

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

**Gabriel Paz de Almeida Alves de Souza**

**Seleção de *Bacillus* de biofertilizantes e preparados biodinâmicos no controle  
de *Fusarium oxysporum***

**Montes Claros  
2024**

**Gabriel Paz de Almeida Alves de Souza**

**Seleção de *Bacillus* de biofertilizantes e preparados biodinâmicos no controle de *Fusarium oxysporum***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

**Orientador:** Fernando da Silva Rocha

Montes Claros  
Outubro de 2024

## FICHA CATALOGRÁFICA

	Souza, Gabriel Paz de Almeida Alves de.
S719s 2025	Seleção de bacillus de biofertilizantes e preparados biodinâmicos no controle de fusarium oxysporum [manuscrito] / Gabriel Paz de Almeida Alves de Souza. Montes Claros, 2025. 63 f.  Dissertação (mestrado) - Área de concentração em Produção Vegetal. Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.  Orientador(a): Fernando da Silva Rocha. Banca examinadora: Edson Hiydu Mizobutsi, Márcia Martins, Fernando da Silva Rocha.  Inclui referências: f. 58-63.  1. Agricultura orgânica - Teses. 2. Grão-de-bico - Teses. 3. Bacillus subtilis - Teses. 4. Fusarium oxysporum - Teses. 5. Biofertilizantes - Teses. I. Rocha, Fernando da Silva. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.  CDU: 631.8

ELABORADA PELA BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA DO ICA/UFGM  
Rachel Bragança de Carvalho Mota / CRB-6/2838



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ICA - INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

## ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos 14 dias do mês de novembro do ano de dois mil e vinte e quatro, às 8:00 horas, sob a Presidência do Professor Fernando da Silva Rocha, D. Sc. (Orientador – UFMG/ICA) e com a participação dos Professores Edson Hiydu Mizobutsi, D. Sc. (Unimontes) e Márcia Martins D. Sc. (UFMG), reuniu-se, por videoconferência, a Banca de Defesa de Dissertação de Gabriel Paz de Almeida Alves de Souza, aluno do Curso de Mestrado em Produção Vegetal. Após avaliação da defesa de Dissertação do referido aluno, a Banca Examinadora procedeu à publicação do resultado da defesa de Dissertação intitulada: “Seleção de *Bacillus* de biofertilizantes e preparados biodinâmicos no controle de *Fusarium oxysporum*”, sendo o aluno considerado **Aprovado**. E, para constar, eu, Professor Fernando da Silva Rocha, Presidente da Banca, lavrei a presente ata que depois de lida e aprovada, será assinada por mim e pelos demais membros da Banca examinadora.

OBS.: O aluno somente receberá o título após cumprir as exigências do ARTIGO 65 do regulamento do Curso de Mestrado em Produção Vegetal, conforme apresentado a seguir:

**Art. 65 Para dar andamento ao processo de efetivação do grau obtido, o candidato deverá, após a aprovação de sua Dissertação ou Tese e da realização das modificações propostas pela banca examinadora, se houver, encaminhar à secretaria do Colegiado do Programa, com a anuência do orientador, 1 (um) exemplar impresso e 1 (um) exemplar eletrônico da dissertação ou, tese, no prazo de 60 (sessenta) dias.**

Belo Horizonte, 14 de novembro de 2024.

Edson Hiydu Mizobutsi  
(Membro)

Márcia Martins  
(Membro)

Fernando da Silva Rocha  
(Orientador)

Assinatura dos membros da banca examinadora:

---



Documento assinado eletronicamente por **Fernando da Silva Rocha, Professor do Magistério Superior**, em 14/11/2024, às 13:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Marcia Martins, Professora do Magistério Superior**, em 14/11/2024, às 14:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Edson Hiydu Mizobutsi, Usuário Externo**, em 14/11/2024, às 15:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3735700** e o código CRC **11312861**.

---

Aos meus pais Cláudia Regina e Valmore Edi.  
Aos meus irmãos, sobrinhos e aos demais familiares e amigos.  
À Talita, mãe dos meus filhos; Liz, Edi e José, por serem a maior motivação da  
minha vida!

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela fé;

À Universidade Federal de Minas Gerais e ao Instituto de Ciências Agrárias, aos professores do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal. Aos professores por contribuírem para minha formação profissional;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos;

Ao meu orientador, professor Fernando da Silva Rocha por acreditar no potencial da nossa pesquisa e colaborar com suas valiosas orientações;

Aos meus pais por participarem na torcida dessa nova etapa;

Aos meus irmãos pela amizade e incentivo;

Aos filhos, sobrinhos, primos e toda família que fazem parte da minha vida;

À técnica do Laboratório de Fitopatologia, Maria de Fatima G. Fernandes, pela assistência no desenvolvimento do trabalho, e aos membros do grupo de estudos em Fitopatologia (GEFIT) pela amizade e ajudarem durante a realização do trabalho.

*“O Senhor é minha luz e salvação, a quem temerei?  
O Senhor é o protetor de minha vida de quem terei medo?”  
(Salmo 26)*

## SELEÇÃO DE *BACILLUS* DE BIOFERTILIZANTES E PREPARADOS BIODINÂMICOS NO CONTROLE DE *FUSARIUM OXYSPORUM*

### RESUMO

O grão-de-bico é uma leguminosa rica em proteínas, vitaminas e fibras, o qual é muito utilizado na alimentação humana. No entanto, espécies de *Fusarium* representam um fator limitante para a sua produção. O uso de biofertilizante e de preparado biodinâmico podem proteger o sistema radicular e promover o desenvolvimento da planta. Desta forma, objetivou-se neste trabalho realizar o isolamento, selecionar e identificar *Bacillus* de biofertilizante e preparado biodinâmico com potencial no controle *in vitro* de *Fusarium oxysporum*. Os isolados de *Bacillus* foram obtidos de preparado biodinâmico comercial (PB500), e preparado biodinâmico (PBG500) e biofertilizante líquido (BioL) de fabricação própria. Para selecionar os isolados de *Bacillus* contra *F. oxysporum* CML2878 foram feitos experimentos de antagonismo direto, pareamento de cultura e produção de compostos orgânicos voláteis (COVs). Para o antagonismo direto, os isolados de *Bacillus* foram espalhados em meio de cultura BDA e um discos de 7 mm de *F. oxysporum* foi colocado no centro da placa de Petri. No pareamento de culturas, discos de *F. oxysporum* foram colocados a uma distância de 2,5 cm de comprimento da inoculação por estria feita com suspensão de 3µL de *Bacillus* sobre meio BDA. No experimento de COVs, os isolados de *Bacillus* foram cultivados em placas de Petri contendo meio TSA sobreposta com placa de Petri cultivada com *F. oxysporum* em meio BDA. As placas foram vedadas e incubadas a 28 °C. Placas de petri apenas com o isolado fúngico foram consideradas como testemunha. Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições. Foram avaliados o diâmetro do crescimento micelial fúngico e a porcentagem de inibição do crescimento micelial (ICM) aos 3, 6 e 9 dias. Foram obtidos 10 isolados do PB500, 10 do PBG500 e 20 do BioL. A ICM de *F. oxysporum* foi variável em relação aos isolados com o tempo de avaliação. No 9º dia de avaliação, as maiores ICM de *F. oxysporum* (67 a 88%) ocorreu com os isolados do BioL e PB500 pelo experimento de antagonismo direto. Os isolados do BioL proporcionaram maior ICM de *F. oxysporum* independentemente do experimento. No experimento de COVs observou maior número de isolados que proporcionaram ICM variando entre 50 e 74%, enquanto no experimento de pareamento de cultura houve menor número de isolados com ICM entre 54 a 61%. Dentre os isolados obtidos, os 14 isolados mais promissores foram identificados por Maldi-Tof como *B. subtilis*, *B. cereus*, *Rhodococcus hoagii* e nove gêneros de *Bacillus* spp. A seleção de isolados de *Bacillus* a partir de biofertilizantes e preparados biodinâmicos é uma alternativa promissora para obtenção de antagonistas eficientes e promissores no controle de *F. oxysporum*, visando o manejo da fusariose do grão-de-bico.

Palavras-chave: Agricultura biodinâmica; Grão-de-bico; *Bacillus subtilis*; *Fusarium oxysporum*; Biofertilizante; Controle biológico.

## SELECTION OF *BACILLUS* FROM BIOFERTILIZERS AND BIODYNAMIC PREPARATIONS FOR THE CONTROL OF *FUSARIUM OXYSPORUM*

### ABSTRACT

The chickpea is a legume rich in proteins, vitamins and fibers, which are widely used in human nutrition. However, *Fusarium* species represent a limiting factor for its production. The use of biofertilizer and biodynamic preparation can protect the root system and promote plant development. Thus, the objective of this study was to isolate, select and identify *Bacillus* from biofertilizer and biodynamic preparation with potential for in vitro control of *Fusarium oxysporum*. *Bacillus* isolates were obtained from commercial biodynamic preparation (PB500), and biodynamic preparation (PBG500) and liquid biofertilizer (BioL) of our own manufacture. To select *Bacillus* isolates against *F. oxysporum* CML2878, direct antagonism, culture pairing and production of volatile organic compounds (VOCs) experiments were performed. For direct antagonism, *Bacillus* isolates were spread on PDA culture medium and a 7 mm disc of *F. oxysporum* was placed in the center of the Petri dish. In paired cultures, *F. oxysporum* discs were placed at a distance of 2.5 cm in length from the streak inoculation made with a 3  $\mu$ L suspension of *Bacillus* on PDA medium. In the VOC experiment, *Bacillus* isolates were grown in Petri dishes containing TSA medium overlaid with a Petri dish cultivated with *F. oxysporum* on PDA medium. The plates were sealed and incubated at 28 °C. Petri dishes with only the fungal isolate were considered as control. The experiments were performed in a completely randomized design, with 4 replicates. The diameter of fungal mycelial growth and the percentage of mycelial growth inhibition (MGI) were evaluated at 3, 6 and 9 days. Ten isolates were obtained from PB500 and PBG500, and 20 from BioL. The MGI of *F. oxysporum* varied with the isolates with the evaluation time. At 9th day of evaluation, the highest MGI of *F. oxysporum* (67 to 88%) occurred with the isolates from BioL and PB500 in the direct antagonism experiment. The isolates from BioL provided the highest MGI of *F. oxysporum* regardless of the experiment. In the VOC experiment, a greater number of isolates that provided MGI ranging from 50 to 74% were observed, while in the culture pairing experiment there was a lower number of isolates with MGI between 54 and 61%. Among the isolates obtained, the 14 most promising isolates were identified by Maldi-Tof as *B. subtilis*, *B. cereus*, *Rhodococcus hoagii* and nine genera of *Bacillus* spp. The selection of *Bacillus* isolates from biofertilizers and biodynamic preparations is a promising alternative for obtaining efficient and promising antagonists in controlling *F. oxysporum*, aiming to manage chickpea fusariosis.

Keywords: Biodynamic Agriculture; Chickpea; *Bacillus subtilis*; *Fusarium oxysporum*; Biofertilizer; Biological Control.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Fig. 1.** Morfologia de colônia de isolados de *Bacillus* sp. obtidos de preparados biodinâmicos e biofertilizantes de esterco .....45
- Fig. 2.** Antagonismo direto dos isolados de *Bacillus* sp. com *Fusarium oxysporum* CML2878 aos 9 dias de incubação.....47
- Fig. 3.** Cultura pareada aos 9 dias após incubação.....49
- Fig. 4.** Compostos orgânicos voláteis aos 9 dias de incubação.....51

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Isolados bacterianos obtidos de diferentes produtos biofermentados de esterco, morfologia da colônia e identificação a nível de gênero/espécie pela técnica de espectrometria de massa (Maldi-Tof).....38
- Tabela 2.** Diâmetro médio (cm) do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* CML2878 e porcentagem de inibição do crescimento micelial (ICM) fúngico no experimento de antagonismo direto com isolados de *Bacillus* sp. aos 3, 6 e 9 dias de incubação.....43
- Tabela 3.** Diâmetro médio (cm) do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* CML2878 e a porcentagem de inibição do crescimento micelial (ICM) fúngico após pareamento de cultura com isolados de *Bacillus* sp. aos 3, 6 e 9 dias de incubação.....45
- Tabela 4.** Diâmetro médio (cm) do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* CML2878 e a porcentagem de inibição do crescimento micelial (ICM) fúngico por compostos orgânicos voláteis de isolados de *Bacillus* sp. aos 3, 6 e 9 dias de incubação.....47

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ágar ágar
BDA	Batata Dextrose Agar
BioL	Biofertilizante Líquido
Cm	Centímetro
Cmol	Centimol de carga
CO	Monóxido de carbono
COVSs	Compostos orgânicos voláteis
CO <sub>2</sub>	Gás Carbônico
CH <sub>4</sub>	Metano
Dag/Kg	Decagrama/quilograma
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
g/L	Gramma/litro
H	Horas
Ha	Hectare
Kg	Quilograma
Km	Quilômetro
M	Metro
MF	Massa fresca
mg/m <sup>3</sup>	Miligramas/metro cúbico
mL.L <sup>-1</sup>	Mililitros / litros
Mm	Milímetro
MS	Massa seca
N	Nitrogênio
NA	Nutriente ágar
OMS	Organização mundial de saúde
PB500	Preparado Biodinâmico 500 “esterco curtido em chifre”
pH	Potencial hidrogeniônico
TSA	Trypticase soy ágar
TSB	Trypticase soy broth
µL	Microlitro
µg/ml	Micrograma por mililitro

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS.....	16
2.1 Objetivo geral.....	16
2.2 Objetivos específicos.....	16
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3.1 Fusariose em grão-de-bico.....	17
3.2 Biofertilizantes e preparados biodinâmicos no manejo de doenças.....	18
3.3 Mecanismos de biocontrole de bacillus no controle de patógenos de solo.....	20
REFERÊNCIAS.....	24
4 ARTIGO.....	33
4.1 Artigo 1- seleção de bacillus de produtos biofermentados no controle in vitro de fusarium oxysporum.....	33

## 1 INTRODUÇÃO

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) é originário da região Sudeste da Turquia, nas adjacências com a Síria, onde são encontradas as espécies anuais intimamente relacionadas: *Cicer reticulatum* e *C. echinospermum* (Van Der Maesen, 1987). O grão-de-bico é uma das mais antigas leguminosas cultivadas essencialmente para o consumo humano (Wood; Grusak, 2007). A Índia participa com mais de 70% da produção mundial. Outros grandes produtores incluem Austrália, Paquistão, Turquia, Myanmar, Etiópia, Iran, Canada, USA e Mexico (FAO, 2022). A China também é um país produtor asiático de grão-de-bico, o centro de plantio concentra na província Xinjiang (Zhang et al., 2018). O Brasil não apresentava nenhuma área comercial da cultura até 2011 (Artiaga et al., 2012). No entanto, as condições edafoclimáticas, inclusive as do norte de Minas Gerais são favoráveis ao cultivo do grão-de-bico (MOTA, 2013). Apesar de incipiente a cultura dessa leguminosa a nível comercial no Brasil, há uma forte prospecção dos desafios com fungos do solo como o complexo de *Fusarium* (Artiaga et al., 2012; Azevedo et al., 2017; Sharma; Cerkauskas, 1985).

*Fusarium* pode sobreviver no solo por meio do micélio, clamidósporos e em resíduos de culturas infectadas por até 6 anos (Singh et al., 2007). A disseminação desse fungo pode ocorrer também via sementes de plantas infectadas (Pande et al., 2007). A murcha de *Fusarium* provoca graves perdas no rendimento da cultura nos países onde sua ocorrência é conhecida (Singh et al. 2007). Na Ásia ocorre principalmente *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, enquanto no Brasil o *F. solani* e *F. oxysporum* são conhecidamente patogênicos a grão-de-bico cv. Cícero (Azevedo et al. 2017). Chand e Khirbat (2009) relatam estimativas de perdas anuais regulares de 10 a 15%, chegando a 60-70% em anos de severas epidemias, podendo atingir 100% dependendo da suscetibilidade varietal e das condições agroclimáticas. Na literatura existem relatos de perdas na cultura variando de 12-15% ao ano na Espanha (Landa et al., 2004), 10% na Índia (Trapero-Casas; Jiménez-Díaz, 1985), 40% na Tunísia (Bousslama, 1980) e de até 60% em Sonora no México (Gomez, 2004). A murcha e a podridão negra da raiz incitadas por *Fusarium oxysporum* em grão-de-bico são difíceis de serem manejadas por métodos convencionais devido à capacidade do fungo em sobreviver no solo e em restos culturais por muitos anos (Mohammadi; Banihashemi, 2006; Singh et al., 2007). A alta complexidade do *Fusarium* dentro das populações lhe confere a capacidade de adaptação e evolução

dentro dos patossistemas, o que faz necessário práticas ecológicas para nutrir o solo sem comprometer a sustentabilidade dos agroecossistemas e a qualidade do meio ambiente (Kumar et al., 2019). O uso de aditivos orgânicos em combinação com biofertilizantes e preparações biodinâmicas melhorou o status nutricional das folhas de videira, bem como as propriedades do solo no vinhedo (Hazarika et al., 2024).

Os biofertilizantes são formulados com elevada comunidade microbiana; principalmente bactérias do gênero *Bacillus*. Esses microrganismos são responsáveis pela decomposição da matéria orgânica, produção de gases e liberação de metabolitos, entre eles antibióticos e hormônios de crescimento (Bettiol; Ghini, 2003). A aplicação de biofertilizantes orgânicos melhorou significativamente algumas propriedades biológicas do solo bem como o rendimento do grão-de-bico (Patel et al., 2024).

O manejo da fusariose com cultivares resistentes, apesar de ser uma alternativa promissora, existem poucos materiais comerciais dessa cultura disponíveis. Além disso, o gênero *Fusarium* apresenta grande variabilidade genética, o que dificulta o manejo com genótipos resistentes por longos períodos de cultivos. Concomitantemente, há falta de produtos químicos eficientes registrados no Ministérios da Agricultura Pecuária e Abastecimento para o controle da fusariose no grão-de-bico. Entretanto, o uso de bioformulados orgânicos e produtos de *Bacillus* são as alternativas mais promissoras para o controle de fungos de solo. Desta forma, neste trabalho, objetivou-se selecionar isolados de *Bacillus* de preparados biodinâmicos (pb500) e biofertilizante líquido com potencial controle ao *F. oxysporum* isolado de grão-de-bico.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Selecionar isolados de *Bacillus* de preparados biodinâmicos e biofertilizante líquido com potencial biocontrole do *Fusarium oxysporum* CML2878.

