

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
CAMPUS CURITIBANOS
CURSO DE AGRONOMIA

Alice Rafaela Pereira

**Controle biológico de *Sclerotium cepivorum* mediado por *Bacillus* spp. na cultura do
Alho (*Allium sativum*)**

Curitibanos
2021

Alice Rafaela Pereira

Controle biológico de *Sclerotium cepivorum* mediado por *Bacillus* spp. na cultura do Alho (*Allium sativum*)

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Agronomia do Centro de Curitibanos da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do Título de Bacharel em Agronomia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Glória Regina Botelho

Curitibanos
2021

ALICE RAFAELA PEREIRA

CONTROLE BIOLÓGICO DE *Sclerotium cepivorum* MEDIADO por *Bacillus* spp. NA CULTURA DO ALHO (*Allium sativum*)

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Engenheiro Agrônomo, e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Agronomia.

Curitibanos, 31 de agosto de 2021.



Documento assinado digitalmente
Samuel Luiz Fioreze
Data: 01/09/2021 15:55:29-0300
CPF: 052.258.059-90
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. Samuel L. Fioreze
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:



Documento assinado digitalmente
Gloria Regina Botelho
Data: 31/08/2021 12:24:50-0300
CPF: 802.241.057-87
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Profa. Dra. Gloria Regina Botelho
Orientadora

Universidade Federal de Santa Catarina



Campus Curitibanos
Documento assinado digitalmente
Adriana Terumi Itako
Data: 01/09/2021 18:15:51-0300
CPF: 044.130.099-59
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Profa. Dra. Adriana Terumi Itako
Membro da banca examinadora
Universidade Federal de Santa Catarina
Campus Curitibanos

Prof. Dr. Marco Lucini
Membro da banca examinadora
Engenheiro agrônomo – egresso da EPAGRI

Dedico este trabalho a Deus e a Nossa Senhora Aparecida em gesto de gratidão, pois nunca me desampararam em nenhum momento durante a minha vida e a minha trajetória universitária.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Juceli Pereira e Maria Helena Cassol toda a minha gratidão pelo apoio e por sempre estarem ao meu lado durante a minha caminhada na universidade, me incentivando a estudar e a nunca fracassar como pessoa e profissional.

A ti meu pai meu muito obrigada por me encorajar a entrar no ramo da agricultura, o seu apoio foi essencial para eu me encaixar perfeitamente e atualmente ser completamente apaixonada pelo que faço. A minha mãe, a senhora foi meu alicerce e minha maior inspiração, diariamente ao meu lado chorando, sofrendo e feliz durante todas as etapas da minha vida. A minha irmã Renata Pereira obrigada por ser minha melhor amiga e estar ao meu lado em muitos momentos, incluindo os de companheirismo nas idas a universidade para verificar a situação do meu TCC.

Eu amo vocês imensamente! A humildade da minha criação e do modo de vida que levamos me levou hoje ao momento mais esperado de toda minha vida, cheguei aqui pelo meu potencial, pela minha dedicação e por vocês, pois o amparo da minha família foi fundamental.

Obrigada aos amigos que fiz durante a graduação, amigos quais se tornaram minha família em Curitiba/SC, o companheirismo de vocês em muitos momentos me fez forte para percorrer esse caminho longo e árduo. E, aos amigos do meu município que tanto amo: Correia Pinto/SC, obrigada por sempre estarem presente em minha vida mesmo que em distância, os encontros de férias, as chamadas de vídeos, as palavras amigas e confortantes foram primordiais para eu chegar onde estou hoje. Mirella, obrigada por me auxiliar nesse trabalho, e “Migos da Camionete Branca”, obrigada! O mundo é todo nosso, amo vocês demais e juntos vamos além!

Professora e orientadora Glória Regina Botelho, obrigada, pois o meu entusiasmo em trabalhar e pesquisar foi graças ao seu voto de confiança depositado em mim no ano de 2019, isso me tornou forte e muito confiante para hoje eu estar com meu trabalho pronto e com grandes resultados.

Aos colegas Sabrina Rodrigues, Gabriela Izidoro, Claudemar e Renan Adamcheski, obrigada pela parceria, a ajuda de vocês foi essencial.

Enfim, a todos vocês que participaram: agradeço e desejo muito sucesso.

“Nunca, jamais desanimeis, embora venham ventos contrários.”

- Santa Paulina

RESUMO

O alho (*Allium sativum*) é a hortaliça que ocupa o quarto lugar em importância econômica no Brasil, sendo predominantemente cultivada por pequenos e médios produtores do país (SEDOGUCHI *et al.*, 2002). Devido à importância dessa cultura para várias regiões e ao consumo nacional, a incidência de doenças na lavoura do alho tem causado transtornos e preocupações aos produtores pela perda de produção, podendo chegar a 100% (MESQUITA, 2018). Uma das principais doenças é a podridão branca causada pelo fungo *Sclerotium cepivorum*. Essa doença é severa na cultura, podendo ter lavouras grandes totalmente destruídas dependendo da infestação do patógeno (fungo) e das condições favoráveis do desenvolvimento desse (OLIVEIRA; REIS, 2013). O fungo *Sclerotium cepivorum* possui grande resistência no campo, pois seus escleródios podem sobreviver nos solos por vários anos e em diversas condições climáticas (MARCUIZZO; SCHMOELLER, 2017). Com isso, torna-se difícil o controle nas lavouras de alho. A utilização de microrganismos para o controle de doenças tem tornado o cenário de controle biológico mais utilizado nas lavouras de diversas culturas, incluindo a do alho. Estudos destacam o gênero *Bacillus*, que possui a capacidade de formar endósporo e apresentar uma pluralidade de mecanismos antagônicos (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010), capacitando-o a combater doenças fúngicas como a podridão branca. Nesse sentido, objetivou-se utilizar isolados de bactérias do gênero *Bacillus* para avaliar a capacidade de controle biológico de *S. cepivorum* (podridão branca) *in vitro*, bem como avaliar o antagonismo desses isolados sobre o fungo na cultura do alho. Para a avaliação *in vitro*, utilizou-se nove isolados de *Bacillus* EB01, EB15, EB17, EB27, EB21, EB22, EB25, EB26 e um isolado denominado CBS01-20. Dos nove isolados testados, cinco apresentaram capacidade de controle *in vitro*. Foram feitas duas avaliações do potencial de controle da doença na cultura do alho em condição controlada. No primeiro, dos quatro isolados testados (EB15, EB17, EB18 e EB27), destacou-se o isolado EB17 com melhor média em controle da doença, massa seca de bulbo e de parte aérea. No segundo teste de antagonismo de *S. cepivorum in vivo*, dos quatro isolados testados (CBS01-20, EB15, EB21 e EB22), o isolado EB22 se destacou no controle da doença, bem como, no estímulo ao crescimento da cultura.

Palavras-chave: Hortaliça. Doenças de solo. Fungo fitopatogênico. Microrganismos. *Bacillus*.

ABSTRACT

The garlic (*Allium Sativum*) is the vegetable crops that is ranked in fourth place economic importance in Brazil, being predominantly cultivated by small and medium producers in the country (SEDOGUCHI et al., 2002). Due the importance of this culture in several regions and for national consumption, the appearance of diseases in the garlic crop has caused inconvenience and concerns to producers for the loss of production, which can reach 100% (MESQUITA, 2018). One of the main diseases is the Allium white rot caused by the fungus *Sclerotium cepivorum*. This disease is severe in the culture crop, and may have large crops totally destroyed depending of the pathogen infestation (fungus) and favorable conditions for the development (OLIVEIRA; REIS, 2013). The fungus *Sclerotium cepivorum* has a great resistance in the field, because the sclerotia can survive in the soil for several years and in different climatic conditions (MARCUIZZO; SCHMOELLER, 2017). As the result, becomes difficult to control garlic crops, using more products, which have a low result in a way of action and with a high production cost. The use of microorganisms to control diseases has made the biological control scenario more used in crops of different cultures, including garlic. Studies highlight the genus *Bacillus*, which has the ability to form endospores and present a plurality of antagonistic mechanisms (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010), enabling it to combat fungal diseases such as Allium white rot. In this sense, the objective was to isolates a bacteria of the genus *Bacillus* to evaluate the capacity of biological control of *S. cepivorum* (white rot) in vitro, as well as to evaluate the antagonism of these isolates on the fungus in the culture of garlic. For in vitro evaluation, nine *Bacillus* were isolated EB01, EB15, EB17, EB27, EB21, EB22, EB25, EB26 and a isolated denomminated CBS01-20. Of the nine isolates tested, five showed in vitro control capacity. In the evaluation of the disease control in the culture of garlic in low tunnel condition, four were tested EB15, EB17, EB18 and EB27, three stood out with better averages of disease control, bulb weight and part of the area being. In the second test in vivo *S. cepivorum* on the greenhouse of the four isolates tested CBS01-20, EB15, EB21 and EB22, one isolated stood out in controlling the disease, as well as helping in the root growth of the culture.

