21,3 a	39,0	20,8 a	53,5
<i>C. truncatum</i>	BDA	90,0 b	0	90,0 a	0	90,0 a	0
<i>C. truncatum</i>	TSA	47,8 a	0	79,8 a	0	84,5 a	0
<i>C. truncatum</i> x CN-402	BDA	33,2 b	63,1	52,3 b	41,9	52,5 b	41,7
<i>C. truncatum</i> x CN-402	TSA	22,8 a	52,3	22,3 a	72,0	22,7 a	73,2
<i>R. solani</i>	BDA	90,0 a	0	90,0 a	0	90,0 a	0
<i>R. solani</i>	TSA	90,0 a	0	90,0 a	0	90,0 a	0
<i>R. solani</i> x CN-402	BDA	90,0 a	0	90,0 a	0	90,0 a	0
<i>R. solani</i> x CN-402	TSA	90,0 a	0	90,0 a	0	90,0 a	0
<i>T.harzianum</i> IBLF1917	BDA	90,0 b	0	90,0 b	0	90,0 a	0
<i>T.harzianum</i> IBLF1917	TSA	36,7 a	0	67,5 a	0	84,8 a	0
<i>T. harzianum</i> x CN-402	BDA	34,5 b	61,7	70,3 b	21,9	90,0 b	0
<i>T. harzianum</i> x CN-402	TSA	23,8 a	35,0	22,7 a	70,9	24,7 a	70,9

Valores seguidos de mesma letra na coluna nos pares de tratamentos não diferem estatisticamente entre si quanto ao meio de cultura a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Trichoderma harzianum não apresentou influência da bactéria nos tratamentos avaliados, sendo observada porcentagem de inibição do crescimento micelial positiva apenas no tratamento de confronto direto em meio TSA (Tabela 3).

TABELA 4 - Análise de Variância para Diâmetro médio (DMéd) da colônia fúngica no teste de confronto direto entre *B. amyloliquifaciens* CN-402 e fungos fitopatogênicos nos meios BDA e TSA, aos 3, 5 e 7 dias de incubação

FV	GL	Quadrado médio					
		DMéd 3		DMéd 5		DMéd 7	
Fitopatígeno (P)	19	18,440	**	24,410	**	27,422	**
Meio de cultura (M)	1	38,107	**	46,214	**	51,454	**
<i>P x M</i>	19	4,586	**	5,919	**	6,545	**
Erro	80	0,053		0,445		0,310	
Total	119						
CV (%)		3,63		9,51		7,64	

**, * Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Fusarium solani teve os menores diâmetros médios e taxas de germinação enquanto *Sclerotinia* foi mais afetado pela ação do antagonista, com 78,3% de inibição do crescimento micelial em meio BDA e 100% em meio TSA. Nesse caso a composição nutricional do meio interferiu no desenvolvimento do fungo, não sendo registrado crescimento da colônia tanto no tratamento controle quanto no confronto direto em meio TSA (Tabela 3). Apesar disso, o inóculo de *Sclerotinia* estava viável, devido ter crescido em meio batata dextrose ágar, e pela alteração de coloração próximo ao disco de micélio no tratamento controle (Figura 3a).

Fusarium oxysporum e *Fusarium graminearum* tiveram taxas de inibição próximas a 60%, não havendo diferença entre os meios de cultura testados, enquanto *Colletotrichum truncatum*, *Macrophomina phaseolina* e *Phomopsis sojae* obtiveram resultados que variaram entre 40 e 75% de inibição do crescimento micelial.

As maiores diferenças de inibição por CN-402 entre os meios testados ocorreram para *Colletotrichum truncatum*, *Fusarium solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Macrophomina phaseolina*, com diferenças de inibição de 31,5, 26,8, 21,7 e 14,1% respectivamente aos 7 dias de incubação (Tabela 3).

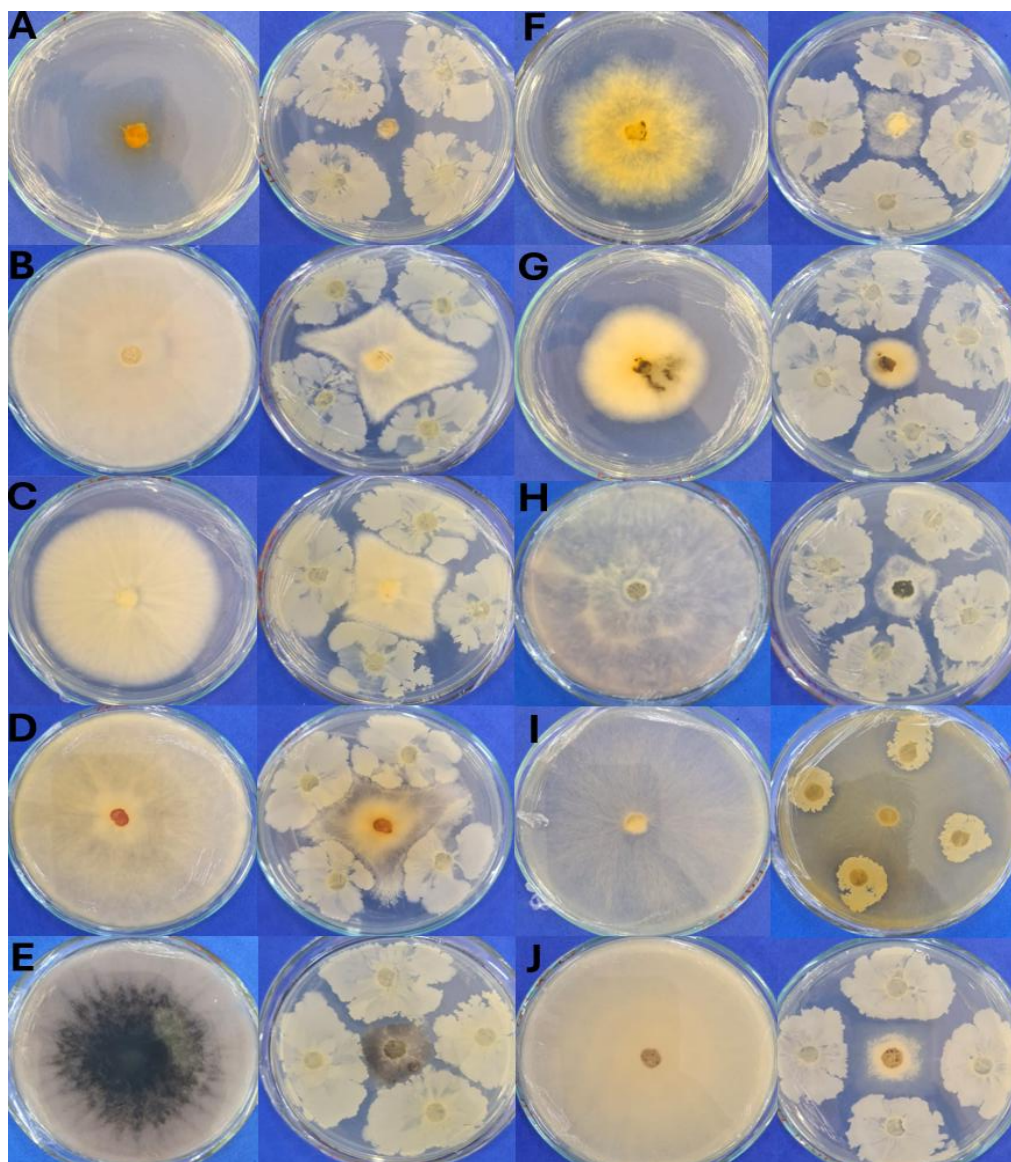


FIGURA 3 - Ensaio de confronto direto de *B. amyloliquefaciens* CN-402 contra fungos fitopatogênicos em meio ágar triptona de soja. A – *Sclerotinia sclerotiorum*. B – *Fusarium oxysporum*. C – *Fusarium solani*. D – *Fusarium graminearum*. E – *Macrophomina phaseolina*. F – *Phomopsis sojae*. G – *Corynespora cassicola*. H – *Colletotrichum truncatum*. I – *Rhizoctonia solani*. J – *Trichoderma harzianum* IBLF1917.

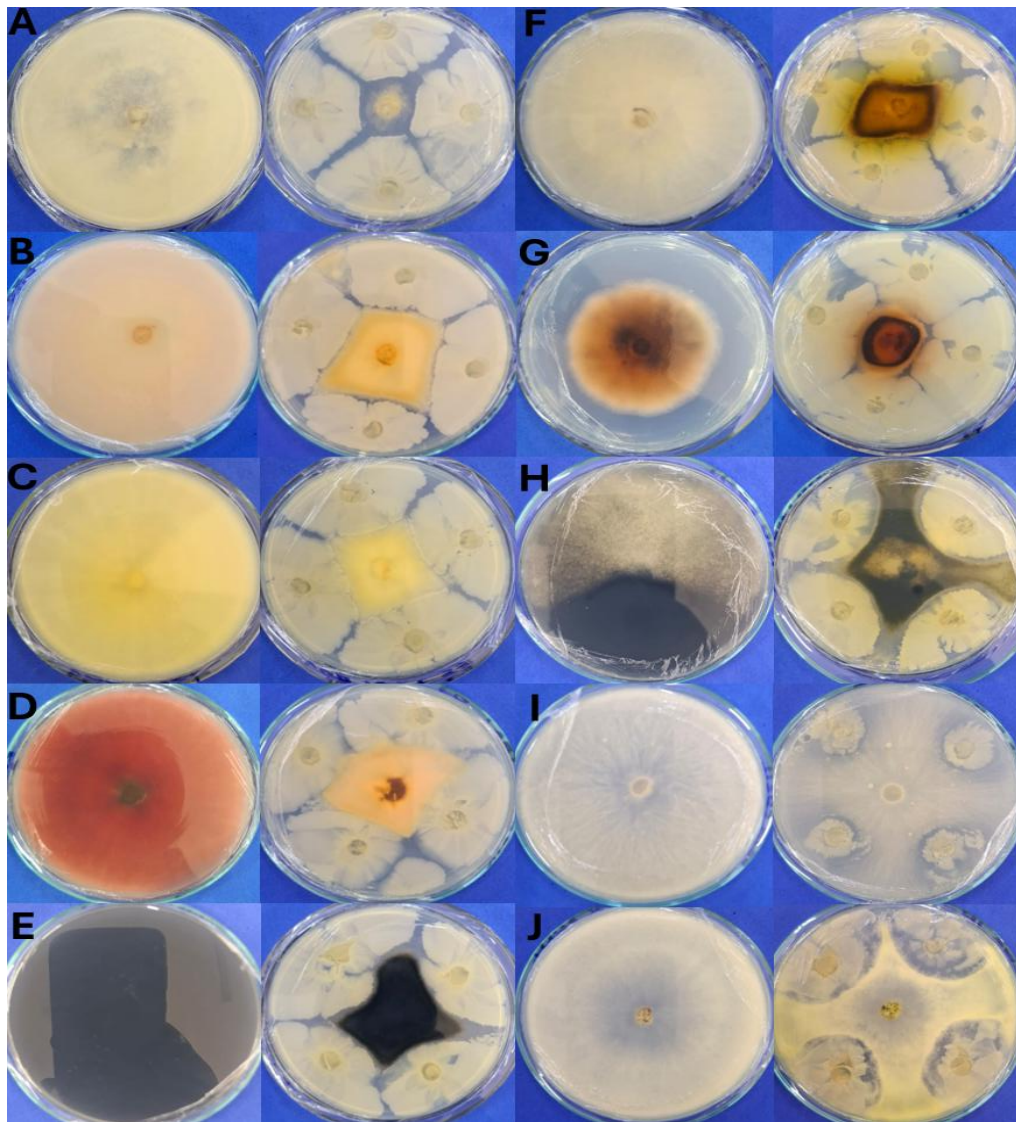


FIGURA 4 - Ensaio de confronto direto de *B. amyloliquefaciens* CN-402 contra fungos fitopatogênicos em meio batata dextrose ágar. A – *Sclerotinia sclerotiorum*. B – *Fusarium oxysporum*. C – *Fusarium solani*. D – *Fusarium graminearum*. E - *Macrophomina phaseolina*. F – *Phomopsis sojae*. G – *Corynespora cassiicola*. H – *Colletotrichum truncatum*. I – *Rhizoctonia solani*. J – *Trichoderma harzianum* IBLF1917.