### 2.2 Objetivos específicos

- Obter isolados de *Bacillus* sp. presentes em preparados biodinâmicos comercial (PB500) e biofertilizante líquido;
- Avaliar o potencial dos isolados de *Bacillus* sp. contra *Fusarium oxysporum* CML2878 em estudos *in vitro* de teste de antagonismo, cultura pareada e compostos orgânicos voláteis;
- Identificar a nível de espécie os isolados mais promissores no estudo de antagonismo *in vitro*.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Fusariose em grão-de-bico

No grão-de-bico existem várias doenças, sendo a murcha de *Fusarium* uma das principais doença da cultura devido a fácil disseminação e difícil controle (Margheim *et al.*, 2004; Azevedo *et al.*, 2017). A murcha de *Fusarium* provoca graves perdas no rendimento da cultura nos países onde sua ocorrência é conhecida (Singh *et al.* 2007; Sunkad *et al.*, 2019; Yadav *et al.*, 2023). Estima-se que as perdas causadas por *Fusarium* em grão-de-bico ficam entre 10 a 15%, contudo podem atingir 70% em anos de severas epidemias ou 100% de acordo a suscetibilidade varietal e condições agroclimáticas (Chand; Khirbat, 2009). Existem relatos de perdas na cultura variando de 12-15% ao ano na Espanha (Landa *et al.*, 2004), 10% na Índia (Trapero-Casas; Jiménez-Díaz, 1985), 40% na Tunísia (Bousslama, 1980) e de até 60% em Sonora no México (Gomez, 2004). Embora incipiente a expansão dessa cultura no Brasil, as fusarioses já têm dificultado a produtividade nacional (Artiaga *et al.*, 2012; Azevedo *et al.*, 2017; Sharma; Cerkauskas, 1985; Rocha *et al.*, 2023). Estudos recentes identificaram que o *Fusarium proliferatum*, membro da família do complexo *Fusarium fujikuroi*, causou murchamento do grão-de-bico em Cuba (Duarte-Leal *et al.*, 2020).

O fungo ao infectar a planta hospedeira, coloniza os vasos do xilema e dificulta a absorção e translocação de água e nutrientes da solução do solo para a parte aérea. Em condições de alta temperatura e com o aumento da taxa de transpiração ocorre a murcha das plantas, principalmente, nos períodos mais quentes do dia. Após a colonização do tecido vegetal ocorre a esporulação. Os esporos podem ser dispersos pelo vento, água ou movimento do solo e restos de tecido vegetal das plantas infectadas. No solo, *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* pode sobreviver por meio do micélio e clamidósporos, em resíduos de culturas infectadas por até 6 anos (Singh *et al.*, 2007). Segundo Pande *et al.* (2007), a transmissão ocorre via semente, essas quando provenientes de plantas com sintomas de murchas, mesmo aparentemente saudáveis, transportam o patógeno e contamina novas áreas.

O gênero *Fusarium* é o principal responsável do complexo fusariose, com potenciais agentes fitopatogênicos que acarretam grande impacto econômico.

(Leslie; Summerell, 2006). Nesse complexo se destaca o *F. oxysporum*, esse produz enzimas que degradam a parede celular dos vasos, conseqüentemente é interrompido o transporte de água, o que resulta no fechamento dos estômatos, murcha e morte de folhas, seguida de morte de toda a planta (Leslie; Summerell, 2006; Singh et al., 2007). Há registros da murcha por *Fusarium* que afetam significativamente a produção em mais de 100 espécies de plantas (Dongzhen et al., 2020; Girma; Abayeneh, 2022). *Fusarium oxysporum* é classificado em 8 raças, onde cada uma expressa diferentes sintomas. As raças de 0 – 1A; causam amarelecimento foliar e morte tardia, enquanto as outras raças 2 – 8, clorose rápida e grave, flacidez com murcha precoce das folhas e rápida morte da planta hospedeira (Singh; Vyas, 2021).

O grão-de-bico apesar de ser hospedeiro *Fusarium*, o complexo de *Fusarium* também pode atacar outras culturas, incluindo lentilha, ervilha, feijão guandu, alfafa e feijão largo, porém sem causar sintomas evidentes de fusariose (Trapero-Casas; Jimenez-Díaz, 1985). Algumas doenças podem vir a se tornar problemas com o agravamento de murcha e a podridão negra da raiz, incitadas por *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* e *F. solani* em grão-de-bico, as quais são difíceis de serem manejadas por métodos convencionais (Mohammadi; Banihashemi, 2006; Singh et al., 2007). A alta variabilidade genética do *F. oxysporum* e sua capacidade de atacar tecidos vasculares, garantem fácil adaptação e instalação em diferentes patossistemas, um desafio eminente que demanda inserção de práticas de manejo integrado no gerenciamento da doença (Pegg et al., 2019).

### **3.2 Biofertilizantes e preparados biodinâmicos no manejo de doenças**

Os produtos agrícolas biodinâmicos em geral são orgânicos, mas nem todo produto orgânico é biodinâmico (Babita; Thakur, 2015; Çakir et al., 2018). Uma diferença essencial entre a agricultura orgânica e a biodinâmica é a aplicação dos preparados biodinâmicos propostas no início do século XX por Rudolf Steiner (Steiner, 2010).

As principais causas de controle de fungos e bactérias com biofertilizantes é proveniente da ação fungistática e bacteriostática, principalmente pela presença da bactéria *Bacillus subtilis* (originária do rúmem de bovinos), estes sintetizam

substâncias antibióticas, aliado a diversos nutrientes, vitaminas e aminoácidos (Bettiol, 2001; Silva et al., 2014).

A utilização de biofertilizantes em leguminosas teve uma área total de mais de 40 milhões de ha no ano de 2000 (Phillips, 2004). Métodos de controle biológico são alternativas eficazes e ecologicamente viáveis (Baker et al., 2020). Os biofertilizantes são a solução para viabilização de uma agricultura sustentável. Os grandes impactos ambientais causados devido ao uso incorreto de insumos químicos em sua maioria são irreparáveis (Mahapatra et al., 2022). Diferente dos químicos em seus processos produtivos, os biofertilizantes são de origem orgânica compostos por “derivados” de vegetais, animais, biomassa microbiana ativa. Esta interage com as plantas na disponibilização de nutrientes principalmente o fósforo presente na rizosfera, promove indução de fitohormônios para resistência a patógenos, aumenta tolerância a estresses abióticos (Kumar et al., 2024).

Os biofertilizantes possibilitam bactérias endofíticas que apresentam mecanismos antagonista específicos a fungos (Angonese et al., 2009), sendo fonte promissora no manejo integrado de doenças. Esses produtos são constituídos principalmente de esterco de vaca, os quais estão presentes bactérias pertencentes ao filo Bacteroidetes (38,3%), Firmicutes (29,8%), Proteobacteria (21,3%) e verrucomicrobia (2%) (Girija et al., 2013). Os microrganismos dos biofertilizantes e preparados biodinâmicos são capazes de aumentar o acesso das raízes a elementos como N, P, K e Zn (Castaldi et al., 2023; Sousa et al., 2018). O manejo com biofertilizantes tem como objetivo melhorar a fixação de N no solo, aumentar a solubilidade de P, K e Zn, facilitar a oxidação do ferro, enxofre e o biocontrole na rizosfera de agentes fitopatogênicos (Mahapatra et al., 2022). A garantia de seu uso está no fornecimento de nutrientes essenciais para as plantas, na preservação da biodiversidade, na segurança alimentar e na proteção dos recursos naturais. A acidez do solo é controlada com o decorrer de suas aplicações, o qual é muito útil no setor agrícola para revitalizar solos e aumentar o rendimento das colheitas (Zhang et al., 2018).

A maioria das bactérias presentes nos preparados biodinâmicos, pertencem ao gênero *Bacillus*, que além da promoção de crescimento das plantas conferem tolerância a estresses, indução de resistência sistêmica, produção de lipopeptídeos antibióticos, formação de biofilme na rizosfera (Hashem et al., 2019). Um trabalho de integração da difração com fluorescência de raios X, possibilitou observação da

hierarquia estrutural e a heterogeneidade elementar no interior de biofilmes de *B. subtilis* (Azulay et al., 2022). Essa espécie abundante nos biofertilizantes auxilia a saúde do solo, promove remediação de metais, melhoria de sequestro do carbono, facilitação da absorção de fósforo, atuação na desnitrificação dos agroecossistemas e principalmente o biocontrole de diversos fitopatógenos (Msaad, et al., 2024).

As aplicações dos biofertilizantes são feitas em sementes, folhas, raízes e solo. De forma a aumentar a disponibilidade de nutrientes na rizosfera, dentro do tecido vegetal com endófitos e estimular processos relacionados ao crescimento das plantas (Kumar et al., 2019). Inoculações de *B. subtilis* nas fases de muda estimularam o crescimento do grão-de-bico (Lalzar, 2022). O enxofre existente em formas inorgânicas no solo é convertido para formas orgânicas, como o sulfato oxidado por bactérias dos fertilizantes orgânicos (Kumar et al., 2024).

As formações de biofilmes entre as relações fenotípicas dos consórcios microbianos no solo, permitem interações entre cada espécie, as quais promovem biossínteses de ácidos e metabólitos secundários seletivos à proliferação de novos microrganismos (Moreno-Velandia et al., 2021). As comunidades altamente diversas dos microrganismos são menos propensas à invasão do que comunidades menos diversas (Mawarda et al., 2022).

### **3.3 Mecanismos de biocontrole de *bacillus* no controle de patógenos de solo**

Os mecanismos são desde competição por nutrientes e espaço, produção de metabólitos secundários a síntese de hormônios, produção de biofilme, promoção de crescimento e indução de resistência sistêmica em plantas. Esses desempenham um papel ativo na interação raiz-micróbio, podem alterar as propriedades químico-físicas e biológicas do solo e promover o controle de patossistemas (Ramawat; Goyal, 2020).

*Bacillus subtilis* ao colonizar plantas de tomate, controla a murcha do tomateiro, doença causada por *Fusarium chlamydosporu*, um potente patógeno de difícil controle muito resistente a fungicidas. O biocontrole é favorecido por meio de micoparasitismo, via de resistência sistêmica induzida e resistência sistêmica adquirida, com aumento da produção em mais de 20% em condições de campo (Yadav, 2024)

Dentre os principais agentes usados no controle biológico de patógenos de solo, como fungos e nematoides, destaca-se o gênero *Bacillus* (Zhou et al., 2024). Os *Bacillus* têm grande potencial para inibição direta do crescimento de patógenos, via rotas metabólicas de enzimas a compostos voláteis (Rehman; Leiknes, 2018). As células bacterianas em suspensão celular podem competir com as células fúngicas por nutrientes ou espaço, produzir compostos antifúngicos ou ativar os mecanismos de defesa da planta hospedeira (Ongena et al., 2008).

As amilases, proteases e celulases dos *Bacillus* spp. promovem a supressão de fungos patogênicos (Sritongon et al., 2023). Os estudos de Ayaz et al. (2024) evidenciaram que *B. subtilis* possuem forte potencial de biocontrole contra *Sclerotinia sclerotiorum*, com até 74% de inibição em experimentos de cultura dupla e placa de partição. Em continuação desses estudos, o mesmo isolado de *B. subtilis* foi testado no cultivo de soja em vasos, para avaliação da qualidade fisiológica das mudas, em relação ao aumento do crescimento nos diferentes parâmetros; comprimento da raiz 29,87%, do broto 31,23%, peso fresco total 33,45% e peso seco total 27,56%. Experimentos em viveiro com nematoides mostrou que a aplicação de *B. subtilis* a 5, 10 e 15 g m<sup>-2</sup> reduziu significativamente a formação de galhas nas raízes da soja (37,0 a 85,8%) (Gowda et al., 2024).

Muitos estudos mostraram que uma variedade de compostos antifúngicos gerados por *Bacillus* sp. são importantes na atividade de biocontrole (Hashem et al., 2019). Os compostos voláteis, como ácido indol acético, sideróforos, amilase, protease extracelular, celulose e  $\beta$ -1,3-glucanase, aumenta atividades enzimáticas relacionadas à defesa para e promoção do crescimento em várias culturas (Shasmita et al., 2022). Os Compostos Orgânicos Voláteis (COVSs) produzidos por espécies como *Pseudomonas* spp. exibem efeitos antifúngicos contra *Rhizoctonia solani* na cultura do arroz (Wang et al., 2021).

Diversificados COVSs são produzidos por rizobactérias e exibem propriedades antibacterianas ou antifúngicas (Kai et al., 2009). Na literatura existem relatos da produção de compostos de ácido octanoico 2-metil (OA), ácido trifluoroacético (TA), dimetilsulfóxido (DMSO), etil tailgate (ET), , fenol, 2,3,4,6-tetrametil (PTM), metil isovalerato (MI), ácido trifluoroacético (TA), cloreto de butanoíla (BC), benzaldeído (BH), 4-hidroxi benzilálcool (HBA), 5-metil-2-tiofeno carboxaldeído (MT), 1-butanol (BN), nitrito de amila (AN), 2-undecanotiol (UT), e cloridrato de ácido 2-(etil-imidazol-il)acético (EHI), este último possui um forte efeito

de toxicidade em *Meloidogyne incognita* e no micélio de *F. oxysporum* em baixas concentrações (Maqsood et al., 2024).

A caracterização inicial de *Bacillus* tem cerca de 150 anos, contudo sua taxonômica continua confusa (Zeigler et al., 2021). Os *Bacillus* sp. produzem endósporos extremamente tolerantes e a biossíntese de seus compostos são de interesse comercial (WU et al., 2015), com potencial para produzir um amplo espectro de antibióticos lipopeptídicos e proteínas antifúngicas (Koilybayeva et al., 2023; Torres et al., 2015). As atividades antagônicas de *Bacillus* spp. são associadas à síntese de metabólitos secundários, com características antibióticas, incluindo o grupo iturina como uma nova família de antibióticos, isolados de *B. subtilis* (Mhammedi et al., 1982). A atividade antagônica das bactérias é mediada pela síntese de uma variedade de metabólitos secundários voláteis ou não voláteis (Kai et al., 2009; Torres et al., 2015), metabólitos que causam danos às hifas fúngicas e induzem resistência ao hospedeiro (Yáñez-Mendizábal et al., 2021). As Quitinases produzidas por *B. subtilis* degradam as paredes celulares de *R. solani* (Bouqellah et al., 2024; Saber et al., 2015).

Existem várias espécies de *Bacillus* com potencial de controle de fungos de solo, capazes de promover o crescimento vegetal e induzir resistência através de compostos antimicrobianos (Bamisile et al., 2023; Karačić et al., 2024; Kumar et al., 2024). Os *Bacillus subtilis* produzem quitinases que hidrolisam a endo-hidrólise aleatória de ligações N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminida (1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$  em quitina e quitodextrinas. As aplicações incluem produção de fertilizantes, síntese de biomateriais e aprimoramento de fungicidas e inseticidas (Mahmoodi et al., 2024).

Estudos de controle biológico com biofertilizantes de bactérias diazotróficas mostraram controle a *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum* spp. (Angonese et al., 2009). Dentre essas destaca-se o gênero *Bacillus*, por possuí grande potencial para produção de bioformulados, capacidade em manter sua viabilidade de armazenamento e resistência a condições adversas (Maheshwari et al., 2015, Petras et al., 1985; Sahu et al., 2021; Takate; Gaykar, 2021). Inoculações de *B. subtilis* diminuíram a incidência de *Pythium* sp. e *Rhizoctonia solani* no abacaxizeiro com o favorecimento do crescimento, produtividade e melhora da adaptação do abacaxizeiro ao ambiente *in vivo* (Baldotto et al., 2010). Bacon et al. (2001) relataram que *B. subtilis* promoveu redução de micotoxinas do *Fusarium moniliforme* acumuladas no grão do milho. Outro estudo

mostrou que o *B. subtilis* compromete a morfologia e os processos metabólicos das hifas *F. oxysporum* (Liu et al., 2023).

Estudos com isolados de *Bacillus* spp. promoveram o biocontrole de *Colletotrichum acutatum* (Kupper et al., 2003). Em ensaio de antagonismo *in vitro* com sementes de tomateiro *B. subtilis* mostrou eficácia de 80% de inibição de *Rhizoctonia solani*, além de produzir alta concentração de Iturina A (Asaka; Shoda, 1996). Em outro estudo, Pleban et al. (1997b) relataram que *B. cereus* isolado de *Sinapis* produziu quitinase. Em outro estudo, Xie et al. (2018) relataram que *B. cereus* realiza biossíntese de 2-etil-1-hexanol, 2-undecanona, benzotiazol, ciclohexanol, n -decanal, nonanal, pirazina (2,5-dimetil) e trissulfeto de dimetila, compostos orgânicos que possuem atividades de biocontrole. Os COV produzidos por *B.s subtilis* possibilitaram inibição do crescimento em *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Monilinia fructicola*, *Penicillium expansum*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum* (Gao et al., 2018).

