

Controle Biológico de *Sclerotinia sclerotiorum*: Ação de *Bacillus* spp. e *Trichoderma harzianum*

Luciana de Paiva Santos Abreu^{1*}, Ana Laura Soares Gomes², Thyenny Gleysse Castro Silva³,
Araceli Belén Pintos Olmedo⁴, Maryana Oliveira Azevedo⁵

¹Doutoranda em Ciências Agrárias - Agronomia, Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, Brasil. (*Autor correspondente: luciana.abreu1995@gmail.com)

²Mestre em Zoologia, Universidade Federal do Mato Grosso, Brasil.

³Mestranda em Ciências Agrárias - Agronomia, Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde, Brasil

⁴Agrônoma, Universidad Nacional de Asunción, Paraguai.

⁵Mestre em Biodiversidade e Conservação, Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde, Brasil.

Histórico do Artigo: Submetido em: 13/04/2025 – Revisado em: 15/06/2025 – Aceito em: 18/07/2025

RESUMO

O mofo branco, causado por *Sclerotinia sclerotiorum*, é uma doença devastadora que afeta diversas culturas agrícolas, reduzindo a produtividade e a qualidade da produção. Sua persistência no solo deve-se à formação de escleródios, estruturas de resistência que garantem a viabilidade do fungo por longos períodos. O controle biológico tem se destacado como uma alternativa sustentável e eficaz para o manejo dessa fitopatologia. Este estudo teve como objetivo avaliar a capacidade de diferentes espécies de *Bacillus* spp. e do fungo *Trichoderma harzianum* na inibição do crescimento de *S. sclerotiorum*. Para isso, foram conduzidos ensaios *in vitro* utilizando placas de Petri contendo os meios de cultura TSA e BDA, onde os isolados microbianos foram inoculados e monitorados quanto à inibição do crescimento micelial do patógeno. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições por tratamento. O percentual de crescimento do fungo foi determinado comparando-se a média dos diâmetros das colônias dos patógenos e da testemunha. A eficácia dos agentes foi avaliada com base na redução do diâmetro médio das colônias fúngicas. Os resultados demonstraram que a combinação de três espécies de *Bacillus* (*B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus* e *B. subtilis*) foi significativamente mais eficiente do que o isolado de *B. amyloliquefaciens*, aumentando a inibição do crescimento do fungo de 63,5% para 71,6%. Os tratamentos com *Bacillus* também apresentaram halos de inibição variáveis, com valores médios de crescimento fúngico menores em comparação à testemunha, diferindo estatisticamente desta (15 a 20 mm). Já *T. harzianum* demonstrou maior eficiência na inibição direta por micoparasitismo, reduzindo em 46% o crescimento de *S. sclerotiorum*, enquanto as cepas de *Bacillus* spp. atuaram principalmente pela produção de metabólitos antifúngicos. Conclui-se que a aplicação desses microrganismos pode representar uma estratégia promissora para o manejo sustentável do mofo branco.

Palavras-Chaves: Antagonismo microbiano, biotecnologia agrícola, resistência induzida, fungicidas biológicos, interação patógeno-hospedeiro.

Biological Control of *Sclerotinia sclerotiorum*: Action of *Bacillus* spp. and *Trichoderma harzianum*

ABSTRACT

White mold, caused by *Sclerotinia sclerotiorum*, is a devastating disease that affects various agricultural crops, reducing both productivity and the quality of production. Its persistence in the soil is due to the formation of sclerotia, resistance structures that ensure the fungus's viability for long periods. Biological control has emerged as a sustainable and effective alternative for managing this phytopathology. This study aimed to evaluate the ability of different *Bacillus* spp. species and the fungus *Trichoderma harzianum* in inhibiting the growth of *S. sclerotiorum*. To achieve this, *in vitro* assays were conducted using Petri dishes containing TSA and BDA culture media, where the microbial isolates were inoculated and monitored for inhibition of fungal mycelial growth. The experimental design was completely randomized, with four replications per treatment. The percentage of fungal growth was determined by comparing the average colony diameters in biological treatments and control. The effectiveness of the agents was evaluated based on the reduction in the average diameter of fungal colonies. The results showed that the combination of three *Bacillus* species (*B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus*, and *B. subtilis*) was significantly more efficient than the *B. amyloliquefaciens* isolate, increasing the inhibition of fungal growth from 63.5% to 71.6%. The treatments with *Bacillus* also presented variable inhibition halos, with average fungal growth values lower than the control, differing statistically from it (15 to 20 mm). *T. harzianum* demonstrated greater efficiency in direct inhibition by micoparasitism, reducing by 46% the growth of *S. sclerotiorum*, while the *Bacillus* spp. strains acted mainly by the production of antifungal metabolites. It is concluded that the application of these microorganisms can represent a promising strategy for the sustainable management of white mold.

Abreu, L. P. S., Gomes, A.L.S., Silva, T.G.C., Olmedo, A.B.P., Azevedo, M.A (2025). Controle Biológico de *Sclerotinia sclerotiorum*: Ação de *Bacillus* spp. e *Trichoderma harzianum*. *Revista Brasileira de Meio Ambiente*, v.13, n.2, p.78-89.

inhibition of fungal growth from 63.5% to 71.6%. The *Bacillus* treatments also presented variable inhibition halos, with average fungal growth values lower compared to the control, statistically differing from it (15 to 20 mm). On the other hand, *T. harzianum* demonstrated greater efficiency in direct inhibition through mycoparasitism, reducing *S. sclerotiorum* growth by 46%, while the *Bacillus spp.* strains mainly acted through the production of antifungal metabolites. It is concluded that the application of these microorganisms may represent a promising strategy for the sustainable management of white mold.

