

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS**

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE *Bacillus* spp. NO CONTROLE  
DE *Ralstonia solanacearum* EM CULTIVO DE FUMO (*Nicotiana  
tabacum*)**

**LUCAS LESQUEVES DA SILVA**

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
OUTUBRO - 2023**

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE *Bacillus* spp. NO CONTROLE  
DE *Ralstonia solanacearum* EM CULTIVO DE FUMO (*Nicotiana  
tabacum*)**

**LUCAS LESQUEVES DA SILVA**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao Colegiado de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Dórea Bragança

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA**

**OUTUBRO – 2023**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E  
BIOLOGICAS**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TRABALHO DE  
CONCLUSÃO DE CURSO DE LUCAS LESQUEVES DA SILVA**

Documento assinado digitalmente  
 **CARLOS AUGUSTO DOREA BRAGANCA**  
Data: 06/11/2023 11:43:22-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Prof. Dr. Carlos Augusto Dórea Bragança**  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
(Orientador)

Documento assinado digitalmente  
 **OSSIVAL LOLATO RIBEIRO**  
Data: 07/11/2023 08:43:11-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Prof. Dr. Ossival Lolato Ribeiro**  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Documento assinado digitalmente  
 **JULIELTON SANTOS DA SILVA**  
Data: 06/11/2023 14:13:09-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Dr. Julielton Santos da Silva**

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA**

**OUTUBRO – 2023**

## **AGRADECIMENTOS**

“Em tudo, daí graças, porque esta é a vontade de Deus em Cristo Jesus para convosco.”

Aos meus pais, a importância da educação e do suporte que me deram, permitindo-me alcançar esse objetivo. Minha irmã e avó também merecem agradecimentos por sua amizade e cumplicidade.

À minha esposa, agradeço com especiais, por estar ao meu lado, oferecendo apoio, com muita paciência.

Ao Professor Ossival, expresso minha gratidão pelo apoio constante e pela irmandade. Suas orientações precisas foram inestimáveis em todos os momentos.

Aos meus familiares e amigos, pelas orações, conversas, desabafos e momentos de descontração.

Agradeço a todos!

## RESUMO<sup>1</sup>

### **AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE *Bacillus* spp. NO CONTROLE DE *Ralstonia solanacearum* EM CULTIVO DE FUMO (*Nicotiana tabacum*)**

O tabaco é uma cultura importante no Brasil, mas enfrenta desafios fitossanitários, incluindo a murcha bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum*. O controle biológico, utilizando microrganismos como o *Bacillus* spp., é uma abordagem promissora para combater essa doença, oferecendo uma alternativa sustentável aos métodos tradicionais de controle. O experimento ocorreu em condições de campo em Cruz das Almas - Bahia, de maio a julho de 2023. A escolha da área para o estudo foi motivada pela ocorrência prévia de murcha bacteriana, que resultou em uma redução na produção. A área foi subdividida em três quadras e cada uma foi submetida a tratamentos distintos: A testemunha, sem aplicação (T0); com aplicação de 0,5L.ha<sup>-1</sup> de inoculante líquido composto por endósporos das bactérias *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* e *B. pumilus* (T1); e com o dobro da aplicação anterior, 1,0L.ha<sup>-1</sup> do inoculante (T2). Para avaliar a incidência da murcha bacteriana no tabaco, utilizou-se o método de diagnose planta a planta, em que foram definidas três graduações observando os sintomas, sendo elas: plantas saudáveis (S), em que não se observou sintomas; plantas com princípio de murcha bacteriana (D), as quais apresentavam até duas folhas comprometidas; e as plantas com murcha bacteriana (X), com mais de duas folhas comprometidas. A produtividade foi calculada com base em 25.000 plantas por hectare, usando uma média de nove folhas por planta saudável e seis folhas por planta com sintomas iniciais de murcha bacteriana, com um peso médio de 8 x10<sup>-3</sup> kg por folha. Com base nos resultados deste estudo, observou-se que o aumento da dosagem do agente inoculante teve um impacto positivo na redução da incidência de murcha bacteriana nas plantas de tabaco. O tratamento com a maior dosagem (T2) obteve menor porcentagem de plantas afetadas (20,27%) e maior produtividade (1.113 kg.ha<sup>-1</sup>) de plantas saudáveis. Por outro lado, o tratamento sem aplicação (T0) apresentou a maior incidência da doença (45,70%) e a menor produtividade de plantas saudáveis (378 kg.ha<sup>-1</sup>). Isso destaca o potencial do uso de *Bacillus* spp. como um agente de biocontrole eficaz na agricultura, resultando em plantas mais saudáveis e maior produtividade.