## REFERÊNCIAS

ANGONESE, M. T.; DELLA-GIUSTINA JUNIOR PAIM, L. H. P.; PANSERA, M. R.; PAGNO, R. S.; MEZZOMO, F.; ZORZI, E.; PEREIRA, C. O. F.; RIBEIRO, R. T. S. Efeito fungistático de *Bacillus* spp. sobre fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 97-100, 2009. <https://revista.aba-agroecologia.org.br/cad/article/view/3887/3018>

ARTIAGA, O. P.; SPEHAR, C. R.; SILVA, P. P.; NASCIMENTO, W. M.; BOITEUX, L. S. Chemical and genetic control of *Fusarium* wilt in chickpea and their effects on stand establishment under tropical conditions. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SEED, TRANSPLANT AND STAND ESTABLISHMENT OS HORTICULTURAL CROPS: SOWING THE FUTURE OF TROPICAL HORTICULTURE, 6., 2012, Brasília, DF. **Anais [...]**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/928480>

ASAKA, O.; SHODA, M. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off of tomato with *Bacillus subtilis* RB14. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 62, n. 11, p. 4081-4085, Nov. 1996. <https://doi.org/10.1128/aem.62.11.4081-4085.1996>

AYAZ, M.; ALI, Q.; ZHAO, W.; CHI, Y-K.; ALI, F.; RASHID, K. A.; CAO, S.; HE, Y-Q.; BUKERO, A. A.; HUANG, W-K.; QI, R-D. Exploring plant growth promoting traits and biocontrol potential of new isolated *Bacillus subtilis* BS-2301 strain in suppressing *Sclerotinia sclerotiorum* through various mechanisms. **Front. Plant Sci**, v. 15, p. 1-17, 2024. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1444328>

AZEVEDO, D. M. Q; ROCHA, F. S.; COSTA, C. A.; PFENNING, L. H.; COSTA, S. S.; MELO, M. P.; SILVA, J. G.; FERNANDES, M. F. Etiology of root and wilt disease of chickpea in Brazil. **Trop. plant pathol.**, v.42, p.273-283, 2017. <https://doi.org/10.1007/s40858-017-0145-5>

AZULAY, D. N.; SPAEKER, O.; GHRAYEB, M.; WILSCH-BRÄUNINGER, M.; SCOPPOLA, E.; BURGHAMMER, M.; ZIZAK, I.; BERTINETTI, L.; POLITI, Y.; CHAI, L. Multiscale X-ray study of *Bacillus subtilis* biofilms reveals interlinked structural hierarchy and elemental heterogeneity. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, EUA, v. 119, p. 1-8, 2022. <https://doi.org/10.1073/pnas.2118107119>

BABITA, A. N.; THAKUR, M. Organic farming: a holistic approach towards sustainable fruit production. **European Journal of Pharmaceutical and Medical Research**, [s.l.], v. 2, n. 6, p. 108-115, 2015. [https://www.ejpmr.com/home/abstract\\_id/487](https://www.ejpmr.com/home/abstract_id/487)

BACON, C. W.; YATES, I. E.; HINTON D. M.; MEREDITH, F. Biological control of *Fusarium moniliforme* in maize. **Environmental Health Perspectives**, Georgia, v. 109 (Suppl 2), p. 325-332, 2001. <https://doi.org/10.1289/ehp.01109s232>

BAKER, B. P.; GREEN, T. A.; LOKER, A. J. Biological control and integrated pest management in organic and conventional systems. **Biological Control**, [s.l.], v. 140, p. 1-19, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104095>

- BALDOTTO, L. E. B.; BALDOTTO, M. A.; OLIVARES, F. L.; VIANA, A. P.; BRESSAN-SMITH, R. Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro cultivar Vitória durante a aclimatização. **R. Bras. Ci. Solo**, Campinas, v. 34, n. 2, p. 349-360, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832010000200008>
- BAMISILE, B. S.; AFOLABI, O. G.; SIDDIQUI, J. A.; XU, Y. Endophytic insect pathogenic fungi-host plant-herbivore mutualism: elucidating the mechanisms involved in the tripartite interactions. **World J Microbiol Biotechnol.**, v. 39, n. 12, p. 326, Set. 2023. 10.1007/s11274-023-03780-4. PMID: 37776438
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. In: Campanhola, C.; Bettiol, W. **Métodos alternativos de 5025 controle fitossanitário**. Jaguariúna. Embrapa Meio Ambiente. 2003.
- BETTIOL, W. Resultados de pesquisa com métodos alternativos para o controle de doenças de plantas. In: HEIN, M. (org.). **Resumos do 1º Encontro de Processos de Proteção de Plantas: Controle Ecológico de Pragas e Doenças**. Botucatu: Agroecológica, 2001. p. 125-135.
- BOUQELLAH, N. A.; ABDEL-HAFEZ, L. J. M.; MOSTAFA, I. Y.; FARAAG, A. H. I. Investigating the antifungal potential of genetically modified hybrid chitinase enzymes derived from *Bacillus subtilis* and *Serratia marcescens*. **International Microbiology**, Out. 2024. <https://doi.org/10.1007/s10123-024-00591-x>
- BOUSLAMA, M. Chickpea improvement in Tunisia. In: PROC. INTL. WORKSHOP CHICKPEA IMPROVEMENT. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT), **Anais [...]**, Patancheru, India., 1980. <http://oar.icrisat.org/id/eprint/764>
- ÇAKIR, Ö.; YILDIZ, H.; KARATAŞ, N. Biyodinamik Tarım ve Organik Tarımın Karşılaştırılması. **Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi**, Turkish, v. 6, n. 4, p. 438-443. 2018. <https://www.acarindex.com/pdfs/385129>
- CASTALDI, S.; VALKOV, V. T.; RICCA, E.; CHIURAZZI, M.; ISTICATO, R. Use of halotolerant *Bacillus amyloliquefaciens* RHF6 as a bio-based strategy for alleviating salinity stress in *Lotus japonicus* cv Gifu. **Microbiological Research**, [s.l.], v. 268, p.127-274, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127274>
- CHAND, H.; KHIRBAT, S. K. Chickpea wilt and its management– A review. **Agricultural Reviews**, India, v. 30, n. 1, p. 1-12, 2009. <https://arccjournals.com/journal/agricultural-reviews/ARCC2083>
- DONGZHEN, F.; XILIN, L.; XIAORONG, C.; WENWU, Y.; YUNLU, H.; YI, C; JIA, C.; ZHIMIN, L.; LITAO, G.; TUHONG, W. Fusarium Species And Fusarium Oxysporum Species Complex Genotypes Associated With Yam Wilt In South-Central China. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 11, p. 1-2, 17 ago. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2020.01964>
- DUARTE-LEAL, Y.; MARTÍNEZ-COCA, B.; ECHEVARRIA-HERNÁNDEZ, A.; SOUZA, E. S. C.; MILLER, R. N. G.; CAFÉ-FILHO, A. C. First report of vascular wilt caused by *Fusarium proliferatum* on chickpea in Cuba. **New Disease Reports**, v. 41, n. 32, p. 32, Jun. 2020. <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2020.041.032>

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. [Base de dados FAOSTAT]. Rome, 2022. <http://www.fao.org/faostat/en/#home>.

GAO, H.; LI, P.; XU, X.; ZENG, Q.; GUAN, W. Research on Volatile Organic Compounds From *Bacillus subtilis* CF-3: biocontrol effects on fruit fungal pathogens and dynamic changes during fermentation. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 9, p. 1-15, Mar. 2018. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.00456>.

GIRIJA, D.; DEEPA, K.; XAVIER, F.; ANTONY, I.; SHIDHI, P. R. Analysis of cow dung microbiota – A metagenomic approach. **Indian J Biotechnol**, [S.L.], v. 12, p. 372-378, 2013. <http://nopr.niscpr.res.in/handle/123456789/21863>

GIRMA, A. In Vitro Biocontrol Evaluation of Some Selected *Trichoderma* Strains against the Root Pathogen *Fusarium oxysporum* of Hot Pepper (*Capsicum annum* L.) in Bure Woreda, Ethiopia. **International Journal Of Microbiology**, [S.L.], v. 2022, p. 1-8, jul. 2022. <http://dx.doi.org/10.1155/2022/1664116>.

GOMEZ, J. A. M. **El cultivo de garbanzo blanco en sonora**. México: Sagarpa, 2004.

GOWDA, M. T.; REDDY, Y. S.; PATIL, J.; KRISHNA, H.; SELLAPERUMAL, C.; MANJUNATH, M.; PANDEY, K. K.; SINGH, A. N. Biocontrol potential of *Bacillus subtilis* CRB7 for the management of root-knot nematode in tomato under protected cultivation. **Archives Of Phytopathology And Plant Protection**, [S.L.], v. 57, n. 11-12, p. 800-822, 20 jul. 2024. <http://dx.doi.org/10.1080/03235408.2024.2414474>.

HASHEM, A.; TABASSUM, B.; FATHI A., B., D.; ALLAH, E. *Bacillus subtilis*: a plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. **Saudi J Biol Sci.**, v. 26, n. 6, p. 1291-1297, Set. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.05.004>

HAZARIKA, T. K.; LALHRIATPUIA, C.; DEBBARMA, P. Effects of organic amendments, biofertilisers and biodynamic preparations on soil properties and leaf nutrient concentrations in grapevine. **Biological Agriculture & Horticulture**, [S.L.], v. 40, n. 3, p. 141-160, mar. 2024. <http://dx.doi.org/10.1080/01448765.2024.2334210>.

JAVED, S.; HAMID, R.; KHAN, M.; AHMAD, M.; AHMAD, M.; ABDIN, M.; MUSARRAT, J. Chitinases: an update. **Journal Of Pharmacy And Bioallied Sciences**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 21, 2013. <http://dx.doi.org/10.4103/0975-7406.106559>.

KAI, M.; HAUSTEIN, M.; MOLINA, F.; PETRI, A.; SCHOLZ, B.; PIECHULLA, B. Bacterial volatiles and their action potential. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 81, n. 6, p. 1001-1012, jan. 2009. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-008-1760-3>.

KARAČIĆ, V.; MILJAKOVIĆ, D.; MARINKOVIĆ, J.; IGNJATOV, M.; MILOŠEVIĆ, D.; TAMINDŽIĆ, G.; IVANOVIĆ, M. *Bacillus* Species: excellent biocontrol agents against tomato diseases. **Microorganisms**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 457, 24 fev. 2024. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms12030457>.

KOILYBAYEVA, M.; SHYNYKUL, Z.; USTENOVA, G.; WALERON, K.; JOŃCA, J.; MUSTAFINA, K.; AMIRKHANOVA, A.; KOLOSKOVA, Y.; BAYALIYEVA, R.;

AKHAYEVA, T. Gas Chromatography–Mass Spectrometry Profiling of Volatile Metabolites Produced by Some *Bacillus* spp. and Evaluation of Their Antibacterial and Antibiotic Activities. **Molecules**, [S.L.], v. 28, n. 22, p. 7556, 12 nov. 2023. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules28227556>.

KUMAR, R.; SAURABH, K.; KUMAWAT, N.; MISHRA, J. S.; HANS, H.; KRISHNA, B.; MEENA, R. S.; JHA, B. K.; UPADHYAY, P. K.; HAZRA, K. K. Conservation Agriculture: perspectives on soil and environmental management in indo-gangetic plains of south asia. *In*: Meena et al. **Sustainable Management Of Soil And Environment**. Singapore: Springer, 2019. [http://dx.doi.org/10.1007/978-981-13-8832-3\\_4](http://dx.doi.org/10.1007/978-981-13-8832-3_4).

KUMAR, S.; ANJALI, R. A.; MASURKAR, P.; SINGH, U. B.; TRIPATHI, R.; BHUPENCHANDRA, I.; MINKINA, T.; KESWANI, C. **Bacillus subtilis-mediated induction of disease resistance and promotion of plant growth of vegetable crops**. *In*: Mageshwaran, V.; Singh, U. B.; Saxena, A. K.; Singh, H. B. (eds.). Applications of Bacillus and Bacillus Derived Genera in Agriculture, Biotechnology and Beyond. Singapore: Springer, 2024. [10.1007/978-981-99-8195-3\\_9](http://dx.doi.org/10.1007/978-981-99-8195-3_9)

KUPPER, K. C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, [S.L.], v. 28, n. 3, p. 251-257, jun. 2003. <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-41582003000300005>.

LALZAR, M.; ZEEVI, A.; FRENKEL, O.; GAMLIEL, A.; ABBO, S.; KRUH, L. I. Seed-Derived Microbial Community of Wild Cicer Seedlings: composition and augmentation to domesticated cicer. **Microbiology Spectrum**, [S.L.], v. 10, n. 3, p. 1-12, 29 jun. 2022. <http://dx.doi.org/10.1128/spectrum.02785-21>.

LANDA, B. B.; NAVAS-CORTÉS, J. A.; JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. Integrated Management of Fusarium Wilt of Chickpea with Sowing Date, Host Resistance, and Biological Control. **Phytopathology**®, [S.L.], v. 94, n. 9, p. 946-960, set. 2004. <http://dx.doi.org/10.1094/phyto.2004.94.9.946>.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The Fusarium laboratory manual**. Australia: Blackwell Publishing, 2006. [10.1002/9780470278376](http://dx.doi.org/10.1002/9780470278376)

LIU, L.; JIN, X.; LU, X.; GUO, L.; LU, P.; YU, H.; LV, B. Mechanisms of Surfactin from *Bacillus subtilis* SF1 against *Fusarium foetens*: a novel pathogen inducing potato wilt. **Journal Of Fungi**, [S.L.], v. 9, n. 3, p. 367, 17 mar. 2023. <http://dx.doi.org/10.3390/jof9030367>. MAHAPATRA, S.; YADAV, R.; RAMAKRISHNA, W. *Bacillus subtilis* impact on plant growth, soil health and environment: dr. jekyll and mr. hyde. **Journal Of Applied Microbiology**, [S.L.], v. 132, n. 5, p. 3543-3562, mai. 2022. <http://dx.doi.org/10.1111/jam.15480>.

MAHESHWARI, D. K.; DUBEY, R. C.; AGARWAL, M.; DHEEMAN, S.; AERON, A.; BAJPAI, V. K. Carrier based formulations of biocoenotic consortia of disease suppressive *Pseudomonas aeruginosa* KRP1 and *Bacillus licheniformis* KRB1. **Ecological Engineering**, [S.L.], v. 81, p. 272-277, ago. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.04.066>.

MAHMOODI, A.; FARINAS, E. T. Applications of *Bacillus subtilis* Protein Display for Medicine, Catalysis, Environmental Remediation, and Protein Engineering. **Microorganisms**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 97, 3 jan. 2024. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms12010097>.

MAQSOOD, A.; ASLAM, M. N.; KHALIQ, H.; SHAKEEL, M. T.; WU, H.; FAHAD, S. Endophytic *Bacillus* spp. Mediated Plant Growth Promotion of Tomato Seedlings and Suppression of *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* Disease Complex. **Journal Of Plant Growth Regulation**, [S.L.], v. 43, n. 7, p. 2454-2469, 27 mar. 2024. <http://dx.doi.org/10.1007/s00344-024-11279-x>.

MARGHEIM, J.; BALTENSPERGER, D.D.; WILSON, R.G.; LYON, D.J.; HEIN, G.L.; HARVESON, R.M.; BURGNER, P.; KRALL, J.M.; CECIL, J.T.; RICKERTSEN, J.R.; MERRIGAN, A.P.; WATSON, M.H.; HANSEN, B.J. **Chickpea production in the high plains**. Lincoln, Nebraska: University of Nebraska, 2004. <https://digitalcommons.unl.edu/extensionhist/771/>

MSAAD, H.; LAMSAADI, N.; FARSSI, O.; OUBENALI, A.; LAHMAOUI, S.; BOULLI, A.; GHOULAM, C.; MOUKHTARI, A. E.; FARISSI, M. Biofertilizer and biostimulant potentials of phosphate-solubilizing *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* M1 strain and silicon in improving low phosphorus availability tolerance in rosemary. **Letters In Applied Microbiology**, [S.L.], v. 77, n. 8, p. 1-15, 26 jul. 2024. <http://dx.doi.org/10.1093/lambio/ovae072>.

MHAMMEDI, A.; PEYPOUX, F.; BESSON, F.; MICHEL, G. Bacillomycin F, a new antibiotic of iturin group: isolation and characterization. **The Journal Of Antibiotics**, [S.L.], v. 35, n. 3, p. 306-311, 1982. <http://dx.doi.org/10.7164/antibiotics.35.306>.

MOHAMMADI, H.; BANIHASHEMI, Z. A. D. Distribution, pathogenicity and survival of *Fusarium* spp., the causal agents of chickpea wilt and root rot in the Fars province of Iran. **Iranian Journal of Plant Pathology** [Internet], v. 41, n. 4, p. 687-708, 2005. <https://sid.ir/paper/48255/en>

MORENO-VELANDIA, C. A.; ONGENA, M.; COTES, A. M. Effects of Fengycins and Iturins on *Fusarium oxysporum* f. sp. *physali* and Root Colonization by *Bacillus velezensis* Bs006 Protect Golden Berry Against Vascular Wilt. **Phytopathology**®, [S.L.], v. 111, n. 12, p. 2227-2237, dez. 2021. <http://dx.doi.org/10.1094/phyto-01-21-0001-r>.

MOTA, T. C. **Desempenho produtivo de grão-de-bico irrigado em função da época de plantio em Montes Claros-MG**. 2013. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias, 2013.

ONGENA, M.; JACQUES, P. *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. **Trends In Microbiology**, [S.L.], v. 16, n. 3, p. 115-125, mar. 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2007.12.009>.

PANDE, S.; RAO, J. N.; SHARMA, M.. Establishment of the Chickpea Wilt Pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in the Soil through Seed Transmission. **The Plant**

**Pathology Journal**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 3-6, 31 mar. 2007. <http://dx.doi.org/10.5423/ppj.2007.23.1.003>.

MAWARDA, P. C.; A MALLON, C.; LE ROUX, X.; VAN ELSAS, J. D.; SALLES, J. F. Interactions between Bacterial Inoculants and Native Soil Bacterial Community: the case of spore-forming bacillus spp. **Fems Microbiology Ecology**, [S.L.], v. 98, n. 12, p. 1-10, 27 out. 2022. <http://dx.doi.org/10.1093/femsec/fiac127>.

PATEL, K. K; PANDEY, A. K.; BAHALIYA, A. K.; SINGH, V.; YADAV, R.; PANDEY, S.; ADESH; YADAV, V. A Comparative Study of the Effects of Biofertilizers and Chemical Fertilizers on Soil Physical and Biological Properties under Chickpea Crop (*Cicer arietinum* L.). **International Journal Of Environment And Climate Change**, [S.L.], v. 14, n. 3, p. 72-80, 29 fev. 2024. <http://dx.doi.org/10.9734/ijeccc/2024/v14i34020>.

PEGG, K. G.; COATES, L. M.; O'NEILL, W. T.; TURNER, D. W. The Epidemiology of Fusarium Wilt of Banana. **Frontiers In Plant Science**, [S.L.], v. 10, p. 1-12, 20 dez. 2019. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2019.01395>.

PETRAS, S. F.; CASIDA, L. E.. Survival of *Bacillus thuringiensis* Spores in Soil. **Applied And Environmental Microbiology**, [S.L.], v. 50, n. 6, p. 1496-1501, dez. 1985. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.50.6.1496-1501.1985>.