Keywords: Microbial antagonism, agricultural biotechnology, induced resistance, biological fungicides, pathogen-host interaction.

Control Biológico de *Sclerotinia sclerotiorum*: Acción de *Bacillus spp.* y *Trichoderma harzianum*

RESUMEN

El moho blanco, causado por *Sclerotinia sclerotiorum*, es una enfermedad devastadora que afecta a diversos cultivos agrícolas, reduciendo tanto la productividad como la calidad de la producción. Su persistencia en el suelo se debe a la formación de esclerocios, estructuras de resistencia que garantizan la viabilidad del hongo durante largos períodos. El control biológico ha destacado como una alternativa sostenible y eficaz para el manejo de esta fitopatología. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la capacidad de diferentes especies de *Bacillus spp.* y del hongo *Trichoderma harzianum* en la inhibición del crecimiento de *S. sclerotiorum*. Para ello, se realizaron ensayos in vitro utilizando placas de Petri que contenían los medios de cultivo TSA y BDA, donde se inocularon los aislamientos microbianos y se monitoreó la inhibición del crecimiento micelial del patógeno. El diseño experimental fue completamente aleatorizado, con cuatro repeticiones por tratamiento. El porcentaje de crecimiento del hongo se determinó comparando el promedio de los diámetros de las colonias en los tratamientos biológicos y en el testigo. La eficacia de los agentes se evaluó en función de la reducción del diámetro promedio de las colonias fúngicas. Los resultados mostraron que la combinación de tres especies de *Bacillus* (*B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus* y *B. subtilis*) fue significativamente más eficiente que el aislado de *B. amyloliquefaciens*, aumentando la inhibición del crecimiento del hongo del 63,5% al 71,6%. Los tratamientos con *Bacillus* también presentaron halos de inhibición variables, con valores promedio de crecimiento fúngico más bajos en comparación con el testigo, diferenciándose estadísticamente de este (15 a 20 mm). Por otro lado, *T. harzianum* mostró una mayor eficiencia en la inhibición directa por micoparasitismo, reduciendo el crecimiento de *S. sclerotiorum* en un 46%, mientras que las cepas de *Bacillus spp.* actuaron principalmente a través de la producción de metabolitos antifúngicos. Se concluye que la aplicación de estos microorganismos puede representar una estrategia prometedora para el manejo sostenible del moho blanco.

Palabras clave: Antagonismo microbiano, biotecnología agrícola, resistencia inducida, fungicidas biológicos, interacción patógeno-hospedador.

1. Introdução

O mofo branco, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, é uma das principais doenças fúngicas que afetam diversas culturas no Brasil, com destaque para soja, feijão, girassol e canola. Essa enfermidade se caracteriza pela formação de escleródios, estruturas de resistência que garantem a sobrevivência do fungo no solo por vários anos, tornando seu controle um grande desafio para os produtores (Wang, 2024; Fan et al., 2021). O manejo dessa fitopatologia demanda investimentos consideráveis, com custos anuais que podem ultrapassar bilhões de reais devido à necessidade de aplicação de fungicidas, adoção de práticas culturais e perdas diretas na produtividade (Khan et al., 2022; Vasques et al., 2024).

Os danos causados pelo mofo branco vão além da redução da produtividade. A presença do fungo compromete a qualidade dos grãos e sementes, reduzindo seu valor comercial e afetando o suprimento de alimentos e insumos agrícolas (Yang et al., 2024). Em cultivos de alta densidade e regiões de clima favorável ao desenvolvimento da doença, as perdas podem ser ainda mais expressivas, chegando a inviabilizar a produção em determinadas áreas (Wang, 2024). Além disso, o fungo possui uma ampla gama de hospedeiros, dificultando seu controle e contribuindo para sua disseminação (Fan et al., 2021).

O controle químico ainda é amplamente utilizado no manejo do mofo branco, com o uso de fungicidas como os benzimidazóis (exemplo: tiofanato-metílico), os ditiocarbamatos (como mancozebe) e os inibidores da desmetilação (IBMs), como o procimidona e fluazinam (Mao et al., 2018). No entanto, a eficiência desses produtos pode ser limitada pela resistência adquirida pelo patógeno, além de seu alto custo e impacto ambiental

(Mao et al., 2018). Outro desafio é a necessidade de aplicações constantes para manter a doença sob controle, o que pode aumentar a presença de resíduos químicos no meio ambiente e afetar a biodiversidade microbiana do solo (Khan et al., 2022).

Diante desse cenário, a busca por soluções biológicas tem se intensificado, sendo *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp. os microrganismos mais promissores para o controle de *S. sclerotiorum*. Esses agentes biológicos apresentam diferentes mecanismos de ação, incluindo antagonismo microbiano, produção de metabólitos antifúngicos e indução de resistência nas plantas (Miljaković et al., 2022; Domanskaya et al., 2021). Além disso, o uso de biológicos proporciona vantagens como menor impacto ambiental, segurança para o aplicador e redução na dependência de defensivos químicos (Domanskaya et al., 2021).