**Palavras-chaves:** Cultivo de tabaco; murcha bacteriana; *Bacillus* spp.; Biocontrole; Dosagem do inoculante.

---

<sup>1</sup> Artigo formatado de acordo com as normas da ABNT 2022

## ABSTRACT

### **AVALIATION OF THE EFFICIENCY OF *Bacillus* spp. IN THE CONTROL OF *Ralstonia solanacearum* IN TOBACCO CULTIVATION (*Nicotiana tabacum*)**

Tobacco is an important crop in Brazil, but it faces phytosanitary challenges, including bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. Biological control, using microorganisms like *Bacillus* spp., is a promising approach to combat this disease, offering a sustainable alternative to traditional control methods. The experiment took place in field conditions in Cruz das Almas - Bahia, from May to July 2023. The choice of the study area was motivated by the previous occurrence of bacterial wilt, which resulted in reduced production. The area was subdivided into three blocks, each subjected to distinct treatments: the control, with no application (T0); with the application of 0.5L.ha<sup>-1</sup> of a liquid inoculant composed of endospores of the bacteria *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, and *B. pumilus* (T1); and with double the previous application, 1.0L.ha<sup>-1</sup> of the inoculant (T2). To assess the incidence of bacterial wilt in tobacco, a plant-by-plant diagnosis method was used, defining three grades based on symptoms: healthy plants (S), where no symptoms were observed; plants with early signs of bacterial wilt (D), which had up to two affected leaves; and plants with bacterial wilt (X), with more than two affected leaves. Productivity was calculated based on 25,000 plants per hectare, using an average of nine leaves per healthy plant and six leaves per plant with early bacterial wilt symptoms, with an average weight of 8 x 10<sup>-3</sup> kg per leaf. Based on the results of this study, it was observed that increasing the dosage of the inoculant had a positive impact on reducing the incidence of bacterial wilt in tobacco plants. The treatment with the higher dosage (T2) had a lower percentage of affected plants (20.27%) and higher productivity (1,113 kg.ha<sup>-1</sup>) of healthy plants. On the other hand, the treatment with no application (T0) showed the highest disease incidence (45.70%) and the lowest productivity of healthy plants (378 kg.ha<sup>-1</sup>). This highlights the potential of using *Bacillus* spp. as an effective biocontrol agent in agriculture, resulting in healthier plants and increased productivity

**Key-words:** Tobacco cultivation; Bacterial wilt; *Bacillus* spp.; Biocontrol; Inoculant dosage.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Localização da área do estudo, Cruz das Almas, Bahia..... 14**
- Figura 2. Precipitação e temperaturas máxima, média e mínima diárias durante o período do estudo na cidade de Cruz das Almas, Bahia..... 15**
- Figura 3. Aplicação do inoculante líquido Biotrio sobre as mudas de *Nicotiana tabacum* L. nas quadras 2 e 3 em Cruz das Almas, Bahia..... 16**
- Figura 4. Classificação das plantas quanto aos sintomas referente a murcha bacteriana (*Ralstonia solanacearum*) em lavoura de *Nicotiana Tabacum* L. em Cruz das Almas, Bahia..... 17**
- Figura 5. Número de plantas saudáveis (S), plantas com princípio de murcha bacteriana (D) e plantas com murcha bacteriana (X) em função dos tratamentos aplicados..... 19**
- Figura 6. Croqui das quadras experimentais com as identificações das plantas saudáveis (verde), com princípio de murcha bacteriana (amarelo) e com a murcha bacteriana (vermelha) em função dos tratamentos aplicados. 21**
- Figura 7. Produtividade de plantas saudáveis (S) e plantas com princípio de murcha bacteriana (D) em função dos tratamentos aplicados..... 22**