PHILLIPS, P. W. B.. An Economic Assessment of the Global Inoculant Industry. **Crop Management**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 1-10, 2004. <http://dx.doi.org/10.1094/cm-2004-0301-08-rv>.

PLEBAN, S.; CHERNIN, L.; CHET, I.. Chitinolytic activity of an endophytic strain of *Bacillus cereus*. **Letters In Applied Microbiology**, [S.L.], v. 25, n. 4, p. 284-288, set. 1997. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1472-765x.1997.00224.x>.

RADHAKRISHNAN, R.; HASHEM, A.; ABD\_ALLAH, E. F. *Bacillus*: a biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments. **Frontiers In Physiology**, [S.L.], v. 8, p. 1-14, 6 set. 2017. <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2017.00667>.

RAMAWAT, K. G.; GOYAL, S. Co-evolution of secondary metabolites during biological competition for survival and advantage: an overview. In: MÉRILLON, J. M.; RAMAWAT, K. (eds.). **Co-Evolution of Secondary Metabolites. Reference Series in Phytochemistry**. Cham: Springer, 2020. 10.1007/978-3-319-96397-6\_45

REHMAN, Z. U.; LEIKNES, T. Quorum-Quenching Bacteria Isolated From Red Sea Sediments Reduce Biofilm Formation by *Pseudomonas aeruginosa*. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 9, p. 1-10, 17 jul. 2018. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.01354>.

ROCHA, F.S.; SHARMA, M.; TARAFDAR, A.; CHEN, W.; AZEVEDO, D. M.; CASTILLO, P; COSTA, C. A.; CHOBE, D. R. Doenças do grão-de-bico. In: **Manual de doenças de vegetais e ervas**. Cham: Springer International Publishing. 2023.

SABER, W. I. A.; GHONEEM, K. M.; AL-ASKAR, A. A.; RASHAD, Y. M.; ALI, A. A.; RASHAD, E. M.. Chitinase production by *Bacillus subtilis* ATCC 11774 and its effect

on biocontrol of Rhizoctonia diseases of potato. **Acta Biologica Hungarica**, [S.L.], v. 66, n. 4, p. 436-448, dez. 2015. <http://dx.doi.org/10.1556/018.66.2015.4.8>.

SAHU, P. K.; BRAHMAPRAKASH, G. P. Formulations of biofertilizers – approaches and advances. In: SINGH, D.; SINGH, H.; PRABHA, R. (eds.). **Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity**. New Delhi: Springer, 2016. 10.1007/978-81-322-2644-4\_12.

SILVA, M. S. B. S.; RODRIGUES, A. A. C.; OLIVEIRA, L. J. M. G.; SILVA, E. K. C.; PEREIRA, T. S. Sanidade de sementes de arroz, biocontrole, caracterização e transmissão de *Curvularia lunata* em semente-plântula de arroz. **Revista Ceres**, [S.L.], v. 61, n. 4, p. 511-517, ago. 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/0034-737x201461040009>.

SHARMA, R. D.; CERKAUSKAS, R. F. Interação entre *Meloidogyne javanica* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* sobre o grão-de-bico. **Nematologia Brasileira**, v. 9, p. 113-121, 1985.

SILVA, V. N.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HARAKAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [S.L.], v. 46, n. 12, p. 1609-1618, dez. 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x2011001200005>.

SINGH, C.; VYAS, Dk. The Trends in the Evaluation of Fusarium Wilt of Chickpea. **Diagnostics Of Plant Diseases**, [S.L.], p. 1-7, 7 jul. 2021. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.95612>.

SINGH, G.; CHEN, W.; RUBIALES, D.; MOORE, K.; SHARMA, Y. R.; GAN, Y. Diseases and their management. In: **Chickpea Breeding and Management**. CAB International, 2007. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/book/10.1079/9781845932138.000>

SOUSA, G. G.; RODRIGUES, V. S.; SOARES, S. C.; DAMASCENO, Í. N.; FIUSA, J. N.; SARAIVA, S. E. L. Irrigation with saline water in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) in a soil with bovine biofertilizer. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [S.L.], v. 22, n. 9, p. 604-609, set. 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v22n9p604-609>.

SHASMITA; SWAIN, B. B.; MOHAPATRA, P. K.; NAIK, S. K.; MUKHERJEE, A. K. Biopriming for induction of disease resistance against pathogens in rice. **Planta**, [S.L.], v. 255, n. 6, p. 1-13, mai. 2022. <http://dx.doi.org/10.1007/s00425-022-03900-8>.

SRITONGON, N.; BOONLUE, S.; MONGKOLTHANARUK, W.; JOGLOY, S.; RIDDECH, N. The combination of multiple plant growth promotion and hydrolytic enzyme producing rhizobacteria and their effect on Jerusalem artichoke growth improvement. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 1-12, 11 abr. 2023. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-023-33099-x>.

STEINER, R. **Geisteswissenschaftliche Grundlagen Zum Gedeihen der Landwirtschaft**. Koberwitz bei Breslau: Rudolf Steiner Online Archiv, 2010.

SUNKAD, G.; DEEPA, H.; SHRUTHI, T. H.; SINGH, D. Chickpea wilt: status, diagnostics and management. **Indian Phytopathology**, [S.L.], v. 72, n. 4, p. 619-627, ago. 2019. <http://dx.doi.org/10.1007/s42360-019-00154-5>.

TAKATE, B. D.; GAYKAR, B. M. Effect of Different Concentrations of Glycerol on survival of Azotobacter chroococcum Local strains isolated from Wild Grasses. **Asian Journal Of Applied Science And Technology**, [S.L.], v. 05, n. 04, p. 16-23, 2021. <http://dx.doi.org/10.38177/ajast.2021.5402>.

TORRES, M. J.; PETROSELLI, G.; DAZ, M.; ERRA-BALSELLS, R.; AUDISIO, M. C.. Bacillus subtilis subsp. subtilis CBMDC3f with antimicrobial activity against Gram-positive foodborne pathogenic bacteria: uv-maldi-tof ms analysis of its bioactive compounds. **World Journal Of Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 31, n. 6, p. 929-940, mar. 2015. <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-015-1847-9>.

TRAPERO-CASAS, A. Fungal Wilt and Root Rot Diseases of Chickpea in Southern Spain. **Phytopathology**, [S.L.], v. 75, n. 10, p. 1146, 1985. <http://dx.doi.org/10.1094/phyto-75-1146>.

VAN DER MAESEN, L. J. G. Origin, history, and taxonomy of chickpea. In: SAXENA, M. C.; SINGH, K. B. **The Chickpea**. UK: CAB International Publications, 1987. <https://edepot.wur.nl/304694>

WANG, C.; YE, X.; NG, T. B.; ZHANG, W. Study on the Biocontrol Potential of Antifungal Peptides Produced by Bacillus velezensis against Fusarium solani That Infects the Passion Fruit Passiflora edulis. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 69, n. 7, p. 2051-2061, fev. 2021. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.0c06106>.

WOOD, J. A.; GRUSAK, M. A. Nutritional value of chickpea. In: YADAV, S. S.; REDDEN, R. R.; CHEN, W.; SHARMA, B. **Chickpea Breeding and Management**. [S.L.]: CABI Publishing, 2007.

WU, Q.; ZHANG, S.; HOU, B.; ZHENG, H.; DENG, W.; LIU, D.; TANG, W.. Study on the preparation of wood vinegar from biomass residues by carbonization process. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 179, p. 98-103, mar. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.026>.

XIE, S.; ZANG, H.; WU, H.; RAJER, F. U.; GAO, X.. Antibacterial effects of volatiles produced by Bacillus strain D13 against Xanthomonas oryzae pv. oryzae. **Molecular Plant Pathology**, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 49-58, 23 nov. 2016. <http://dx.doi.org/10.1111/mpp.12494>.

YADAV, R. K.; TRIPATHI, M. K.; TIWARI, S.; TRIPATHI, N.; ASATI, R.; PATEL, V.; SIKARWAR, R. S.; PAYASI, D. K. Breeding and Genomic Approaches towards Development of Fusarium Wilt Resistance in Chickpea. **Life**, [S.L.], v. 13, n. 4, p. 988, 11 abr. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/life13040988>.

YADAV, U.; ANAND, V.; KUMAR, S.; VERMA, I.; ANSHU, A.; PANDEY, I. A.; KUMAR, M.; BEHERA, S. K.; SRIVASTAVA, S.; SINGH, P. C. Bacillus subtilis NBRI-W9 simultaneously activates SAR and ISR against Fusarium chlamydosporum NBRI-FOL7 to increase wilt resistance in tomato. **Journal Of Applied Microbiology**, [S.L.],

v. 135, n. 3, p. 1-10, 24 jan. 2024. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jambio/lxae013>.

YÁNEZ-MENDIZÁBAL, V.; FALCONÍ, C. E. *Bacillus subtilis* CtpxS2-1 induces systemic resistance against anthracnose in Andean lupin by lipopeptide production. **Biotechnology Letters**, [S.L.], v. 43, n. 3, p. 719-728, 3 jan. 2021. <http://dx.doi.org/10.1007/s10529-020-03066-x>.

ZHANG, J.; GUO, C.; CHEN, W.; SHANG, Y.; LAJUDIE, P.; YANG, X.; MAO, P.; ZHENG, J.; WANG, E. T. Dynamic succession of chickpea rhizobia over years and sampling sites in Xinjiang, China. **Plant And Soil**, [S.L.], v. 425, n. 1-2, p. 241-251, 7 fev. 2018. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-018-3586-9>.

ZEIGLER, D. R.; PERKINS, J. B. The genus *Bacillus*. In: GREEN, L. H.; GOLDMAN, E. (eds.). **Practical Handbook of Microbiology**. 4. ed. Boca Raton: CRC Press, 2021.

ZHOU, Y.; CHEN, J.; FENG, Y.; XIANG, P.; LI, J.; CHEN, L.; GUO, Y. Biocontrol Potential of *Bacillus* strains against soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) and for promotion of soybean growth. **Bmc Microbiology**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 1-10, 28 set. 2024. <http://dx.doi.org/10.1186/s12866-024-03514-y>.

## 4 ARTIGO

### 4.1 Artigo 1- seleção de *bacillus* de produtos biofermentados no controle *in vitro* de *fusarium oxysporum*

Este manuscrito foi preparado conforme as normas da revista **Biological Control** (ISSN:1049-9644).

## Seleção de *Bacillus* de produtos biofermentados no controle *in vitro* de *Fusarium oxysporum*

Gabriel Paz de Almeida Alves de Souza<sup>1</sup>, Fernando S. Rocha<sup>1</sup>, Maria de Fátima Silva Muniz<sup>2</sup>, Juan Manuel Anda Rocabado<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, *Campus* Montes Claros, Montes Claros-MG, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Alagoas, *Campus* de Engenharias e Ciências Agrárias, Rio Largo, Alagoas, Brasil.

<sup>3</sup>Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brasil.

\*Corresponding author: rochafs.ufmg@gmail.com

### Resumo

Espécies de *Fusarium* representam um fator limitante para a produção do grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.), sendo o uso de produtos orgânicos a base de *Bacillus* uma alternativa no manejo da fusariose. Neste trabalho, objetivou-se estudar o potencial de isolados de *Bacillus* provenientes de biofertilizante e preparado biodinâmico no controle de *Fusarium oxysporum* do grão-de-bico. Os isolados de *Bacillus* foram obtidos de preparado biodinâmico comercial (PB500), e preparado biodinâmico (PBG500) e biofertilizante líquido (BioL) de fabricação própria. Foram feitos experimentos de antagonismo direto, pareamento de cultura e produção de compostos orgânicos voláteis (COVs) para avaliar a eficiência dos isolados de *Bacillus* contra *F. oxysporum* CML 2878. Nestes experimentos foram avaliados o diâmetro do crescimento micelial fúngico e a porcentagem de inibição do crescimento micelial fúngico aos 3, 6 e 9 dias de incubação. Os isolados do BioL causaram maior inibição do crescimento micelial de *F. oxysporum* (54 e 88%) pelos testes de pareamento de culturas e antagonismo direto, respectivamente. No entanto, a maioria dos isolados mostraram se eficientes na inibição do crescimento micelial contra *F. oxysporum* pelo experimento de COVs. Dentre os 40 isolados obtidos, os 14 mais promissores foram identificados como *Bacillus* sp., sendo duas espécies de *B. subtilis* e de *B. cereus*. No presente estudo demonstramos que a seleção de *Bacillus* de BioL e dos preparados biodinâmicos é promissora para a busca de isolados eficientes no controle de controle de *F. oxysporum* do grão-de-bico.

Palavras-chave: *Bacillus subtilis*; Biocontrole; Biofertilizante; Preparado biodinâmico; *Fusarium oxysporum*.

## Abstract

*Fusarium* species represent a limiting factor for chickpea (*Cicer arietinum* L.) production. The use of organic *Bacillus*-based products is an alternative for managing fusariosis. This study aimed to study the potential of *Bacillus* isolates from biofertilizer and biodynamic preparations to control *Fusarium oxysporum* in chickpea. *Bacillus* isolates were obtained from a commercial biodynamic preparation (PB500), a biodynamic preparation (PBG500) and a liquid biofertilizer (BioL) own manufacture. Direct antagonism, culture pairing and volatile organic compound (VOC) production experiments were performed to evaluate the efficiency of *Bacillus* isolates against *F. oxysporum* CML 2878. In these experiments, the diameter of fungal mycelial growth and the percentage of inhibition of fungal mycelial growth were evaluated at 3, 6 and 9 days of incubation. The BioL isolates caused greater inhibition of mycelial growth of *F. oxysporum* (54 and 88%) by culture pairing and direct antagonism tests, respectively. However, most isolates were efficient in inhibiting mycelial growth against *F. oxysporum* by the VOC experiment. Among the 40 isolates obtained, the 14 most promising were identified as *Bacillus* sp., two species of *B. subtilis* and *B. cereus*. In the present study, we demonstrated that the selection of *Bacillus* from BioL and biodynamic preparations is promising for the search for efficient isolates in the control of *F. oxysporum* in chickpea.

Keywords: *Bacillus subtilis*; Biocontrol; Biodynamic preparation; Biofertilizer; *Fusarium oxysporum*.

## 1. Introdução

A cultura do grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) está globalmente em expansão, com aumento de 27,3% na produção e 14,2% em área cultivada (Merga; Haji, 2019). O grão-de-bico é a terceira leguminosa mais ricas em fonte nutritiva de proteínas, carboidratos, fibras, vitaminas e minerais (Begum et al., 2023). Esta cultura é cultivada principalmente no Oriente Médio, Ásia Central e do Sul, bacia do Mediterrâneo, Austrália, África Oriental e América do Norte (Marteau-Bazouni et al., 2024). Sua produção global em 2022 foi de 18,1 milhões de toneladas (FAO, 2022). Os fungos, nematoides e vírus atacam o grão-de-bico causando perdas significativas na produção (Rocha et al., 2023). Dentre os principais problemas fitossanitários encontra-se a fusariose causada pelo complexo de *Fusarium* (Azevedo et al., 2017; Meshram, 2019; Rocha et al., 2023). Os sintomas variam para cada espécie, *F. solani* causa podridão radicular e *F. oxysporum* causa murcha vascular (WANG et al., 2021). A fusariose é uma doença de fácil disseminação e difícil controle, transmitidas via solo, água, ar e materiais contaminados (Rocha et al., 2023).

A pressão desses fungos é maior em regiões de terras secas e estresses ambientais (Hamida et al., 2024). A incidência de doenças de podridão das raízes e murcha causada por espécies de *F. oxysporum* comprometem as áreas de produção de grão-de-bico (Maitlo et al., 2019). Um estudo de amostras de solo na Etiópia indicou que a fusariose está significativamente associada aos tipos de solos argilosos (vertisolos), concomitantemente as variedades do tipo Desi, práticas de plantio precoce, natureza de floração precoce ou maturidade precoce das cultivares (Bekele et al., 2021). A fusariose pode agravar entre 10 e 94% de redução no rendimento potencial a cada ano (Yadav et al., 2023).

O manejo integrado da doença com o uso de variedades geneticamente resistentes são efetivas práticas culturais (Sunkad et al., 2019). Entretanto, para o controle da fusariose do grão-de-bico é fundamental a integração de métodos de controle tais como rotação de cultura, controle químico, cultivares resistentes, práticas agronômicas e controle biológico (Venkataramanamma, 2023). O gênero *Bacillus* tem apresentado grande potencial no controle biológico, devido a capacidade em formação de esporos resistentes ao calor e à dessecação além de possuir diferentes mecanismos de ação antifúngicos (Magotra et al., 2021; Rathod et al., 2023; Singh et al., 2023).

O uso de produtos à base de esterco como os preparados biodinâmicos e biofertilizantes são fontes de nutrientes promotores do crescimento de plantas e ricos em consórcios microbianos (Mbong et al., 2021; Zhang et al., 2020). Assim, o uso de preparados biodinâmicos e biofertilizantes podem elevar o potencial de produção e garantir mais eficiência no cultivo do grão-de-bico e controle da fusariose. Os preparados biodinâmicos podem apresentar densidade microbiana de  $2,3 \times 10^8$  UFC/g e bacteriana de  $3,4 \times 10^6$  UFC/g (Pathak et al., 2010; Giannattasio et al., 2013). Radha e Rao (2014) verificaram atividade antagonista de *Lysinibacillus* e *B. licheniformis* isolados de preparados biodinâmicos contra *Rhizoctonia bataticola* em plantas de milho. Rupela et al. (2003) isolaram 17 isolados bacteriano de preparados biodinâmicos com atividade antagonista contra *Sclerotium rolfsii*, *F. oxysporum* e *Aspergillus flavus*. Em outro estudo, Vaish et al. (2021) isolaram 68 bactérias de preparado biodinâmico e 10 isolados apresentaram atividade contra *F. solani*, *Colletotrichum gloeosporioidium* e *Pestalotiopsis mangiferae*, sendo o isolado mais eficaz identificado como *B. safensis* que mostrou alta atividade de pectinase, celulase e amylase. Garg et al. (2004) e Ram et al. (2007), relataram aumento na população microbiana da rizosfera de solos de campo e pomar após a aplicação de preparações biodinâmicas.