Dentre as diferentes espécies de utilizadas no biocontrole de fitopatógenos, as bactérias do gênero *Bacillus*, especialmente *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* e *B. pumilus*, são amplamente estudadas para o manejo de doenças fúngicas. Seu modo de ação está relacionado à produção de compostos antimicrobianos, como lipopeptídeos e enzimas hidrolíticas, que inibem o crescimento do fungo (Miljaković et al., 2022; Wang et al., 2022). Além disso, *Bacillus* spp. podem colonizar a rizosfera e estimular o crescimento vegetal, tornando as plantas mais resistentes a infecções (Khan et al., 2022). A eficácia de *Bacillus* no controle de *S. sclerotiorum* tem sido bem documentada, com estudos demonstrando a produção de lipopeptídeos que apresentam atividade antifúngica significativa (Chen et al., 2019; Farzand et al., 2019).

Os fungos do gênero *Trichoderma*, como *T. harzianum* e *T. virens*, também atuam no controle de *S. sclerotiorum* através de diversos mecanismos, incluindo micoparasitismo, competição por espaço e nutrientes, e produção de metabólitos antifúngicos (Domanskaya et al., 2021). *Trichoderma* spp. são capazes de degradar os escleródios do patógeno, reduzindo sua viabilidade no solo (Yang et al., 2024). Além disso, induzem a resistência sistêmica nas plantas, tornando-as menos suscetíveis a infecções futuras (Domanskaya et al., 2021).

Desta forma, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar o potencial de controle biológico de diferentes cepas de microrganismos com atividade conhecida contra *Sclerotinia sclerotiorum*.

2. Material e Métodos

2.1 Microrganismos Utilizados nos Testes de Biocontrole

A presente pesquisa teve como objetivo avaliar o potencial de controle biológico de diferentes cepas de microrganismos com atividade conhecida contra *Sclerotinia sclerotiorum*. A metodologia utilizada foi uma adaptação dos protocolos descritos por Johnson & Curl (1972), que investigaram a eficácia de agentes microbianos no controle de fitopatógenos em condições laboratoriais. O procedimento metodológico está amparado em estudos prévios sobre biocontrole com espécies do gênero *Bacillus* e *Trichoderma*, reconhecidos por sua atuação na supressão de fitopatógenos por mecanismos como competição, antibiose e indução de resistência sistêmica.

As cepas microbianas utilizadas neste estudo foram selecionadas com base em seu potencial biotecnológico e na disponibilidade comercial, todas com histórico de eficácia no controle de doenças de solo. As formulações comerciais e respectivas cepas utilizadas estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Cepas microbianas utilizadas nos experimentos
Table 1 – Microbial strains used in the experiments

Produto comercial	Micro-organismo	Identificação da cepa
SOLU STRONG	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	CCT 7994
SOLU CLEAN	<i>Bacillus pumilus</i>	S2907
SOLU LEAF	<i>Bacillus velezensis</i>	CCT 7984

Produto comercial	Micro-organismo	Identificação da cepa
SOLUBIO RAIZ PERFORMANCE	<i>Bacillus subtilis</i>	CCT 7993
BIO GREEN	<i>Trichoderma harzianum</i>	IB 19/17

Além das aplicações individuais, foram avaliados dois consórcios de microrganismos, com o objetivo de verificar possíveis efeitos sinérgicos, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 – Consórcios de microrganismos avaliados

Table 2 – Consortia of microorganisms evaluated

Mistura	Composição
Mistura 1	<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>B. pumilus</i> + <i>B. subtilis</i>
Mistura 2	<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>B. velezensis</i> + <i>B. subtilis</i>

Os isolados foram selecionados com base em seu potencial biocontrolador, aliado ao registro comercial, especialmente por sua eficácia frente a *Sclerotinia sclerotiorum*. Para garantir a viabilidade e o desempenho desses microrganismos nos ensaios, as culturas foram mantidas sob condições controladas: temperatura de incubação de 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 12 horas e placas vedadas com filme plástico, assegurando alta umidade e ambiente favorável ao desenvolvimento do fitopatógeno.

2.2 Ensaios *in vitro* com *Bacillus* spp. e *Sclerotinia sclerotiorum*

Os ensaios foram conduzidos em placas de Petri contendo meio de cultura TSA (Tryptic Soy Agar). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições por tratamento. Para avaliar a interação entre as bactérias do gênero *Bacillus* spp. e *S. sclerotiorum*, foi utilizado o método de culturas pareadas (Johnson & Curl, 1972).

Um disco de aproximadamente 5mm de diâmetro do fungo foi inoculado no centro da placa, enquanto uma alçada de 1 cm de comprimento contendo a suspensão bacteriana foi depositada em cada lateral da placa à 1 cm de distância da borda. As placas foram incubadas a 25 °C por sete dias, sendo então mensurados o halo de inibição e a área de crescimento do fungo fitopatogênico.

2.3 Ensaios *in vitro* com *Trichoderma* spp. e *Sclerotinia sclerotiorum*

Para avaliar a interação entre *Trichoderma* spp. e *S. sclerotiorum*, discos de aproximadamente 5mm de diâmetros dos fungos foram inoculados em lados opostos da placa de Petri contendo meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar). As placas foram incubadas a 25 °C por sete dias e o crescimento micelial foi monitorado diariamente. A avaliação do efeito de *Trichoderma* spp. sobre *S. sclerotiorum* foi realizada considerando a capacidade de micoparasitismo, a inibição direta do crescimento do fitopatógeno e a redução da área de colonização do fungo alvo, quando comparado ao controle, contendo apenas *S. sclerotiorum*.