3.2 Proteção de sementes de soja contra fungos fitopatogênicos

3.2.1 Germinação de sementes de soja tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 em areia

Os tratamentos controles com *B. amyloliquefaciens* CN-402 tiveram germinação de 95% com 82,5 e 91,2% de plântulas emergidas respectivamente, demonstrando que a bactéria reduziu o número de plântulas mortas na ausência de fitopatógenos (Tabela 5).

TABELA 5 - Porcentagem de sementes germinadas, plântulas emergidas, atacadas e mortas de soja tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402, sob ataque de fungos fitopatogênicos em substrato de areia, aos 7 dias após a semeadura

Tratamento	Sementes germinadas (%)	Plântulas emergidas (%)	Plântulas atacadas (%)	Plântulas mortas (%)
Soja (controle)	95,0	82,5	0	17,5
Soja + CN-402 (TS)*	95,0	91,2	0	8,8
<i>S. sclerotiorum</i>	91,7	18,2	100,0	81,8
<i>S. sclerotiorum</i> x CN402 (TS)	96,7	82,8	29,3	17,2
<i>F. oxysporum</i>	98,3	84,7	8,5	15,3
<i>F. oxysporum</i> x CN-402 (TS)	100,0	93,3	11,7	6,7
<i>F. solani</i>	100,0	78,3	16,7	21,7
<i>F. solani</i> x CN-402 (TS)	96,7	91,4	8,6	8,6
<i>F. graminearum</i>	100,0	73,3	71,7	26,7
<i>F. graminearum</i> x CN-402 (TS)	98,3	94,9	40,7	5,1
<i>M. phaseolina</i>	100,0	90,0	73,3	10,0
<i>M. phaseolina</i> x CN-402 (TS)	100,0	91,7	8,3	8,3
<i>P. sojae</i>	100,0	75,0	78,3	25,0
<i>P. sojae</i> x CN-402 (TS)	91,7	92,7	30,9	7,3
<i>C. cassiicola</i>	98,3	88,1	27,1	11,9
<i>C. cassiicola</i> x CN-402 (TS)	100,0	90,0	0	10,0
<i>C. truncatum</i>	98,3	84,7	66,1	15,3
<i>C. truncatum</i> x CN-402 (TS)	93,3	92,9	48,2	7,1
<i>R. solani</i>	98,3	94,9	8,5	5,1
<i>R. solani</i> x CN-402 (TS)	100,0	86,7	13,5	13,3

*(TS): aplicação de *B. amyloliquefaciens* CN-402 via tratamento de sementes na soja.

Sclerotinia sclerotiorum foi o fungo capaz de causar maiores danos à soja, com 100% de plântulas atacadas no tratamento sem o antagonista, resultando em mortalidade de 81,8% das plântulas. O tratamento das sementes com CN-402 reduziu significativamente o ataque para 29,3% e a mortalidade para 17,2% (Tabela 5).

Para Fusarium oxysporum, a maior porcentagem de plântulas atacadas ocorreu no tratamento com CN-402; entretanto, observou-se uma redução de 43,8% na mortalidade de plântulas em comparação ao controle contendo apenas o fungo. Já para Fusarium solani e Fusarium graminearum, tanto o número de plântulas atacadas quanto o de plântulas mortas foi inferior nos tratamentos com o *Bacillus amyloliquefaciens* aplicado às sementes, evidenciando a redução da doença na fase inicial da cultura.

Para Macrophomina phaseolina e Corynespora cassiicola, apesar da redução no número de plântulas atacadas, a porcentagem de plântulas mortas foi semelhante entre o controle e o tratamento biológico. Por outro lado, para Phomopsis sojae e Colletotrichum truncatum, houve redução significativa tanto no número de plântulas atacadas quanto mortas em decorrência do tratamento de sementes com *B. amyloliquefaciens* CN-402.

A pressão de *Rhizoctonia solani* foi baixa neste ensaio, verificando-se que tanto a porcentagem de plântulas atacadas quanto a de plântulas mortas foi maior nas sementes tratadas com o antagonista.

Apenas o número de plântulas emergidas e mortas para *Sclerotinia sclerotiorum* e o número de plântulas atacadas para *Macrophomina phaseolina* apresentaram diferença significativa entre os tratamentos testados (Tabela 6).

TABELA 6 - Análise de Variância para porcentagem de sementes germinadas, plântulas emergidas, atacadas e mortas de soja tratadas, com *B. amyloliquefaciens* CN-402, contra o ataque de fungos fitopatogênicos, em areia 7 dias após a semeadura

FV	GL	Quadrado médio			
		SG	PE	PA	PM
Tratamento (P)	19	0,012 **	0,805 **	3,979 **	1,038 **
Erro	40	0,004	0,053	0,233	0,136
Total	59				
CV (%)		1,49	5,60	20,27	19,21

**, * Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

TABELA 7 - Contrastes para número de sementes germinadas, plântulas emergidas, plântulas atacadas e plântulas mortas de soja tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402, sob ataque de fungos fitopatogênicos em areia, aos 7 dias após a semeadura

Contraste	Diferença de número de plântulas aos 7 dias após a semeadura entre testemunha e patógeno vs CN-402							
	SG		PE		PA		PM	
C1 <i>Soja vs</i> CN-402 (TS)	0,0	ns	1,6	ns	0	ns	-1,6	ns
C2 <i>Ss vs</i> CN-402 (TS)	1,0	ns	12,7	*	-12,6	ns	-11,7	*
C3 <i>Fo vs</i> CN-402 (TS)	0,3	ns	2,0	ns	0,6	ns	-1,7	ns
C4 <i>Fs vs</i> CN-402 (TS)	0,7	ns	2,0	ns	-1,6	ns	-2,6	ns
C5 <i>Fg vs</i> CN-402 (TS)	0,3	ns	4,0	ns	-6,3	ns	-4,3	ns
C6 <i>Mp vs</i> CN-402 (TS)	0,0	ns	0,3	ns	-13,0	*	-1,7	ns
C7 <i>Ps vs</i> CN-402 (TS)	-1,7	ns	2,0	ns	-10,0	ns	-0,3	ns
C8 <i>Cc vs</i> CN-402 (TS)	0,3	ns	0,7	ns	-5,3	ns	-0,3	ns
C9 <i>Ct vs</i> CN-402 (TS)	-1,0	ns	0,6	ns	-4,0	ns	-2,0	ns
C10 <i>Rs vs</i> CN-402 (TS)	0,3	ns	-1,4	ns	1,0	ns	1,7	ns

Estimativas de contraste seguido por * difere significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Scheffe. ns: não significativo. Valores negativos indicam um número maior de plântulas na testemunha.

Ss: *Sclerotinia sclerotiorum*; Fo: *Fusarium oxysporum*; Fs: *Fusarium solani*; Fg: *Fusarium graminearum*; Mp: *Macrophomina phaseolina*; Ps: *Phomopsis sojae*; Cc: *Corynespora cassiicola* e Ct: *Colletotrichum truncatum* e Rs: *Rhizoctonia solani*

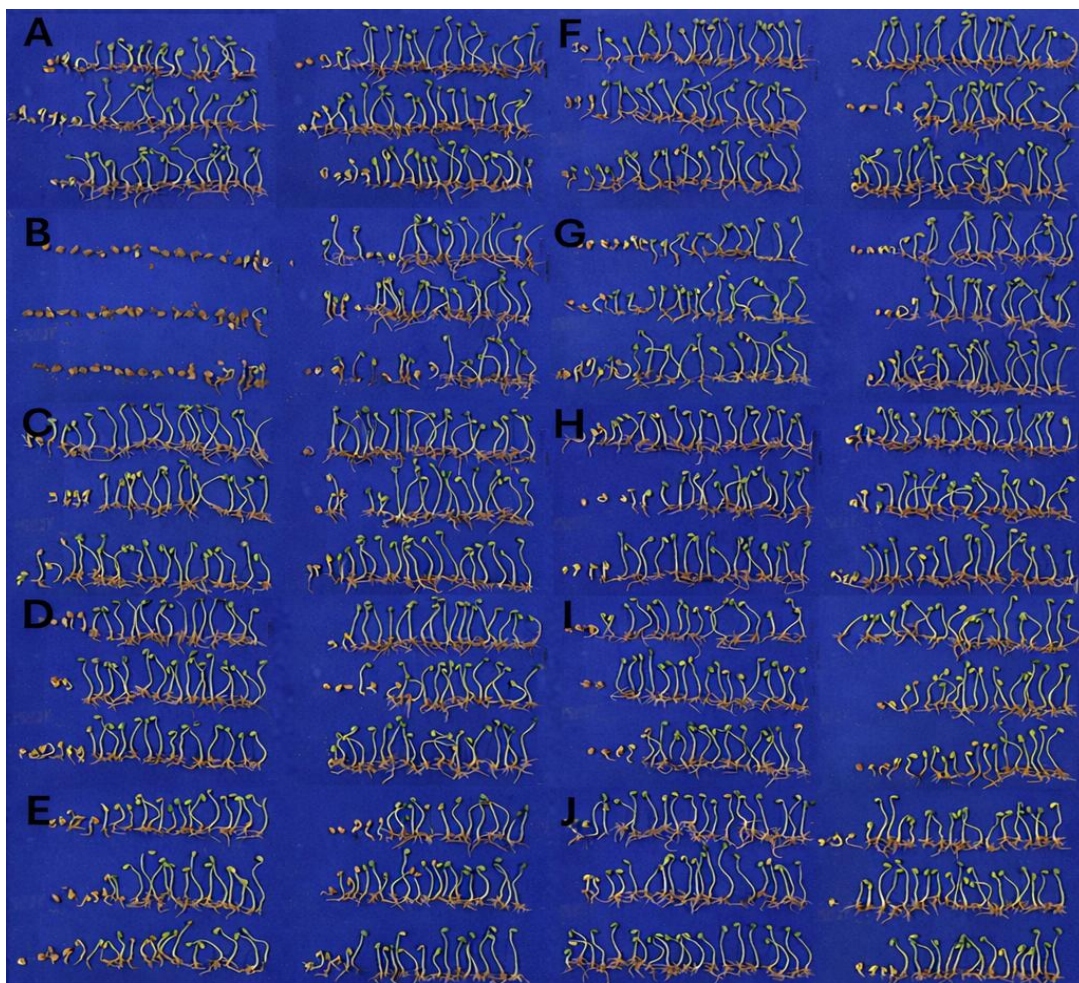


FIGURA 5 - Ensaio de germinação de sementes de soja tratadas com *B. amyloliquefaciens* CN-402 contra fungos fitopatogênicos em areia. Imagem à esquerda corresponde ao tratamento controle, imagem à direita corresponde as sementes tratadas com o antagonista. A – Tratamento controle. B – *Sclerotinia sclerotiorum*. C – *Fusarium oxysporum*. D – *Fusarium solani*. E – *Fusarium graminearum*. F - *Macrophomina phaseolina*. G – *Phomopsis sojae*. H – *Corynespora cassiicola*. I – *Colletotrichum truncatum*. J – *Rhizoctonia solani*.