Embora o uso de preparados biodinâmicos e biofertilizantes é conhecido a séculos sobre seu potencial no desenvolvimento de plantas e no controle de doenças, o mecanismo de ação desses produtos precisa de melhor conhecimento, bem como a busca de novos isolados promissores, visando aumentar a eficácia dos produtos aplicados contra patógenos de solo em diversas culturas. Desta forma, neste trabalho, objetivou-se estudar o potencial de isolados de *Bacillus* de preparado biodinâmico comercial (PB500) e biofertilizantes para o controle de *Fusarium oxyporum* do grão-de-bico.

## **2. Material e métodos**

### ***2.1. Produção do preparado biodinâmico e biofertilizante***

Os materiais para obtenção dos isolados originaram-se da fermentação anaeróbica do esterco de vaca em lactação fresco, oriundos de 3 regiões, curtido de forma e em “recipientes” diferentes. O biofertilizante líquido (BioL) foi obtido na zona rural, localizada a 15km de Bocaiúva-MG. Para isso, em foram coletados 15kg de

esterco fresco de vacas em lactação e colocados em 200 litros de água de poço artesiano, acrescido de 3,5 kg de rapadura ralada. Em seguida, homogeneizou e deixou armazenado por 6 meses em biodigestor “bulbona” de 240 litros hermeticamente fechada, o qual foi acoplada a uma válvula EVOQUE para permitir a saída dos gases (principalmente o metano) produto da biodigestão anaeróbica.

O Preparado Biodinâmico de esterco (PB500) comercial foi adquirido em pacote de 120 gramas pela empresa Associação Brasileira de Agricultura Biodinâmica, Botucatu-SP. (<https://loja.biodinamica.org.br/produto/preparado-500-chifre-esterco/>). Para esse produto, recomenda-se diluir 100g em 60 litros de água por hectare, aplicado no momento do preparo do solo, na semeadura ou no transplante. Já o Preparado Biodinâmico de esterco de fabricação própria (PBG500) foi produzido na zona rural a 12km do município de Botumirim-MG. Esse consistiu em 100g esterco fresco de vaca em lactação, criadas em sistema orgânico, curtido dentro do chifre de vaca “hermeticamente” fechado com argila, enterrado no mês de abril a outubro de 2021. Preparado que consistiu em aspecto sólido. O PBG500 ficou armazenado durante 12 meses até obtenção dos isolados de *Bacillus* sp.

## 2.2. Obtenção de *Bacillus* sp

Para obtenção dos isolados de *Bacillus* sp. utilizou-se os produtos de fermentação biológica BioL, PB500 e PBG500. O isolamento foi adaptado do método da organização mundial de saúde (Silva et al., 2002), pela técnica de diluições seriadas, precedidas, uma hora de dinamização manual em becker, com uma solução aquosa de concentração em proporção a recomendada pela associação biodinâmica de 60g/100litros, ajustada para 6g de PB500 por litro e 600ml/litro do BioL. Em seguida, aquecidas a 80°C por 12min, com resfriamento imediato (submersão em água com gelo, para causar “choque térmico”), por 5min, nesse processo é selecionado em maioria o gênero *Bacillus*, por serem termoestáveis e resistirem a essa termorregulação. A seguir, uma alíquota de 100 µL da diluição 10<sup>-3</sup> “termo regulada” foi plaqueada em meio TSA (Trypticase Soy Agar) sólido e incubada a 30°C por 48 horas. A obtenção das culturas puras dos isolados de *Bacillus* sp. utilizados nos experimentos foi através da repicagem, com auxílio da alça de platina, de pequenos fragmentos das formações de colônias com aspectos de “rugos”, coloração esbranquiçadas, para outras placas contendo meio TSA. Os isolados de *Bacillus* individualizados após o período de incubação de 48 horas,

foram repicados para tubos de eppendorf de 0,5 mL com meio líquido TSB (Trypticase Soy Broth) e armazenados em geladeira a 4°C.

### 2.3. Experimento de antagonismo

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Pesquisa em Fitopatologia (LPF) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), *Campus* Montes Claros-MG. Nos experimentos foi utilizado o isolado de *F. oxysporum* CML2878 conhecidamente patogênico ao grão-de-bico cv. Cicero (Azevedo et al., 2017). Para isso, esse isolado fúngico foi cultivado em meio sólido BDA (Batata Dextrose Agar) a 25°C por 15 dias. Os isolados de *Bacillus*, obtidos conforme descrito anteriormente, foram cultivados em meio TSB sólido a 28°C por 24 horas antes de serem utilizados nos experimentos. Para isso, uma alíquota de 3 µL de cada isolado de *Bacillus* foi adicionado em tubos de ensaio contendo 10 mL de solução salina a 0,85% de NaCl. As suspensões bacterianas foram agitadas em agitador do tipo de Vortex a 150 rpm para homogeneizar a suspensão e padronizar a turbidez na escala 0,5 de McFarland, no intuito de comparação de densidade bacteriana, equivalente a 10<sup>8</sup> células/mL. Após a padronização da turbidez, as suspensões dos isolados de *Bacillus* foram usadas nos experimentos.

Para o experimento de antagonismo, 3 mL da suspensão bacteriana padronizada quanto a turbidez foi adicionada em placa de Petri de 90 mm de diâmetro contendo meio sólido BDA. A seguir, a suspensão foi espalhada com auxílio de swab estéril sobre o meio de cultura até uniformização. Após esse procedimento, colocou no centro da placa de Petri um disco de 7 mm de diâmetro com meio e micélio de *F. oxysporum* CML 2878, cultivado em meio BDA por 15 dias. Placas com apenas o disco de micélio fúngico no centro do meio de cultura foram consideradas testemunhas. As placas foram vedadas com filme de PVC transparente e incubadas em sala ambiente com temperatura de 25 ± 2°C. Neste experimento foi utilizado 35 isolados de *Bacillus* (tratamentos), 17 do BioL e 18 do PB500, mais uma testemunha, totalizando 36 tratamentos. O delineamento foi inteiramente casualizado (DIC), com 4 repetições.

No 3º, 6º e 9º dia de incubação foram feitas as avaliações do crescimento micelial de *F. oxysporum* CML2878. Para avaliar o crescimento micelial fúngico foram realizadas medições do diâmetro das colônias, em três sentidos diametralmente opostos, do centro do disco do micélio fúngico para a borda da colônia na placa de

Petri. A porcentagem de inibição do crescimento micelial foi calculada de acordo com a fórmula de (Wang et al. 2021).

$$ICM (\%) = \left( \frac{C - T}{C} \right) \times 100$$

Onde ICM: porcentagem de inibição do crescimento micelial; C: crescimento micelial no controle; T: crescimento micelial fúngico na presença de isolados de *Bacillus* sp.

#### 2.4 Experimento de cultura pareada

Para o experimento de cultura pareada utilizou 37 isolados de *Bacillus*, 20 dos preparados biodinâmicos (PB500 e PBG500) e 17 do BioL mais a testemunha, totalizando 38 tratamentos. Os isolados bacterianos e fúngico foram os mesmos descritos no experimento de antagonismo direto. Esse experimento foi em placas de Petri de 90 mm de diâmetro com meio sólido BDA acrescido um disco de 7 mm de diâmetro com micélio fúngico, e lateralizado a 25 mm uma estria de 30mm feita com 3  $\mu$ L de isolado de *Bacillus* cultivado em TSA por 48 horas (Singh et al., 2020). As condições de incubação, as avaliações e o delineamento experimental foram similares ao experimento anterior.

#### 2.5 Experimento de compostos orgânicos voláteis (COVs)

Neste experimento utilizou 37 tratamentos de *Bacillus*, desse total, 17 isolados do BioL e 20 dos preparados biodinâmicos mais a testemunha. Para o estudo dos COVS, em placas de Petri de 90 mm de diâmetro contendo meio sólido TSA foi feita a inoculação de isolado de *Bacillus* com turbidez padronizada na escala de 0,8 de McFarland, cultivado a temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  por 48 horas. Em outra placa de Petri com mesma dimensão com meio sólido BDA colocou no centro da placa um disco de 7mm do *F. oxysporum* CML 2878. A seguir, as duas placas foram unidas e vedadas com filme PVC transparente e incubadas nas mesmas condições do experimento anterior. As avaliações e o delineamento experimental foram similares aos descritos anteriormente.

#### 2.6 Identificação dos isolados

Os isolados foram identificados pelo aspecto morfológico da colônia conforme Monnerat et al. (2020). Os isolados que apresentaram resultados de inibição do

crescimento micelial de *F. oxysporum* CML2878 superiores a 50% foram identificados a nível de espécie pela técnica de espectrometria de massa (Tecnologia Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight) (Maldi-tof).

### 3. Análises estatísticas

Os dados referentes ao crescimento micelial foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de agrupamento de Scott-Knott ao nível de 5% significância. Para análise estatística utilizou o programa estatístico R, versão 3.2.4 (R Core Team, 2016).

### 4. Resultados

Os produtos biofermentados possibilitaram 40 isolados de *Bacillus*, sendo 18 do BioL, 12 do PB500 e 10 do PBG500 (Tabela 1). Após 72 horas de incubação em meio TSA, as colônias foram observadas nas placas de Petri para verificar a presença de colônias típicas de *Bacillus* com aspecto da colônia de cor creme na parte central a esbranquiçada na lateral, opaca e pouco brilhosa com superfície lisa, sem elevação, com formato lobado nas laterais, cor creme a branca com formato cilíndrico, opaca com superfície lisa e sem formato lobado nas laterais, cor branca leitosa com forma cilíndrica, com superfície lisa brilhante, cor creme, textura áspera e seca, rodeada por halo esbranquiçado, cor branco gelo, branco creme, amarela claro, rosa claro e formatos cilíndrico a elipsoidal com bordas variando de lisa, lobada, rugosa e irregular (Fig. 1). Dos 40 isolados obtidos foram identificadas 5 espécies pelo Maldi-Tof com pontuação acima de 2,0 como pertencentes às espécies de *B. cereus*, *B. subtilis* e *Rhodococcus hoagii*, sendo o isolado UFMG/PBC6 e UFMG/PBC8 identificados como *B. cereus*, os isolados UFMG/BIO11 e UFMG/BIO14 identificados como *B. subtilis*, e o isolado UFMG/PBC5 identificado como *R. hoagii*.

**Tabela 1.** Isolados bacterianos obtidos de diferentes produtos biofermentados de esterco, morfologia da colônia e identificação a nível de gênero/espécie pela técnica de espectrometria de massa (Maldi-Tof).

Isolados	Forma/cor da colônia	Gênero/Espécie	(Score)	Produto
UFMG/PBG1	Caramelo com borda acinzentada	-	-	PBG500
UFMG/PBG2	Transparente com pontuações e borda mais escura	-	-	PBG500
UFMG/ PBG3	Cinza, bordas com microvilosidades em tons mais escuros	-	-	PBG500
UFMG/ PBG4	Caramelo, manchas circuncêntricas mais escuras	-	-	PBG500
UFMG/ PBG5	Branca, núcleo com rugosidades	-	-	PBG500
UFMG/ PBG6	Transparente com manchas furta-cor circulares	-	-	PBG500
UFMG/ PBG7	Transparente, bordas esbranquiçadas, com invaginações	-	-	PBG500
UFMG/ PBG8	Caramelo claro	-	-	PBG500
UFMG/PBG9	Caramelo, núcleo envolto com halo protuberante	<i>Bacillus</i> sp.	1.573	PBG500
UFMG/PBG10	Caramelo escuro do centro para a periferia mais clara, formato circular, com bordas esbranquiçadas	-	-	PBG500
UFMG/PBC1	Branco creme, centro convexo, halo mais claro na periferia	-	-	PB500
UFMG/PBC2	Branco para caramelo, forma de circunferência, halo na periferia	-	-	PB500
UFMG/PBC3	Cinza, bordadura com invaginações degradê do centro mais escuro para a borda mais clara	-	-	PB500
UFMG/PBC4	Branca, formato circular, borda com microvilosidades	<i>Bacillus</i> sp.	1.992	PB500
UFMG/PBC5	Rosada com bolhas de	<i>Rhodococcus hoagii</i>	2.063	PB500

	3mm transparentes (esporângios)			
UFMG/PBC6	Branco gelo, halos separados em degradê do branco para o cinza, borda translúcida	<i>Bacillus cereus</i>	2.165	PB500
UFMG/PBC7	Caramelo claro, rugosidades proeminentes, saco esporângio, forma desregular	<i>Bacillus sp.</i>	0.979	PB500
UFMG/PBC8	Caramelo, formato circular, bordadura cinza	<i>Bacillus cereus</i>	2.355	PB500
UFMG/PBC9	Amarelada com halo periférico dourado	-	-	PB500
UFMG/ PBC10	Branco, aspecto leitoso, formato circular	-	-	PB500
UFMG/ PBC11	Semelhante a PBC3 e PBC6, diferenciação do núcleo com formações em forma de estrela	-	-	PB500
UFMG/ PBC12	Branco, forma filamentosa, semelhante ao <i>Bacillus micoydes</i>	-	-	PB500
UFMG/BIO1	Caramelo, centro em forma de bolhas	-	-	BioL
UFMG/BIO2	Branca gelo, rugosidades, halo circular mais claro, borda não circular	-	-	BioL
UFMG/BIO3	Amarelada degradê do escuro para claro, com rugosidades mais claras, formato circular	-	-	BioL
UFMG/BIO4	Cinza com halo branco, formato irregular	-	-	BioL
UFMG/BIO5	Branco, halos mais claros separados em degradê do branco para o translúcido	-	-	BioL
UFMG/BIO6	Amarelada, formato	-	-	BioL

	irregular, halo mais claro			
UFMG/BIO7	Branca com centro rugoso e borda acinzentada	-	-	BioL
UFMG/BIO8	Amarelada, núcleo com pontinhos	<i>Bacillus</i> sp.	1.993	BioL
UFMG/BIO9	Branca, com borda cinza e pequenos filamentos	<i>Bacillus</i> sp.	1.999	BioL
UFMG/BIO10	Branco leitosa halo ausente, crescimento acelerado	-	-	BioL
UFMG/BIO11	Caramelo com bolsas tipo esporângios e rugosidades	<i>Bacillus subtilis</i>	2.108	BioL
UFMG/BIO12	Centro branco com borda cinza e rugosidades claras	-	-	BioL
UFMG/BIO13	Branca com rugosidades mais claras e proeminentes	<i>Bacillus</i> sp.	1.731	BioL
UFMG/BIO14	Branca com rugosidades esbranquiçadas e presença de esporângios	<i>Bacillus subtilis</i>	2.123	BioL
UFMG/BIO15	Branca, com halo proeminente centro mais escuro, borda acinzentada	<i>Bacillus</i> sp.	1.818	BioL
UFMG/BIO16	Cor branca, núcleo com estrias em forma de estrela	<i>Bacillus</i> sp.	1.671	BioL
UFMG/BIO17	Ocre, formato irregular com microvilosidades e rugosidade no centro proeminentes em tons mais claros	<i>Bacillus</i> sp.	1.699	BioL
UFMG/BIO18	Rosa claro, centro convexo com halo mais claro e borda acinzentada	-	-	BioL

---



**Fig. 1.** Morfologia de colônia de isolados de *Bacillus* sp. obtidos de preparados biodinâmicos e biofertilizantes de esterco.

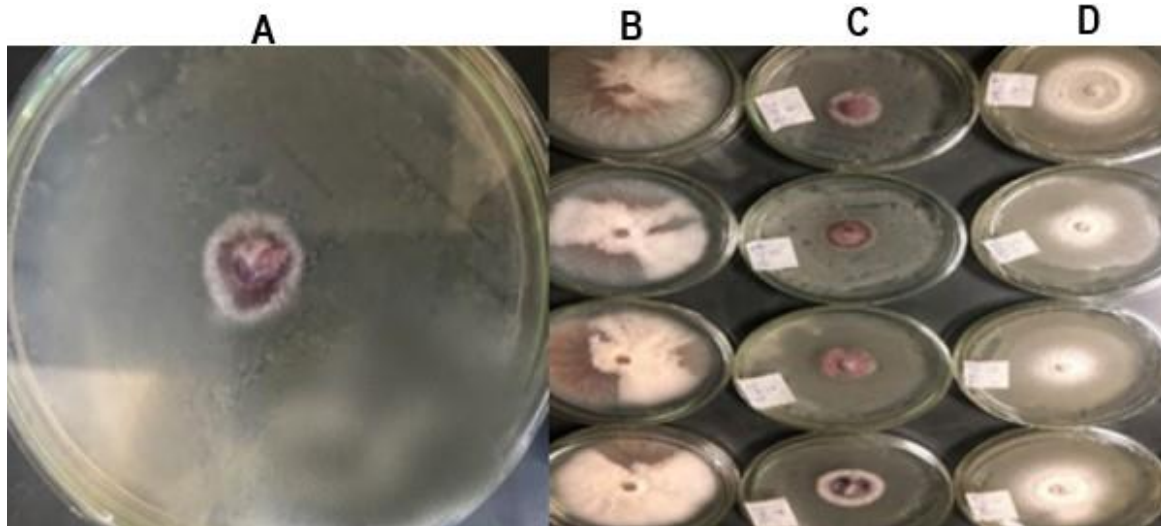
Os isolados UFMG/BIO13 (*Bacillus* sp.), UFMG/BIO15 *Bacillus* sp.), UFMG/BIO01, e as espécies de *B. subtilis* e *B. cereus* proporcionaram maior ICM de *F. oxysporum* pelo teste de antagonismos direto, com diâmetro variando entre 0,7 a 2,02 cm (Tabela 2). *Bacillus* sp. (UFMG/BIO13) causou maior ICM de *F. oxysporum* desde o 3º dia (99%) até ao 9º dia (88%) de avaliação, com um pequeno aumento de 11% no diâmetro micelial de *F. oxysporum*. Resultado similar foi observado com os demais isolados que apresentaram maior porcentagem de inibição do crescimento micelial. Observa-se que no 9º dia de avaliação ocorre inibição *Bacillus* sp. (isolado UFMG/BIO13) com 88% de inibição do crescimento micelial de *F. oxysporum*, enquanto *Bacillus subtilis* (isolado UFMG/BIO14), *B. cereus* (isolado UFMG/PBC6) inibiram 80 e 70%, em comparação com a testemunha (Fig. 2).