2.4 Ensaios em escleródios

Os testes foram conduzidos em solo autoclavado e em placas contendo meio de cultura TSA. Para os ensaios em solo, distribuiu-se em placas de Petri a quantidade de 20 g de solo por placa. Foram estabelecidos três tratamentos: (i) testemunha (sem microrganismos), (ii) *Bacillus amyloliquefaciens* e (iii) *Trichoderma* spp. Cada tratamento foi pulverizado sobre os escleródios de *S. sclerotiorum* contidos no solo, sendo utilizados

cinco escleródios por placa. As placas foram incubadas a 25°C e monitoradas por 15 dias. Nos ensaios em placas contendo TSA, os escleródios foram distribuídos diretamente sobre o meio de cultura e submetidos aos mesmos tratamentos mencionados anteriormente. A eficiência dos tratamentos foi avaliada com base na germinação dos escleródios, considerando a perda de viabilidade do patógeno e a colonização microbiana do substrato.

2.5 Análises Estatísticas

Os dados obtidos nos diferentes ensaios in vitro (halo de inibição, crescimento micelial e germinação de escleródios) foram submetidos à análise estatística utilizando o software SISVAR® (Sistema para Análise de Variância), versão 5.6.

Para cada ensaio, foi realizada análise de variância (ANOVA) a partir do modelo de delineamento inteiramente casualizado (DIC), com os tratamentos como fator fixo. Quando constatadas diferenças significativas pelo teste F ($p \leq 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

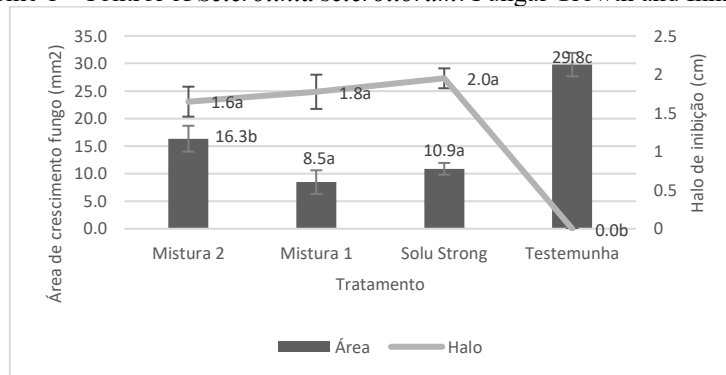
Nos ensaios com consórcios e microrganismos individuais frente ao patógeno, as variáveis analisadas incluíram: Diâmetro do halo de inibição (mm); Área de crescimento micelial do patógeno (mm²); Percentual de germinação dos escleródios (%); Colonização microbiana visível dos escleródios (presença/ausência). As análises permitiram determinar a eficácia relativa de cada isolado ou consórcio microbiano frente a *Sclerotinia sclerotiorum*.

3. Resultados e Discussão

3.1 Resultado de pareamento em placa

Os resultados obtidos no pareamento em placa demonstraram que os tratamentos utilizando *Bacillus* spp. foram eficazes no controle de *S. sclerotiorum*, evidenciando uma redução significativa do crescimento fúngico em comparação com a testemunha. O tratamento com *Bacillus amyloliquefaciens* (Solu Strong) se destacou como o mais eficiente, apresentando uma média de crescimento fúngico de 10,9 mm², o que representa uma redução de aproximadamente 63,4% em relação à testemunha, cuja média foi de 29,8 mm². As misturas de *Bacillus* spp., Mistura 1 e Mistura 2, também resultaram em uma redução expressiva no crescimento fúngico, com médias de 8,5 mm² e 16,3 mm², correspondendo a reduções de aproximadamente 71,5% e 45,3%, respectivamente, em comparação à testemunha (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Controle de *Sclerotinia sclerotiorum*: Crescimento Fúngico e Halo de Inibição.
Graphic 1 - Control of *Sclerotinia sclerotiorum*: Fungal Growth and Inhibition Halo.



Esses dados indicam que, independentemente da composição das misturas, os microrganismos biológicos testados foram eficazes no controle de *S. sclerotiorum*, comprovando a eficácia da utilização de manejos biológicos na mitigação da doença. A redução no crescimento fúngico do patógeno pode ser atribuída a fatores como a produção de compostos antimicrobianos pelas cepas de *Bacillus* e a competição por recursos como espaço e nutrientes, mecanismos bem descritos em estudos anteriores (Cheng et al., 2024; Chowdhury et al., 2015).

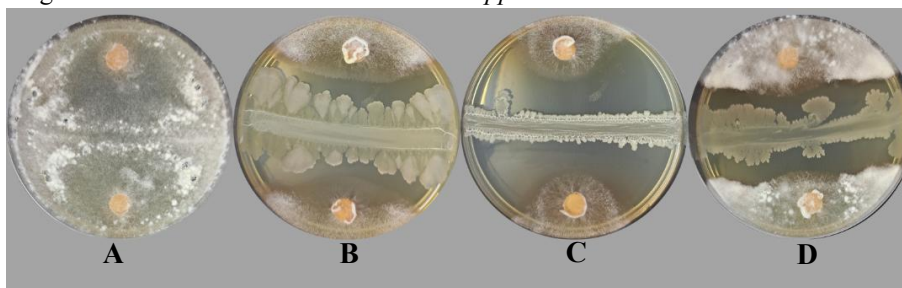
A análise estatística dos dados, com p-valor $< 0,0001$, confirmou que as diferenças observadas entre os tratamentos são significativas. Esse resultado reforça a hipótese de que os tratamentos com *Bacillus* spp. tiveram um impacto substancial no controle do crescimento de *S. sclerotiorum*. Além disso, a diferença significativa entre os tratamentos e a testemunha indica que os *Bacillus* spp. têm um efeito inibitório expressivo sobre o patógeno, o que é consistente com os resultados de outros estudos que investigaram o uso de *Bacillus* no controle de fungos fitopatogênicos. A análise do Coeficiente de Variação (CV) de 11,98% também é indicativa de uma boa precisão experimental, sugerindo que os dados são confiáveis e que a variabilidade entre as repetições experimentais foi baixa. A média geral de 1,343 mm para os halos de inibição corrobora a robustez do experimento, reforçando que o efeito biológico observado foi consistente e significativo.