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – As quadras, identificações e seus respectivos tratamentos aplicados, quanto a dose de um inoculante líquido Biotrio sobre lavoura de *Nicotiana tabacum* L. em Cruz das Almas, Bahia..... **16**
- Tabela 2** - Número de plantas saudáveis, com princípio de murcha bacteriana e com murcha bacteriana em função dos tratamentos aplicados..... **18**
- Tabela 3** - Produtividade (Kg.ha<sup>-1</sup>) de plantas saudáveis, com princípio de murcha bacteriana e plantas com murcha bacteriana em função dos tratamentos aplicados..... **20**

## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>7</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>8</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>14</b>
2.1  ÁREA DE ESTUDO.....	14
2.2  IMPLANTAÇÃO DA CULTURA.....	15
2.3  DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	16
2.4  VARIÁVEIS ANÁLISADAS.....	17
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>23</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>23</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) é uma planta herbácea anual, bianual ou perene que pertence à Família Solanaceae (POPOVA et al., 2020) de origem indígena, é cultivada desde os tempos coloniais (SINDITABACO, 2019) podendo ser encontrada na América do Sul tropical, Sudoeste da África e o Pacífico Sul (CHARLTON, 2004). O Brasil é considerado o segundo maior produtor e exportador de tabaco do mundo (SINDITABACO, 2018) destacando o Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Bahia, Alagoas e Pernambuco (IBGE, 2021) como os principais produtores. De acordo com o IBGE (2021), em 2020, ocorreu o aumento nos cultivos de tabaco em Alagoas e na Bahia, cerca de 22% e 4% respectivamente, sendo os principais estados produtores da região Nordeste.

Na Bahia, destaca-se principalmente o tabaco escuro, qual é destinado à fabricação de charutos, e as fábricas estão concentradas no Recôncavo Baiano (SINDICA DO TABACO – BA, 2021). O Recôncavo da Bahia é conhecido como um “Território Identidade” com condições edafoclimáticas favoráveis para o desenvolvimento da cultura, destacando as variedades de Mata Fina e Mata Norte entre os melhores tabacos do mundo (SILVA, 2015; SINDITABACO, 2021).

A cultura do tabaco apresenta um rendimento econômico importante, no entanto, alguns problemas fitossanitários, como o Mosaico do fumo (*Tobacco mosaic virus*), o Mosaico do pepino (*Cucumber mosaic virus*), a Faixa das nervuras (*Potato virus Y*), a Necrose branca (*Tobacco streak virus*) e a Murcha bacteriana (*Ralstonia solanacearum*), podem interferir na qualidade e na produtividade (MASSOLA JUNIOR et al., 2005; NION; TOYOTA, 2015).

A murcha bacteriana, por exemplo, é ocasionada pela bactéria *Ralstonia solanacearum*, um patógeno que causa baixo desenvolvimento das plantas e pode ser transmitida pelo solo e se espalhar por meio da água da chuva ou irrigação, material de propagação vegetativa contaminados, como as mudas ou equipamentos agrícolas infectados (GARCÍA et al., 2019; CHARKOWSKI et al., 2020).

Ao infectar o hospedeiro por meio de aberturas naturais ou ferimentos (NION; TOYOTA, 2015), o patógeno coloniza os vasos do xilema, bloqueando o transporte de água, resultando em murcha, amarelecimentos das folhas, necrose dos tecidos e morte da planta, além das alterações fisiológicas como, aumento

taxa respiratória, redução da transpiração e fotossíntese (KARIM; HOSSAIN, 2018).

Devido à grande diversidade de hospedeiros, a complexa variedade de espécies e a sobrevivência no solo, é considerado um dos patógenos bacterianos mais destrutivos em sistemas agrícolas (WEI et al., 2018) tornando o controle da murcha bacteriana um grande desafio (ALOYCE; NDAKIDEMI; MBEGA, 2017). O patógeno tende a apresentar uma resistência aos métodos de controle já utilizados, como sementes isentas de doenças, rotação de culturas, erradicação de plantas infectadas e o controle químico (HU et al., 2021; CHANG et al., 2022). No entanto, estes métodos tradicionais de controle apresentam pouca eficiência, não proporcionando uma resistência para as plantas (BAI et al., 2016).