**Tabela 2.** Diâmetro médio (cm) do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* CML2878 e porcentagem de inibição do crescimento micelial (ICM) fúngico no experimento de antagonismo direto com isolados de *Bacillus* sp. aos 3, 6 e 9 dias de incubação.

Identificação	Código	3º dia		6º dia		9º dia	
		Diâmetro (cm)	ICM (%)	Diâmetro (cm)	ICM (%)	Diâmetro (cm)	ICM (%)
UFMG/BIO13	<i>Bacillus</i> sp.	0,70 a	99	0,78 a	93	1,05 a	88
UFMG/BIO15	<i>Bacillus</i> sp.	1,17 a	67	1,18 b	82	1,55 a	80
UFMG/BIO14	<i>B. subtilis</i>	1,07 a	68	1,10 b	83	1,56 a	80
UFMG/BIO11	<i>B. subtilis</i>	1,07 a	68	1,08 b	83	2,02 a	74
UFMG/BIO1	-	1,24 a	63	2,03 c	68	2,38 b	70
UFMG/PBC6	<i>B. cereus</i>	1,12 a	66	1,36 b	79	2,31 b	70
UFMG/PBC8	<i>B. cereus</i>	1,97 a	40	1,88 c	71	2,59 b	67
UFMG/PBC7	<i>Bacillus</i> sp.	2,37 d	28	3,26 d	49	4,69 c	40
UFMG/PBC3	-	2,05 c	38	3,66 e	44	5,00 d	36
UFMG/PBG9	<i>Bacillus</i> sp.	1,39 b	58	2,81 d	56	5,43 d	31
UFMG/PBC4	<i>Bacillus</i> sp.	1,37 b	59	3,26 d	49	5,62 d	28
UFMG/BIO4	-	2,70 d	18	5,31 i	16	5,70 d	26
UFMG/BIO5	-	3,15 e	5	6,79 l	0	6,30 e	18
UFMG/PBG10	-	2,64 d	20	6,55 l	0	6,30 e	18
UFMG/PBG3	-	1,16 a	65	4,64 g	27	6,50 e	16
UFMG/BIO2	-	2,01 c	39	4,26 f	33	6,58 e	16
UFMG/BIO7	-	2,13 c	36	4,64 g	27	8,00 f	0
UFMG/BIO10	-	1,04 a	69	4,90 h	23	8,00 f	0
UFMG/BIO9	<i>Bacillus</i> sp.	2,29 c	31	5,01 i	19	8,00 f	0
UFMG/PBG1	-	2,23 c	33	5,19 i	19	8,00 f	0
UFMG/PBG4	-	2,26 c	32	5,30 i	17	8,00 f	0
UFMG/PBC1	-	3,22 e	3	5,30 h	23	8,00 f	0
UFMG/BIO6	-	2,30 c	31	5,40 i	15	8,00 f	0
UFMG/PBG5	-	2,56 d	23	5,50 j	14	8,00 f	0
UFMG/PBG2	-	2,98 e	10	5,55 j	13	8,00 f	0
UFMG/PBG7	-	2,75 d	17	5,56 j	13	8,00 f	0
UFMG/BIO3	-	2,56 d	23	5,58 j	13	8,00 f	0
UFMG/PBG6	-	2,65 d	20	5,63 j	12	8,00 f	0
UFMG/BIO8	<i>Bacillus</i> sp.	2,41 c	27	5,69 j	11	8,00 f	0
UFMG/BIO17	<i>Bacillus</i> sp.	1,55 b	53	5,94 k	7	8,00 f	0
UFMG/PBG8	-	2,15 c	35	5,98 k	6	8,00 f	0
UFMG/BIO16	<i>Bacillus</i> sp.	1,58 b	52	6,19 k	3	8,00 f	0
UFMG/BIO12	-	1,76 b	48	6,31 k	0	8,00 f	0
UFMG/PBC9	-	2,39 c	27	7,00 l	0	8,00 f	0
UFMG/PBC11	-	1,70 b	48	7,50 l	0	8,00 f	0

Testemunha	<i>F. oxysporum</i>	3,40 f	-	6,38 k	-	8,00 f	-
<b>CV (%)</b>		<b>12,4</b>		<b>4,4</b>		<b>6,33</b>	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não se diferem significativamente pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott, a 5% de probabilidade.



**Fig. 2.** Antagonismo direto dos isolados de *Bacillus* sp. com *Fusarium oxysporum* CML2878 aos 9 dias de incubação. **A-** *Bacillus* sp. (isolado UFMG/BIO13) com 88% de inibição do crescimento micelial de *F. oxysporum*. **B-** Isolado UFMG/ICA-PBC6 com *F. oxysporum*. **C-** *Bacillus subtilis* (isolado UFMG/BIO14) com *F. oxysporum*. **D-** *F. oxysporum* cultivado em BDA (testemunha).

O pareamento dos isolados bacterianos com *F. oxysporum* causou significativamente menor diâmetro do crescimento micelial, variando com o isolado e o tempo de avaliação, em comparação com a testemunha (Tabela 3). No 3º dia de avaliação, os isolados que proporcionaram maior redução do diâmetro do crescimento micelial apresentaram ICM que variou entre 31 a 42%, enquanto no 6º dia as maiores reduções do diâmetro causaram ICM de 54 a 58%, e no 9º dia a ICM variou entre 54 a 61%. *Bacillus* sp. (isolado UFMG/PBC7) causou as maiores reduções do diâmetro do crescimento micelial de *F. oxysporum* a partir da primeira avaliação (3º dia) até a última avaliação (9º dia), com diâmetro da colônia de *F. oxysporum* variando entre 2,33 a 3,26 cm, causando ICM de 42, 58 e 61% aos 3, 6 e 9 dias de avaliação, respectivamente. *Bacillus* sp. (isolado UFMG/PBC7), *B. subtilis* (isolado UFMG/PBC11), o isolado UFMG/BIO1, *Bacillus* sp. (isolado UFMG/BIO13), *Bacillus* sp. (isolado UFMG/BIO15) e *B. subtilis* (isolado UFMG/BIO14) causaram reduções significativas no diâmetro do crescimento micelial da colônia de *F. oxysporum*, o que proporcionou ICM entre 54 e 61%. Aos nove dias de cultivo, *Bacillus subtilis* (isolado UFMG/BIO14) cresce em meio BDA com cor branca de

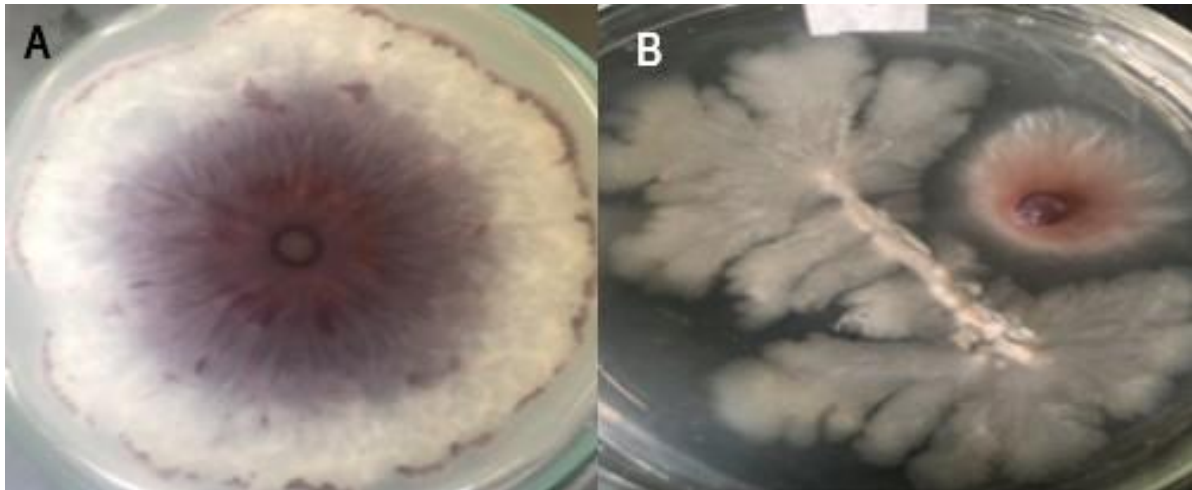
forma espaçada com rugosidades esbranquiçadas, inibindo o crescimento de *F. oxysporum* em relação a testemunha (Fig. 3).

**Tabela 3.** Diâmetro médio (cm) do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* CML2878 e a porcentagem de inibição do crescimento micelial (ICM) fúngico após pareamento de cultura com isolados de *Bacillus* sp. aos 3, 6 e 9 dias de incubação.

Código	Identificação	3º dia		6º dia		9º dia	
		Diâmetro (cm)	ICM (%)	Diâmetro (cm)	ICM (%)	Diâmetro (cm)	ICM (%)
UFMG/PBC7	<i>Bacillus</i> sp.	1,60 b	42	3,00 a	58	3,26 a	61
UFMG/BIO11	<i>B. subtilis</i>	1,45 b	33	3,56 b	50	3,56 a	58
UFMG/BIO1	-	1,40 b	39	3,28 a	54	3,58 a	58
UFMG/BIO13	<i>Bacillus</i> sp.	1,61 b	40	3,66 b	49	3,67 a	56
UFMG/BIO15	<i>Bacillus</i> sp.	2,30 d	34	3,72 b	48	3,80 a	55
UFMG/BIO14	<i>B. subtilis</i>	2,10 d	42	3,71 b	48	3,88 a	54
UFMG/PBC5	<i>R. hoagii</i>	1,42 b	39	3,95 b	45	4,43 b	47
UFMG/PBG4	-	1,95 c	34	4,75 c	33	6,33 c	25
UFMG/PBG10	-	2,25 d	31	4,72 c	34	6,65 c	21
UFMG/PBC12	-	0,70 a	39	4,77 c	33	6,67 c	21
UFMG/PBG8	-	1,88 c	41	5,83 f	18	6,86 d	19
UFMG/PBG6	-	1,73 c	25	5,32 d	25	6,93 d	18
UFMG/PBC6	<i>B. cereus</i>	1,90 c	34	5,16 d	28	7,08 d	16
UFMG/BIO6	-	2,71 e	25	5,85 f	18	7,20 e	15
UFMG/PBC3	-	2,48 d	28	5,52 e	23	7,25 e	14
UFMG/PBC8	<i>B. cereus</i>	2,33 d	24	5,20 d	27	7,27 e	14
UFMG/PBG5	-	2,07 d	25	5,61 e	21	7,28 e	14
UFMG/PBG1	-	2,18 d	24	5,62 e	21	7,31 e	13
UFMG/PBG7	-	1,87 c	18	4,65 c	35	7,37 e	13
UFMG/PBC4	<i>Bacillus</i> sp.	2,25 d	21	5,61 e	21	7,38 e	12
UFMG/BIO2	-	2,47 d	13	6,25 g	12	7,47 e	11
UFMG/PBC10	-	2,18 d	30	5,40 d	24	7,47 e	11
UFMG/PBC11	-	2,53 e	29	5,13 d	48	7,48 e	11
UFMG/PBC9	-	2,67 e	22	5,92 f	17	7,51 e	11
UFMG/PBC1	-	2,95 e	26	5,37 d	25	7,55 e	10
UFMG/BIO5	-	2,45 d	15	5,83 e	18	7,60 f	10
UFMG/BIO8	<i>Bacillus</i> sp.	2,91 e	27	5,61 e	21	7,63 f	9
UFMG/PBC2	-	2,85 e	18	5,73 e	20	7,65 f	9
UFMG/BIO3	-	2,46 d	19	5,96 f	17	7,66 f	9
UFMG/BIO12	-	2,55 e	28	5,57 e	22	7,67 f	9
UFMG/BIO7	-	2,57 e	21	5,87 f	18	7,72 f	8
UFMG/BIO16	<i>Bacillus</i> sp.	2,68 e	25	5,56 e	22	7,77 f	8
UFMG/BIO9	-	2,92 e	25	5,88 e	18	7,86 f	7
UFMG/BIO17	<i>Bacillus</i> sp.	3,43 f	18	6,31 g	12	7,92 f	6

UFMG/PBG9	<i>Bacillus</i> sp.	1,60 b	15	6,08 f	15	7,93 f	6
UFMG/BIO4	-		19	6,52 g	9	7,98 f	5
UFMG/BIO10	-		29	6,15 g	14	8,00 f	5
Testemunha	<i>F. oxysporum</i>		-	7,14 h		8,42 g	-
<b>CV (%)</b>		<b>9,13</b>		<b>5,78</b>		<b>4,81</b>	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não se diferem significativamente pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott, a 5% de probabilidade.



**Fig. 3.** Cultura pareada aos 9 dias após incubação **A-** *Fusarium oxysporum* CML2878 cultivado em meio BDA (testemunha). **B-** *Bacillus subtilis* (isolado UFMG/BIO14), pareamento com *F. oxysporum* CML2878.

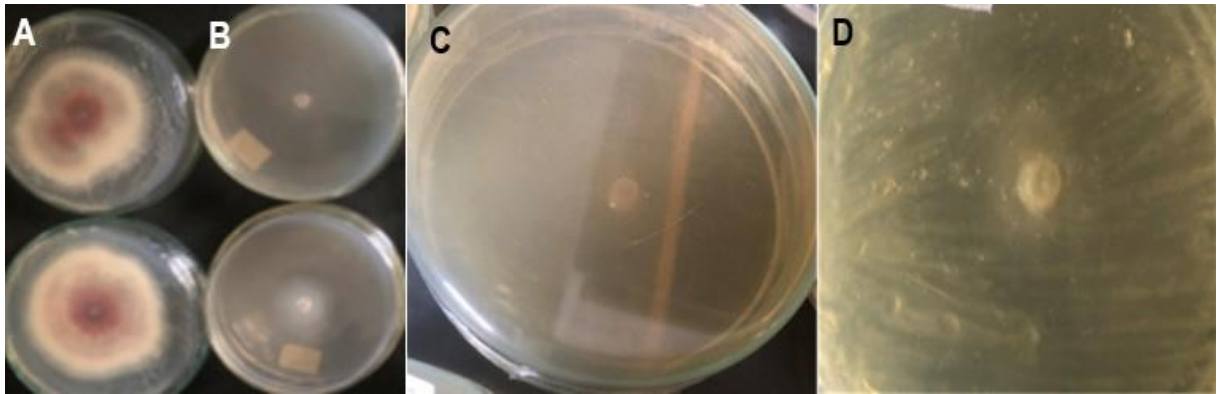
No estudo de COVs, o diâmetro do crescimento micelial de *F. oxysporum* e a porcentagem de ICM foram variáveis entre os isolados e o tempo de avaliação (Tabela 4). No 3º dia de avaliação o isolado UFMG/PBG1 causou maior redução significativa no diâmetro do crescimento micelial de *F. oxysporum*, seguido por *Bacillus* sp. (isolados UFMG/BIO9), *Bacillus* sp. (isolado UFMG/BIO16), *Bacillus* sp. (isolado UFMG/BIO8) e *Bacillus* sp. (isolado UFMG/BIO17), em comparação com a testemunha (Tabela 4). No 3º dia de avaliação, o isolado UFMG/PBG1 causou maior ICM (80%), enquanto no 6º dia os *Bacillus* sp., isolados UFMG/BIO9, UFMG/BIO17, UFMG/BIO16 e UFMG/BIO8 proporcionaram ICM de *F. oxysporum* de 63, 64, 71 e 73%, respectivamente. No 9º dia, ICM de *F. oxysporum* acima de 50% ocorreu com *Bacillus* sp. (isolados UFMG/BIO15, UFMG/BIO13, UFMG/PBG9, UFMG/BIO17, UFMG/BIO16, UFMG/BIO9), *B. subtilis* (UFMG/BIO14), *B. cereus* (UFMG/BIO8) e os isolados UFMG/BIO2, UFMG/BIO7, UFMG/PBG1 e UFMG/BIO1. *Bacillus* sp. (isolado UFMG/BIO9) causou maior ICM (74%) de *F. oxysporum* no experimento de COVs no último dia de avaliação. O

isolado UFMG/BIO1 e o *Bacillus* sp. (isolado UFMG/PBG9) proporcionaram ICM de *F. oxysporum* de 62 a 67% no 9º dia, com crescimento micelial “pinotal” evidente, raleado, do fungo sobre o meio de cultura (Fig. 4).

**Tabela 4.** Diâmetro médio (cm) do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* CML2878 e a porcentagem de inibição do crescimento micelial (ICM) fúngico por compostos orgânicos voláteis de isolados de *Bacillus* sp. aos 3, 6 e 9 dias de incubação.