Embora os tratamentos não apresentem diferenças estatísticas significativas entre si, todos demonstraram eficácia superior à da testemunha (p-valor $< 0,05$). Esse achado é importante, pois sugere que, independentemente da cepa ou combinação de *Bacillus* spp. utilizadas, todos os tratamentos foram eficazes no controle de *S. sclerotiorum*. Esse resultado também é relevante para a aplicação prática, pois indica que diferentes formulações ou combinações de *Bacillus* spp. podem ser utilizadas com eficácia, oferecendo flexibilidade para os agricultores na escolha de produtos biológicos para o controle de doenças fúngicas. O teste de Tukey, que não encontrou diferenças significativas no halo de inibição entre os tratamentos biológicos, sugere que, embora as linhagens e as misturas de *Bacillus* spp. apresentem pequenas variações na eficácia, todas são eficazes no controle de *S. sclerotiorum*, destacando o potencial desses microrganismos como alternativas viáveis ao uso de fungicidas químicos.

Os resultados dos halos de inibição fúngica, medidos a partir do centro de crescimento fúngico, indicaram que o tratamento com *Bacillus amyloliquefaciens* (Solu Strong) teve o maior halo de inibição (2,0 cm), seguido pelas Mistura 1 (1,8 cm) e Mistura 2 (1,6 cm), como apresentado no Gráfico 1. Esse comportamento sugere que o *B. amyloliquefaciens* pode ter um efeito antifúngico mais pronunciado quando aplicado isoladamente, possivelmente devido à produção de compostos antimicrobianos específicos que são mais eficazes contra *S. sclerotiorum*.

Compostos como surfactinas e fengicinas, conhecidos por sua atividade antifúngica, são amplamente produzidos por *Bacillus amyloliquefaciens* e têm sido descritos como responsáveis pela inibição de patógenos fúngicos em várias culturas (Mattos et al., 2023; Massawe et al., 2018). Na Figura 1 é possível observar como os halos de inibição, composto por metabólitos, foram capazes de inibir o crescimento fúngico sem que o microrganismo entrasse em contato direto com o fitopatógeno.

Figura 1 – Confronto entre tratamentos com *Bacillus* spp. e *S. sclerotiorum*
 Figure 1 - Confrontation between *Bacillus* spp. treatments and *S. sclerotiorum*



Legenda: A: Controle. *S. sclerotiorum*; B: Tratamento com *B. amyloliquefaciens* CTT; C: Tratamento com Mistura 2 (*B. amyloliquefaciens*, *B. velezensis* e *B. subtilis*); e D: Tratamento com Mistura 1 (*B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus* e *B. subtilis*)

Legend: A: *S. sclerotiorum* control; B: Treatment with *B. amyloliquefaciens* CTT; C: Treatment with Mixture 2 (*B. amyloliquefaciens*, *B. velezensis* and *B. subtilis*); e D: Treatment with Mixture 1 (*B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus* and *B. subtilis*)

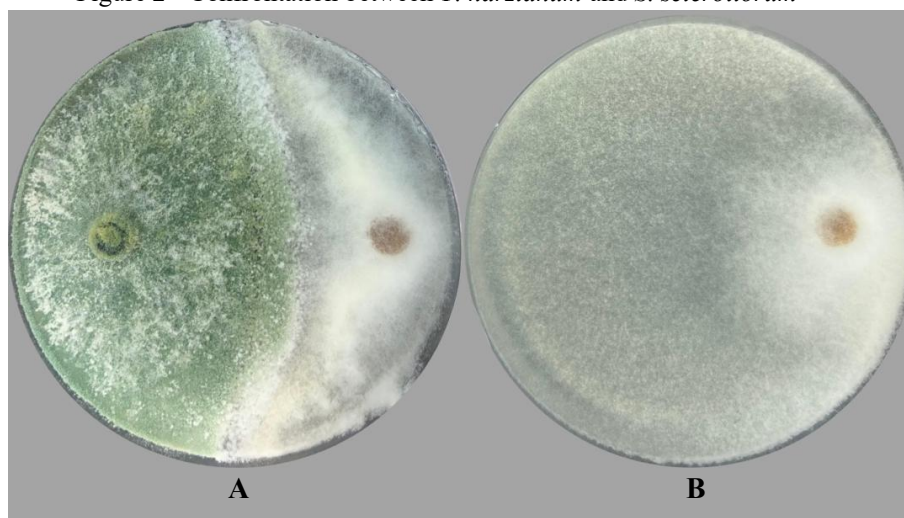
A maior produção desses compostos por *B. amyloliquefaciens* pode ser um dos fatores que explicam o desempenho superior desse tratamento, em comparação com as misturas de *Bacillus* spp., que podem não ter uma concentração tão alta de compostos antimicrobianos ou uma eficácia tão pronunciada devido à interação entre diferentes cepas.