O controle biológico vem surgindo como uma proposta de manejo sustentável (RAHMAN et al., 2012), afim de minimizar o uso de defensivos químicos e os impactos gerados ao ambiente (DING et al., 2017). A utilização de microrganismos antagonistas, como os do gênero *Bacillus* spp., está sendo estudada, devido a capacidade de inibirem o crescimento das bactérias causadoras da murcha bacteriana, podendo ser aplicadas diretamente nas plantas ou no solo, onde as mesmas, competem com as bactérias patogênicas por nutrientes e espaço, reduzindo sua população e impedindo o desenvolvimento da doença (IGIEHON; BABALOLA, 2017; LI et al., 2020).

Em estudos realizados por Wang et al. (2023) avaliando o efeito do biocontrole de cepas de *B. velezensis* D contra murcha bacteriana do tabaco, em vasos e em campo, verificaram que o antagonista em estudo colonizou a raiz do hospedeiro, produzindo substâncias antibacterianas tendo uma eficiência de 57,47% e 36,37% respectivamente, inibindo características de motilidade de *R. solanacearum* e danificando a célula. Outras espécies de *Bacillus* também foram estudadas para verificar a eficiência no controle da murcha bacteriana em tabaco. Wu et al. (2016) verificaram a eficácia de *B. amyloliquefaciens* ZM9 *in vitro*, além de observar capacidade de colonização na cultura do tabaco.

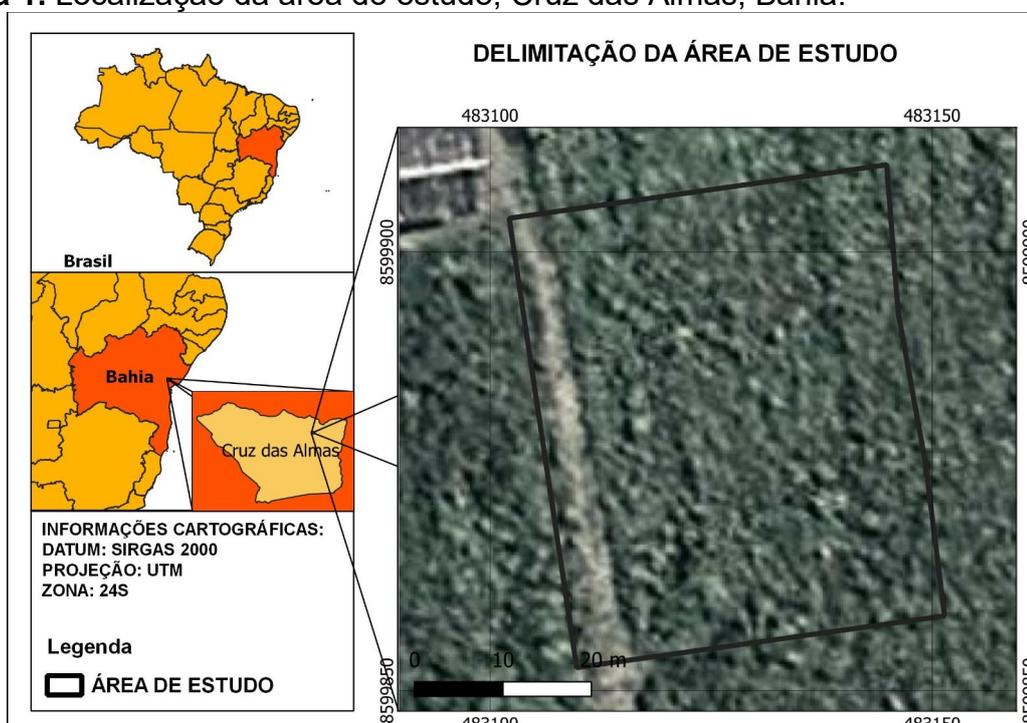
Nesse contexto o presente estudo objetivou-se avaliar a eficiência do uso de agentes biológicos do gênero *Bacillus*, no controle da murcha bacteriana, na cultura do tabaco em campo.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 ÁREA DE ESTUDO

O experimento ocorreu em condições de campo na Fazenda Santa Julia 3, localizada na zona rural do município de Cruz das Almas, Bahia (latitude 12°39'07.4"S, longitude 39°09'19.4"W e 200 m de altitude) (Figura 1) em uma lavoura de tabaco comercial do tipo Mata fina, com plantas espaçadas em 0,4 x 1,0 m, durante o período de 04 de maio a 29 de julho de 2023.