Código	Identificação	3º dia		6º dia		9º dia	
		Diâmetro (cm)	ICM (%)	Diâmetro (cm)	ICM (%)	Diâmetro (cm)	ICM (%)
UFMG/BIO9	<i>Bacillus</i> sp.	1,60 b	53	2,12 a	63	2,12 a	74
UFMG/BIO16	<i>Bacillus</i> sp.	1,45 b	58	1,62 a	71	2,35 a	71
UFMG/BIO8	<i>Bacillus</i> sp.	1,40 b	59	1,50 a	73	2,43 a	70
UFMG/BIO17	<i>Bacillus</i> sp.	1,61 b	53	2,05 a	64	2,45 a	69
UFMG/PBG9	<i>Bacillus</i> sp.	2,30 d	33	2,68 b	53	2,62 a	67
UFMG/BIO13	<i>Bacillus</i> sp.	2,10 d	39	2,68 b	53	2,78 a	65
UFMG/BIO14	<i>B. subtilis</i>	1,42 b	59	2,82 b	50	3,06 a	62
UFMG/BIO1	-	1,95 c	43	3,07 b	46	3,07 a	62
UFMG/BIO15	<i>Bacillus</i> sp.	2,25 d	34	2,90 b	49	3,42 a	57
UFMG/PBG1	-	0,70 a	80	3,00 b	47	3,45 a	57
UFMG/BIO7	-	1,88 c	45	2,87 b	49	3,76 a	53
UFMG/BIO2	-	1,73 c	50	2,80 b	51	4,00 a	50
UFMG/PBC4	<i>Bacillus</i> sp.	1,90 c	45	2,62 b	54	4,10 b	49
UFMG/BIO4	-	2,71 e	21	4,20 c	26	4,26 b	47
UFMG/PBC12	-	2,48 d	28	4,16 c	27	4,27 b	47
UFMG/BIO11	<i>B. subtilis</i>	2,33 d	32	3,62 b	36	4,31 b	46
UFMG/BIO3	-	2,07 d	40	3,56 b	37	4,45 b	44
UFMG/PBC10	-	2,18 d	36	3,73 c	34	4,66 b	42
UFMG/BIO6	-	1,87 c	45	3,10 b	45	4,68 b	42
UFMG/PBC7	<i>Bacillus</i> sp.	2,25 d	34	3,47 b	39	4,72 b	41
UFMG/PBC5	<i>R. hoagii</i>	2,47 d	28	3,56 b	37	4,77 b	40
UFMG/BIO12	-	2,18 d	36	3,42 b	40	5,00 b	38
UFMG/PBC9	-	2,53 e	26	3,82 c	33	5,35 c	33
UFMG/BIO10	-	2,67 e	22	4,20 c	26	5,38 c	33
UFMG/PBG4	-	2,95 e	14	4,56 d	19	5,41 c	32
UFMG/PBC6	<i>B. cereus</i>	2,45 d	29	3,65 b	36	5,43 c	32
UFMG/PBC2	-	2,91 e	15	4,20 c	26	5,50 c	31
UFMG/PBG2	-	2,85 e	17	4,50 d	20	5,60 c	30
UFMG/PBG8	-	2,46 d	28	4,51 d	20	5,62 c	30
UFMG/PBC11	-	2,55 e	26	4,00 c	29	5,63 c	30
UFMG/PBC8	<i>B. cereus</i>	2,57 e	25	4,65 d	18	5,78 c	28
UFMG/PBG5	-	2,68 e	22	4,42 c	22	5,87 c	27
UFMG/PBG10	-	2,92 e	15	4,80 e	15	6,92 d	14
Testemunha	<i>F. oxysporum</i>	3,43 f	-	5,66 f	-	8,00 e	-

CV (%)	14,3	19,8	22,0
Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não se diferem significativamente pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott, a 5% de probabilidade.			



**Fig. 4.** Compostos orgânicos voláteis aos 9 dias de incubação. **A-** *Fusarium oxysporum* CML2878 cultivado em meio BDA (testemunhas). **B-** Placa cultivada com um disco de *F. oxysporum* e na outra com *Bacillus* sp. (isolado UFMG/PBG9) **C-** Detalhe da placa cultivada com *F. oxysporum* e o isolado UFMG/PBG9. **D-** Placa cultivada com um disco de *F. oxysporum* e na outra com o isolado UFMG/BIO1.

## 5. Discussão

O esterco de vaca é o resíduo não digerido de matéria vegetal que passou pelo trato digestivo do animal e inclui água (80%), resíduos não digeridos (14,4%) e microrganismos (5,6%) (Behara; Ray, 2021). No esterco de vaca existe uma rica diversidade microbiana, incluindo cerca de 60 espécies de bactérias (*Bacillus* sp., *Lactobacillus* spp., *Corynebacterium* spp.), fungos como *Trichoderma*, 100 espécies de protozoários e leveduras (*Saccharomyces* e *Candida*) e actinomicetos (Behara; Ray, 2021; Bhatt; Maheswari, 2019; Gupta et al., 2016). De fato, nesse trabalho foi possível observar várias colônias bacterianas com aspectos de *Bacillus* sp. isoladas do biofertilizante e dos preparados biodinâmicos do esterco de vaca. Além disso, dos 14 isolados identificados pela técnica de espectrometria de massa (Maldi-tof) nove isolados foram do gênero *Bacillus* sp. (UFMG/PBG9, UFMG/PBC4, UFMG/PBC7, UFMG/BIO8, UFMG/BIO9, UFMG/BIO13, UFMG/BIO15, UFMG/BIO16, UFMG/BIO17), sendo duas espécies uma de *B. subtilis* (UFMG/BIO11, UFMG/BIO14) e outra de *B. cereus* (UFMG/PBC6, UFMG/PBC8) e uma espécie de actinomiceto, *R. hoagii*.

Os isolados de *Bacillus* que causaram maior porcentagem de ICM de *F. oxysporum* foram provenientes do biofertilizante, com ICM variando entre 70 a 88% no experimento de antagonismo, 54 a 58% no experimento de pareamento de cultura, e 50 a 74% no experimento de COVs. Apenas quatro isolados do preparado biodinâmico foram promissores na ICM de *F. oxysporum*, sendo dois do PB500, UFMG/PBC8 com ICM de 67% e UFMG/PBC6 com ICM de 70%, e dois do PBG500, UFMG/PBG1 com ICM de 50% e UFMG/PBG9 com ICM de 67%. Ao que tudo indica a fermentação líquida do esterco de vaca permitiu maior preservação e/ou multiplicação de *Bacillus* em relação ao esterco submetido a fermentação com menor quantidade de água livre, ou seja, no preparado biodinâmico. Preparados biodinâmicos possuem densidade microbiana e bacteriana que variam entre  $2,3 \times 10^8$  UFC/g e  $3,4 \times 10^6$  UFC/g, respectivamente (Giannattasio et al., 2013; Pathak et al., 2010). A origem do esterco de vaca e o processo de obtenção dos produtos biofermentados podem interferir na seleção de isolados de *Bacillus* promissores no biocontrole. Como os *Bacillus* são habitantes do solo, a aplicação ou incorporação de produtos à base de esterco animal aumenta a multiplicação de *Bacillus* significativamente em comparação com meio solo (Baryakabona et al., 2024), aumentando a eficiência do biocontrole. Garg et al. (2004) e Ram et al. (2007) relataram aumento na população microbiana da rizosfera de solos de campo e pomar de goiabeira, mamoeiro, feijoeiro (*Vigna munga*) após a aplicação de preparações biodinâmicas.

*Bacillus* são conhecidamente usados no biocontrole de doenças por inibir o crescimento fúngico por produzir substâncias antimicrobianas (fengicina, iturina, bacilomicina, substâncias não peptídicas como fosfolipídios, policetídeos e aminoaçúcares), compostos antibióticos (tetrapeptídeos cíclicos), competição direta e liberação de enzimas hidrolíticas como 1,3-glucanases e quitinases (Abdelmoteleb et al., 2023; Hong et al., 2022; Jimenez-Quiros et al., 2022; Saravanan et al., 2021). Em nosso trabalho observamos que os isolados que proporcionaram maior porcentagem de inibição do crescimento micelial de *F. oxysporum* no experimento de antagonismo direto (isolados de *Bacillus*-UFMG/BIO13, UFMG/BIO15, UFMG/BIO1, espécies de *B. subtilis* e *B. cereus*) e pareamento de cultura (UFMG/BIO1, isolados de *Bacillus*-UFMG/PBC7, UFMG/BIO13, UFMG/BIO15, e *B. subtilis*-UFMG/BIO11) apresentaram comportamento similar no 9º dia de avaliação, porém no experimento de

antagonismo direto houve maior porcentagem de inibição do crescimento micelial de *F. oxysporum*. Esse comportamento pode ser explicado em parte pela qualidade e/ou quantidade dos compostos produzidos pelos isolados com atividade antifúngica. Substâncias como surfactina, fengicina e peptídeos antimicrobianos aumentam a permeabilidade da membrana plasmática das células hifas de *F. moniliforme*, inibindo seu crescimento, fazendo com que as hifas pareçam vacuoladas (Abdelmoteleb et al., 2023; Liu et al., 2023). Carrillo et al. (2003) relataram que a surfactina pode desidratar e interagir com as cadeias acil fosfolipídicas, resultando em considerável fluidização da membrana. Em outro estudo, Liu et al. (2023) mostraram que a surfactina produzida por *B. subtilis* SF1 alterou a permeabilização da membrana das células de *F. foetens*, induzindo morfologia micelial anormal e lise celular.

Por outro lado, no experimento de antagonismo o fato do disco com micélio de *F. oxysporum* ter sido colocado em contato direto com a bactéria no meio de cultura permitiu ação das propriedades antifúngicas atuarem já no início do crescimento micelial do fungo. Liu et al. (2023) estudaram o potencial de *B. subtilis* SF1 em controlar a murcha da batata induzida por *F. foetens*, e verificaram que *B. subtilis* SF1 causou inibição de 52,5% do crescimento micelial fúngico *in vitro* e uma redução significativa na taxa de incidência de 45,56% *in vivo*. Vaish et al. (2021) isolaram 68 bactérias de preparado biodinâmico, incluindo *B. licheniformis*, *B. subtilis* e *B. safensis*, e verificaram que 10 isolados apresentaram atividade contra *F. solani*, sendo *B. safensis* o mais eficaz e *B. licheniformis* expressou alta atividade de pectinase, celulase e amilase. Rupela et al. (2003) isolaram 17 isolados bacteriano de preparados biodinâmicos e demonstraram atividade antagonista contra *F. solani*.

Ferreira et al. (2021) estudaram onze isolados de *Bacillus* em inibir o crescimento micelial de *F. verticillioides* e na promoção de crescimento de milho, e verificaram que *B. velezensis* AP- 03 e *Bacillus* sp. AP-210, não somente inibiram o crescimento micelial *in vitro* e a germinação de esporos, mas também promoveram o crescimento das plantas e controlaram *F. verticillioides* em sementes de milho em condições de casa de vegetação.

Vários COVs são produzidos por espécies de *Bacillus* como ácidos orgânicos de cadeia curta, alcenos, álcoois, cetonas, benzenoides, pirazinas, sulfetos, terpenos e composto halogenados (Grahovac et al., 2023; Kai, 2020; Santos et al., 2022) como principais COVs antagonistas responsáveis pela inibição do crescimento

micelial fúngico e com atividade nematicida (Diyapoglu et al., 2022; Gu et al., 2007; Ji et al., 2024). Embora no experimento de antagonismo direto houve maior porcentagem de inibição do crescimento de *F. oxysporum* com os isolados bacterianos, observamos maior quantidade de isolados com potencial de produzirem substâncias orgânicas voláteis. Os isolados de *Bacillus* sp. (UFMG/BIO13, UFMG/BIO15) e *B. subtilis* (UFMG/BIO14) proporcionaram redução significativa no diâmetro do crescimento micelial de *F. oxysporum* demonstrando que esses isolados e *B. subtilis* podem produzir mais de um tipo composto com atividade antifúngica, ou seja, produção de substância(s) que atuam diretamente na hifa e na produção de substância(s) voláteis. Segundo Saravanan et al. (2021), espécies de *Bacillus* podem liberar substâncias antimicrobianas de tipo volátil e não volátil, contribuindo para a redução de doenças de plantas. Jimenez-Quiros et al. (2022) verificaram que várias espécies de *Bacillus* têm a capacidade de liberar voláteis que deterioram as hifas de *F. oxysporum*. Yu et al. (2011) relataram que *B. subtilis* CAS15 mostrou atividade de amplo espectro contra *F. oxysporum*, produzindo vários antibióticos e levando à redução da incidência e o aumento do crescimento e dos parâmetros das plantas de pimentão.

A espécie *R. hoagii* (Sin.: *R. equi*), embora tenha causado ICM de *F. oxysporum* de 40 e 47% nos experimentos de COVs e pareamento de cultura, respectivamente, é uma bactéria gram positiva pertencente a ordem Actinomycetae e que pode ser encontrada em esterco de animais e causar infecção em animais e humanos (Campana et al., 2020). *Rhodococcus hoagii* é uma bactéria intracelular facultativa que causa pneumonia supurativa e enterite ulcerativa em potros de 1 a 3 meses de idade (Giguère; Prescott, 1997). Portanto, a identificação e o conhecimento de bactérias que podem infectar e causar doenças em animais e humanos devem ser descartados em estudos de controle biológico. Vale lembrar que é de suma importância que os pesquisadores utilizem equipamentos de proteção individual no manuseio e estudos dos agentes de biocontrole.

O esterco é usado como fertilizante orgânico, sendo rico em fibra bruta, proteína bruta, nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), ferro (Fe), enxofre (S), magnésio (Mg), cálcio (Ca), cobalto (Co), manganês (Mn), cloro (Cl) (Garg; Mudgal, 2007; Randhawa; Kullar, 2011). Portanto, os biofertilizantes e preparados biodinâmicos a base de esterco de vaca podem contribuir tanto como fonte de nutrientes como no biocontrole de doenças de patógenos de solo. De fato, espécies

de *Bacillus* tem sido relatada na proteção de plantas por produzir composto antifúngicos, formar biofilme, promover o crescimento de plantas e indução de resistência sistêmica induzida de plantas contra *Fusarium* e fitonematoides (Ali et al., 2024; Iqbal et al., 2024; Khan et al., 2018; Liu et al., 2023; Newton et al., 2020; Rocha et al., 2022; Selari et al., 2023).

A preferência pelo uso de *Bacillus* sp. na formulação de produtos biológicos está relacionada a vários fatores, tais como: são organismos bem estudados, o que facilita seu uso racional; produzem esporos, que são formas dormentes extremamente resistentes, capazes de suportar altas temperaturas, pH desfavorável, falta de nutrientes ou água; também são relativamente fáceis de produzir industrialmente, pois não são particularmente exigentes quanto a fontes nutricionais (Rocha et al., 2022). O uso de *Bacillus* são atualmente comercializadas como biopesticidas contra fitonematoide (Subedi et al., 2020; Rocha et al., 2022). O sequenciamento do genoma completo do *Bacillus firmus* I-1582, usado mundialmente como nematicida para tratamento de sementes (Poncho®/Votivo®), revelou uma ampla gama de possíveis fatores de virulência no genoma bacteriano, incluindo 18 proteases homólogas virulentas de nematoides e 28 metabólitos secundários, projetados para codificar antibióticos, pequenos peptídeos, toxinas e sideróforos (Susic et al., 2020). A importância das aplicações de biofertilizantes e/ou esterco como fonte matéria orgânica na agricultura tropical no contexto das mudanças climáticas, bem como os avanços em genômica e proteômica da microflora para rendimento aprimorado de enzimas, ácidos orgânicos, combustíveis alternativos (biometano e biohidrogênio) e outras biocommodities receberam atenção relevante nos últimos anos. Em nosso trabalho demonstramos o potencial dos isolados de *Bacillus* provenientes de biofertilizantes e preparado biodinâmico no biocontrole de *F. oxysporum* do grão-de-bico, necessitando, portanto, de estudos futuros em relação aos compostos produzidos, formulação de produto, forma de aplicação e dose em condições de campo.

## 6. Conclusões

Os produtos biofermentados a base de esterco (biofertilizante e preparados biodinâmicos) possibilitaram 40 isolados bacterianos.

Os isolados obtidos do biofertilizante foram mais eficientes na ICM de *F. oxysporum* CML2878 em relação aos obtidos dos preparados biodinâmicos;

Os isolados apresentaram comportamento de inibição do crescimento micelial de *F. oxysporum* CML2878 variável conforme os experimentos de antagonismo direto, pareamento de cultura e compostos orgânicos voláteis;

As maiores porcentagem de ICM foram entre 57 e 88% com os isolados UFMG/BIO13 (*Bacillus* sp.), UFMG/BIO14 (*Bacillus* sp.), UFMG/BIO15 (*Bacillus* sp.) e UFMG/BIO1.

O isolado UFMG/BIO11 (*B. subtilis*) proporcionou ICM de 58 e 74% nos experimentos de antagonismo direto e pareamento de cultura, respectivamente;

Três espécies bacterianas foram identificadas por Maldi-Tof, duas espécies de *Bacillus* (*B. cereus* e *B. subtilis*), *Rhodococcus hoagii* e nove do gênero *Bacillus*.

## **Agradecimentos**

À universidade federal de Minas gerais **UFMG** e ao Instituto de Ciências Agrárias – **ICA**; ao professor **Fernando Rocha** e ao grupo de estudos em fitopatologia **GEFIT**.

Aos órgãos fomentadores; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior **CAPES** e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais **FAPEMIG**.



## Referências

Abdelmoteleb, A.; Moreno-Ramírez, L.; Valdez-Salas, B.; Seleiman, M. F.; El-Hendawy, S.; Aldhuwaib, K. J.; Alotaibi, M.; González-Mendoza, D. New *Bacillus subtilis* Strains Isolated from *Prosopis glandulosa* Rhizosphere for Suppressing *Fusarium* Spp. and Enhancing Growth of *Gossypium hirsutum* L. **Biology**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 73, 31 dez. 2023. <http://dx.doi.org/10.3390/biology12010073>.

Ali, T.; Bhagat, N.; Magotra, S.; Vakhlu, J. Plant Growth Promotion and Induction of Defense Response in *Crocus sativus* L. by Two Native *Bacillus* Species Against *Fusarium oxysporum* R1. **Journal Of Plant Growth Regulation**, [S.L.], v. 43, n. 3, p. 787-806, 20 out. 2023. <http://dx.doi.org/10.1007/s00344-023-11139-0>.