Keywords: Vegetable. Soil disease. Phytopathogenic fungus. Microorganisms. *Bacillus*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Escleródios de <i>S. cepivorum</i> formados sobre a superfície do bulbo de alho.	16
Figura 2 - Campo de alho atacado pelo fungo <i>S. cepivorum</i>	16
Figura 3 - Placa contendo o fungo <i>S. cepivorum</i> desenvolvido e purificado em meio BDA. ...	20
Figura 4 - Desenvolvimento inicial do fungo <i>S. cepivorum</i>	21
Figura 5 - Frascos contendo meio LB e isolados bacterianos.	24
Figura 6 - Inoculantes produzidos com os isolados bacterianos e a testemunha.	25
Figura 7 - Sementes de alho inoculadas.	26
Figura 8 - Béquer contendo 10 g de solo homogêneo de cada tratamento.	27
Figura 9 - Inibição <i>in vitro</i> do desenvolvimento de <i>Sclerotium cepivorum</i> por isolados de <i>Bacillus</i>	30
Figura 10 - Desenvolvimento radicular no sétimo DAP inoculado com o isolado EB22.	34
Figura 11 - Emergência de bulbilho de alho inoculado o isolado de <i>Bacillus</i> EB22.	35
Figura 12 - Bulbilho inoculado com o isolado EB21 apresentando sintomas da doença podridão branca.	36
Figura 13 - Bulbilho inoculado com CBS01-20, acometido por <i>S. cepivorum</i> causando a doença de podridão branca e ataque de pulgões.	37
Figura 14 - Desenvolvimento radicular de bulbilhos inoculados com isolados EB21 e EB22.	37
Figura 15 - Bulbilho inoculado com isolado EB21.	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise de solo a partir de amostras homogêneas.....	23
Tabela 2 - Grau de inibição (GI) de isolados de <i>Bacillus</i> ao crescimento de <i>S. cepivorum in vitro</i>	30
Tabela 3 - Massa seca do bulbo (g), de alho inoculado com isolado de <i>Bacillus</i> para inibição de <i>S. cepivorum</i>	31
Tabela 4 - Massa seca de parte aérea (g) em alho inoculado com isolado de <i>Bacillus</i> para controle de <i>S. cepivorum</i>	32
Tabela 5 - Massa seca (g) de parte aérea de alho inoculado com isolados de <i>Bacillus</i> para controle de <i>S. cepivorum</i>	34

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 OBJETIVOS	12
1.1.1 Objetivo Geral	12
1.1.2 Objetivos Específicos	12
1.2 JUSTIFICATIVA	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 A CULTURA DO ALHO	14
2.1.1 Panorama do alho em curitibanos/sc	14
2.2 DOENÇAS NA CULTURA DO ALHO	15
2.3 RIZOBACTÉRIAS NO CONTROLE BIOLÓGICO	17
2.4 <i>Bacillus</i> spp. NO CONTROLE BIOLÓGICO DE PLANTAS	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 PURIFICAÇÃO DE <i>Sclerotium cepivorum</i>	19
3.2 TESTE DE ANTIBIOSE <i>in vitro</i>	20
3.2.1 Análises estatísticas	21
3.3 TESTE DE ANTIBIOSE <i>in vivo</i>	22
3.3.1 Preparação de Bulbilhos	23
3.3.2 Preparo dos Inoculantes	24
3.3.3 Plantio	25
3.4 PARÂMETROS AVALIADOS	26
3.4.1 Proteção da Planta	26
3.4.2 Massas úmida e seca da parte aérea	26
3.4.3 Massa úmida e seca do bulbo	27
3.4.4 Análises estatísticas	27
3.5 QUANTIFICAÇÃO DE <i>S. cepivorum</i> NO SOLO INOCULADO	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1 ANTAGONISMO DE <i>S. cepivorum</i> MEDIADO POR <i>Bacillus</i> <i>in vitro</i>	29
4.2 TESTE DE ANTIBIOSE <i>in vivo</i>	31
4.2.1 Experimento 1	31
4.2.2 Experimento 2	33
4.3 QUANTIFICAÇÃO DE <i>S. cepivorum</i> NO SOLO UTILIZADO	38
5 CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

O alho (*Allium sativum*) é a hortaliça que ocupa o quarto lugar em importância econômica no Brasil, sendo predominantemente cultivada por pequenos e médios produtores do país (SEDOGUCHI *et al.*, 2002).

Na safra de 2019, a cultura contou com 11.219 hectares de área plantada e foram colhidas 131.523 toneladas com uma produtividade média 11.734 kg (IBGE, 2019).

Santa Catarina, na safra 2020/21 obteve produção de 14.700 kg, mantendo-se no terceiro lugar de produção de alho do país (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, 2021). A região Sul tem como característica principal a produção de variedades do grupo nobre. Esse grupo possui relevância na produção e na alta sanidade, o que garante maior longevidade do produto nas prateleiras (FOLTRAN, 2011).

Devido à importância dessa cultura e o alto consumo nacional, a incidência de doenças na lavoura do alho tem causado transtornos e preocupações aos produtores pela perda de produção, podendo chegar a 100% (MESQUITA, 2018). Uma das principais doenças é a podridão branca, causada pelo fungo *Sclerotium cepivorum* (ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PRODUTORES DE ALHO, 2004). Essa doença é severa na cultura, podendo haver grandes lavouras totalmente destruídas, dependendo da infestação do patógeno e de condições favoráveis ao seu desenvolvimento (OLIVEIRA; REIS, 2013).

O fungo *Sclerotium cepivorum* possui grande resistência no campo, pois seus escleródios podem sobreviver nos solos por vários anos e em diversas condições climáticas (MARCUSO; SCHMOELLER, 2017), com isso, torna-se difícil seu controle nas lavouras. Os sintomas e danos dessa doença aparecem nitidamente com o crescimento anormal e a murcha da planta, o amarelecimento e morte das folhas mais velhas e o apodrecimento parcial e/ou total dos bulbos (DOMINGOS, 2015; MESQUITA, 2018).

Instituições de ensino, pesquisa e empresas públicas e privadas buscam o desenvolvimento de alternativas aos atuais métodos de manejo para doenças no alho que têm sido pouco eficazes (BETTIOL, 1991; OGAWA, 2012). O método químico se mostra pouco viável, pois possui baixa eficiência no controle da doença e eleva o custo de produção (OLIVEIRA; REIS, 2013).

Neste sentido, o controle biológico vem crescendo gradualmente na cultura do alho, por ser um método com manuseio mais seguro, eficaz, menos agressivo ambientalmente e preço mais baixo, quando comparado ao controle químico (PAVAN, 2015). O controle biológico de doenças de plantas é uma junção de atividades de diferentes microrganismos (vírus, bactérias,

fungos, ácaros, protozoários e nematoides) que agem no parasitismo, na competição e como inibitórios, com a capacidade de produzir antibióticos e secreções (PARRA *et al.*, 2002; RODRIGUES, 2019).

A utilização de microrganismos tem tornado o cenário mais atrativo, pois diversas são as culturas que já utilizam essa ferramenta, como demonstrado no trabalho de Zucareli *et al.* (2018) com a inoculação de *Bacillus subtilis* na cultura do feijão. Estudos destacam rizobactérias do gênero *Bacillus*, que possuem capacidade de formar endósporo, apresentam pluralidade de mecanismos antagônicos (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010) e potencial de antibiose com capacidade de produzir metabólitos com efeito inibitório a outros microrganismos (MONTEIRO, 2002).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Verificar a viabilidade de isolados do gênero *Bacillus* para controle biológico do fungo *Sclerotium cepivorum*.

1.1.2 Objetivos Específicos

Quantificar eficácia dos isolados *in vitro* através de análises qualitativa e quantitativa de grau de inibição;

Avaliar a eficiência dos isolados para o controle do *Sclerotium cepivorum* na cultura do alho em condições controladas.

1.2 JUSTIFICATIVA

Apesar da cultura do alho possuir visibilidade, alguns aspectos podem ser melhorados na sua produção, tais como, o uso de agroquímicos que ocasionam uma pressão de seleção de pragas e doenças e ao alto custo de produção, em virtude de não possuir cultivares melhoradas geneticamente (OLIVEIRA; REIS, 2013).

Dentre as doenças na cultura do alho, a Podridão Branca do Alho (*Sclerotium cepivorum*) se destaca por seus escleródios serem de difícil controle, devido à alta resistência a

agroquímicos e por sua elevada dispersão (REIS, 2011).

Neste contexto, formas alternativas de manejo dessa doença vêm sendo estudadas e aplicadas, destacando-se o controle biológico (PARRA *et al.*, 2002) que utiliza microrganismos antagonistas, como as bactérias do gênero *Bacillus*, que possuem mecanismos diversos de inibição, tais como produção de antibióticos peptídicos com a capacidade de controlar alguns gêneros de fungos e bactérias fitopatogênicas (DERIGHELO, 2017; RODRIGUES, 2019).

Portanto, testar isolados de *Bacillus* como forma de controlar e/ou amenizar doenças como a Podridão Branca no Alho, é necessário para uma agricultura que busca, a cada dia, aumentar a produtividade do alho, diminuir custos de produção e ambientais, além de manter a sanidade das plantas na colheita que, conseqüentemente, auxiliarão na estocagem e vida útil do produto.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A CULTURA DO ALHO

O alho pertencente à família Alliaceae. É uma planta herbácea, de propagação vegetativa, com folhas lanceoladas (alongadas), estreitas e cerosas (RESENDE; HABER; PINHEIRO, 2011). No que se refere a propagação do alho, o preparo do alho-semente deve ser realizado cuidadosamente, para que não lesione os bulbilhos que serão plantados, bem como a eliminação dos bulbilhos com defeitos (LUCINI, 2016).

Conforme estudos realizados por Lucini (2003), o ciclo do alho se caracteriza por três fases. A primeira fase, inicia-se com a brotação; a segunda fase, é observada a partir da emissão de folhas novas e se estende até o início da diferenciação e a terceira fase, refere-se ao desenvolvimento dos bulbilhos até a maturação completa do bulbo.

De acordo com a variedade, o bulbo pode ser formado por número diferenciado de bulbilhos ou “dentes de alho” (LEONÊZ, 2018). São utilizados comercialmente como condimento *in natura*, liofilizados, em pasta ou em conserva (ARRUDA, 2016). A Portaria n. 242 de 17 de setembro de 1992 designa a cultura do alho classificada em dois grupos baseados na cor da película do bulbilho (branco ou roxo), em subgrupos (número de bulbilhos, menos de 20 bulbilhos por bulbo é nobre e acima de vinte é comum) e em cinco classes (dependendo do diâmetro transversal do bulbo) (BRASIL, 1992).

2.1.1 Panorama do Alho em Curitiba/SC

A importância da produção do alho, iniciou-se nos anos de 1977, em que o município de Curitiba/SC foi identificado como grande produtor, utilizando, inicialmente, diversas variedades, como Chonan. Na década de 80 foram introduzidas as variedades Caçador e Quitéria e foram classificadas como as melhores variedades para a produção, qualidade e adaptabilidade para a região (BOEING; SEBEN, 1995). Essas teriam potencial igual e/ou superior às variedades importadas (ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PRODUTORES DE ALHO, 2004).

Segundo dados do IBGE (2019), o aumento da produção do alho em Curitiba, atingiu seu ápice na safra de 1987/1988, em que a produção passou de 18 toneladas para 24 toneladas. Esse aumento na produção, resultou em pesquisas voltadas ao alho, assistência técnica e liberação de recursos de créditos aos produtores rurais da região (COMPANHIA INTEGRADA

DE DESENVOLVIMENTO AGRÍCOLA DE SANTA CATARINA, 2017). Posteriormente, houve redução na produção da região, em decorrência a diversos fatores econômicos e fitossanitários.