**Figura 1.** Localização da área do estudo, Cruz das Almas, Bahia.

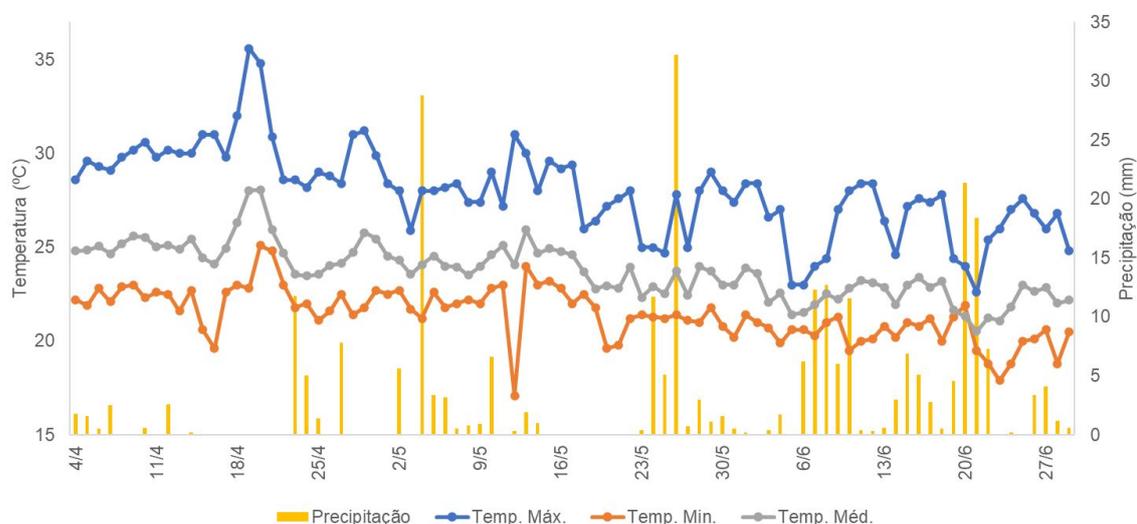


O solo em que as plantas estão inseridas é classificado como um Latossolo Amarelo Distrocoeso argissólico (EMBRAPA, 2018) e o relevo em questão é majoritariamente plano. Quanto ao clima da região, segundo a classificação de Köppen, é de Am, descrito como quente e úmido. A região apresenta temperatura média anual de 24,5°C, umidade relativa média de 81%, precipitação média anual atinge 1.300 mm, sendo que o período chuvoso se concentra principalmente entre os meses de março a agosto, enquanto o período mais seco ocorre de setembro a fevereiro (UFRB, 2011; SILVA; COELHO FILHO; COELHO, 2016).

A escolha da área para o estudo foi motivada pela ocorrência prévia de murcha bacteriana na localidade, que acarretou em uma redução de 20% na produção da safra passada (2022).

## 2.2 IMPLANTAÇÃO DA CULTURA

Na fase de implantação da cultura, o solo foi preparado seguindo práticas convencionais, incluindo uma aração e duas gradagens, garantindo que o solo estivesse em condições ideais para o cultivo. Após o preparo do solo, foi aplicada adubação orgânica utilizando torta de mamona. Trinta dias após essa etapa, deu-se início ao processo de transplante das mudas, que foi conduzido manualmente em 4 de maio de 2023. Devido à baixa precipitação nesse período (Figura 2), foram aplicadas irrigações ao longo da linha de cultivo para assegurar a fixação e o saudável desenvolvimento das mudas, uma vez que a fase inicial da cultura requer um fornecimento adequado de água.



Fonte: INMET (2023).

**Figura 2.** Precipitação e temperaturas máxima, média e mínima diárias durante o período do estudo na cidade de Cruz das Almas, Bahia.