3.2.2 Germinação de sementes de soja com *B. amyloliquefaciens* CN-402 em placa de Petri

Nos tratamentos com *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum truncatum* e *Trichoderma harzianum* não houve redução do crescimento micelial com 100% de plântulas atacadas mesmo na presença de CN-402. Nos demais tratamentos foram registradas taxas de inibição variando de 10 a 19,3% provocada pelo antagonista, com diferenças apenas para diâmetro médio da colônia fúngica para os fungos *Fusarium solani* e *Phomopsis sojae* na presença do antagonista (Tabelas 8 e 9).

TABELA 8 - Contrastes para diâmetro médio (DMéd) da colônia de fungos fitopatogênicos, número de plântulas de soja normais (PN) e atacadas (PA) tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 em teste de confronto direto em placa de Petri aos 7 dias após a semeadura

Contraste		Diferença de DMéd (mm)	Número de plântulas	
			PN	PA
C1	<i>Ss</i> vs CN-402 (TS)	6,5 ns	-4,0 ns	-3,7 ns
C2	<i>Fo</i> vs CN-402 (TS)	5,0 ns	-1,7 ns	-4,0 ns
C3	<i>Fs</i> vs CN-402 (TS)	11,0 *	-1,3 ns	0,0 ns
C4	<i>Fg</i> vs CN-402 (TS)	4,5 ns	-2,6 ns	-2,6 ns
C5	<i>Mp</i> vs CN-402 (TS)	5,5 ns	-4,0 ns	-4,0 ns
C6	<i>Ps</i> vs CN-402 (TS)	8,7 *	-1,3 ns	-2,7 ns
C7	<i>Cc</i> vs CN-402 (TS)	5,7 ns	0,0 ns	-3,7 ns
C8	<i>Ct</i> vs CN-402 (TS)	0,0 ns	0,0 ns	0,0 ns
C9	<i>Rs</i> vs CN-402 (TS)	0,0 ns	-1,3 ns	-0,7 ns
C10	<i>Th</i> vs CN-402 (TS)	0,0 ns	-2,7 ns	-1,4 ns

Estimativas de contraste seguido por * difere significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Scheffe. ns: não significativo. Valores negativos indicam um número maior de plântulas na testemunha.

Ss: *Sclerotinia sclerotiorum*; Fo: *Fusarium oxysporum*; Fs: *Fusarium solani*; Fg: *Fusarium graminearum*; Mp: *Macrophomina phaseolina*; Ps: *Phomopsis sojae*; Cc: *Corynespora cassiicola* e Ct: *Colletotrichum truncatum*; Rs: *Rhizoctonia solani* e Th: *Trichoderma harzianum*.

TABELA 9 - Diâmetro médio da colônia (DMéd) e porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de fungos fitopatogênicos, bem como a porcentagem de plântulas de soja normais e infectadas, tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402, em teste de confronto direto em placa de Petri, aos 7 dias após a semeadura

Tratamento	DMéd (mm)	PIC (%)	Plântulas normais (%)	Plântulas atacadas (%)
<i>S. sclerotiorum</i>	44,2	0	0	91,7
<i>S. sclerotiorum</i> x CN402 (TS)*	37,7	14,7	100,0	0
<i>F. oxysporum</i>	45,0	0	58,3	100,0
<i>F. oxysporum</i> x CN-402 (TS)	40,0	11,1	100,0	0
<i>F. solani</i>	45,0	0	100,0	0
<i>F. solani</i> x CN-402 (TS)	34,0	24,4	66,7	0
<i>F. graminearum</i>	45,0	0	16,7	83,3
<i>F. graminearum</i> x CN-402 (TS)	40,5	10,0	83,3	16,7
<i>M. phaseolina</i>	45,0	0	0	100,0
<i>M. phaseolina</i> x CN-402 (TS)	39,5	12,2	100,0	0
<i>P. sojae</i>	45,0	0	66,7	66,7
<i>P. sojae</i> x CN-402 (TS)	36,3	19,3	100,0	0
<i>C. cassiicola</i>	34,0	0	100,0	91,7
<i>C. cassiicola</i> x CN-402 (TS)	28,3	16,7	100,0	0
<i>C. truncatum</i>	45,0	0	0	100,0
<i>C. truncatum</i> x CN-402 (TS)	45,0	0	0	100,0
<i>R. solani</i>	45,0	0	100	66,7
<i>R. solani</i> x CN-402 (TS)	45,0	0	66,7	50,0
<i>T.harzianum</i> IBLF1917	45,0	0	33,3	66,7
<i>T.harzianum</i> x CN-402 (TS)	45,0	0	100,0	33,3

*(TS): aplicação de *B. amyloliquefaciens* CN-402 via tratamento de sementes na soja.

Nos tratamentos controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina* e *Corynespora cassiicola* o número de plântulas atacadas oscilou entre 83 e 100%, havendo supressão total do ataque dos patógenos, na presença do *Bacillus*, apesar de não haver diferença entre os tratamentos. O tratamento biológico das sementes de soja ocasionou aumento 67% de plântulas normais na presença de *Fusarium graminearum*. A associação de *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 e *Trichoderma* também aumentou o número de plântulas normais, apesar de não haver diferença entre os tratamentos para plântulas normais e atacadas.

TABELA 10 - A análise de variância (ANOVA) foi realizada para avaliar os efeitos do tratamento com *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 sobre o diâmetro médio da colônia fúngica (DMéd), a porcentagem de plântulas de soja normais (PN) e a porcentagem de plântulas atacadas (PA), em teste de confronto direto em placa de Petri, aos 7 dias após a semeadura

FV	GL	Quadrado médio		
		Dméd	PN	PA
Tratamento (P)	19	0,482 **	0,759 **	0,845 **
Erro	40	0,014	0,120	0,082
Total	59			
CV (%)		1,85	19,20	17,72

**, * Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

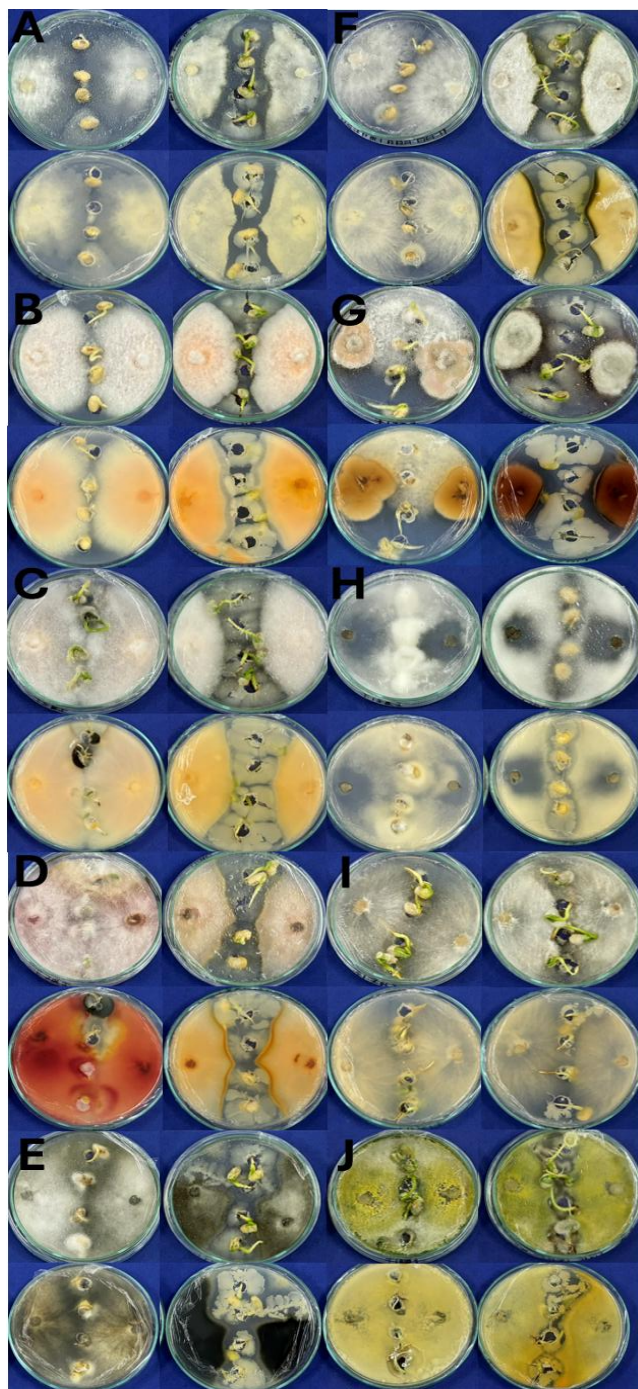


FIGURA 6 - Ensaio de germinação de sementes de soja tratadas com *B. amyloliquefaciens* CN-402 contra fungos fitopatogênicos em placa de Petri. Imagem à esquerda corresponde ao tratamento controle, imagem à direita corresponde as sementes tratadas com o antagonista. Imagem da frente e verso das placas. A – *Sclerotinia sclerotiorum*. B – *Fusarium oxysporum*. C – *Fusarium solani*. D – *Fusarium graminearum*. E - *Macrophomina phaseolina*. F – *Phomopsis sojae*. G – *Corynespora cassiicola*. H – *Colletotrichum truncatum*. I – *Rhizoctonia solani*. J – *Trichoderma harzianum* IBLF1917.

4 DISCUSSÃO

A atividade antifúngica de *Bacillus* pode ligar-se a produção de metabólitos secundários como surfactinas, fengicinas e iturinas, entre outros, além de outras características como a capacidade competitiva no ambiente através da colonização da rizosfera e solubilização de nutrientes (Petkova, 2025).

Isolados bacterianos estudados por Petkova (2025), demonstraram baixa atividade de lipopeptídeos, entretanto foram eficientes antagonistas para *Fusarium graminearum*, produzindo enzimas como amilase e protease, além da produção de auxinas e capacidade de solubilização de nutrientes, conjunto de mecanismos de ação semelhantes aos encontrados no presente estudo, sendo *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 eficiente na redução do crescimento micelial dos fungos *Fusarium solani*, *F. oxysporum* e *F. graminearum*. Autores como Jan (2023) e Khan (2018), encontraram também atividade de outras enzimas como celulases, quitinases e glucanases na ação de *Bacillus* contra *Fusarium*.