Atualmente, a cultura vem crescendo, gradualmente, na região de Curitibanos, onde, na safra de 2019/20, o alho contou com 926 hectares de área plantada e produtividade média de 9.000 kg por hectare (IBGE, 2019). Apresenta margem bruta (MB) positiva em R\$2,08 por quilograma e margem líquida (ML) positiva em R\$1,60 por quilograma (CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL, 2019), com isso, alcançando maior área plantada, com produtividade significativa.

Na região de Curitibanos/SC, o primeiro foco da doença Podridão Branca ocorreu no ano de 1991. A partir desse ano, mais lavouras apresentaram sintomas em reboleira da doença. Nos anos de 1996, 2001 e 2002, os proprietários dessas lavouras se prontificaram e logo as áreas foram isoladas e, prontamente, as sementes foram destinadas ao consumo (LUCINI, 2004).

2.2 DOENÇAS NA CULTURA DO ALHO

A cultura do alho possui alta incidência de doenças em campo, sendo foliares e radiculares (EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA, 2002). Entre as principais doenças foliares, a ferrugem causada pelo fungo *Puccinia porri* (D.C.) Rud, pode afetar a planta de alho em diferentes fases do seu desenvolvimento. Os sintomas ocorrem no limbo foliar, em que há a presença de numerosas pústulas pequenas e com o rompimento dessas, há exposições de massa pulverulenta, de cor amarela, constituída por uredósporos do fungo (PRIA; ZAGONEL; FERNANDES, 2008).

Dentre as doenças veiculadas pelo solo mais prejudiciais à cadeia produtiva do alho, destaca-se a podridão branca, causada pelo fungo *Sclerotium cepivorum* que é um fungo denominado imperfeito (Deuteromiceto) da ordem *Mycelia sterilia* (NUNES, 1992). Esse fungo causa sintomas e danos na planta do alho como o amarelecimento de folhas mais velhas e sua senescência, diminuindo a fotossíntese e, conseqüentemente, fotoassimilados, prejudicando o desenvolvimento dos bulbilhos (OLIVEIRA; REIS, 2013). No pseudocaule ocasiona um aspecto enegrecido que se alastra até as raízes causando a podridão, que pode ser facilmente arrancadas do solo (MARCUIZZO; SCHMOELLER, 2017). Em epidemias avançadas ocasiona o apodrecimento do bulbo, acarretando perdas severas na produção.

O patógeno possui estrutura de sobrevivência, o escleródio, que se forma em torno do

bulbo, garantindo sua sobrevivência ao longo das safras (SIQUEIRA; REIS, 2015) (Figura 1). A disseminação desse fungo ocorre pela própria água de irrigação, maquinário, implementos agrícolas e o trânsito de pessoas na lavoura (REIS, 2011), assim como caixas sujas de plástico usadas com outras hortaliças.

Figura 1 - Escleródios de *Sclerotium cepivorum* formados sobre a superfície do bulbo de alho.



Fonte: Domingos (2015).

Em condições favoráveis de baixa temperatura e alta umidade e na presença do hospedeiro, o escleródio de *Sclerotium cepivorum* germina, podendo infectar as plantas de alho (SOUSA, 2019). A cultura em questão, é suscetível à doença durante todo o seu ciclo de produção, sendo comum observar os sintomas em reboleira (SOUZA, 2019) (Figura 2).

Figura 2 - Campo de alho atacado pelo fungo *Sclerotium cepivorum*.



Fonte: Lucini (2013).

2.3 RIZOBACTÉRIAS NO CONTROLE BIOLÓGICO

Mundialmente, diante dos problemas atuais, a agricultura é uma das atividades produtivas de maior importância para qualquer nação. Porém, para seu sucesso deve haver qualidade e cuidados ambientais, destacando tecnologias de manejo de doenças e pragas que afetam as culturas. Neste sentido, destaca-se o manejo do controle biológico utilizando microrganismos, como as rizobactérias (GARCIA *et al.*, 2015).

Utiliza-se o termo rizobactérias para designar bactérias do solo capazes de colonizar o sistema radicular das plantas e a rizosfera (PERSELLO-CARTIEAUX *et al.*, 2003). Essas são dinâmicas, pois apresentam capacidade de estimular o crescimento de plantas diretamente e/ou inibir e impedir o desenvolvimento de microrganismos patogênicos (DURÉ *et al.*, 2018).

Diversos são os mecanismos que as rizobactérias podem exercer, tais como: produção de sideróforos, indução de resistência, antibiose e a produção de fitohormônios (HARTHMANN *et al.*, 2007; BALBINOT, 2018). Além desses, as rizobactérias podem colonizar rapidamente o sistema radicular das plantas, prevenindo, assim, a invasão de patógenos (HARTHMANN *et al.*, MARIANO *et al.*, 2005).

Neste sentido, destacam-se algumas Rizobactérias, como aquelas pertencentes aos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Rhodococcus* (CORRÊA; BETTIOL; SUTTON, 2005).

2.4 *Bacillus* spp. NO CONTROLE BIOLÓGICO DE PLANTAS

Dentre os gêneros de bactérias benéficos às plantas, destaca-se *Bacillus*, pois sobrevivem nos solos por terem a capacidade de formar endósporos resistentes a diversas condições ambientais e edáficas (BRAGA JUNIOR *et al.*, 2017). Além disso, são produtoras de metabólitos secundários, como os antibióticos peptídicos que podem ser classificados como biosurfactantes. Esses antibióticos possuem um amplo espectro de atividades, incluindo a de agente antifúngico (MONTEIRO, 2002). Segundo Neves (2001), em seu estudo realizado utilizando bactérias do gênero *Bacillus* para avaliar o potencial de controle da doença Queima Bacteriana da Cebola (*Pseudomonas marginalis*), o autor obteve 36,48% de redução no número de lesões, 22,44% de incremento na massa fresca, 131,13% na massa seca de bulbos e 219,55% de incremento na massa seca de raízes de cebola. O estudo sugeriu que a produção de antibióticos foi uma forma eficiente ao controle do fitopatógeno.

Para Dorighello (2017), *Bacillus* sugere excelente potencialidade por produzirem toxinas e que ao serem empregados na produção agrícola, podem inibir microrganismos que

não são de interesse para a produção. Isto é devido às características do gênero, de sobreviver nos solos por possuírem endósporos resistentes a diversas condições climáticas (RODRIGUES, 2019). Ainda possuem a capacidade de aumentar a resistência de plantas a diversos estresses ambientais e de escassez nutricional do solo (RADONS, 2016). Além disso, sua multiplicação, baseia-se em utilizar meios de cultura de baixo custo, aumentando a capacidade de utilização biotecnológica (CLEMENTE *et al.*, 2016).

O controle de doenças em campo e em pós-colheita por *Bacillus* é atribuído, principalmente, ao mecanismo denominado de antibiose, pois diversos isolados desse gênero são reconhecidamente produtores de compostos bioativos (que causam efeito de inibição sobre um organismo vivo) (KUPPER; GIMENES-FERNANDES; GOES, 2003). Além disto, esse microrganismo possui capacidade de indução de resistência em plantas (DORIGHELLO, 2017).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho iniciou no ano de 2020, no laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Santa Catarina, CBS01, *Campus* de Curitibanos.

Primeiramente, foi realizada a purificação em placas de Petri do fungo causador da doença podridão branca (*Sclerotium cepivorum*). O fungo foi obtido do estoque utilizado no trabalho de conclusão de curso da Engenheira Agrônoma Sabrina Rodrigues, em 2019.

As bactérias do gênero *Bacillus* utilizadas fazem parte da coleção de Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas do Laboratório de Microrganismos Promotores de Crescimento de Plantas (LMPCP). Os isolados testados foram obtidos do solo e rizosfera de alho coletados na fazenda Dias, em Curitibanos, pelo desenvolvimento do trabalho de conclusão de curso da Engenheira Agrônoma Mariane Rosa Leôncio (2015). Esses passaram por testes para a caracterização fenotípica, e alguns foram identificados geneticamente (sequenciamento do gene 16S rRNA), em nível de gênero, foram os isolados EB01, EB02, EB04, EB05, EB07, EB09, EB10, EB11, EB12, EB15, EB16, EB23, EB25 e EB26 (RODRIGUES, 2019).

3.1 PURIFICAÇÃO DE *Sclerotium cepivorum*

A purificação do fungo foi realizada em laboratório, em fluxo laminar para a repicagem do patógeno, em placas de Petri contendo meio BDA (Batata, Dextrose, Ágar). O fungo foi disposto no centro das placas que foram envoltas por filme plástico de Parafilm® para evitar contaminação e incubado em incubadora BOD, à temperatura de 25°C, com fotoperíodo de 12 horas (XAVIER, 2016) (Figura 3).

Figura 3 - Placa contendo o fungo *Sclerotium cepivorum* desenvolvido e purificado em meio BDA com 3 dias de incubação a 25°C.



Fonte: Registro da autora (2020).

3.2 TESTE DE ANTIBIOSE *in vitro*

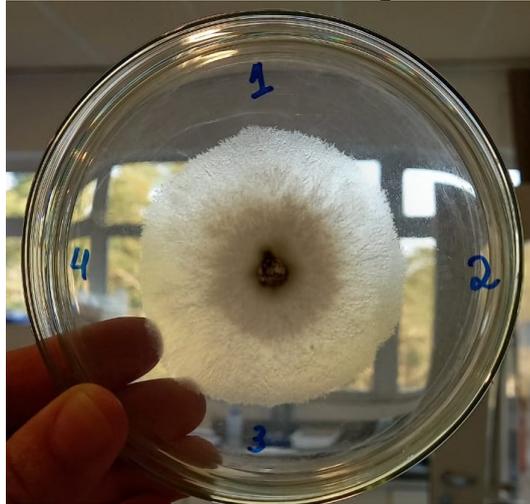
Para os testes de antibiose foram utilizados oito isolados de *Bacillus* sendo esses: EB01, EB15, EB17, EB27, EB21, EB22, EB25 e EB26, e um isolado bacteriano denominado CBS01-20.

Inicialmente, os nove isolados de bactérias foram acondicionados, individualmente, em tubos contendo 5 mL de meio LB (Luria Bertani) líquido (pH 7,0), e incubados em estufa por 48 horas em 27°C.