Durante o ciclo da cultura, foram realizadas duas adubações, sendo uma na base e outra em cobertura, de acordo com as necessidades específicas da cultura e os resultados das análises de solo.

## 2.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. Cada uma das quadras, com dimensões de 2.236m<sup>2</sup> (43m x 52m), foi subdividida em três quadras de 560m<sup>2</sup> cada, com estradas de 4,5m de largura separando-as para permitir aplicações mecanizadas. Cada uma das quadras recebeu tratamentos distintos: duas delas receberam aplicação do Biotrio, um inoculante líquido composto por endósporos das bactérias *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* e *B. pumilus*, com concentração de 1×10<sup>8</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>, em dosagens diferentes, denominados T1 e T2, enquanto em uma delas, a T0, não houve aplicação do Biotrio, servindo como testemunha., conforme especificado na Tabela 1.

**Tabela 1** – As quadras, identificações e seus respectivos tratamentos aplicados, quanto a dose de um inoculante líquido Biotrio sobre lavoura de *Nicotiana tabacum* L. em Cruz das Almas, Bahia.

Quadra	Identificação	Tratamento
1	T0	Sem aplicação
2	T1	0,5 L.ha <sup>-1</sup> de biológico
3	T2	1 L.ha <sup>-1</sup> de biológico

Foram efetuadas três aplicações nas quadras 2 e 3. A primeira aplicação ocorreu 15 DAT (dias após o transplante) e foi realizada com um pulverizador manual (Figura 3). A segunda e terceira aplicações foram executadas usando um regador, direcionando a solução diretamente ao solo, com 30 DAT e 45 DAT, com uma média de 1 litro por metro linear.

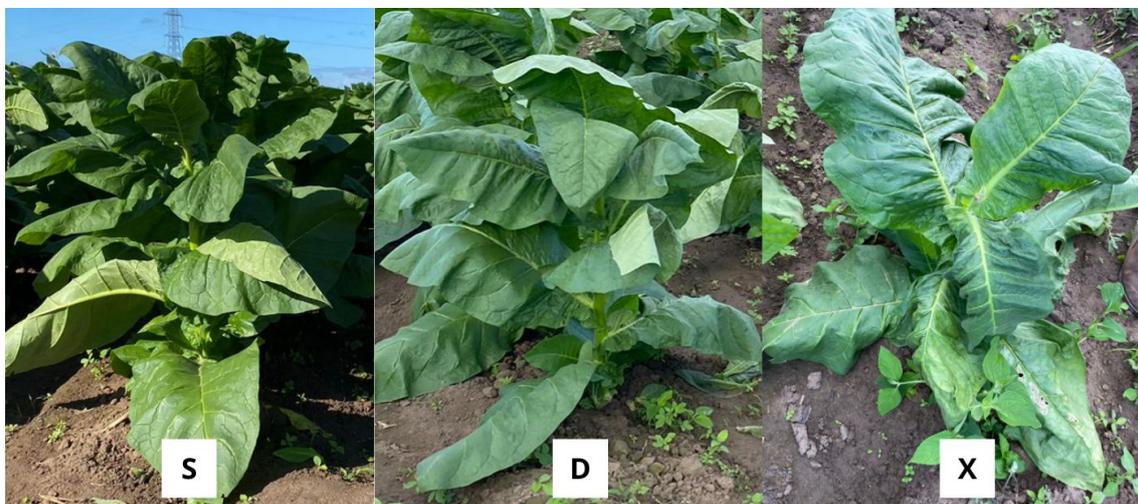


**Figura 3.** Aplicação do inoculante líquido Biotrio sobre as mudas de *Nicotiana tabacum* L. nas quadras 2 e 3 em Cruz das Almas, Bahia.

## 2.4 VARIÁVEIS ANÁLISADAS

Para avaliar a incidência da murcha bacteriana no tabaco, utilizou-se o método de diagnose planta a planta, uma vez que os sintomas são bem característicos, os quais incluem perda de turgescência, atrofiamento e amarelecimento dos tecidos foliares e ramos (MILA; RADCLIFF, 2015).