Fujimoto (2017), ao avaliar a atividade antagonica de diferentes espécies de *Bacillus* sobre *Phyllosticta citricarpa*, observou variações na produção de metabólitos pelo antagonista em distintos meios de cultura, bem como na porcentagem de inibição do crescimento micelial do fungo, alcançando cerca de 73% de inibição no meio ágar triptona de soja. Segundo o autor, a triptona desempenhou papel importante na produção de compostos antagonicos por *Bacillus*, refletindo diretamente em seu efeito inibitório sobre o patógeno. Esse resultado é semelhante ao observado no presente estudo, no qual também foram verificadas diferenças significativas na inibição entre os meios testados para os fungos *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum truncatum* e *Trichoderma harzianum*.

Além da produção de enzimas extracelulares, bactérias podem sintetizar outros compostos com ação contra fitopatógenos, como antibióticos e lipopeptídeos, os quais podem afetar não apenas o desenvolvimento micelial, mas também processos de infecção, como a germinação de esporos (Santos, 2021). Estudos conduzidos por Xue (2023) e Santos (2021) demonstraram redução tanto na germinação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* quanto no crescimento micelial do fungo na presença de diferentes isolados de bactérias do gênero *Bacillus*. De forma semelhante, Ayaz (2024) observou valores de inibição superiores a 70% decorrentes da ação de compostos difusíveis produzidos por *Bacillus subtilis*, além de aproximadamente 70% de inibição atribuída a compostos orgânicos voláteis em cultivo pareado

em placa bipartida. Em contraste, o isolado CN-402 não apresentou atividade relacionada à produção de compostos orgânicos voláteis neste estudo.

Uma característica importante de *Macrophomina phaseolina* é a produção de grande quantidade de enzimas hidrolíticas capazes de degradar celulose, lignina, e outros componentes estruturais da parede celular do hospedeiro permitindo que o fungo infecte facilmente a planta. Esse fitopatógeno produz também vários compostos secundários com efeito fitotóxicos, capazes de enfraquecer o sistema de defesa da planta (Marquez, 2021). *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 reduziu em 74,8% em confronto direto no meio ágar triptona de soja e 60,7% em meio batata dextrose ágar o crescimento micelial do fungo mostrando potencial na redução da incidência da doença.

Rangel-Montoya (2022), avaliando o efeito de controle de *M. phaseolina* por isolados de *Bacillus amyloliquefaciens* em feijão-caupi, encontrou valores de inibição entre 63 e 67% nos ensaios de confronto direto em placa de Petri, similares aos encontrados neste estudo, que variaram de 60 até 75%. Já Paramasivan (2025), encontrou porcentagens menores de inibição entre 40 e 47%, classificando os isolados bacterianos como eficientes na redução do crescimento do fungo.

Phomopsis sojae, *Corynespora cassiicola* e *Colletotrichum truncatum* possuem alta capacidade de persistência no ambiente, sobrevivendo em restos vegetais, sendo disseminados por sementes contaminadas (Bouffleur, 2021; Rondon, 2021; Vidic, 2011, Zhang, 2023.). Ayaz (2024), observou taxas de inibição de *Phomopsis sojae* de cerca de 70% por ação de *Bacillus* nos testes de confronto direto em placa de Petri e cultivo pareado em placa bipartida, mostrando a produção pelo isolado tanto de metabólitos difusíveis ou voláteis, eficientes na supressão do fungo, similares aos resultados de 71,3 e 73,3% encontrados nesse estudo para os testes de confronto direto.

Para *Corynespora cassiicola* os valores encontrados foram menores, entre 53 até 57% de inibição, em meio BDA e TSA, respectivamente sem diferença entre os tratamentos e controle. Pujade-Renaud (2019), observando a capacidade de microrganismos endofíticos isolados de seringueira, obteve resultados que variaram de 15 a 35% de inibição do crescimento micelial principalmente pelo efeito micoparasita de *Trichoderma*, além da produção de compostos com efeitos antagônicos sobre o patógeno, mostrados nos testes.

Para *Colletotrichum truncatum* a redução foi de 41,7 e 73,2%, em meio BDA e TSA, respectivamente com diferença apenas para o meio TSA. Dos Santos (2024), avaliando o efeito antagônico de *Bacillus velezensis* obteve 33% de inibição do crescimento micelial de *C. truncatum* e 37% para *C. cassiicola*, devido a capacidade antagônica evidenciada pelo grande

halo de inibição formado ao redor da colônia bacteriana, limitando o crescimento dos fungos. Sherin (2025), obteve cerca de 48% de inibição do fungo, em ensaios de confronto direto, com um isolado bacteriano endofítico, posteriormente identificado como *Bacillus subtilis*, conseguindo reduzir a incidência da doença em plantas de pimenta tratadas com o antagonista em ensaios *in vivo*.

Xue (2023), encontrou valores de inibição próximos a 60% para *Rhizoctonia solani* em confronto direto com *Bacillus velezensis*. Já Gabardo (2020), avaliando a capacidade antagonica de *Bacillus subtilis* observou redução de apenas 4% no crescimento micelial do fungo, o que corrobora com os resultados encontrados nesse estudo, mostrando que alguns isolados de *Bacillus* podem não possuir mecanismos eficientes de controle para esse fitopatógeno.

Ainda segundo o autor, microrganismos como *Trichoderma* possuem maior ação sobre o fitopatógeno, devido a produção de antibióticos e enzimas que degradam a parede celular do fungo, causando lise celular e danos ao DNA, o que leva a formação excessiva de espécies reativas de oxigênio e danos estruturais, além de outros processos fisiológicos que impedem o crescimento.

Na ausência de patógenos, *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 reduziu a mortalidade, aumentando a porcentagem de plântulas emergidas, o que pode ser explicado pelo efeito de promoção de crescimento do isolado. Araújo (1995), mostrou que a inoculação de *Bacillus* em sementes de soja, além de reduzir a incidência de doenças, melhorou a nodulação por *Bradyrhizobium* e desenvolvimento das plantas, devido a ação das auxinas, que estimulam a formação de pilosidade radicular nas zonas de crescimento das raízes.

A capacidade de produzir múltiplas enzimas, como celulases, quitinases, proteases, entre outras, pode contribuir para uma maior atividade antifúngica do isolado. Além disso, ao colonizar a rizosfera entrando em contato com o patógeno, o antagonista compete por espaço e nutrientes vitais para a infecção do hospedeiro, podendo também parasitar o fungo, decompondo suas estruturas para obtenção de nutrientes (Fernandes, 2021). Ao estudar o efeito de *Paraburkholderia* e *Bacillus* aplicados no tratamento de sementes de soja, a autora observou redução na incidência do ataque de *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium piperis*, *Corynespora cassiicola* e *Phomopsis sojae*, semelhantes aos resultados encontrados neste estudo.

Vaz (2023), em teste de germinação de sementes de soja tratadas com diferentes isolados de *Bacillus*, em placa de Petri, observou a inibição do ataque de *Sclerotinia sclerotiorum*, reduzindo a incidência da doença, devido a formação de halo de inibição ao redor da colônia

bacteriana que formou filme sobre a semente. Tais resultados foram observados neste estudo tanto no ensaio de germinação de sementes tratadas com CN-402 quanto em placa de Petri, com 100% de plântulas normais na presença do patógeno, quanto no ensaio de germinação em areia, em que diferença entre o tratamento com o antagonista e a testemunha foi de 64,3% de plântulas mortas, mostrando a capacidade protetora do antagonista e seu potencial como biofungicida para tratamento de sementes.

Fernandes (2021), ressalta que *Rhizoctonia solani* é um fungo fitopatogênico facultativo muito agressivo, que através da produção de enzimas líticas degrada a parede celular vegetal, infectando e matando a planta rapidamente.

5 CONCLUSÃO

Bacillus amyloliquefaciens CN-402 foi capaz de inibir o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* e *Corynespora cassiicola*.

Bacillus amyloliquefaciens CN-402 não foi capaz de inibir o crescimento micelial de todos os fungos fitopatogênicos testados em placa de Petri.

Nos ensaios de germinação, o tratamento das sementes de soja com *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 promoveu redução na ocorrência de plântulas atacadas e mortas para *Sclerotinia sclerotiorum*, mostrando seu potencial promissor, como biofungicida de solo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHARYA, A. *et al.* Efficient extraction and optimization of amylase and protease from *Bacillus* species: a comprehensive study. **Journal of Applied Research in Plant Sciences**, v. 6, n. 1, p. 34–47, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.25131.14883>. Acesso em: 5 jan. 2026.

ARAÚJO, F. F. *et al.* Caracterização do potencial antifúngico de *Bacillus* spp. isolados de solos do Paraná. In: **MICROBIOLOGIA DO SOLO: DESAFIOS PARA O SÉCULO XXI**. Londrina: IAPAR; Embrapa-CNPSO, 1995. p. 450–455. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9717/12/8/1621>. Acesso em: 5 jan. 2026.

AYAZ, M. *et al.* Exploring plant growth promoting traits and biocontrol potential of newly isolated *Bacillus subtilis* BS-2301 strain in suppressing *Sclerotinia sclerotiorum* through various mechanisms. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1444328>. Acesso em: 5 jan. 2026.

BANDARA, A. Y. *et al.* Dissecting the economic impact of soybean diseases in the United States over two decades. **PLOS ONE**, v. 15, n. 4, p. e0231141, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231141>. Acesso em: 5 jan. 2026.

BOUFLEUR, T. R. *et al.* Soybean anthracnose caused by *Colletotrichum* species: current status and future prospects. **Molecular Plant Pathology**, v. 22, n. 4, p. 393–409, 2021. Disponível em: <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/mpp.13036>. Acesso em: 5 jan. 2026.

BRAGA JUNIOR, G. M. *et al.* Controle biológico de fitopatógenos por *Bacillus subtilis* *in vitro*. **Biota Amazônia**, v. 7, n. 3, p. 45–51, 2017. Disponível em: <https://ppghi.br/wp-content/uploads/final-de-verdade.pdf>. Acesso em: 5 jan. 2026.

DE ANDRADE, L. A. *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production. **Microorganisms**, v. 11, n. 4, p. 1088, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041088>. Acesso em: 5 jan. 2026.

DOS SANTOS, J. C. *et al.* Ação antagonista de *Bacillus velezensis* sobre fitopatógenos de espécies agrícolas. **Cadernos de Agroecologia**, v. 19, n. 1, 2024. Disponível em: <https://cadernos.aba-agroecologia.org.br/cadernos/article/view/7548>. Acesso em: 5 jan. 2026.

FERNANDES, M. F. R. Biotechnological potential of bacteria from genera *Bacillus*, *Paraburkholderia* and *Pseudomonas* to control seed fungal pathogens. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 705–714, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00448-9>. Acesso em: 5 jan. 2026.

FONSECA, M. C. M. *et al.* Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 45–50, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_170. Acesso em: 5 jan. 2026.

FUJIMOTO, A. **Identificação de compostos orgânicos voláteis e antibióticos produzidos por *Bacillus* spp. envolvidos no controle da mancha preta dos citros**. 2017. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02363>. Acesso em: 5 jan. 2026.