Simultaneamente, discos de micélios do fungo *Sclerotium cepivorum* foram introduzidos ao centro de placas contendo meio Batata – Dextrose - Ágar (BDA), incubados em BOD a temperatura de 25°C, fotoperíodo de 12 horas pelo período de 48 horas (XAVIER, 2016). Após 48 horas, foi realizada a repicagem do fungo, inserindo um disco da colônia fúngica no centro de outras placas contendo BDA e mantidas nas mesmas condições descritas anteriormente, modificando apenas o período de incubação para 24 horas.

No momento da inoculação dos isolados bacterianos, o fungo *S. cepivorum* possuía período de 24 horas de crescimento (de modo a ocupar a metade do diâmetro da placa). Um volume de 50µL da suspensão de cada isolado foi transferido para quatro pontos equidistantes de cada placa (Figura 4). Cada isolado continha cinco repetições e foram mantidos em BOD à temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas.

Figura 4 - Desenvolvimento inicial do fungo *Sclerotium cepivorum*.



Fonte: Registro da autora (2020).

As avaliações foram realizadas a partir das 24 horas após a inoculação dos isolados, com intervalo de 24 horas entre cada avaliação por um período de sete dias. Nesse teste foi realizada análise qualitativa, observando-se presença ou não de halos de inibição.

Os isolados que apresentaram halo de inibição ao crescimento do fungo no teste descrito, foram submetidos a uma segunda avaliação, realizando-se a medição do halo de inibição (mm), utilizando uma régua milimetrada, e em seguida calculou-se o grau de inibição, conforme descrito por Rodrigues (2019):

$$GI = \left\{ \frac{(Dtf - Dcf)}{Dtf} / Hi \right\}$$

Em que: Dtf = Diferença entre o desenvolvimento do fungo na placa sem a presença do controle (bactéria); Dcf=Diferença entre o desenvolvimento do fungo na placa com a presença do controle (bactéria); Hi = Halo de Inibição, descontando o tamanho da colônia bacteriana.

3.2.1 Análises estatísticas

Esses testes foram conduzidos em DIC (Delineamento Inteiramente Casualizado). Os resultados do grau de inibição foram submetidos ao teste F de análise da variância (ANAVA), em nível de 5% de significância. Havendo diferença significativa, procedeu-se ao teste de comparação de médias de Tukey, em nível de 5% de significância, através do programa Sisvar (versão 5.6).

3.3 TESTE DE ANTIBIOSE *in vivo*

Essa análise foi realizada em dois experimentos. No primeiro experimento, utilizou-se isolados de *Bacillus* que obtiveram melhores resultados de inibição de crescimento a *S. cepivorum in vitro*, no trabalho de conclusão de curso da Engenheira Agrônoma Sabrina Rodrigues, no ano de 2019, na Universidade Federal de Santa Catarina, *Campus* de Curitibanos. Os isolados bacterianos utilizados foram: EB15, EB17, EB18 e EB27. Esse primeiro experimento foi realizado no ano de 2020.

Iniciou-se realizando o preparo de 2 L de meio LB (Luria Bertani) em pH 7,0, dividindo essa quantidade total em quatro béquer com o volume de 500 mL cada. Após, os recipientes foram levados ao fluxo laminar, realizando a inoculação dos isolados e levados à estufa em 28°C por 48 horas. Passado esse período de tempo, procedeu-se à desinfestação das sementes de alho da variedade Chonan e mergulhados no meio por 1 hora. Após, realizou-se a semeadura em vasos contendo solos infectados com escleródios do fungo *S. cepivorum*, em bancadas e túnel baixo. Nesse solo, oriundo de uma propriedade rural do interior do município de Frei Rogério/SC, observou-se alta incidência da doença nas plantas de alho em campo, identificando seus sintomas nas plantas e a presença de escleródios do fungo no solo. Os tratamentos desse experimento foram: T1 testemunha; T2 isolado EB15; T3 isolado EB17; T4 isolado EB18 e T5 isolado EB27. O delineamento experimental foi realizado em BC (Blocos Casualizados) em que foi realizada a distribuição ao acaso

No segundo experimento da avaliação de antagonismo foram utilizados os isolados bacterianos que obtiveram melhores resultados no teste de antagonismo *in vitro*, sendo os isolados: CBS01-20, EB15, EB21 e EB22.

Este experimento foi realizado na casa-de-vegetação da Universidade Federal de Santa Catarina – *Campus* Curitibanos no ano de 2021. Foi conduzido em bancada e em vasos com solos oriundos da mesma propriedade rural do interior do município de Frei Rogério/SC, do primeiro experimento. A amostra foi submetida a análise de solo (Tabela 1).

Tabela 1 - Análise de solo.

Argila %	Índice SMP -	Fósforo mg/dm ³	Potássio cmolc/dm ³	Potássio %	Alumínio cmolc/dm ³	Cálcio cmolc/dm ³	Magnésio cmolc/dm ³	
36	6,5	61,24	0,16	1,37	<0,01	4,91	3,89	
Magnésio (%)	pH 1:1	Saturação de bases cmolc/dm ³	CTC efetiva cmolc/dm ³	Cálcio na CTC Efetiva %	Magnésio na CTC efetiva %	Potássio na CTC efetiva %	Saturação por alumínio %	
34,11	6,0	9,0	8,47	54,73	43,42	1,75	0,00	
Cálcio/ potássio -	Magnésio/ Potássio -	Ferro mg/dm ³ -	Manganês mg/dm ³	Cobre mg/dm ³	Zinco mg/dm ³	Boro mg/dm ³	Enxofre mg/dm ³	Areia %
31,34	24,86	183,41	<1,11	4,91	1,52	0,32	<4,54	20

Fonte: Terranálise (2021).

A partir da análise de solo e baseado no Manual de Calagem e Adubação para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (2016), obteve-se a seguinte recomendação: o solo apresenta fertilidade média, em que, se fosse realizada a adubação NPK, seria apenas para a manutenção dos macronutrientes. Em relação à micronutrientes essenciais à cultura do alho (Zn e B), apresentava fertilidade alta, em que, se realizada a adubação, seria para reposição. O pH apresentado era de valor 6,0, não havendo a necessidade de calagem, pois esse é o valor ideal de pH para a produção da cultura.

O solo apresentava 36% de argila, sendo classificado como solo com teor de argila classe 3.

Para esse teste, realizou-se a inoculação do fungo *S. cepivorum* nos vasos de solos antecedendo o plantio do alho, a partir da metodologia de BARBOSA *et al.* (2010).

3.3.1 Preparação de Bulbilhos

A variedade utilizada para os experimentos descritos acima foi a Chonan (semeadura indicada para os meses de Jun/Jul), com ciclo total de 160 dias, tamanho de bulbilho classificado em classe 3, possuindo aproximadamente 5 g cada bulbilho. Foi realizada a vernalização no mês de fevereiro, a 4°C, por um período de 30 dias.

Os tratamentos foram T1 CBS01-20; T2 EB15; T3 EB21; T4 EB22 e T5 Testemunha. Cada um possuía cinco repetições. Foram utilizados 50 bulbilhos, sendo semeados dois por vaso.

3.3.2 Preparo dos Inoculantes

No preparo dos inoculantes, iniciou-se com a inoculação de cada isolado (CBS01-20, EB15, EB21 e EB22) em frascos contendo 40mL de meio LB (Luria Bertani) líquido (pH 7,0) (Figura 5) e mantidos na estufa por 24 horas a 28°C.

Figura 5 – Inoculantes contendo isolados bacterianos e testemunha.



Fonte: Registro da autora (2021).

Para a produção do inoculante, a quantidade de turfa a ser utilizada foi baseada em recomendações de fabricantes de inoculantes que prescrevem 150 g de inoculante para 60 kg de sementes de leguminosas.

Considerando que cada bulbilho continha aproximadamente 5 g, realizou-se o seguinte cálculo:

$$\begin{aligned} 1 \text{ bulbilho} &- 5 \text{ g} \\ 50 \text{ bulbilhos} &- x \\ x &= 250 \text{ g de bulbilhos} \end{aligned}$$

Com o resultado do peso dos bulbilhos, e baseado na recomendação de fabricantes, procedeu-se o cálculo para obter a quantidade de turfa utilizada para cada tratamento:

$$\begin{aligned} 60.000 \text{ g de semente} &- 150 \text{ g de turfa} \\ 250 \text{ g de bulbilhos} &- y \\ y &= 0,63 \text{ g de turfa} \end{aligned}$$

Devido ao tamanho da semente de alho, Mazzuco (2020) descreveu a necessidade de

dobrar a quantidade de turfa para melhorar a cobertura das sementes e, conseqüentemente, a adesão das bactérias inoculadas. Com isso, cinco Beckers de 50 mL receberam 1,26 g de turfa que foram esterilizados. Cada frasco correspondia a um dos tratamentos inoculados com às quatro bactérias e à testemunha que não recebeu inoculação.

Após 24 horas de incubação dos isolados, baseado em Mazzuco (2020), calculou-se a quantidade de cada suspensão bacteriana a transferida para as turfas e, desta maneira, compor o inoculante:

$$20 \text{ mL de solução bacteriana} - 20 \text{ g de turfa}$$

$$z - 1,26 \text{ g}$$

$$z = 1,26 \text{ mL de solução bacteriana}$$

Cada um dos quatro Beckers contendo a turfa, recebeu o volume calculado de cada suspensão bacteriana. Esses e a testemunha foram acondicionados a 28 °C por um período de 72 horas (Figura 6).

Figura 6 – Inoculantes produzidos com os isolados bacterianos e a testemunha.



Fonte: Registro da autora (2021).

3.3.3 Plantio

No dia do plantio, preparou-se 1,5 mL de solução açucarada 10% (recomendação dos fabricantes) para melhor aderir a turfa inoculado aos bulbilhos sementes. Os bulbilhos utilizados foram acondicionados em sacos plásticos, aos quais acrescentou-se as turfas inoculadas com os isolados bacterianos e a testemunha (sem inoculação) (Figura 7). As sementes foram secas à sombra e procedeu-se o plantio no dia 27 de março de 2021.

Figura 7 - Sementes de alho inoculadas.



Fonte: Registro da autora (2021).