Por outro lado, as misturas de *Bacillus* spp. apresentaram bons resultados, mas com halos de inibição ligeiramente menores. Isso pode ser explicado pela diversidade genética e metabólica das diferentes cepas incluídas nas misturas, que podem ter diferentes capacidades de produção de compostos antifúngicos. Em estudos anteriores, a diversidade genética de *Bacillus* spp. tem sido associada a uma gama de metabólitos antimicrobianos que variam em sua eficácia contra diferentes fitopatógenos. A combinação de diferentes linhagens pode, portanto, proporcionar um espectro mais amplo de atividade biocontroladora, mas a produção de compostos específicos de uma única linhagem, como a de *B. amyloliquefaciens*, pode ser mais eficaz para o controle de *S. sclerotiorum*.

Em um contexto mais amplo, esses resultados têm implicações importantes para o desenvolvimento de alternativas sustentáveis ao controle de doenças fúngicas em ambientes agrícolas. O uso de *Bacillus* spp., especialmente *Bacillus amyloliquefaciens*, como agentes de controle biológico oferece uma estratégia promissora para reduzir a dependência de produtos químicos, que podem ter impactos ambientais negativos. Além disso, esses tratamentos biológicos podem contribuir para uma agricultura mais sustentável e saudável, com menores riscos de resistência de patógenos e benefícios para a saúde do solo. A adoção de biocontrole por meio de *Bacillus* spp. pode, portanto, desempenhar um papel importante em estratégias de manejo integrado de doenças (MID), alinhando a eficiência no controle de patógenos com a preservação ambiental e a saúde pública.

Em suma, os resultados deste estudo reforçam o potencial dos tratamentos biológicos com *Bacillus* spp. no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, sugerindo que esses microrganismos podem ser uma alternativa eficaz e sustentável ao uso de fungicidas químicos. O uso de *Bacillus amyloliquefaciens*, em particular, mostrou um controle mais pronunciado sobre o crescimento do fungo, o que abre caminho para o desenvolvimento de produtos biológicos baseados em *Bacillus* como uma ferramenta valiosa no manejo de doenças fúngicas.

Figura 2 – Confronto entre *T. harzianum* e *S. sclerotiorum*
 Figure 2 - Confrontation between *T. harzianum* and *S. sclerotiorum*



Legenda: A:Confronto entre *T. harzianum* e *S. sclerotiorum*; B: Controle *S. sclerotiorum*
 Legend: A: Confrontation between *T. harzianum* and *S. sclerotiorum*; B: *S. sclerotiorum* control

O tratamento com *Trichoderma* ilustrado na Figura 2, apresentou uma redução média de 53,1% do crescimento micelial do fungo *S. sclerotiorum*, mostrando seu potencial de atuar de maneira complementar ao *Bacillus* spp., promovendo o controle biológico por meio de micoparasitismo e produção de enzimas hidrolíticas que degradam a parede celular de fitopatógenos (Silva et al., 2022).

Portanto, os resultados deste estudo reforçam a viabilidade da aplicação de *Bacillus* spp. como agentes biocontroladores de *S. sclerotiorum*, reduzindo significativamente o crescimento do patógeno e oferecendo uma alternativa sustentável ao uso de fungicidas químicos tradicionais.

3.2 Inibição da germinação de escleródios

Os resultados obtidos demonstraram que os tratamentos biológicos foram altamente eficazes na inibição da germinação dos escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. Enquanto a testemunha apresentou uma taxa média de germinação de 73%, os tratamentos com *Bacillus amyloliquefaciens* (SoluStrong), *Bacillus velezensis* (SoluLeaf) e *Trichoderma harzianum* (BioGreen) impediram completamente a germinação dos escleródios, sem qualquer ocorrência de crescimento nas três repetições.

A análise estatística evidenciou que os tratamentos biológicos diferiram significativamente da testemunha ($p < 0,05$), confirmando sua eficácia no controle do patógeno. Esses achados corroboram estudos recentes que indicam o potencial de *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp. na supressão de escleródios, seja por produção de compostos antifúngicos, competição por nutrientes ou mecanismos de micoparasitismo (Zhou et al., 2020; Medeiros et al., 2022).

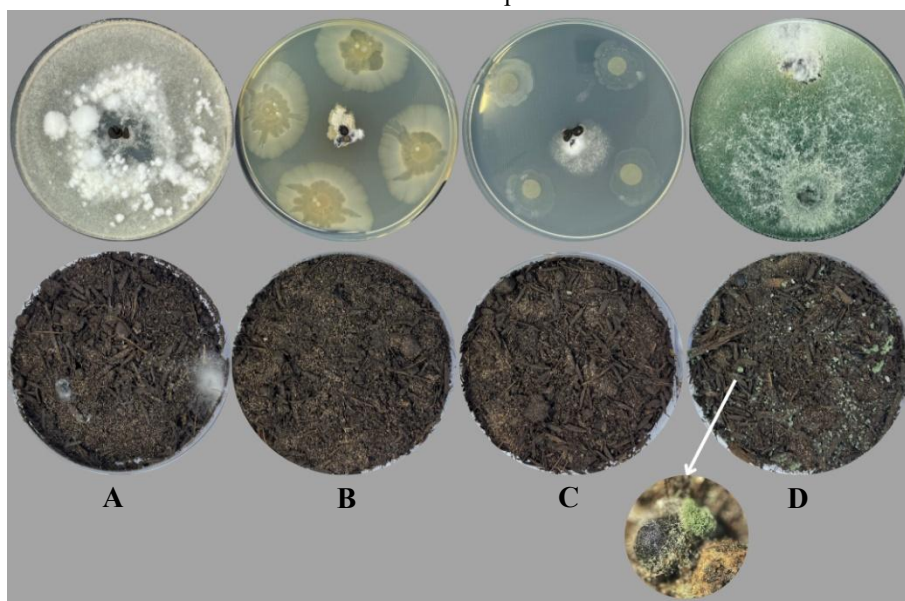
A eficácia dos tratamentos com *Bacillus* pode estar relacionada à produção de lipopeptídeos, como surfactinas, iturinas e fengicinas, que atuam na degradação da parede celular dos escleródios, inibindo sua germinação (Chen et al., 2021). Além disso, a produção de enzimas hidrolíticas e antibióticos naturais reforça o efeito biocontrolador dessas bactérias (Li et al., 2019).