GABARDO, G. *Trichoderma asperellum* e *Bacillus subtilis* como antagonistas no crescimento de fungos fitopatogênicos in vitro. **Revista Brasileira de Desenvolvimento**, v. 6, n. 8, p. 55870-55885, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n8-123>. Acesso em: 5 jan. 2026.

HOSSEINI, B.; VOEGELE, R. T.; LINK, T. I. Diagnosis of soybean diseases caused by fungal and oomycete pathogens: existing methods and new developments. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 5, p. 587, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof9050587>. Acesso em: 5 jan. 2026.

JAN, F. *et al.* In vitro assessment of *Bacillus subtilis* FJ3 affirms its biocontrol and plant growth promoting potential. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1205894, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1205894>. Acesso em: 5 jan. 2026.

KHAN, N. *et al.* Antifungal activity of *Bacillus* species against *Fusarium* and analysis of the potential mechanisms used in biocontrol. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 2363, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02363>. Acesso em: 5 jan. 2026.

MARQUEZ, N. *et al.* *Macrophomina phaseolina*: general characteristics of pathogenicity and methods of control. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 634397, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.634397>. Acesso em: 5 jan. 2026.

PARAMASIVAN, M. *et al.* Study of endophytic and rhizobacteria against root rot pathogen *Macrophomina phaseolina* in sesame. **Plant Science Today**, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.14719/pst.7947>. Acesso em: 5 jan. 2026.

PETKOVA, M. *et al.* Plant growth-promoting and biocontrol characteristics of four *Bacillus* strains and evaluation of their effects on wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of Plant Biology*, v. 16, n. 1, p. 1, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijpb16010001>. Acesso em: 5 jan. 2026.

PUJADE-RENAUD, V. Endophytes from wild rubber trees as antagonists of the pathogen *Corynespora cassiicola*. **Phytopathology**, v. 109, n. 11, p. 1888-1899, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-19-0093-R>. Acesso em: 5 jan. 2026.

RANGEL-MONTOYA, E. A. *et al.* Biocontrol of *Macrophomina phaseolina* using *Bacillus amyloliquefaciens* strains in cowpea (*Vigna unguiculata* L.). **Agronomy**, v. 12, n. 3, p. 676, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy12030676>. Acesso em: 5 jan. 2026.

RONDON, M. N.; LAWRENCE, K. The fungal pathogen *Corynespora cassiicola*: a review and insights for target spot management on cotton and soybean. **Journal of Phytopathology**, v. 169, n. 6, p. 329–338, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jph.12992>. Acesso em: 5 jan. 2026.

SANTOS, A. C. M. **Seleção de *Bacillus* spp. para controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e promoção de crescimento em feijoeiro.** 2021. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Viçosa, Rio Paranaíba, 2021. Disponível em: <https://locus.ufv.br/server/api/core/bitstreams/fa0e4fcf-3096-46c8-b9271f670d6df6e5/content>. Acesso em: 5 jan. 2026.

SHERIN, S. *et al.* Antagonistic potential of endophytic bacteria against *Colletotrichum truncatum* causing fruit rot in chilli. **Journal of Advances in Biology & Biotechnology**, v. 28, n. 8, p. 929–945, 2025. Disponível em: [10.9734/jabb/2025/v28i82768](https://doi.org/10.9734/jabb/2025/v28i82768). Acesso em: 5 jan. 2026.

TYŚKIEWICZ, R. *et al.* *Trichoderma*: the current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 4, p. 2329, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms23042329>. Acesso em: 5 jan. 2026.

VAZ, M. H. D. M. **Avaliação de antibiose da bactéria *Bacillus* JAB01 sobre *Sclerotinia sclerotiorum* sob ensaio com soja (*Glycine max* L.) em casa de vegetação.** 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrônoma) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2023. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/20e83695-feaf-41c5-b865-1608445d78bb/content>. Acesso em: 5 jan. 2026.

VIDIĆ, M.; JASNIĆ, S.; PETROVIĆ, K. *Diaporthe/Phomopsis* species on soybean in Serbia. **Pesticidi i Fitomedicina**, v. 26, n. 4, p. 301–315, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.2298/PIF1104301V>. Acesso em: 5 jan. 2026.

XUE, Y. *et al.* A novel biocontrol agent *Bacillus velezensis* K01 for management of gray mold caused by *Botrytis cinerea*. **AMB Express**, v. 13, n. 1, p. 91, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13568-023-01596-x>. Acesso em: 5 jan. 2026.

YAO, X. *et al.* Genomic functional analysis and cellulase characterization for the enzyme-producing strain *Bacillus subtilis* Y4X3 isolated from saline–alkaline soil in Xinjiang, China. **Microorganisms**, v. 13, n. 3, p. 552, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms13030552>. Acesso em: 5 jan. 2026.

ZHANG, S.-L. *et al.* Biocontrol of *Corynespora cassiicola* in soybean using a new phenethyl alcohol-producing *Meyerozyma caribbica* strain. **Biological Control**, v. 184, p. 105287, 2023. Disponível em: [10.1016/j.biocontrol.2023.105287](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105287). Acesso em: 5 jan. 2026.

CAPÍTULO III

CONTROLE DE *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* POR *Bacillus amyloliquefaciens*

CN-402

RESUMO

A produtividade da cultura da soja pode ser influenciada pela ocorrência de doenças. Dentre estas, destaca-se *Sclerotinia sclerotiorum*, com alto potencial de danos, por ser de difícil controle pelos métodos convencionais, como o uso de fungicidas químicos. Parte da dificuldade de controle desse fungo ocorre pela produção de estruturas de resistência chamadas escleródios, capazes de persistir no solo por longos períodos à espera de condições favoráveis para seu desenvolvimento. Uma alternativa de controle consiste no uso de defensivos biológicos, dentre eles, bactérias do gênero *Bacillus*. Os microrganismos benéficos controlam fungos fitopatogênicos por múltiplos mecanismos de ação, como antagonismo, competição, parasitismo, indução de resistência e promoção de crescimento de plantas. Diante da importância da sojicultura no cenário econômico brasileiro e dos impactos da doença nas áreas de produção do grão, objetivou-se com esse trabalho avaliar o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 *in vitro*. Foram avaliados os mecanismos de ação do microrganismo em laboratório, através de testes de cultivo pareado em placa bipartida para detecção da produção de compostos orgânicos voláteis, produção de enzimas oxidases como a oxalato-oxidase e capacidade de controle de escleródios. *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 tem capacidade antagonista sobre *Sclerotinia sclerotiorum* através da produção de oxalato-oxidase, que inibiu o desenvolvimento do fungo nos testes em placa de Petri. *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 não produziu compostos orgânicos voláteis. *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 demonstrou eficiência de controle, inibindo a germinação de escleródios em cerca de 30% em condições *in vitro*.

Palavras-chave: Compostos orgânicos voláteis. Controle biológico. Doenças de plantas. Mofo-branco.

ABSTRACT

Soybean crop productivity can be influenced by the occurrence of diseases. Among these, *Sclerotinia sclerotiorum* stands out, with a high potential for damage due to its difficulty in controlling using conventional methods, such as chemical fungicides. Part of the difficulty in controlling this fungus is due to the production of resistant structures called sclerotia, capable of persisting in the soil for long periods of time, waiting for favorable conditions for their development. An alternative control method consists of using biological pesticides, including bacteria of the genus *Bacillus*. These beneficial microorganisms control phytopathogenic fungi through multiple mechanisms of action, such as antagonism, competition, parasitism, induction of resistance, and promotion of plant growth. Given the importance of soybean farming to the Brazilian economic scenario and the impacts of the disease on grain production areas, this work aimed to evaluate the control of *Sclerotinia sclerotiorum* by *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 in vitro. The mechanisms of action of the microorganism were evaluated in the laboratory through paired culture tests in split plates to detect the production of volatile organic compounds, the production of oxidase enzymes such as oxalate oxidase, and the ability to control sclerotia. *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 has antagonistic capacity against *Sclerotinia sclerotiorum* through the production of oxalate oxidase, which inhibited the development of the fungus in Petri dish tests. *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 did not produce volatile organic compounds. *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 demonstrated control efficiency, inhibiting sclerotia germination by approximately 30% under in vitro conditions.

Keywords: Volatile organic compounds. Biological control. Plant diseases. White mold.

1 INTRODUÇÃO

Mofobranco (*Sclerotinia sclerotiorum*) é amplamente estudado devido sua importância econômica, causando grandes danos nas áreas em que ocorre. Este fungo tem capacidade de sobrevivência no solo, produzindo estruturas de resistência chamadas escleródios, que podem persistir no solo por vários anos, aguardando condições ideais para germinar e infectar novo hospedeiro (Rissato, 2017).

As perdas de produtividade na cultura da soja podem chegar a 70%, estando a doença presente em cerca de 28% das áreas cultivadas brasileiras (Meyer, et. al. 2020). As estratégias de manejo da doença devem focar em prevenção, impedindo que o fungo entre na área por meio de maquinário ou sementes contaminadas, e redução do inóculo presente na área, uma vez que após a infecção a doença é de difícil controle, levando a planta a morte antes de completar o ciclo produtivo (Meyer, et. al. 2015).

Sclerotinia produz escleródios como estruturas de resistência, permitindo sua sobrevivência por longos períodos, em condições ambientais desfavoráveis. Esses escleródios são responsáveis pela disseminação da doença quando encontram condições adequadas para germinação (Ayaz, 2024).

É importante ressaltar que o uso de fungicidas químicos constitui uma alternativa de elevado custo para o controle do mofobranco (Schmoller, 2021), especialmente devido às limitações relacionadas à época de aplicação e à eficácia dos princípios ativos. Além disso, o impacto ambiental decorrente de sua utilização torna essa prática pouco sustentável, sobretudo pelos efeitos negativos sobre a biodiversidade microbológica do solo (El-Baky, 2021).

Nesse contexto, os compostos orgânicos voláteis (COVs), produzidos por bactérias do gênero *Bacillus*, têm se destacado como uma estratégia biológica promissora no controle de fungos fitopatogênicos, tanto em condições de campo quanto no pós-colheita. Por se difundirem facilmente no ambiente, esses compostos podem atuar sobre o desenvolvimento dos patógenos mesmo sem contato direto com a bactéria produtora.

Essas bactérias são capazes de sintetizar uma ampla variedade de substâncias pertencentes a diferentes grupos químicos com atividade antifúngica, como cetonas, álcoois, ácidos graxos e compostos aromáticos, entre outros (Wang et al., 2022). Tais moléculas podem inibir ou interferir na germinação de esporos, no crescimento micelial e na esporulação (Zhang, 2020), além de provocar alterações morfológicas nas estruturas fúngicas, como hifas retorcidas, enrugadas e vesiculadas, levando ao colapso do protoplasma (Wang, 2025). Ademais, podem atuar em nível

celular, interferindo em organelas, como a redução do número de mitocôndrias e alterando ou inibindo rotas metabólicas essenciais, como as vias de carboidratos (Zuo, 2025). Também podem induzir mecanismos de defesa no hospedeiro, por meio da resistência sistêmica induzida (ISR), contribuindo para a proteção contra o ataque de patógenos (Rana, 2024).