Esse experimento foi realizado em DBC (Delineamento em Blocos Casualizados), em que foi realizada a distribuição ao acaso contendo cinco repetições cada.

3.4 PARÂMETROS AVALIADOS

Nos dois experimentos de antibiose *in vivo* realizados, foram avaliadas três características: proteção da planta ao *S. cepivorum*, massa úmida e seca da parte aérea (g) e massa úmida e massa seca do bulbo (g).

3.4.1 Proteção da Planta

Essa avaliação foi realizada a partir da incidência da doença, observando, semanalmente, as plantas até os 45 DAP (Dias Após o Plantio), avaliando-se o desenvolvimento da cultura do alho, sintomas aparentes da doença podridão branca nas plantas e a presença de escleródios sobre o solo.

3.4.2 Massas úmida e seca da parte aérea

A massa úmida (g) das folhas foi efetuada pela pesagem, utilizando-se uma balança eletrônica de precisão (LS1). Em seguida, foram acondicionadas em sacos de papel para realizar a secagem, com a utilização de estufa com ventilação forçada a 50°C por cinco dias. Após, foram pesadas para determinação da massa seca (g).

3.4.3 Massa úmida e seca do bulbo

A massa úmida (g) dos bulbos foi efetuada pela pesagem, utilizando-se uma balança eletrônica de precisão (LS1). Em seguida, foram acondicionados em sacos de papel para realizar a secagem, com a utilização de estufa com ventilação forçada a 50°C por cinco dias. Após esse período os bulbos já se encontravam secos e foram pesados para determinação da massa seca (g).

3.4.4 Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos ao teste F de análise da variância (ANAVA), em nível de 5% de significância, havendo diferença significativa, procedeu-se ao teste de comparação de médias de Tukey, em nível de 5% de significância, através do programa Sisvar (versão 5.6).

3.5 QUANTIFICAÇÃO DE *S. cepivorum* NO SOLO INOCULADO

Para realizar a contagem do fungo *S. cepivorum* no solo utilizado no segundo experimento *in vivo*, realizou a diluição seriada do mesmo, após a conclusão do experimento. Inicialmente foram retirados 10 g de solo de cada vaso referente a um tratamento, perfazendo um total de 50 g em que foi realizada a homogeneização. Dos 50 g de solo de cada tratamento, retirou-se uma alíquota de 10 g para a realização da técnica (Figura 8).

Figura 8 - Béquer contendo 10 g de solo homogêneo de cada tratamento.



Fonte: Registro da autora (2021).

Após realizar a pesagem da quantidade de solo, utilizando uma balança eletrônica de precisão (LS1), esse foi adicionado em frascos autoclavados de Erlenmeyer contendo 90 mL de solução salina, levados a mesa agitadora por 45 minutos, a agitação de 150 rpm. Passados os 45 minutos, cada amostra foi diluída seriadamente em tubos contendo 9 mL de solução salina 0,9%. As diluições foram realizadas de 10^{-1} a 10^{-5} . 0,1 mL das diluições de 10^{-3} a 10^{-5} de cada

tratamento foram plaqueadas em Placas de Petri contendo meio Sabouraud, com três repetições, incubados em BOD a 25°C, com fotoperíodo de 12 horas por um período de quatro dias.

Para a contagem, utilizou a diluição que apresentou em suas placas de 30 a 300 UFC (Unidade Formadora Colônia).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

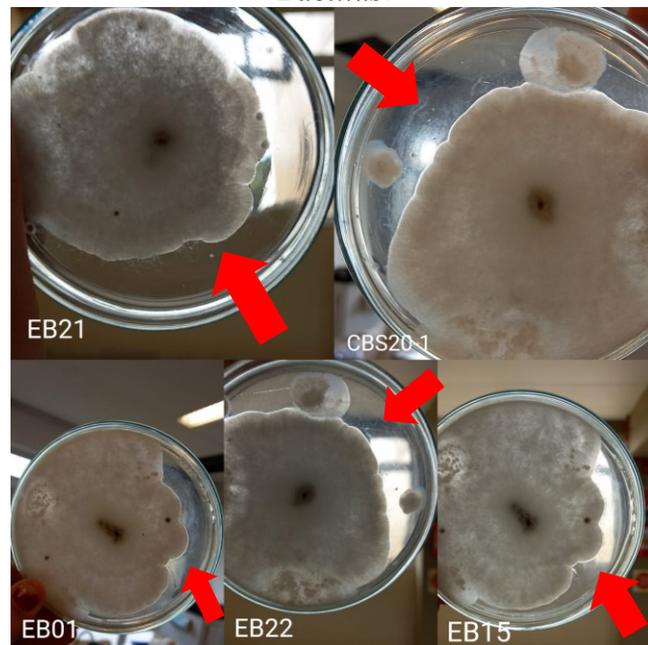
4.1 ANTAGONISMO DE *S. cepivorum* MEDIADO POR *Bacillus in vitro*

Dos nove isolados testados, cinco (55,5%) apresentaram halo de inibição sobre o fungo *S. cepivorum* (Figura 9), sendo os isolados bacterianos EB01, EB15, EB21, EB22 e CBS01-20, sugerindo potencial controle biológico de doenças.

A presença de halo de inibição sugere que a bactéria produz substâncias que inibem o desenvolvimento fúngico, delimitando o seu crescimento no meio (MONTEIRO, 2002). Diversos trabalhos discutem resultados positivos de inibição *in vitro* de crescimento de fungos patogênicos de plantas, a partir da utilização de bactérias do gênero *Bacillus*, como o estudo de Rodrigues (2019) na cultura do alho e de Garcia *et al.* (2015) na orizicultura, ambos, testando e discutindo a atuação de isolados de *Bacillus* sobre a inibição de crescimento de fungos fitopatogênicos.

Fuga (2013) relatou em seu trabalho que 37 dos seus 46 isolados testados de *Bacillus in vitro* não inibiram o desenvolvimento do fungo *Sclerotium cepivorum*, mas, oito desses isolados reduziram significativamente o crescimento micelial do fungo entre 42,2 e 50,2%. O autor discutiu que, possivelmente, esses isolados que se sobressaíram na redução do crescimento micelial produziram metabólitos secundários extracelulares, dentre esses, a produção de antibiótico, que mesmo em quantidades mínimas, podem reduzir, consideravelmente, o crescimento do fungo fitopatogênico.

Figura 9 - Inibição *in vitro* do desenvolvimento de *Sclerotium cepivorum* por isolados de *Bacillus*.



Fonte: Registro da autora (2020).

Na segunda avaliação, para quantificação do grau de inibição, no teste de médias, utilizando Tukey a 5% de significância, houve diferença estatística entre os isolados testados (Tabela 2).

Tabela 2 - Grau de inibição (GI) de isolados de *Bacillus* ao crescimento de *S. cepivorum in vitro*.

Isolados	Médias (*)
EB01	1,32b
EB15	1,12b
EB21	1,23b
EB22	1,56c
CBS01-20	1,46b
Testemunha	0a
CV = 11,54*	

Fonte: Dados da pesquisa (2021).

*Valores seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Avaliando-se as médias do grau de inibição, observou-se a formação de três grupos: um para a testemunha; o segundo com os isolados EB01, EB15, EB21 e CBS01-20 e o terceiro, com o isolado EB22. Esse apresentou média de 1,56, sendo 71,80% superior ao isolado EB15

que obteve a menor média entre os isolados do segundo grupo. Para o isolado CBS01-20, o de maior média daquele grupo, essa diferença foi de 6,4%. Os resultados sugeriram o isolado EB22 como isolado efetivo para o controle do fungo *S. cepivorum in vitro*, pela redução significativa do crescimento e desenvolvimento micelial do fungo.

O isolado CBS01-20 foi o isolado do segundo grupo que obteve média de 1,46 não diferindo dos demais do seu grupo. Sugere-se que a utilização do isolado CBS01-20 e do isolado EB22 associados, haja maior eficiência quanto ao controle biológico da doença, havendo necessidade de novos estudos. SANTOS *et al.* 2021 descreveu em seu trabalho que de cinco “mix” de um conjunto de quatro isolados bacterianos, atingiram até 90,8% de controle da doença de antracnose no mamoeiro. Esses estudos tornam o cenário agrícola com maiores chances e alternativas de manejo de doenças causadas por fungos patogênicos.

Rodrigues (2019) revelou que 50% dos isolados bacterianos testados de *Bacillus* (EB01, EB15, EB17 e EB27) *in vitro* sobre o fungo *S. cepivorum* causador da doença Podridão Branca foram eficientes quanto à inibição do crescimento do fungo, sugerindo que bactérias desse gênero possuem capacidade de controle da doença. Esses dados também reforçam a sugestão da utilização de “mix” para aumentar a inibição ao fungo *S. cepivorum*.

4.2 TESTE DE ANTIBIOSE *in vivo*

4.2.1 Experimento 1

No primeiro experimento realizado em condições controladas, para o parâmetro massa seca do bulbo (g), houve diferença estatística entre os isolados testados, como apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 - Massa seca do bulbo (g) de alho inoculado com isolado de *Bacillus* para inibição de *S. cepivorum*.

Isolados	Médias (*)
EB15	10,15b
EB17	16,24c
EB18	11,43b
EB27	6,94b
Testemunha	3,4a
CV = 37,85*	

Fonte: Dados da pesquisa (2021).

**Valores seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Avaliando-se as médias da massa seca de bulbo, observou-se a formação de três grupos:

um para a testemunha; o segundo com os isolados EB27, EB15 e EB18 e o terceiro, com o isolado EB17.

O isolado EB17 apresentou média, com incremento 79% em relação a testemunha e de 57,27% em relação ao isolado de menor média (EB27), sugerindo que o isolado EB17 estimulou o acúmulo de massa no bulbo, sendo necessário estudos mais aprofundados para verificar o efeito observado. Mazzuco (2020) utilizou em seu trabalho o isolado EB17 em associação com um isolado de *Pseudomonas* fluorescente, CBS 02 para verificar a capacidade de solubilização de fosfato. O autor observou maior incremento na produção do alho, mesmo sem a adição de SPT (Super fosfato triplo) nos tratamentos com a associação dos dois isolados. Esse ainda sugeriu a potencialidade do isolado EB17 em estimular a absorção de P pela planta, necessário para suprir suas necessidades, através da solubilização de fósforo que induziu o desenvolvimento vegetal, resultando em acréscimo médio de 1,67 kg na produção.