Azevedo, D. M. Q.; Rocha, F. S.; Costa, C. A.; Pfenning, L. H.; Costa, S. S.; Melo, M. P.; Silva, J. G.; Fernandes, M. F. Etiology of root and wilt disease of chickpea in Brazil. **Trop. plant pathol.**, v.42, p.273-283, 2017. <https://doi.org/10.1007/s40858-017-0145-5>

Baryakabona, S.; Ssekandi, J.; Turyagyenda, L. F. Effect of animal manure on population dynamics of indigenous soil *Bacillus* spp. **Brazilian Journal Of Science**, [S.L.], v. 3, n. 9, p. 84-94, 22 jul. 2024. <http://dx.doi.org/10.14295/bjs.v3i9.628>

Begum, N.; Khan, Q. U.; Liu, L. G.; Li, W.; Liu, D.; Haq, L. U. Nutritional composition, health benefits and bio-active compounds of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Frontiers In Nutrition**, [S.L.], v. 10, p. 1-10, 28 set. 2023. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fnut.2023.1218468>

Behera, S. S.; Ray, R. C. Bioprospecting of cowdung microflora for sustainable agricultural, biotechnological and environmental applications. **Current Research In Microbial Sciences**, [S.L.], v. 2, p. 100018, dez. 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.crmicr.2020.100018>

Bekele, D.; Tesfaye, K.; Fikre, A.; Cook, D. R. The extent and association of chickpea *Fusarium* wilt and root rot disease pressure with major biophysical factors in Ethiopia. **Journal Of Plant Pathology**, [S.L.], v. 103, n. 2, p. 409-419, 15 mar. 2021. <http://dx.doi.org/10.1007/s42161-021-00779-4>

Bhatt, K.; Maheshwari, D. K. Decoding multifarious role of cow dung bacteria in mobilization of zinc fractions along with growth promotion of *C. annuum* L. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-12, 2 out. 2019. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-50788-8>

Campana, P. S.; Martinho, L. Z. M.; Batista, M. V.; Higashino, H.; Rizek, C.; Rossi, F.; Oliveira, F. N.; Rocha, V.; Costa, S. F. *Rhodococcus hoagii* bloodstream infection in an allogeneic hematopoietic stem cell transplantation patient: case report and review of literature. **Idcases**, [S.L.], v. 20, p. 1-10, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.idcr.2020.e00724>

Carrillo, C.; Teruel, J. A.; Aranda, F. J.; Ortiz, A. Molecular mechanism of membrane permeabilization by the peptide antibiotic surfactin. **Biochimica Et Biophysica Acta**

(Bba) - **Biomembranes**, [S.L.], v. 1611, n. 1-2, p. 91-97, abr. 2003. [http://dx.doi.org/10.1016/s0005-2736\(03\)00029-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0005-2736(03)00029-4)

Diyapoglu, A.; Oner, M.; Meng, M. Application Potential of Bacterial Volatile Organic Compounds in the Control of Root-Knot Nematodes. **Molecules**, [S.L.], v. 27, n. 14, p. 4355, 7 jul. 2022. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27144355>

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. [Base de dados FAOSTAT]. Rome, 2022. <http://www.fao.org/faostat/en/#home>

Ferreira, T. C.; Lago, L.; Silva, L. G.; Pacifico, M. G.; Faria, M. R.; Bettiol, W. Potencial de *Bacillus* spp. em promover o crescimento e controlar *Fusarium verticillioides* em milho. **Summa Phytopathologica**, [S.L.], v. 47, n. 4, p. 195-203, dez. 2021. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/241384>

Garg, A. K.; Mudgal, V. Organic and mineral composition of gomeya (cow dung) from desi and crossbred cows – a comparative study. **International Journal of Cow Science**, [S.L.], v. 3, n. 1-2, p. 17–19, 2007. <https://www.researchgate.net/publication/333973106>.

Garg, N.; Ram, R. A.; Pathak, R. K.; Nagar, A. K. Effect of addition of organic fertilizer on microbial load of papaya and guava orchard soils. In: **Organic farming in horticulture**. Lucknow: ICAR-CISH, 2004.

Giannattasio, M. Microbiological Features and Bioactivity of a Fermented Manure Product (Preparation 500) Used in Biodynamic Agriculture. **Journal Of Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 23, n. 5, p. 644-651, maio 2013. <http://dx.doi.org/10.4014/jmb.1212.12004>

Giguère, S.; Prescott, J. F. Clinical manifestations, diagnosis, treatment, and prevention of *Rhodococcus equi* infections in foals. **Veterinary Microbiology**, [S.L.], v. 56, n. 3-4, p. 313-334, jun. 1997. [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-1135\(97\)00099-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-1135(97)00099-0)

Grahovac, J.; Pajčin, I.; Vlajkov, V. *Bacillus* VOCs in the Context of Biological Control. **Antibiotics**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 581, 15 mar. 2023. <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics12030581>

Gu, Y.; Mo, M.; Zhou, J.; Zou, C.; Zhang, K. Evaluation and identification of potential organic nematicidal volatiles from soil bacteria. **Soil Biology And Biochemistry**, [S.L.], v. 39, n. 10, p. 2567-2575, out. 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.05.011>

Gupta, K. K.; Aneja, K. R.; Rana, D. Current status of cow dung as a bioresource for sustainable development. **Bioresources And Bioprocessing**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 1-10, 1 jun. 2016. <http://dx.doi.org/10.1186/s40643-016-0105-9>

Hamida, D.; Gowda, V. T; Kundu, A.; Kaur, R.; Bag, T. K. Effect of culture filtrate containing fusaric acid of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on defence enzymes in chickpea. **Indian Phytopathology**, [S.L.], v. 77, n. 1, p. 61-69, 2 jan. 2024. <http://dx.doi.org/10.1007/s42360-023-00702-0>

Hong, S.; Kim, T. Y.; Won, S.; Moon, J.; Ajuna, H. B.; Kim, K. Y.; Ahn, Y. S. Control of Fungal Diseases and Fruit Yield Improvement of Strawberry Using *Bacillus velezensis* CE 100. **Microorganisms**, [S.L.], v. 10, n. 2, p. 365, 4 fev. 2022. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms10020365>

Iqbal, O.; Syed, R. N.; Rajput, N. A.; Wang, Y.; Lodhi, A. M.; Khan, R.; Jibril, S. M.; Atiq, M.; Li, C. Antagonistic activity of two *Bacillus* strains against *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (FOC-1) causing Fusarium wilt and growth promotion activity of chili plant. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 15, p. 1-12, 27 maio 2024. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2024.1388439>

Ji, X.; Fan, M.; Wang, D.; Zhang, S.; Zhang, S.; Liu, Y.; Qiao, K. Volatile organic compounds (VOCs) of *Bacillus velezensis* TA-1 exhibit toxic effects against *Meloidogyne incognita*. **Journal Of Pest Science**, [S.L.], p. 1-12, 12 ago. 2024. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10340-024-01815-9>

Jimenez-Quiros, C.; Okechukwu, E. C.; Hong, Y.; Baysal, Ö.; Tör, M. Comparison of Antifungal Activity of *Bacillus* Strains against *Fusarium graminearum* In Vitro and In Planta. **Plants**, [S.L.], v. 11, n. 15, p. 1999, 31 jul. 2022. <http://dx.doi.org/10.3390/plants11151999>

Kai, M. Diversity and Distribution of Volatile Secondary Metabolites Throughout *Bacillus subtilis* Isolates. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 11, p. 2-7, 8 abr. 2020. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2020.00559>

Khan, N.; Martínez-Hidalgo, P.; Ice, T. A.; Maymon, M.; Humm, E. A.; Nejat, N.; Sanders, E. R.; Kaplan, D.; Hirsch, A. M. Antifungal Activity of *Bacillus* Species Against *Fusarium* and Analysis of the Potential Mechanisms Used in Biocontrol. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 9, p. 17-27, 2 out. 2018. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.02363>

Liu, L.; Jin, X.; Lu, X.; Guo, L.; Lu, P.; Yu, H.; Lv, B.. Mechanisms of Surfactin from *Bacillus subtilis* SF1 against *Fusarium foetens*: a novel pathogen inducing potato wilt. **Journal Of Fungi**, [S.L.], v. 9, n. 3, p. 367, 17 mar. 2023. <http://dx.doi.org/10.3390/jof9030367>

Magotra, S.; Bhagat, N.; Ambardar, S.; Ali, T.; Hurek, B. R.; Hurek, T.; Verma, P. K.; Vakhlu, J. Field evaluation of PGP *Bacillus* sp. strain D5 native to *Crocus sativus*, in traditional and non traditional areas, and mining of PGP genes from its genome. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 1-29, 9 mar. 2021. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-84585-z>

Maitlo, S. A.; Rajput, N. A.; Syed, R. N.; Khanzada, M. A.; Rajput, A. Q.; Lodhi, A. M. Microbial control of Fusarium wilt of chickpea caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. **Pakistan Journal Of Botany**, [S.L.], v. 51, n. 6, p. 1-14, 24 jun. 2019. [http://dx.doi.org/10.30848/pjb2019-6\(23\)](http://dx.doi.org/10.30848/pjb2019-6(23))

Marteau-Bazouni, M.; Jeuffroy, M.; Guilpart, N. Grain legume response to future climate and adaptation strategies in Europe: a review of simulation

studies. **European Journal Of Agronomy**, [S.L.], v. 153, p. 127056, fev. 2024. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eja.2023.127056>

Mbong, G. A.; Nde, T. C.; Manju, E. B.; Kinge, T. R.; Foncha, F.; Mbong, S. E. Inhibitory Activities of Sole Cow Urine and Combined Cow Dung/Cow Urine against the Blight Disease of Ribwort (*Plantago lanceolata*) at the Cistercian Monastery in Mbengwi, Cameroon. **Agricultural Sciences**, [S.L.], v. 12, n. 11, p. 1307-1320, 2021. Scientific Research Publishing, Inc.. <http://dx.doi.org/10.4236/as.2021.1211084>

Merga, B.; Haji, J. Economic importance of chickpea: production, value, and world trade. **Cogent Food & Agriculture**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 1615718, 1 jan. 2019. <http://dx.doi.org/10.1080/23311932.2019.1615718>

Meshram, S.; Patel, J. S.; Yadav, S. K.; Kumar, G.; Singh, D. P.; Singh, H. B.; Sarma, B. K.. Trichoderma mediate early and enhanced lignifications in chickpea during Fusarium oxysporum f. sp. ciceris infection. **Journal Of Basic Microbiology**, [S.L.], v. 59, n. 1, p. 74-86, 3 out. 2018. <http://dx.doi.org/10.1002/jobm.201800212>

Monnerat, R.; Montalvão, S. C. L.; Martins, E. S.; Queiroz, P. R. M.; Silva, E. Y. Y.; Garcia, A. R. M.; Castro, M. T.; Rocha, G. T.; Ferreira, A. D. C. L.; Gomes, A. C. M. **Manual de produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de bactérias do gênero Bacillus para uso na agricultura**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2020. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1122563>

Newton, R.; Amstutz, J.; Patrick, J. E. Biofilm formation by *Bacillus subtilis* is altered in the presence of pesticides. **Access Microbiology**, [S.L.], v. 2, n. 12, p. 1-13, 1 dez. 2020. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/acmi.0.000175>

Pathak, R. K.; Ram, R. A.; Garg, N.; Kishun, R.; Bhriguvanshi, S. R.; Sharma, S. Critical review of indigenous technologies for organic farming in horticultural crops. **Organic Farming Newsletter**, v. 6, n. 2, p. 3-16, 2010. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/265560696\\_Critical\\_review\\_of\\_indigenous\\_technologies\\_for\\_organic\\_farming\\_in\\_horticultural\\_crops](https://www.researchgate.net/publication/265560696_Critical_review_of_indigenous_technologies_for_organic_farming_in_horticultural_crops)

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2016. <https://www.R-project.org/>

Radha, T. K.; Rao, D. L. N. Plant Growth Promoting Bacteria from Cow Dung Based Biodynamic Preparations. **Indian Journal Of Microbiology**, [S.L.], v. 54, n. 4, p. 413-418, 14 maio 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12088-014-0468-6>

Ram, R. A.; Bhriguvanshi, S. R.; Garg, N.; Pathak, R. K. Studies on organic production of guava (*psidium guajava* L.) Cv. Allahabad safeda. **Acta Horticulturae**, [S.L.], n. 735, p. 373-379, mar. 2007. <http://dx.doi.org/10.17660/actahortic.2007.735.53>

Randhawa, G. K.; Kullar, J. S. Bioremediation of Pharmaceuticals, Pesticides, and Petrochemicals with Gomeya/Cow Dung. **Isrn Pharmacology**, [S.L.], v. 2011, p. 1-7, 26 abr. 2011. <http://dx.doi.org/10.5402/2011/362459>

Rathod, K.; Rana, S.; Dhandhukia, P.; Thakker, J. N. Marine Bacillus as a potent biocontrol agent against Fusarium oxysporum f.sp. ciceris. **Plant Stress**, [S.L.], v. 10, p. 100289, dez. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.stress.2023.100289>

Rocha, F. S.; Campos, V. P.; Muniz, M. F. S.; Terra, W. C. Field applications of bacteria for plant-parasitic nematodes management. In: ASKARY, T. H. (ed.). **Pest management methods, applications and challenges**. New York: Nova Science Publishers, 2022. p. 235–277.

Rocha, F.S.; Sharma, M.; Tarafdar, A.; Chen, W.; Azevedo, D. M.; Castillo, P; Costa, C. A.; Chobe, D. R. Doenças do grão-de-bico. In: **Manual de doenças de vegetais e ervas**. Cham: Springer International Publishing. 2023.

Rupela, O. P.; Gopalakrishnan, S.; Krajewski, M.; Sriveni, M. A novel method for the identification and enumeration of microorganisms with potential for suppressing fungal plant pathogens. **Biology And Fertility Of Soils**, [S.L.], v. 39, n. 2, p. 131-134, 1 dez. 2003. <http://dx.doi.org/10.1007/s00374-003-0680-8>

Santos, J. E. Á.; Brito, M. V.; Pimenta, A. T. Á.; Silva, G. S.; Zocolo, G. J.; Muniz, C. R.; Medeiros, S. C.; Grangeiro, T. B.; Lima, M. A. S.; Silva, C. F. B. Antagonism of volatile organic compounds of the Bacillus sp. against Fusarium kalimantanense. **World Journal Of Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 39, n. 2, p. 1-10, 27 dez. 2022. <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-022-03509-9>.

Saravanan, R.; Nakkeeran, S; Saranya, N; Senthilraja, C; Renukadevi, P; Krishnamoorthy, A. S.; Enshasy, H. A. E.; El-Adawi, H.; Malathi, V. G.; Salmen, S. H. Mining the Genome of Bacillus velezensis VB7 (CP047587) for MAMP Genes and Non-Ribosomal Peptide Synthetase Gene Clusters Conferring Antiviral and Antifungal Activity. **Microorganisms**, [S.L.], v. 9, n. 12, p. 2511, 3 dez. 2021. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms9122511>

Selari, P. J. R. G.; Tsui, S.; Almeida, T. T.; Olchanheski, L. R.; Dourado, M. N. Biological control of phytopathogenic fungi: mechanisms and potentials. In: Jeschke, P.; Starikov, E. B. (ed.). **Agricultural biocatalysis: biological and chemical applications**. New York: Jenny Stanford Publishing, 2023.

Silva, S. F.; Dias, J. M. C. S.; Monnerat, R. G. Comparação entre três métodos de isolamento de bacilos entomopatogênicos. **Circular Técnica**, n. 14, Brasília: Embrapa, 2002. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/184358/1/ct014.pdf>

Singh, R. K.; Singh, P.; Li, H.; Song, Q.; Guo, D.; Solanki, M. K.; Verma, K. K.; Malviya, M. K.; Song, X.; Lakshmanan, P. Diversity of nitrogen-fixing rhizobacteria associated with sugarcane: a comprehensive study of plant-microbe interactions for growth enhancement in saccharum spp. **Bmc Plant Biology**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 1-10, 18 maio 2020. <http://dx.doi.org/10.1186/s12870-020-02400-9>

Singh, S.; Sharma, L.; Singh, R. K.; Rajput, V. D.; Sushkova, S.; Minkina, T.; Verma, K. K. Bacillus-based biocontrol: practical applications for sustainable agriculture. In: Pandey, V.; Pankaj, U. (ed.). **Microbial based land restoration handbook**. v. 2. Boca Raton: CRC Press, 2022. p. 161–176. 10.1201/9781003147077

Subedi, P.; Gattoni, K.; Liu, W.; Lawrence, K. S.; Park, S. Current Utility of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria as Biological Control Agents towards Plant-Parasitic Nematodes. **Plants**, [S.L.], v. 9, n. 9, p. 1167, 9 set. 2020. <http://dx.doi.org/10.3390/plants9091167>

Sunkad, G.; Deepa, H.; Shruthi, T. H.; Singh, D. Chickpea wilt: status, diagnostics and management. **Indian Phytopathology**, [S.L.], v. 72, n. 4, p. 619-627, 7 ago. 2019. <http://dx.doi.org/10.1007/s42360-019-00154-5>

Susič, N.; Janežič, S.; Rupnik, M.; Stare, B. G. Whole Genome Sequencing and Comparative Genomics of Two Nematicidal Bacillus Strains Reveals a Wide Range of Possible Virulence Factors. **G3 Genes|Genomes|Genetics**, [S.L.], v. 10, n. 3, p. 881-890, 1 mar. 2020. <http://dx.doi.org/10.1534/g3.119.400716>.

Vaish, S.; Garg, N.; Ahmad, I. Z. Bioprospecting of microbial isolates from biodynamic preparations for PGPR and biocontrol properties. **Journal of Environmental Biology**, Lucknow, v. 42, n. 3, p. 644–651, maio 2021. [10.22438/jeb/42/3/MRN-1529](https://doi.org/10.22438/jeb/42/3/MRN-1529).

Venkataramanamma, K.; Reddy, B. V. B.; Jayalakshmi, R. S.; Jayalakshmi, V.; Prasad, K. V.H. Integrated disease management of Fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*) of chickpea. **Indian Phytopathology**, [S.L.], v. 76, n. 2, p. 497-509, 24 abr. 2023. <http://dx.doi.org/10.1007/s42360-023-00625-w>.

Wang, C.; Wang, Y.; Wang, L.; Fan, W.; Zhang, X.; Chen, X.; Wang, M.; Wang, J. Biocontrol potential of volatile organic compounds from *Pseudomonas chlororaphis* ZL3 against postharvest gray mold caused by *Botrytis cinerea* on Chinese cherry. **Biological Control**, [S.L.], v. 159, p. 104613, ago. 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104613>.

Yadav, R. K.; Tripathi, M. K.; Tiwari, S.; Tripathi, N.; Asati, R.; Patel, V.; Sikarwar, R. S.; Payasi, D. K. Breeding and Genomic Approaches towards Development of Fusarium Wilt Resistance in Chickpea. **Life**, [S.L.], v. 13, n. 4, p. 988, 11 abr. 2023. <http://dx.doi.org/10.3390/life13040988>.

Yu, X.; Ai, C.; Xin, L.; Zhou, G. The siderophore-producing bacterium, *Bacillus subtilis* CAS15, has a biocontrol effect on Fusarium wilt and promotes the growth of pepper. **European Journal Of Soil Biology**, [S.L.], v. 47, n. 2, p. 138-145, mar. 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejsobi.2010.11.001>.

Zhang, H.; Hua, Z.; Liang, W.; Niu, Q.; Wang, X. The Prevention of Bio-Organic Fertilizer Fermented from Cow Manure Compost by *Bacillus* sp. XG-1 on Watermelon Continuous Cropping Barrier. **International Journal Of Environmental Research And Public Health**, [S.L.], v. 17, n. 16, p. 5714, 7 ago. 2020. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph17165714>.