COV's produzidos por *Bacillus* possuem forte atividade antifúngica, amplo espectro e capacidade de induzir defesas nas plantas, se apresentando como ferramentas promissoras para biocontrole de fungos fitopatogênicos. O avanço para aplicações comerciais depende de melhor entendimento dos mecanismos de ação e evolução de formulações comerciais e tecnologia de aplicação de produtos biológicos.

Além de metabólitos voláteis, outras substâncias produzidas por microrganismos podem interferir no desenvolvimento de fitopatógenos. Enzimas hidrolíticas como celulases, amilases, proteases e lipases produzidas por *Bacillus* tem a capacidade de degradar componentes da parede celular de oomicetos interferindo no seu desenvolvimento e estabelecimento (Ajuna, 2023).

Um importante mecanismo de infecção de *Sclerotinia sclerotiorum* é a acidificação do ambiente ao seu entorno, através da produção de ácido oxálico, substância que favorece a ação de enzimas responsáveis pela degradação da parede celular e infecção do hospedeiro. Essa substância atua também, na regulação osmótica das células sentinelas, mantendo os estômatos abertos, o que facilita a penetração das hifas do fungo nos tecidos da planta (Farzand et al., 2020).

Uma fonte de resistência de soja estudada é a transformação genética (Cunha, 2010), adicionando genes do fungo *Flammulina velutipes* que conferem à planta capacidade de produzir enzimas como as oxalato oxidases e descarboxilases que degradam o ácido oxálico produzido pelo patógeno. Outra alternativa é a utilização de agentes de controle biológico (microrganismos) capazes de produzir essas enzimas na presença do patógeno, impedindo ou reduzindo significativamente a infecção das plantas atacadas.

Com isto, objetivou-se com este trabalho avaliar o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 *in vitro*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Como antagonista foi utilizado *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402, de propriedade intelectual da Nooa Ciência e Tecnologia[®], cedido pela UniRV para este projeto.

2.1 Testes de detecção de compostos orgânicos voláteis (COV's)

O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições por tratamento, em placas bipartidas, de acordo com Silva et al., (2022). Em um dos lados da placa foi adicionado meio ágar nutriente (NA) e Ágar Triptona de Soja (TSA) para *Bacillus* em tratamentos distintos, e no outro lado BDA para os fungos (Fujimoto, 2017). A bactéria foi inoculada na metade contendo meio ágar nutriente (NA) ou Ágar Triptona de Soja (TSA), com auxílio de alça drigalski estéril. Discos de 9 milímetros contendo culturas puras do fungo foram adicionados no lado contendo meio BDA, vedando-se as placas com plástico filme para avaliação da produção de COV's (Fernando, 2005).

Foi utilizado escleródios nos testes a fim de avaliar a interferência dos COV's na germinação miceliogênica (Vaz, 2023). As placas foram incubadas em BOD a 22°C com fotoperíodo de 12 horas até o crescimento das colônias fúngicas do tratamento controle atingirem as bordas das placas.

As placas foram incubadas por 7 dias a 22°C, sendo avaliado o crescimento das colônias fúngicas nos tratamentos usando-se a metodologia da PIC descrita anteriormente, a fim de avaliar a inibição no crescimento do fungo pela produção de compostos orgânicos voláteis aos 1, 3, 5 e 7 dias de incubação.

2.1.1 Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de variabilidade.

2.2 Testes de identificação da produção de oxalato-oxidase por *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402

2.2.1 Teste de identificação da produção de oxalato-oxidase por *B. amyloliquefaciens* CN-402 contra escleródios de *S. sclerotiorum*

O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições de cada tratamento segundo metodologia descrita por Vaz (2023) e Santos (2021).

Em uma placa contendo meio BDA foi espalhado o inóculo do antagonista com auxílio de alça drigalski esterilizada. Em seguida, foram colocados sobre o meio, 2 escleródios

previamente desinfestados nas extremidades a 1,5 centímetros da borda da placa. O segundo tratamento constituiu-se da imersão dos escleródios previamente desinfestados em solução do antagonista por 1 minuto. Os escleródios foram então colocados no meio de cultura para crescimento. As placas foram incubadas por 7 dias a 22°C.

Posteriormente os escleródios foram retirados das placas, lavados 3 vezes em solução de hipoclorito a 1,5% e enxaguados em água destilada para remoção do inóculo bacteriano da sua superfície, e colocados em placa de BDA contendo 50 mg.L⁻¹ de azul de bromofenol, para avaliar interferência na produção de ácido oxálico pelos escleródios. A avaliação foi visual observando a mudança de cor do meio de azul para amarelo onde o fungo for capaz de produzir ácido oxálico após 15 dias de incubação.

2.2.2 Teste de identificação da produção de oxalato-oxidase por *B. amyloliquefaciens* CN-402 contra micélio de *S. sclerotiorum*

O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições de cada tratamento segundo metodologia descrita por Vaz (2023) e Santos (2021). O teste consistiu em tratamento controle apenas com micélio e espalhando-se a bactéria sobre toda a superfície da placa, posteriormente colocando-se dois discos de micélio de *Sclerotinia* em lados opostos a cerca de um centímetro da borda da placa.

2.2.3 Avaliação da germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum*

O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições de cada tratamento. Foram usadas câmaras gerbox contendo areia autoclavada (120°C por duas horas) e umedecida previamente até 80% da capacidade de campo com água esterilizada, para avaliação da germinação carpogênica (produção de apotécios) dos escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*.

Dezesseis escleródios previamente desinfestados em solução de hipoclorito a 1,5% (imersão de 3 a 5 minutos) e enxaguados por duas vezes em água destilada esterilizada foram colocados sobre a areia no interior do recipiente, sendo aplicado sobre eles com auxílio de um borrifador manual de névoa fina, um volume de 0,121 mL da solução bacteriana contendo o antagonista, a fim de simular uma pulverização a campo.

Para o tratamento controle (Tabela 4.) foi aplicado o mesmo volume de água destilada esterilizada. Foram executados dois tratamentos adicionais a fim de comparação com um

tratamento biológico comercial padrão (*Trichoderma harzianum* IBLF1917) e um tratamento de *Bacillus* CN-402 aplicado por imersão dos escleródios em solução, para observar a máxima eficiência do antagonista.

As caixas foram incubadas em BOD a 20°C por 15 a 30 dias. Os tratamentos foram avaliados quanto a germinação miceliogênica e carpogênica dos escleródios (Bontempo, 2016).

2.3 Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de tukey a 5% de variabilidade. O contraste dos tratamentos do fatorial com o tratamento adicional foi verificado a partir do teste de dunnett a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS

3.1 Produção de compostos orgânicos voláteis (COV's)

Apesar das diferenças observadas entre os tratamentos com o antagonista e o controle, o teste de inibição por COV's em placa bipartida indicou baixa inibição da germinação miceliogênica de escleródios e do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*. No entanto, verificou-se redução do crescimento micelial nos tratamentos de confrontação indireta com o antagonista, uma vez que o fitopatógeno não se desenvolveu no compartimento inoculado com o isolado CN-402. Em contrapartida, nos tratamentos controle, o fungo apresentou crescimento em 100% da placa (Tabela 11).

TABELA 11 - Valores médios para diâmetro médio (DM) e porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), de *Sclerotinia sclerotiorum* em confrontação em placa com *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402, nos testes de produção de compostos orgânicos voláteis, nos meios Ágar de triptona de soja (TSA) e Ágar nutriente (NA)

Tratamento	Meio de cultura	1 DIA		3 DIAS		5 DIAS		7 DIAS	
		DM	PIC	DM	PIC	DM	PIC	DM	PIC
<i>S. sclerotiorum</i>	NA	28,7	0,0	60	0	80	0	80	0
<i>S. sclerotiorum</i>	TSA	30,2	0,0	60	0	80	0	80	0
<i>S.s vs</i> CN-402	NA	26,4	6,7	59,5	0,4	59,4	14,8	59,4	14,8
<i>S.s vs</i> CN-402	TSA	21,5	24,0	60	0,4	59,4	14,8	60	13,9
Escleródio <i>vs</i> CN-402	NA	0	100,0	21	64,9	53,3	23,5	60	13,9
Escleródio <i>vs</i> CN-402	TSA	0	100,0	20,3	66,0	60	13,9	60	13,9

TABELA 12 - Análise de Variância para diâmetro médio (DM), aos 7 dias de incubação, de *Sclerotinia sclerotiorum*, em placa com *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402, nos testes de produção de compostos orgânicos voláteis

FV	GL	Quadrado médio	
		DM	
Meio de cultura (MC)	1	0,30	*
Tratamento (T)	2	1353,63	**
<i>MC x T</i>	2	0,030	*
Erro	24	0,11	
CV (%)	0,50		

**, * Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

TABELA 13 - Análise de Variância para diâmetro médio (DM), aos 7 dias de incubação, de *Sclerotinia sclerotiorum*, em placa com *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402, nos testes de produção de compostos orgânicos voláteis, nos meios Ágar de triptona de soja (TSA), Ágar nutriente (NA) e Batata dextrose Ágar (BDA)

Meio de cultura	Somente Fungo		Micélio x CN-402		Escleródio x CN-402		Média
NA	80,00	bC	59,40	aA	60,00	aB	66,47
TSA	80,00	bB	60,00	aA	60,00	aA	66,47
Média	80,00		60,00		59,70		

Médias seguidas por mesma letra maiúscula entre meios de cultura e minúscula entre tratamentos, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

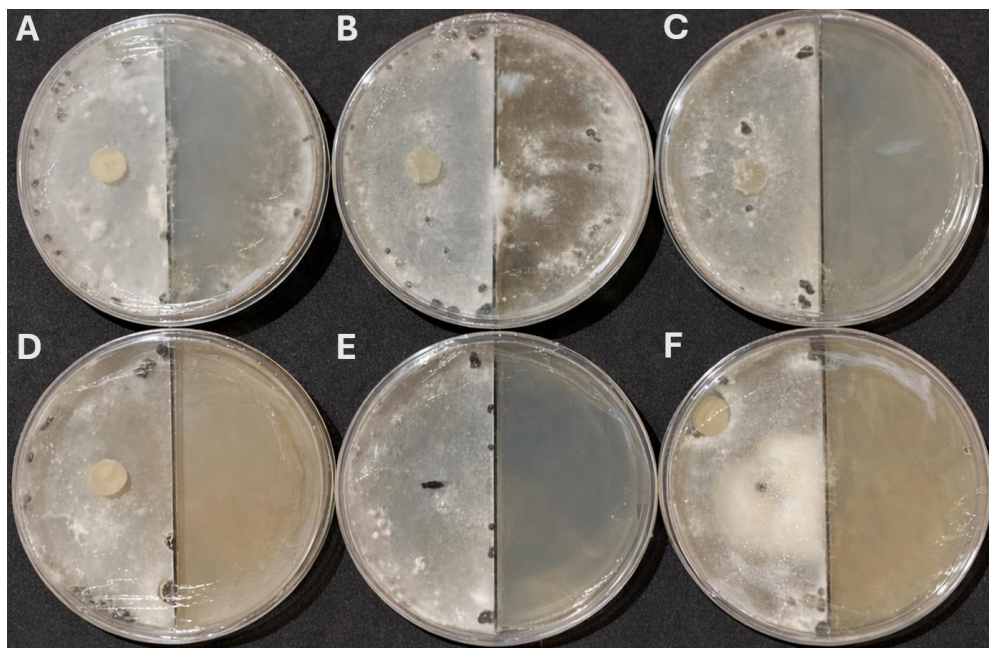


FIGURA 7 - Teste de detecção de produção de compostos orgânicos voláteis (COV's) por *B. amyloliquefaciens* CN-402. A – T1: Controle versus meio de cultura ágar nutriente (NA). B – Controle versus meio de cultura ágar triptona de soja (TSA). C – Micélio de *S. sclerotiorum* versus antagonista em meio de cultura ágar nutriente (NA). D – Micélio de *S. sclerotiorum* versus antagonista em meio de cultura ágar triptona de soja (TSA). E - Escleródio de *S. sclerotiorum* versus antagonista em meio de cultura ágar nutriente (NA). F – Escleródio de *S. sclerotiorum* versus antagonista em meio de cultura ágar triptona de soja (TSA).