Resende, Haber e Pinheiro (2011) destacaram em seu trabalho a importância que o parâmetro massa seca de bulbo possui quando selecionado comercialmente e na sua utilização para a propagação. Descreveram que, quando o peso é afetado, sugere-se que houve possíveis interferências de pragas e doenças, diminuindo a produtividade, qualidade e, conseqüentemente, a vida útil do produto.

No parâmetro massa seca de parte aérea, houve diferença estatística significativa entre os tratamentos, conforme apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 - Massa seca de parte aérea (g) em alho inoculado com isolado de *Bacillus* para controle de *S. cepivorum*.

Isolados	Médias (*)
EB15	8,00b
EB17	13,86c
EB18	8,89b
EB27	6,38b
Testemunha	2,35a
CV = 35,84*	

Fonte: Dados da pesquisa (2021).

*Valores seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Os valores reduzidos de massa seca foram conseqüências da cultura ter sido fortemente

afetada pelo fungo *S. cepivorum*. Notou-se, em algumas repetições, baixa germinação da semente de alho, por estar infectada pelo patógeno, diminuindo as atividades metabólicas para desenvolvimento da cultura. Entretanto, na análise desta variável, também se observou a formação de três grupos: um para a testemunha; o segundo com os isolados EB15, EB18 e EB27 e o terceiro, com o isolado EB17. O isolado EB17 obteve incremento de aproximadamente 7,48 g, sendo 53,97% superior ao isolado EB27 que apresentou a menor média entre os isolados testados do segundo grupo e 83,04% em relação a testemunha. Esse resultado, assim como o anterior, em relação à massa de bulbos, sugeriu efeito de estímulo ao crescimento do vegetal, podendo estar relacionada à proteção do fungo, sendo necessário aprofundar os estudos para a determinação dos mecanismos de promoção e/ou proteção.

A parte aérea das plantas cultivadas é essencial para o potencial em campo e a qualidade de produção, pois, é a partir das folhas que as plantas realizam a fotossíntese. Lopes (2014) descreveu em seu trabalho que causar efeitos contrários no desenvolvimento normal das folhas de plantas de alho ocorrem alterações na eficiência fotossintética que afetará a partição de assimilados entre a parte aérea e o bulbo em formação.

Dorighele (2017) descreveu em seu trabalho que, utilizando bactérias do gênero *Bacillus* por prevenção da doença de Mofo Branco na Soja (*Sclerotinia sclerotiorum*), essas diminuíram em 45% os danos de área foliar, sugerindo essa medida de prevenção, como método eficiente de manejo. Mazzuchelli; Sossai; Araujo (2014) observaram em seu trabalho que, a utilização de *Bacillus subtilis* possibilitou acréscimo de 15% no desenvolvimento da massa fresca da parte aérea, quando inoculados no milho.

4.2.2 Experimento 2

No segundo experimento realizado *in vivo*, no sétimo DAP (dias após plantio) foi feita uma avaliação qualitativa para verificar a infestação dos bulbilhos por fungo *S. cepivorum*. Além da proteção contra a doença pela inoculação dos isolados bacterianos, avaliou-se o desenvolvimento radicular. Observou-se o desenvolvimento radicular normal em plantas inoculadas com o isolado EB22 (Figura 10), indicando potencialidade de promoção de crescimento/ desenvolvimento radicular das plantas, com isso, sugerindo melhor absorção de água e nutrientes disponíveis às plantas. Rosa (2015) em seu trabalho de caracterização fenológica do alho, demonstrou que o crescimento radicular da cultura, inicia-se no estágio EM (emergência) em que ocorre o surgimento dos primórdios das duas primeiras folhas. Com isso, observou-se que o isolado foi capaz de estimular o desenvolvimento radicular, antes mesmo do

estádio EM, sugerindo que o isolado pode induzir seu crescimento e absorção de nutrientes disponíveis no solo, para melhor atender as necessidades de seu desenvolvimento.

Tsavkelova *et al.* (2006) e Persello-Cartieaux *et al.* (2003) em seus trabalhos, descreveram que o crescimento do sistema radicular de plantas, pode ser induzido por *B. subtilis* e pela a potencialidade na regulação hormonal dessas, através da síntese de hormônios, como auxina, giberilina e citocinina.

Figura 10 - Desenvolvimento radicular no sétimo DAP inoculado com o isolado EB22.



Fonte: Registro da autora (2021).

No parâmetro de massa seca de parte aérea, houve diferença estatística entre os tratamentos, como apresentado na tabela 5.

Tabela 5 - Massa seca (g) de parte aérea de alho inoculado com isolados de *Bacillus* para controle de *S. cepivorum*.

Isolados	Médias (*)
EB15	2,35b
EB22	2,80c
EB21	0,73b
CBS01-20	1,96b
Testemunha	0,19a
CV = 28,43*	

Fonte: Dados da pesquisa (2021).

*Valores seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Mais uma vez, observou-se a formação de três grupos: o primeiro grupo é formado pela testemunha; segundo pelos isolados EB21, CBS01-20 e EB15 e o terceiro pelo isolado EB22, em que obteve acréscimo de 2,07 g na massa seca de parte aérea, quando comparado a inoculação de EB21, de menor média do segundo grupo, sendo 73,63% superior a esse. Quando comparado à testemunha houve acréscimo de 2,61 g, havendo 93,21% de aumento na massa seca de parte aérea. Sugeriu-se que, a utilização do isolado EB22 apresentou grau de proteção do alho ao fungo *S. cepivorum*, bem como, na promoção de crescimento das plantas, sendo necessários novos estudando para aprimoramento de dados.

Aos 14 e 21 DAP, avaliou-se a capacidade de emergência, bem como, sintomas da doença nos bulbilhos, nas plantas e a presença de escleródios no solo (Figuras 11 e 12). O tratamento inoculado com o isolado EB22 sugeriu potencialidade para emergência plena e crescimento da cultura do alho, enquanto o tratamento inoculado com o isolado EB21 apresentou sintomas da doença já no estágio VE, impedindo o crescimento da planta e causando podridão no bulbilho-semente.

Figura 11 - Emergência de bulbilho de alho inoculado o isolado de *Bacillus* EB22.



Fonte: Registro da autora (2021).

Figura 12 - Bulbilho inoculado com o isolado EB21 apresentando sintomas da doença podridão branca.



Fonte: Registro da autora (2021).

Queiroz e Sayd (2019) descreveram que a indução ao desenvolvimento do fungo nas plantas de alho, iniciam com a presença do hospedeiro, de escleródios no solo e condições ambientais favoráveis. Não havendo proteção aos bulbilhos e manejo corriqueiro na produção, haverá infestações rápidas do fungo, impedindo o desenvolvimento de plantas e acarretando perdas significativas. Neste sentido, o uso de microrganismos, como as rizobactérias para biocontrole deve retardar essa infestação, possibilitando o desenvolvimento vegetal.

Na avaliação final, aos 45 DAP, alguns bulbilhos dos tratamentos T5 (testemunha) e T1 (CBS01-20) não emergiram, possivelmente, por apresentarem alta incidência da doença, bem como a infestação de pragas, como o pulgão (*Aphidoidea* sp.), fazendo com que sua capacidade de desenvolvimento fosse completamente acometida (Figura 13). Moura *et al.* (2013) demonstraram a capacidade destrutiva que pulgões possuem sobre as plantas de alho. Esses insetos são sugadores de seiva de plantas, e podem acarretar o tombamento da planta, bem como, na transmissão de doenças (viroses) através da “picada de prova”.

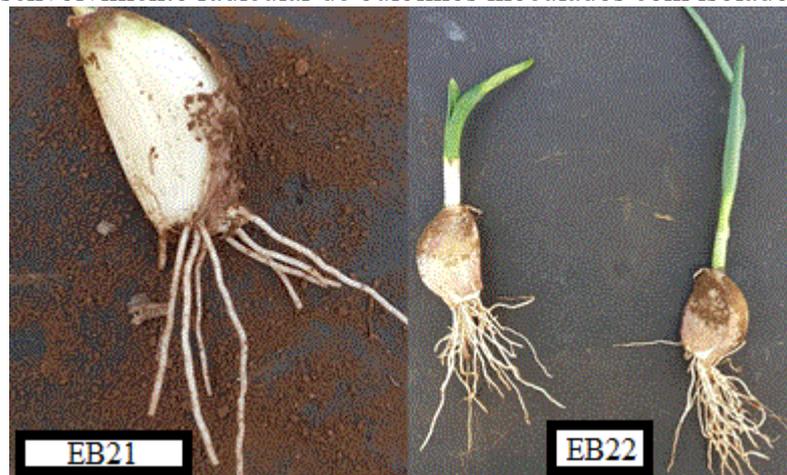
Figura 13 - Bulbilho inoculado com CBS01-20, acometido por *S. cepivorum* causando a doença de podridão branca e ataque de pulgões.



Fonte: Registro da autora (2021).

O isolado EB22 apresentou potencial de proteção às plantas de alho, quanto à infestação do patógeno. As plantas inoculadas com EB22 se desenvolveram normalmente, sugerindo, ainda capacidade de estimulação ao desenvolvimento radicular, quando comparado à inoculação com o isolado EB21 (Figura 14).

Figura 14 - Desenvolvimento radicular de bulbilhos inoculados com isolados EB21 e EB22.



Fonte: Registro da autora (2021).

Sousa, Nascente e Filippi (2019), em seu trabalho utilizando *Bacillus* como promotor de crescimento de plantas na cultura do arroz, destacaram a eficiência dessa rizobactéria, quanto a comprimento radicular. Os autores ainda descreveram que a utilização de sementes inoculadas com esse gênero de bactéria, vem proporcionando à agricultura, plantas com melhor

desenvolvimento em campo, potencializando a produção pela melhor absorção de água e nutrientes e levando à resistência quanto a pragas e doenças.

4.3 QUANTIFICAÇÃO DE *S. Cepivorum* NO SOLO UTILIZADO

A partir da técnica de diluição seriada, obteve-se a quantidade de 42 UFC/mL⁻¹, sugerindo valor expressivo da população do fungo *S. cepivorum* no solo dos tratamentos (MUFATTO *et al.*, 2016). Nesse sentido, sugeriu-se que os tratamentos T3, utilizando o isolado EB21 e T5 (testemunha) foram os mais afetados pelo ataque do fungo, conseqüentemente, no desenvolvimento do vegetal (Figura 15).