Por outro lado, *Trichoderma harzianum* demonstrou alta capacidade de inibição, provavelmente devido ao seu mecanismo de micoparasitismo e produção de metabólitos secundários que comprometem a viabilidade dos escleródios (Kubicek et al., 2019). Estudos indicam que *Trichoderma* pode atuar na degradação da melanina presente na estrutura dos escleródios, reduzindo sua resistência e capacidade de germinação

(González et al., 2021). Na Figura 3 é possível observar o efeito do micoparasitismo do *Trichoderma*, que cresceu ao redor do escleródio, impedindo assim sua germinação.

Figura 3 – Confronto entre *T. harzianum* e *S. sclerotiorum* utilizando meio TSA e solo como fonte de nutrientes para desenvolvimento dos microrganismos.

Figure 3 – Confrontation between *T. harzianum* and *S. sclerotiorum* using TSA medium and soil as nutrient sources for microbial development.



Legenda: A: Testemunhas; B: Inibição de *S. sclerotiorum* utilizando *B. velezensis*; C: Inibição de *S. sclerotiorum* utilizando *B. amyloliquefaciens*; D: Inibição de *S. sclerotiorum* utilizando *T. harzianum*.

Legend: A: Control; B: *S. sclerotiorum* inhibition using *B. velezensis*; C: *S. sclerotiorum* inhibition using *B. amyloliquefaciens*; D: *S. sclerotiorum* inhibition using *T. harzianum*.

Portanto, os resultados deste estudo reforçam que o uso de biofungicidas à base de *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp. podem ser uma alternativa sustentável e eficiente para o manejo de *S. sclerotiorum*, reduzindo significativamente a viabilidade dos escleródios no solo e minimizando o risco de infecção nas culturas agrícolas.

Os dados obtidos demonstram, de forma consistente, que os agentes biológicos avaliados possuem mecanismos distintos e complementares no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, atuando tanto pela inibição direta do crescimento micelial quanto pela supressão da germinação de escleródios. Esses efeitos, atribuídos à produção de metabólitos antifúngicos e ao micoparasitismo, reforçam a viabilidade técnica do uso de *Bacillus* spp. e *Trichoderma harzianum*. Para além do controle fitossanitário, a adoção desses microrganismos se alinha a práticas agrícolas sustentáveis, promovendo o equilíbrio ecológico nos sistemas produtivos e reduzindo a pressão sobre o uso de insumos químicos. Essa abordagem oferece uma alternativa promissora no enfrentamento de desafios ambientais associados à agricultura convencional, fortalecendo o papel dos bioinsumos na transição para modelos mais resilientes e regenerativos.

4. Conclusão

Este estudo confirma o potencial de *Bacillus* spp. e *Trichoderma harzianum* como ferramentas estratégicas no manejo biológico do mofo branco, causado por *Sclerotinia sclerotiorum*. A eficácia observada,

tanto na supressão do crescimento micelial quanto na inibição da germinação de escleródios, evidencia que esses microrganismos podem ser integrados com sucesso ao manejo de doenças em culturas agrícolas. A produção de compostos antimicrobianos, aliada à capacidade de micoparasitismo, demonstra um alto potencial biotecnológico dessas espécies para o desenvolvimento de produtos sustentáveis.

Além do controle eficiente do patógeno, a aplicação desses agentes contribui para práticas agrícolas com menor impacto ambiental, reforçando a conservação do solo e a biodiversidade microbiana. Portanto, os resultados obtidos não apenas validam a eficácia dos tratamentos testados, como também destacam sua aplicabilidade prática em programas de manejo integrado de doenças, abrindo caminhos concretos para o avanço de uma agricultura mais equilibrada e comprometida com a sustentabilidade ambiental.