Deste modo, foram definidas três graduações, observando a sintomatologia dos vegetais, sendo elas: plantas saudáveis (S), em que não se observou sintomas; plantas com princípio de murcha bacteriana (D), as quais apresentavam até duas folhas comprometidas; e as plantas com murcha bacteriana (X), com mais de duas folhas comprometidas (Figura 4).



S - Plantas saudáveis; D - Plantas com princípio de murcha bacteriana; X - Plantas com murcha bacteriana.

**Figura 4.** Classificação das plantas quanto aos sintomas referente a murcha bacteriana (*Ralstonia solanacearum*) em lavoura de *Nicotiana Tabacum* L. em Cruz das Almas, Bahia.

Para o cálculo da produtividade, considerou-se uma população de 25.000 plantas por hectare, levando em conta que a área de apenas uma planta corresponde a 0,4 m<sup>2</sup>. Para essa estimativa, obteve-se uma média de nove folhas aproveitáveis em plantas saudáveis e seis folhas em plantas com princípio de murcha. O peso médio estipulado por folha foi de 8 x 10<sup>-3</sup> kg, tratando-se do padrão da folha pronta para comercialização.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos resultados encontrados para a contagem de plantas de acordo com os sintomas, a incidência de murcha bacteriana na quadra T0 foi a mais alta, atingindo 45,70% das plantas. Aproximadamente 20,32% das plantas foram classificadas como saudáveis, e 33,98% tinham princípio de murcha bacteriana. A quadra 2 (T1), que recebeu a dosagem de 0,5L.ha<sup>-1</sup> do agente biológico, registrou uma incidência menor da doença, com 23,67% das plantas apresentando a murcha. Cerca de 36,04% das plantas foram classificadas como saudáveis, e 40,39% tinham sintomas associados ao início da doença (Tabela 2).

Tabela 2 - Número de plantas saudáveis, com princípio de murcha bacteriana e com murcha bacteriana em função dos tratamentos aplicados.

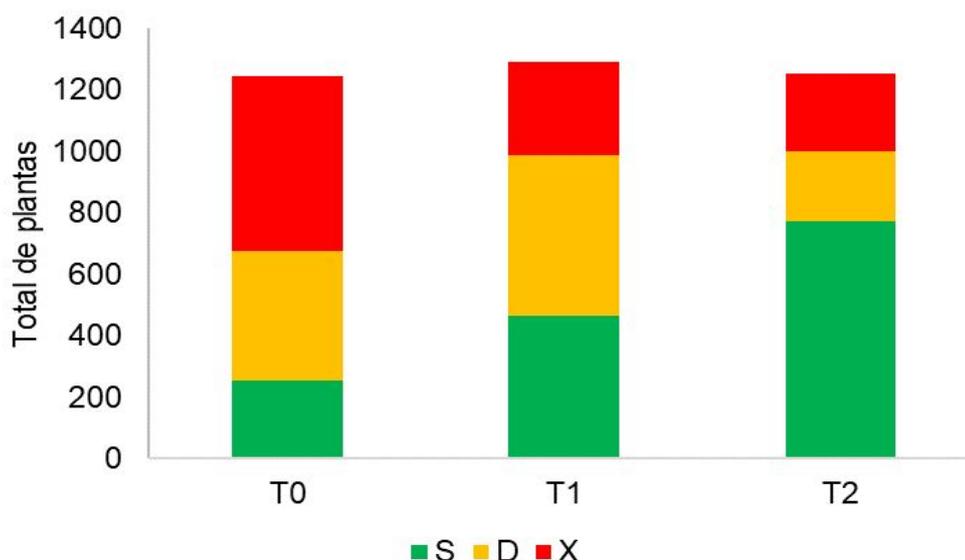
<b>Classificação</b>	T0	T1	T2
Plantas saudáveis	253	466	774
Plantas com princípio de murcha	423	521	225
Plantas com murcha	569	306	254
<b>Total</b>	1245	1293	1253

O T2, que recebeu o dobro da dosagem do tratamento anterior, foi o que apresentou maior quantidade de plantas saudáveis (61,78%); apenas 17,96% mostraram princípio de murcha bacteriana, e 20,27% das plantas foram afetadas com severidade.