Figura 15 - Bulbilho inoculado com isolado EB21.



Fonte: Registro da autora (2021).

O ataque do fungo, nessa fase inicial de desenvolvimento é crucial para o manejo da cultura, pois, poucos são os fungicidas que atuam na fase inicial do desenvolvimento. Com isso, o controle à doença podridão branca é complexo, necessitando de muita atenção no campo, desde a sementeira até a colheita. Realizar manejos durante a cadeia produtiva do alho, como a rotação de cultura e o plantio direto é essencial para o controle de *Sclerotium cepivorum*, bem como, incentivar Universidades, empresas a aprofundarem os estudos com microrganismos,

como as bactérias do gênero *Bacillus* para o uso em TS (tratamento de semente) para a cultura do alho.

5 CONCLUSÃO

Nos testes *in vitro*, os isolados de *Bacillus* EB01, EB15, EB21, EB22 e o isolado CBS01-20 apresentaram halo de inibição significativo ao crescimento do fungo *S. cepivorum*, sendo o EB22 aquele que obteve maior de grau de inibição.

No controle de *S. cepivorum in vivo*, nos dois experimentos do estudo, destacaram-se os isolados EB17 e EB22 que apresentaram maior grau de proteção ao fungo *S. cepivorum*, assim como estimularam o crescimento das plantas em condições controladas, sugerindo potencial de promoção e/ou proteção ao alho.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PRODUTORES DE ALHO (ANAPA). **Nosso Alho**, Ed. 4, set. 2009. Disponível em: http://anapa.com.br/wp-content/uploads/2017/01/Nosso_Alho_N4.pdf. Acesso em: 15 mar. 2021.
- ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PRODUTORES DE ALHO (ANAPA). **Epagri inicia nova etapa de programa que garante alta produtividade do alho catarinense**. ANAPA, 2018. Disponível em: <https://anapa.com.br/epagri-inicia-nova-etapa-de-programa-que-garante-alta-produtividade-do-alho-catarinense/>. Acesso em 25 de mar. 2021.
- ARRUDA, R. S. **Desenvolvimento do alho comum (cateto roxo) submetido a diferentes doses de biofertilizante**. 2016. 52f. Trabalho de conclusão de curso (curso de agronomia). Universidade da integração internacional da lusofonia afro-brasileira, Instituto de desenvolvimento rural, Redenção, CE, 2016. Disponível em: <https://unilab.edu.br/wp-content/uploads/2020/04/Monografia-Rafaela-Alho-2016.pdf>. Acesso em: 22 abr. 2021.
- BALBINOT, W. G. **Inoculação de *Bacillus sp.* na cultura do milho (*Zea mays L.*) como promotor de crescimento**. 2018. 48f. Trabalho de conclusão de curso (graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, SC, 2018. Disponível em: https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/191792/TCC_final.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 22 abr. 2021.
- BARBOSA, R. N. T.; *et al.* Método para inoculação de *Sclerotium rolfsii* em tomateiro. **Revista Agro@ambiente**, On-line, v. 4, n. 1, p. 1-4, jan./jun. 2010. Disponível em: <https://revista.ufr.br/agroambiente/article/viewFile/359/270>. Acesso em 10 de mar. de 2021.
- BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. 388f. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/10080>. Acesso em: 10 mar. 2021.
- BOEING, G.; SEBEN, J. C. **Alho**. Florianópolis: Instituto de planejamento e economia agrícola de Santa Catarina, 1995. 114p. Disponível em: http://docweb.epagri.sc.gov.br/website_cepa/publicacoes/ALHO.pdf. Acesso em 15 de mar. 2021.
- BRAGA JUNIOR, G. M. **Eficiência de *Bacillus subtilis* no biocontrole de fitopatógenos e promotor de crescimento vegetal**. 2015. 87f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, TO, 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Portaria n. 242, de 17 de setembro de 1992**. Aprova a Norma de Identidade, Qualidade, Acondicionamento, Embalagem e Apresentação do Alho. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/normativos-cgqv/pocs/portaria-no-242-de-17-de-setembro-de-1992-alho/view>. Acesso em: 22 abr. 2021.
- COMPANHIA INTEGRADA DE DESENVOLVIMENTO AGRÍCOLA DE SANTA CATARINA (CIDASC). **Plano Safra da Agricultura Familiar terá R\$ 30 bilhões em créditos para produtores rurais**. 2017. Disponível em: <http://www.cidasc.sc.gov.br/blog/2017/06/02/plano-safra-da-agricultura-familiar-tera-r-30->

bilhoes-em-creditos-para-produtores-rurais/. Acesso em: 22 abr. 2021.

CLEMENTE, J. M. *et al.* Use of *Bacillus* spp. as growth promoter in carrot crop. **African Journal of Agricultural Research**, Nairóbi, v. 11, n. 35, p. 3355-3359, Sep. 2016. Disponível em: <https://academicjournals.org/journal/AJAR/article-abstract/2CEC46F60285>. Acesso em: 18 abr. 2021.

CORRÊA, E. B.; BETTIOL, W.; SUTTON, J.C. Controle biológico da podridão radicular (*Pythium aphanidermatum*) e promoção de crescimento por *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 e *Bacillus subtilis* GB03 em alface hidropônica. **Summa Phytopathol.**, v. 36, n. 4, p. 275-281, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/sp/v36n4/a01v36n4.pdf>. Acesso em: 22 abr. 2021.

DOMINGOS, L. B. **Indutores de germinação de escleródios e uso de fungicidas no manejo de *Sclerotium cepivorum***. 2015. 47f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Campus Rio Paranaíba, Minas Gerais, 2016. Disponível em: <http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/7792/texto%20completo.pdf?sequence=1>. Acesso em: 10 mar. 2021.

DORIGHELLO, D. V. **Versatilidade de *Bacillus* spp. no controle biológico de doença de plantas e na promoção de crescimento de soja**. 2017. 136f. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp, Botucatu, 2017. Disponível em https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/151203/dorighello_dv_dr_bot.pdf?sequence=3&isAll. Acesso em: 10 abr. 2021.

DURÉ, L. M. M. *et al.* Seleção e Prospecção de Rizobactérias para o Controle Biológico do Mofo Branco em Espécies de *Crotalaria* spp. **Ensaio e Ciência**, v. 22, n. 2, 2018. Disponível em: <https://revista.pgsskroton.com/index.php/ensaioeciencia/article/view/5536>. Acesso em: 10 abr. 2021.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA (EPAGRI). **Santa Catarina avança na produção de alho e tem safra de 20,2 mil toneladas**. 2017. Disponível em: <https://www.sc.gov.br/index.php/noticias/temas/agricultura-e-pesca/santa-catarina-avanca-na-producao-de-alho-e-tem-safra-de-20-2-mil-toneladas>. Acesso em: 22 abr. 2021.

FOLTRAN, D. E. Relato técnico: pesquisa e produção de alho em Tietê, SP. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 8, n. 2, jul./dez. 2011. Disponível em: http://www.apta regional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/edicao-2011/2011-julho-dezembro/1097-relato-tecnico-pesquisa-e-producao-de-alho-em-tiete-sp/file.html?force_download=1. Acesso em: 10 mar. 2021.

FUGA, C. A. G. **Prospecção de microrganismos e substâncias de origem vegetal para o controle de *Sclerotium cepivorum***. 2013. 52f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Rio Paranaíba, 2013. Disponível em: <http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/2039/texto%20completo.pdf?sequence=1>. Acesso em: 22 abr. 2021.

GARCIA, T. V.; KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Bactérias endofíticas como agentes de controle biológico na orizicultura. **Arquivos do Instituto. Biológico.**, São Paulo, v. 82, p. 1-9, 2015.

Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/aib/v82/1808-1657-aib-001262013.pdf>. Acesso em: 18 abr. 2021.

HARTHMANN, O. E. *et al.* Tratamento de sementes com rizobactérias na produção de cebola. **Ciência Rural**, v.39, n.9, p.2533-2538, Santa Maria, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v39n9/a380cr1295.pdf>. Acesso em: 22 abr. 2021.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção Agrícola Municipal (PAM)**. 2019. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9117-producao-agricola-municipal-culturas-temporarias-e-permanentes.html?edicao=29008&t=resultados2019>. Acesso em: 5 mar. 2021.

KUPPER, K.C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. de. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 3, p. 251-257, 2003. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-41582003000300005&script=sci_abstract&tlng=pt. Acesso em: 5 mar. 2021.

LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; PINHO, R. S. C. de. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. Lavras, MG: **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 2, p. 12, abr. 2010. Disponível em: <http://www.periodicoseletronicos.ufma.br/index.php/ccaatropica/article/viewFile/145/96>. Acesso em: 10 mar. 2021.

LEONÊZ, A. C. **Alho: Alimento e Saúde**. Monografia (Especialização em gastronomia e saúde) – Universidade de Brasília, Centro de Excelência em turismo. 2018. 41f. Disponível em: https://www.bdm.unb.br/bitstream/10483/327/1/2008_AnaClaudiaLeonez.pdf. Acesso em: 28 mar. 2021.

LOPES, W. A. R. **Produção e qualidade de alho nobre submetido a diferentes períodos de vernalização e épocas de plantio em Baraúna, RN**. 2014. 114f. Tese (doutorado em Agronomia) – Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, RN. Disponível em: <https://ppgfito.ufersa.edu.br/wp-content/uploads/sites/45/2015/02/Tese-2014-WELDER-DE-ARA%C3%A9-AJO-RANGEL-LOPES.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2021.

LUCINI, M. A. **Cultura do alho**. EPAGRI, Curitibanos/SC, 2016. Disponível em: <https://docplayer.com.br/5117816-Marco-antonio-lucini-cultura-do-alho.html>. Acesso em: 22 abr. 2021.

LUCINI, M. A. **Alho: Manual Prático de Produção**. Curitibanos, SC; 2ª ed, p. 70-72, 2004. 138f.

MAFUTTO, L. M. *et al.* **Characterization and quantification of the population of fungi in area of Tifton 85 bermudagrass hay fertilized with swine biofertilizer**. Santa Maria, RS, v.46, n.3, 2016. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782016000300486. Acesso em: 01 maio 2021.