3.2 Produção de oxalato-oxidase para escleródios de *S. sclerotiorum*

Nos tratamentos 1 e 2, não houve alteração de coloração no meio de cultura, indicando ausência de produção de ácido oxálico pelos escleródios após o tratamento com o isolado CN-402. Em contrapartida, no tratamento controle (T3), observou-se mudança de coloração do meio, de azul para amarelo, evidenciando a produção de ácido oxálico em condições normais. Esse composto desempenha papel importante no início da colonização dos tecidos do hospedeiro (Figura 8).

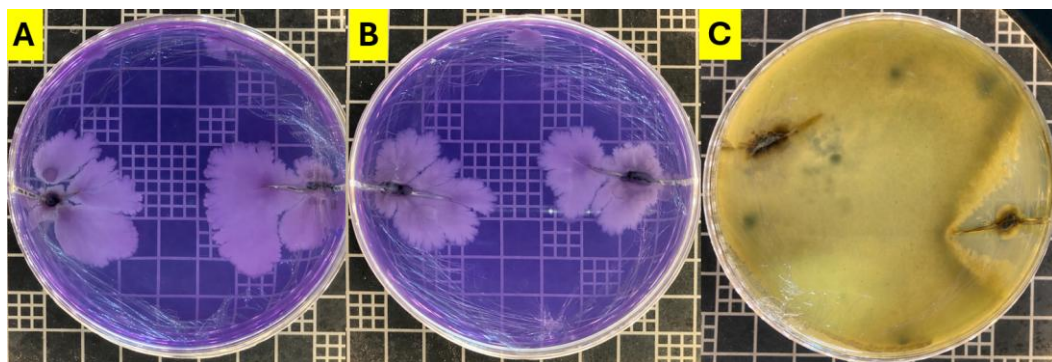


FIGURA 8 - Ensaio de detecção de produção de oxalato-oxidase por *B. amyloliquefaciens* CN-402. A – T1: Antagonista sobre o meio de cultura versus escleródios de *S. sclerotiorum*. B – T2: Escleródios de *S. sclerotiorum* imersos em solução do antagonista. C – Tratamento controle com escleródios *S. sclerotiorum* imersos em água.

3.3 Produção de oxalato-oxidase para micélio de *S. sclerotiorum*

No tratamentos 1 não houve alteração de coloração no meio de cultura, mostrando que não houve produção de ácido oxálico pelo micélio de *S. sclerotiorum*, após o tratamento com CN-402. Já no tratamento 2, em que houve o confronto direto entre patógeno e antagonista, a produção de ácido oxálico ficou limitada a zona de crescimento do fungo evidenciado pela alteração de coloração do meio no centro da placa, o que ocorreu em toda a placa da testemunha (T3), conforme mostrado na figura 09.C, evidenciando alteração do pH do meio de cultivo (Figura 9).

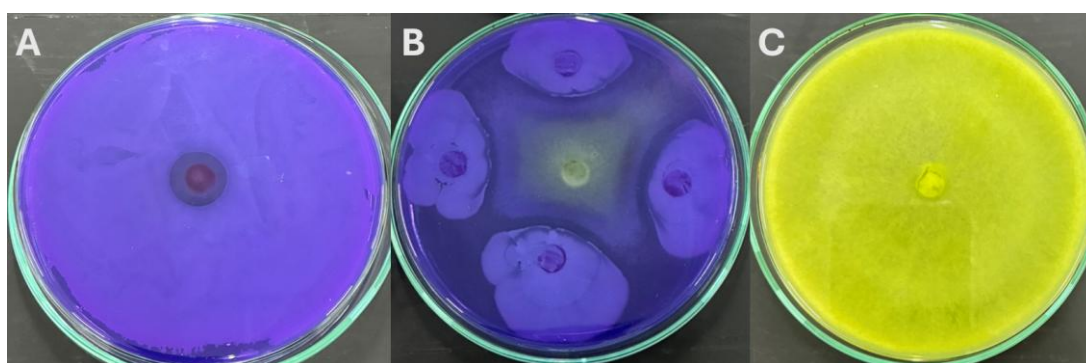


FIGURA 9 - Ensaio de detecção de produção de oxalato-oxidase por *B. amyloliquefaciens* CN-402. A – T1: Antagonista sobre o meio de cultura versus micélio de *S. sclerotiorum*. B – T2: Antagonista versus *S. sclerotiorum* em confronto direto. C – Tratamento controle com micélio *S. sclerotiorum*.

3.4 Controle de escleródios por *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402

Aos 28 dias, a porcentagem de germinação miceliogênica dos escleródios nos tratamentos com aplicação do antagonista via pulverização e imersão foi de 38,8% e 43%, respectivamente, valores inferiores à testemunha (67,5%). Aos 42 dias, a porcentagem de escleródios com germinação micelial manteve-se estável nos três tratamentos. Nesse período, observou-se aumento na germinação carpogênica dos escleródios, com o tratamento controle atingindo 36,3%, seguido por 25% no tratamento com CN-402 aplicado por pulverização e 17,5% no tratamento com CN-402 aplicado por imersão (Tabela 14).

TABELA 14 - Número de escleródios germinados (NEG), porcentagem de germinação miceliogênica (GM) e carpogênica (GC) de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, aos 28 e 42 dias de incubação, em câmara gerbox com substrato solo-areia úmido

Tratamento	28 dias				42 dias			
	NEG	GM (%)	NEG	GC (%)	NEG	GM (%)	NEG	GC (%)
<i>S. sclerotiorum</i>	10,8	67,5	0,2	1,3	10,8	67,5	5,8	36,3
<i>S.s vs CN402</i> (pulverizado)	6,2	38,8	0,6	3,8	06,6	41,3	4,0	25,0
<i>S.s vs CN402</i> (imersão)	7,0	43,0	0,8	5,0	8,0	50,0	2,8	17,5
<i>S.s vs T.harzianum</i> (pulverizado)	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0
<i>S.s vs T.harzianum</i> (imersão)	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0

Nos tratamentos em que aplicou-se *Trichoderma harziaum* IBLF1917 tiveram 100% da inibição da atividade dos escleródios, em todas as avaliações, sendo superiores aos demais, ocorrendo a colonização de 100% dos escleródios (Figura 10).

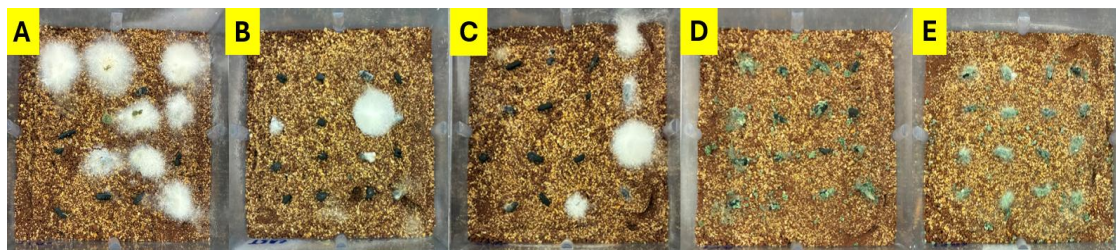


FIGURA 10 - Ensaio de controle de escleródios de *S. sclerotiorum* em caixa gerbox. A – T1: Tratamento controle com escleródios de *S. sclerotiorum* imersos em água. B – T2: Escleródios de *S. sclerotiorum* imersos em solução de *B. amyloliquefaciens* CN-402. C – T3: *B. amyloliquefaciens* CN-402 aplicado via pulverização sobre os escleródios de *S. sclerotiorum*. D – T4: Escleródios de *S. sclerotiorum* imersos em solução de *T. harzianum* IBLF1917. E – T5: *T. harzianum* IBLF1917 aplicado via pulverização sobre os escleródios de *S. sclerotiorum*.

TABELA 15 - Análise de Variância para número de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* com germinação miceliogênica (GM) e carpogênica (GC), aos 28 e 42 dias de incubação, em câmara gerbox com substrato solo-areia úmido

FV	GL	Quadrado médio			
		NEG			
		GM28	GC28	GM42	GC42
Biológico (B)	1	15,211 **	0,328 *	17,308 **	5,223 **
Modo de aplicação (MA)	1	0,026	0,015	0,072	0,095
<i>B x MA</i>	1	0,026	0,015	0,072	0,095
<i>Fatorial x adicional</i>	1	9,596 **	0,008	8,889 **	4,460 **
Erro	20	0,056	0,066	0,075	0,198
Total	24				
CV (%)		10,87	23,04	12,34	25,88

**, * Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

TABELA 16 - Germinação miceliogênica (GM) de *Sclerotinia sclerotiorum*, aos 28 e 42 dias de incubação, em câmara gerbox com substrato solo-areia úmido

Biológico	Pulverizado		Imersão		Média
	Número de escleródios germinados (NEG) aos 28 dias				
<i>Bacillus</i>	6,2	*	7,0	*	6,6 a
<i>Trichoderma</i>	0,0	*	0,0	*	0,0 b
Média	3,1	A	3,5	A	
Testemunha	10,8				
Número de escleródios germinados (NEG) aos 42 dias					
<i>Bacillus</i>	6,6	*	8,0		7,3 a
<i>Trichoderma</i>	0,0	*	0,0	*	0,0 b
Média	3,3	A	4,0	A	
Testemunha	10,8				

Médias seguidas por mesma letra maiúscula entre modos de aplicação e minúscula entre tratamentos, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; médias seguidas por * indicam contraste significativo entre o valor médio e a testemunha ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett.

TABELA 17 - Germinação carpogênica (GC) de *Sclerotinia sclerotiorum*, aos 28 e 42 dias de incubação, em câmara gerbox com substrato solo-areia úmido

Biológico	Pulverizado	Imersão	Média
	Número de escleródios germinados (NEG) aos 28 dias		
<i>Bacillus</i>	0,6	0,8	0,7 a
<i>Trichoderma</i>	0,0	0,0	0,0 b
Média	0,3	0,4	
Testemunha	0,2		
Número de escleródios germinados (NEG) aos 42 dias			
<i>Bacillus</i>	4,0	2,8	3,4 a
<i>Trichoderma</i>	0,0 *	0,0 *	0,0 b
Média	2,0 A	1,4 A	
Testemunha	5,8		

Médias seguidas por mesma letra maiúscula entre modos de aplicação e minúscula entre tratamentos, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; Médias seguidas por * indicam contraste significativo entre o valor médio e a testemunha ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett.