5. Agradecimentos

6. Referências

- Chen, X., Zhang, F., He, F., Li, Y., Wang, H., & Liu, Y. (2021). Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* using *Bacillus* species: Mechanisms and applications. **Biological Control**, 158, 104609.
- Chen, L., Wu, Y., Chong, X., Xin, Q., Wang, D., & Bian, K. (2019). Seed - borne endophytic *bacillus velezensis* lhsb1 mediate the biocontrol of peanut stem rot caused by *sclerotium rolfsii*. **Journal of Applied Microbiology**, 128(3), 803-813. <https://doi.org/10.1111/jam.14508>
- Cheng, Y., Lou, H., He, H., He, X., Wang, Z., Gao, X., & Liu, J. (2024). Genomic and biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* using an extracellular extract from *Bacillus velezensis* 20507. **Frontiers in Microbiology**, 15, 1385067.
- Chowdhury, S. P., Hartmann, A., Gao, X., & Borriss, R. (2015). Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 - a review. **Frontiers in microbiology**, 6, 780.
- Domanskaya, O., Bome, H., Iashnikov, A., Vasilchenko, A., & Vasilchenko, A. (2021). The multiple activities and the plant beneficial potential of *bacillus* spp. derived from the permafrost of western siberia. **Agronomy**, 11(11), 2347. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112347>
- Fan, H., Yang, W., Nie, J., Zhang, W., Wu, J., Wu, D. & Wang, Y. (2021). A novel effector protein sserp1 inhibits plant ethylene signaling to promote *sclerotinia sclerotiorum* infection. **Journal of Fungi**, 7(10), 825. <https://doi.org/10.3390/jof7100825>
- Farzand, A., Moosa, A., Zubair, M., Khan, A., Hanif, A., Tahir, H. & Gao, X. (2019). Marker assisted detection and lc-ms analysis of antimicrobial compounds in different *bacillus* strains and their antifungal effect on *sclerotinia sclerotiorum*. **Biological Control**, 133, 91-102. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.03.014>
- González, M., Gómez, C., Salazar, M., Rojas, C., & Monte, E. (2021). *Trichoderma* spp. as biocontrol agents of *Sclerotinia sclerotiorum*: Insights into the mechanisms involved. **Fungal Biology**, 125(5), 347-357.
- Johnson, L. F., & Curl, E. A. (1972). Methods for research on the ecology of soil-borne plant pathogens, v+247 pp.

- Khan, A., Mustafa, A., Hyder, S., Valipour, M., Rizvi, Z., Gondal, A. & Daraz, U. (2022). *Bacillus* spp. as bioagents: uses and application for sustainable agriculture. **Biology**, 11(12), 1763. <https://doi.org/10.3390/biology11121763>
- Kubicek, C. P., Herrera-Estrella, A., Seidl-Seiboth, V., Martinez, D. A., Druzhinina, I. S., Thon, M., & Zeilinger, S. (2019). *Trichoderma*: The genomics of a hypervirulent fungus. **Nature Reviews Microbiology**, 17(10), 751-765.
- Li, Y., Zhang, J., Zhao, W., Wang, L., & Yang, Q. (2019). Antifungal activity of *Bacillus* strains against *Sclerotinia sclerotiorum* and their potential application as biological control agents. **Journal of Applied Microbiology**, 127(6), 1735-1747.
- Massawe, V. C., Hanif, A., Farzand, A., Mburu, D. K., Ochola, S. O., Wu, L., ... & Gao, X. (2018). Volatile compounds of endophytic *Bacillus* spp. have biocontrol activity against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, 108(12), 1373-1385.
- Mao, X., Li, J., Chen, Y., Song, X., Duan, Y., Wang, J. & Hou, Y. (2018). Resistance risk assessment for fluazinam in *sclerotinia sclerotiorum*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 144, 27-35. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.10.010>
- Mattos, A. do P., Rissato, B. B., Itako, A. T., Tolentino Júnior, J. B., & Estrada, K. R. F. S.. (2023). *Bacillus amyloliquefaciens* PKM16 acts as an antagonist of white mold and an inducer of defense enzymes in tomato plants. **Acta Scientiarum. Agronomy**, 45, e59586.
- Medeiros, H. A., Martins, S. J., Zucchi, T. D., Quecine, M. C., Morais, T. P., & Azevedo, J. L. (2022). Mechanisms of action of *Bacillus* and *Trichoderma* in the control of soilborne pathogens. **Frontiers in Microbiology**, 13, 857942.
- Miljaković, D., Milošević, D., Ignjatov, M., Marinković, J., Tamindžić, G., Tintor, B. & Nikolić, Z. (2022). Screening of *Bacillus* spp. as potential biocontrol agents against sunflower pathogens. **Zbornik Matice Srpske Za Prirodne Nauke**, (143), 65-72. <https://doi.org/10.2298/zmspn2243065m>
- Silva, L. G., Camargo, R. C., Mascarin, G. M., Nunes, P. S. de O., Dunlap, C., & Bettiol, W. (2022). Dual functionality of *Trichoderma*: biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* and biostimulant of cotton plants. **Frontiers in Plant Science**, 13, 983127.
- Vasques, N., Nogueira, M., & Hungria, M. (2024). Increasing application of multifunctional *Bacillus* for biocontrol of pests and diseases and plant growth promotion: lessons from Brazil. **Agronomy**, 14(8), 1654. <https://doi.org/10.3390/agronomy14081654>
- Wang, S., Herrera - Balandrano, D., Wang, Y., Shi, X., Chen, X., Jin, Y. & Laborda, P. (2022). Biocontrol ability of the *Bacillus amyloliquefaciens* group, *B. amyloliquefaciens*, *B. velezensis*, *B. nakamurai*, and *B. siamensis*, for the management of fungal postharvest diseases: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 70(22), 6591-6616. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c01745>
- Wang, Y. (2024). Progress in the study of pathogenic factors of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Theoretical and Natural Science**, 59(1), 138-145. <https://doi.org/10.54254/2753-8818/59/20241378>

Yang, L., Ma, X., Wang, L., Yang, G., Zhou, L., Zhang, Z. & Li, X. (2024). In vitro antifungal activity and mechanism of action of carvacrol against *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.) de bary. **Plant Protection Science**, 60(2), 172-180. <https://doi.org/10.17221/121/2023-pps>

Zhou, D., Wang, X., Zhang, H., Chen, J., & Xu, H. (2020). Suppression of *Sclerotinia sclerotiorum* by *Bacillus* and *Trichoderma*: An integrated biocontrol approach. **Microorganisms**, 8(4), 539.