MARCUZZO, L. L.; SCHMOELLER, J. **Sobrevivência e viabilidade de escleródios de**

***Sclerotium cepivorum* no solo.** Rio do Sul, SC; v.43, n. 2, jun. 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-54052017000200161&script=sci_arttext. Acesso em: 10 mar. 2021.

MARIANO, R. de L. R. *et al.* Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. *In: ACADEMIA PERNAMBUCANA DE CIENCIA AGRONÔMICA*, 1., 2004, Recife. **Anais [...]**. Recife, 2004. p. 89-111.

MAZZUCO, V. R. **Avaliação de *Pseudomonas* sp. e *Bacillus* sp. na promoção de crescimento e solubilização de superfosfato triplo no alho.** 2020. 44f. Trabalho de conclusão de curso (graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, SC, 2020. Disponível em: https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/222404/TCC_Vinicius%20Rodrigo%20Mazzuco.pdf?sequence=1&isAllowed=y 2020. Acesso em: 25 mar. 2021.

MESQUITA, D. C. M. **Compatibilidade micelial de *Sclerotium cepivorum* e reação de genótipos de alho e cebola à podridão branca.** 2018. 138f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2018. Disponível em: http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/32480/1/2018_D%C3%A9borahChristinaMoraesMesquita.pdf. Acesso em: 10 mar. 2021.

MONTEIRO, L. **Produção de substâncias bioativas de *Bacillus* spp. Contra *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.** 2002. 74f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2002. Disponível em: https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/1304/1/arquivo4388_1.pdf. Acesso em: 11 mar. 2021.

MOURA, A. P. *et al.* **Recomendações técnicas para o manejo integrado de pragas da cultura do alho.** Circular técnica, Brasília, DF, 2013. ISSN 1415-3033. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/956460/1/ct118.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2021.

NEVES, D. M. S. **Controle biológico de *Pseudomonas marginalis* Pv. *Marginalis* e promoção de crescimento de cebola pela microbiolização de sementes.** 2001. 47f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, RS. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000090&pid=S0103-8478200900090002300015&lng=en. Acesso em: 23 abr. 2021.

NUNES, M. E. T. **Solarização do solo e seleção de microrganismos antagônicos para o controle de *Sclerotium cepivorum* Berk., agente causal da podridão branca na cebola (*Allium cepa* L.)** 1992. 75f. Trabalho de Conclusão de curso (Mestre em Agronomia) – ESALQ, Piracicaba, SP, 1992. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11135/tde-20191218-152926/publico/NunesMariaEdnaTenorio.pdf>. Acesso em 02 de set. 2021.

OGAWA, J. M. **O uso de biofertilizantes no controle de pragas da cultura do alho.** 2012. 18f. Trabalho de conclusão de curso (graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, SC, 2012. Disponível em:

<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/101215/Projeto.Juliano%20Masahiko%20Ogawa.%20Continuar%20O%20Uso%20de%20Biofertilizantes%20no%20Controle%20de%20Pragas%20da%20Cultura%20do%20Alho.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 10 mar. 2021.

OLIVEIRA, V. R.; REIS, A. **Identificação e manejo da podridão-branca do alho e da cebola**. Embrapa. 2013. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/960775/identificacao-e-manejo-da-podridao-branca-do-alho-e-da-cebola>. Acesso em: 10 mar. 2021.

PARRA, J. R. *et al.* **Controle biológico: terminologia**. Publicado em maio 2002. Cap. 01. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Jose-Mauricio-Bento/publication/318826631_Control_Biologico_Terminologia_in_portuguese/links/59807e79a6fdcc324bbe5b2e/Controle-Biologico-Terminologia-in-portuguese.pdf. Acesso em: 23 abr. 2021.

PAVAN, J. Estímulo ao controle biológico. **Revista UCS**, Caxias do Sul, RS, ano 3, n. 16, mar./abr. 2015. Disponível em: <https://www.ucs.br/site/revista-ucs/revista-ucs-16a-edicao/estimulo-ao-controle-biologico/>. Acesso em: 10 mar. 2021.

PERSELLO-CARTIEAUX, F.; NUSSAUME L.; ROBAGLIA, C. **Tales from the underground: Molecular plant-rhizobacteria interactions**. *Plant Cell and Environment*, v.26, p.186-199, 2003.

PRIA, M. D.; ZAGONEL, J.; FERNANDES, E. C. Controle de ferrugem na cultura do alho com uma nova mistura de fungicidas. **Horticultura Brasileira**, v. 26, 268-270, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/hb/v26n2/28.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2021.

QUEIROZ, G. B; SAYD, R. M. **Morphological cepivorum isolates of garlic and onion in brazil characterization of *Sclerotium***. Circular técnica, Centro Universitário ICESP, 2019. ISSN 2595-4210. Disponível em: http://nippromove.hospedagemdesites.ws/anais_simposio/arquivos_up/documentos/artigos/2048ecdb6644b5ad294b5fb98345a2d.pdf. Acesso em: 24 abr. 2021.

RADONS, A. F. S. **Avaliação da aplicação de *Bacillus subtilis* na cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.)**. 2016. 30f. Trabalho de Conclusão de Curso (Agronomia) – Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, 2016. Disponível em: <http://bibliodigital.unijui.edu.br:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/4178/A1%C3%A9cio%20Fernando%20Schulz%20Radons.pdf?sequence=1>. Acesso em: 22 abr. 2021.

REIS, A. Podridão Branca do Alho e da Cebola. **Nosso Alho**, n. 11, jul. 2011. Disponível em: http://anapa.com.br/wpcontent/uploads/2017/01/Nosso_Alho_N11.pdf. Acesso em: 10 mar. 2021.

RESENDE, F. V. *et al.* Comparative evaluation of growth and production in garlic plants obtained from tissue culture and conventional multiplication systems. **Horticultura Brasileira**, Vitoria da Conquista, v. 17 n. 2, jul. 1999. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-05361999000200009. Acesso em: 24 abr. 2021.

RESENDE, F. V.; HABER, L. L.; PINHEIRO, J. B. **A cultura do alho**. Embrapa, 2011.

Disponível em:

<https://www.embrapa.br/documents/1355126/9124396/Sistema+de+Produ%C3%A7%C3%A3o+de+Alho/64258d94-6bb8-4826-a0e9-ece47aa434ff>. Acesso em: 10 mar. 2021.

RODRIGUES, S. **Bacillus spp. como promotores de crescimento e no controle de *Sclerotium cepivorum* in vitro**. 2019. 40f. Trabalho de conclusão de curso (graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, SC. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/197814>. Acesso em: 10 mar. 2021.

ROSA, R. **Caracterização fenológica da cultura do alho**. 2015. 45f. Trabalho de conclusão de curso (graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, SC, 2015. Disponível em:

<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/133783/Caracteriza%C3%A7%C3%A3o%20Fenol%C3%B3gica%20da%20Cultura%20do%20Alho.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 24 abr. 2021.

SANTOS, L. A. L. *et al.* **Biological control of anthracnosis in papaya fruits by biofilm-forming epiphytic bacteria**. Summa Phytopathol. 47 (1), Jan-Mar 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sp/a/4gP3rtZ8n89KzHsgntCTqJC/?lang=pt>. Acesso em: 19 ago. 2021.

SEDOGUCHI, E. T. *et al.* Características morfológicas, de produção e efeitos da vernalização sobre cultivares de alho em duas épocas de plantio em Seropédica-RJ. **Agronomia**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 1/2, p. 42-47, 2002. Disponível em:

http://www.ia.ufrj.br/revista/artigos/2002-12/20_29.pdf. Acesso em: 5 mar. 2021.

SIQUEIRA, A.C.; REIS, J. M. R. **Controle químico de *Sclerotium cepivorum* no alho**. In: CONGRESSO MINEIRO DE INOVAÇÕES AGROPECUÁRIAS (COMEIA), 8., 2015.

Disponível em:

http://comeia.unipam.edu.br/documents/1598177/0/CONTROLE+QU%C3%8DMICO+DE+Sclerotium+cepivorum+NO+ALHO_Agronomia.pdf/a0de3f85-aa9a-4628-8d92-4c031462aef3. Acesso em: 15 abr. 2021.

SOUSA, I. M.; NASCENTE, A. S.; FILIPPI, M. C. C. Bactérias promotoras do crescimento radicular em plântulas de dois cultivares de arroz irrigado por inundação. **Colloquium Agrariae**, v. 15, n. 1, mar. 2019. Disponível em:

<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1108986/1/CNPAF2019colloquiumAgrariae.pdf>. Acesso em: 17 abr. 2021.

SOUZA, R. G. **Efeito terapêutico do *Allium sativum* (alho) na saúde humana**. 2019. 24f. Artigo apresentado como requisito para conclusão do curso de Bacharelado em Farmácia pelo Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos (Uniceplac), Brasília, DF, 2019. Disponível em:

https://dspace.uniceplac.edu.br/bitstream/123456789/213/1/Rosangela_Souza_0001524.pdf. Acesso em: 25 mar. 2021.

TSAVKELOVA, E.A.; KLIMOVA, S. Y.; CHERDYNTSEVA, T. A.; NETRUSOV, A. I. Microbial Producers of Plant Growth Stimulators and Their Practical Use: A Review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 42, p. 117-126, 2006.

XAVIER, A. **Efeito da temperatura e do fotoperíodo no desenvolvimento micelial de *Sclerotium cepivorum*, agente da podridão branca do alho e da cebola.** 2016. 32f.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia) – Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Catarinense, Rio do Sul, SC, 2016. Disponível em: <http://agronomia.ifc-riodosul.edu.br/wp-content/uploads/2018/07/EFEITO-DA-TEMPERATURA-E-DO-FOTOPER%C3%8DODO-NO-DESENVOLVIMENTO-MICELIAL-DE-Sclerotium-cepivorum-AGENTE-DA-PODRID%C3%83O-BRANCA-DO-ALHO-E-DA-CEBOLA.pdf>. Acesso em: 28 mar. 2021.

ZUCARELI, C. *et al.* Associação de fosfatos e inoculação com *Bacillus subtilis* e seu efeito no crescimento e desempenho produtivo do feijoeiro. **Revista Ceres**, v. 65, n. 2, p. 189-195, 2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rceres/v65n2/0034-737X-rceres-65-02-189.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2021.