4 DISCUSSÃO

Compostos orgânicos voláteis produzidos por bactérias são importante fonte de biocontrole de patógenos de plantas. Essas substâncias têm baixo peso molecular, se dispersando de forma uniforme no ambiente, com alta capacidade de penetração e inibição de fungos, sem a necessidade de contato direto entre antagonista e patógeno, o que atua de forma preventiva inibindo ou reduzindo a doença na planta (Wang, 2022).

Embora o isolado CN-402 não tenha demonstrado nos ensaios capacidade inibitória do crescimento de fungos fitopatogênicos pela produção de compostos orgânicos voláteis, autores como Wang (2022), comprovaram a produção de metabólitos voláteis por isolados de *Bacillus*, eficientes no controle de fungos fitopatogênicos como *Alternaria alternata*.

Rana (2024), descreve essa ação sobre fungos como *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, e bactérias como *Agrobacterium tumefaciens*, *Xanthomonas campestris*, *Clavibacter michiganensis* e *Pseudomonas syringae*, causadores de doenças em plantas. No estudo, *Bacillus halotolerans* produziu diversas substâncias voláteis, dentre elas 2,3-hexanodiona, com ação antifúngica e antibacteriana sobre os organismos testados, e 2,3-butanodiol, que promoveu em plantas de amendoim respostas de indução de resistência sistêmica.

A produção de ácido oxálico é comprovadamente mecanismo de infecção de *Sclerotinia sclerotiorum*, atuando na redução do pH do tecido vegetal, o que favorece a ação de enzimas

hidrolíticas secretadas pelo fungo, atuando também na supressão das defesas da planta (Vaz, 2023). A produção de enzimas capazes de degradar ácido oxálico por microrganismos benéficos tem sido estudada como alternativa de controle, devido à redução na patogenicidade do fitopatógeno (Farzand, 2020).

Farzand (2020), avaliando a influência de *Bacillus amyloliquefaciens* sobre *S. sclerotiorum*, encontrou redução na produção de ácido oxálico pelo fungo na presença do antagonista, o que causou redução na sua patogenicidade. Vaz (2023), constatou inibição da produção de ácido oxálico, por escleródios de *S. sclerotiorum*, na presença de isolado de *Bacillus*, afetando sua capacidade de germinação.

O controle de escleródios é uma importante forma de supressão de *Sclerotinia sclerotiorum*, já que essas estruturas são as principais fontes de sobrevivência e disseminação no campo (VAZ, 2023). Bontempo (2016), obteve redução significativa na germinação de escleródios de *Sclerotinia cepivorum* tratados com diferentes isolados de *Bacillus*.

Ayaz (2024), conseguiu redução de 50% na produção e atividade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, com a utilização de um isolado de *Bacillus subtilis*, devido aos múltiplos mecanismos de ação do microrganismo, como a interferência na síntese de melanina, componente estrutural do escleródio, que lhe confere resistência nas condições ambientais como dessecação e radiação ultravioleta, enquanto Vaz (2023), conseguiu inibição de 100% da germinação de escleródios tratados, com um isolado de *Bacillus*, corroborando com os resultados obtidos neste estudo.

5 CONCLUSÃO

Bacillus amyloliquefaciens CN-402 tem capacidade antagônica sobre *Sclerotinia sclerotiorum*, através da produção de oxalato-oxidase, que inibiu o desenvolvimento do fungo nos testes em placa de Petri.

Bacillus amyloliquefaciens CN-402 não produziu compostos orgânicos voláteis.

Bacillus amyloliquefaciens CN-402 demonstrou eficiência de controle, inibindo a germinação de escleródios em cerca de 30% em condições *in vitro*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AJUNA, H. B. *et al.* The prospect of hydrolytic enzymes from *Bacillus* species in the biological control of pests and diseases in forest and fruit tree production. **International Journal of Molecular Sciences, Basel**, v. 24, n. 23, p. 16889, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms242316889>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- AYAZ, M. *et al.* Exploring plant growth promoting traits and biocontrol potential of newly isolated *Bacillus subtilis* BS-2301 strain in suppressing *Sclerotinia sclerotiorum* through various mechanisms. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 15, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1444328>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- BONTEMPO, A. F. **Seleção *in vitro* de isolados de *Trichoderma* spp. e *Bacillus* spp. em baixa temperatura de crescimento para o controle de *Sclerotium cepivorum***. 2016. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Rio Paranaíba, 2016. Disponível em: <https://locus.ufv.br/server/api/core/bitstreams/535ae004-1693-4389-aa13-3e2cb27abfbc/content>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- CUNHA, W. G. **Resistência a *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de soja geneticamente modificadas para expressar o gene da oxalato descarboxilase de *Flammulina velutipes***. 2010. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) – Universidade de Brasília, Brasília, 2010. Disponível em: <http://repositorio.unb.br/handle/10482/10840>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- EL-BAKY, N. A.; AMARA, A. A. F. Recent approaches towards control of fungal diseases in plants: an updated review. **Journal of Fungi**, Basel, v. 7, n. 11, p. 900, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof7110900>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- FARZAND, A. *et al.* Transcriptional profiling of diffusible lipopeptides and fungal virulence genes during *Bacillus amyloliquefaciens* EZ1509-mediated suppression of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 110, n. 2, p. 317–326, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-19-0156-R>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- FERNANDO, W. G. D. *et al.* Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 37, n. 5, p. 955–964, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.10.021>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- FUJIMOTO, A. **Identificação de compostos orgânicos voláteis e antibióticos produzidos por *Bacillus* spp. envolvidos no controle da mancha preta dos citros**. 2017. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2017. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/e2d38b0e-b754-42f3-9b32-0cfa5722f50e/content>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- MEYER, M. C. *et al.* Ensaios cooperativos de controle químico de mofo branco na cultura da soja: safras 2009 a 2012. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 100 p. (**Embrapa Soja. Documentos, 345**). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/985018/1/Ensaioscooperativosdecontrolequimicodemofobranconaculturadasojasafra2009a2012.pdf>. Acesso em: 5 jan. 2026.

MEYER, M. C. Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2019/2020: resultados sumarizados dos experimentos cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, 2020. (**Circular Técnica, 165**). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1126492/1/Circ-Tec-165.pdf>. Acesso em: 5 jan. 2026.

RANA, A. *et al.* Volatile organic compounds of the soil bacterium *Bacillus halotolerans* suppress pathogens and elicit defense-responsive genes in plants. **Microbiological Research**, Amsterdam, v. 281, p. 127611, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127611>. Acesso em: 5 jan. 2026.

RISSATO, B. B. *et al.* **Atividade *in vitro* sobre *Sclerotinia sclerotiorum*, indução de mecanismos bioquímicos de defesa e controle de mofo branco em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) por soluções homeopáticas.** 2017. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2017. Disponível em: <https://tede.unioeste.br/handle/tede/3208>. Acesso em: 5 jan. 2026.

SANTOS, A. C. M. **Seleção de *Bacillus* spp. para controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e promoção de crescimento em feijoeiro.** 2021. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Viçosa, Rio Paranaíba, 2021. Disponível em: <https://locus.ufv.br/server/api/core/bitstreams/fa0e4fcf-3096-46c8-b927-1f670d6df6e5/content>. Acesso em: 5 jan. 2026.

SILVA, M. C. T. S.; FERNANDES, L. M. G.; FIGUEIREDO, A. L. **Efeitos antagônicos de bactérias do gênero *Bacillus* no controle biológico de fungos fitopatogênicos.** 2022. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Viçosa, Rio Paranaíba, 2022. Disponível em: <http://www.cnptia/handle/doc/1165110>. Acesso em: 5 jan. 2026.

SCHMOLLER, I. *et al.* **Biocontrole com *Trichoderma* e *Bacillus* a *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja.** 2021. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2021. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/26280>. Acesso em: 5 jan. 2026.

VAZ, M. H. D. M. **Avaliação de antibiose da bactéria *Bacillus* JAB01 sobre *Sclerotinia sclerotiorum* sob ensaio com soja (*Glycine max* L.) em casa de vegetação.** 2023. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2023. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/20e83695-feaf-41c5-b865-1608445d78bb/content>. Acesso em: 5 jan. 2026.

WANG, D. *et al.* Identification of non-volatile and volatile organic compounds produced by *Bacillus siamensis* LZ88 and their antifungal activity against *Alternaria alternata*. **Biological Control**, Amsterdam, v. 169, p. 104901, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.104901>. Acesso em: 5 jan. 2026.

WANG, Y. *et al.* Biocontrol activity of volatile organic compounds emitted from *Bacillus paralicheniformis* 2-12 against *Fusarium oxysporum* associated with *Astragalus membranaceus* root rot. **Microorganisms Basel**, v. 13, n. 8, p. 1782, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms13081782>. Acesso em: 5 jan. 2026.

ZHANG, D. *et al.* Antifungal effects of volatiles produced by *Bacillus subtilis* against *Alternaria solani* in potato. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 11, p. 1196, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01196>. Acesso em: 5 jan. 2026.

ZUO, G. *et al.* Antifungal activity and mechanism of volatile organic compounds produced by *Bacillus siamensis* NEAU-ZGX24 against *Botrytis cinerea*. **Microbiological Research**, Amsterdam, p. 128265, 2025. Disponível em: doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2025.128265>. Acesso em: 5 jan. 2026.

CONCLUSÃO GERAL

Bacillus amyloliquefaciens CN-402 tem a capacidade de solubilizar fosfato de ferro e alumínio.

Dentre os fitormônios o *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 foi capaz de sintetizar ácido indolacético. Enquanto, entre enzimas extracelulares foi confirmado a capacidade de síntese de fosfatase, amilase, protease, celulase, pectinase e catalase.

Os testes bioquímicos demonstraram o potencial de controle de fungos fitopatogênicos, por *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 devido a presença de traços funcionais bioquímicos.

Bacillus amyloliquefaciens CN-402 foi capaz de inibir o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* e *Corynespora cassiicola*.

Bacillus amyloliquefaciens CN-402 não foi capaz de inibir o crescimento micelial de todos os fungos fitopatogênicos testados em placa de Petri.

Nos ensaios de germinação, o tratamento das sementes de soja com *Bacillus amyloliquefaciens* CN-402 promoveu redução na ocorrência de plântulas atacadas e mortas para *Sclerotinia sclerotiorum*, mostrando seu potencial promissor como biofungicida de solo.

Bacillus amyloliquefaciens CN-402 tem capacidade antagônica sobre *Sclerotinia sclerotiorum* através da produção de oxalato-oxidase, que inibiu o desenvolvimento do fungo nos testes em placa de Petri.

Bacillus amyloliquefaciens CN-402 não produziu compostos orgânicos voláteis.

Bacillus amyloliquefaciens CN-402 demonstrou eficiência de controle, inibindo a germinação de escleródios em cerca de 30% em condições *in vitro*.