O impacto positivo do uso de agentes microbiológicos contra a *R. solanacearum* já é constatado na literatura. Rocha e Moura (2013), em seu estudo utilizando rizobactérias dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* como agentes de biocontrole contra patógenos como da murcha bacteriana e contra a *Fusarium oxysporum* no cultivo do tomateiro, demonstraram a capacidade de inibir o crescimento por meio de antibiose "in vitro" e, em alguns casos, por atividades quitinolíticas.

Moura, Romeiro e Neves (1998), avaliando, em três diferentes tratamentos com a utilização de solução salina de propágulos de actinomicetos de 190 cepas diferentes, no controle de 100% de murcha bacteriana, em pelo menos 18 cepas. No tratamento com imersão de sementes de tomate em ambiente controlado, pôde-se verificar um alto poder antagonista, já que 10% proporcionaram 100% de controle e 20% proporcionaram 80% de controle da doença sobre as plantas de tabaco.

Levando em consideração a presença e ausência da doença, esse contraste fica mais evidente. O T0 apresentou a maior incidência de murcha bacteriana, com 992 (86,60%) plantas apresentando algum sintoma de que a doença está presente. Já os tratamentos 1 e 2, que receberam dosagens diferentes do Biotrio, apresentaram uma incidência menor de murcha bacteriana, com 827 (71,67%) e 479 (41,80%) para T1 e T2 respectivamente, do total de plantas avaliadas (Figura 5).



**Figura 5.** Número de plantas saudáveis (S), plantas com princípio de murcha bacteriana (D) e plantas com murcha bacteriana (X) em função dos tratamentos aplicados.

O potencial das espécies de *Bacillus* como agentes de biocontrole é amplamente estudado, devido aos seus eficientes mecanismos de antagonismo e à atividade de amplo espectro contra fitopatógenos (SOBRINHO et al., 2018). Essas bactérias produzem metabólitos antimicrobianos, como lipopeptídeos e peptídeos cíclicos, que demonstraram inibir o crescimento de microrganismos patogênicos do solo (CHEN et al., 2013; NTUSHELO et al., 2019).

O mecanismo de ação deste agente de biocontrole, envolve tanto o antagonismo direto contra o patógeno quanto a indução de resistência sistêmica na planta hospedeira. Eles produzem compostos antimicrobianos, como antibióticos e enzimas, que podem suprimir o crescimento e a atividade do patógeno (YULIAR; TOYOTA, 2015). Além disso, podem induzir resistência sistêmica na planta hospedeira, aumentando sua capacidade de defesa contra o patógeno. Esta indução de resistência envolve a ativação de mecanismos, como

a produção de compostos antimicrobianos e o reforço das paredes celulares (WEI et al., 2011).

Além da atividade antimicrobiana, as espécies de *Bacillus* também apresentam outros mecanismos de ação que contribuem para a sua eficácia no biocontrole. Por exemplo, descobriu-se que algumas cepas de *Bacillus* formam biofilmes nas raízes das plantas, que são microecossistemas compostos por células envoltas por uma matriz exopolissacarídica, que pode aumentar sua capacidade de competir e suprimir patógenos de plantas (CHEN et al., 2012).

Como também, descobriu-se que espécies deste gênero possuem atividade promotora de crescimento de plantas, visto que essas bactérias proporcionam o aumento da absorção de nutrientes, produzindo fitohormônios e induzindo resistência sistêmica nas plantas (WU et al., 2015). Portanto, o *Bacillus* atua por meio de uma combinação de antagonismo direto e indução de resistência sistêmica para proteger as plantas contra patógenos.

As folhas de tabaco são avaliadas e classificadas qualitativamente para fins comerciais. Folhas sem danos ou manchas são consideradas de alto valor de mercado e são utilizadas na produção de capas para charutos premium, por outro lado, as danificadas têm um valor de mercado inferior e são direcionadas para outros usos, como capotes, sapos ou file, em ordem decrescente de valor. As plantas afetadas pela murcha bacteriana não atendiam aos padrões da empresa, especialmente no caso do tabaco tipo "mata fina", que é conhecido por suas folhas de alta qualidade, lisas, elásticas e visualmente atraentes. O tabaco "mata fina" é frequentemente preferido para embalagens de charutos devido a suas características desejáveis (SINDITABACO, 2014).

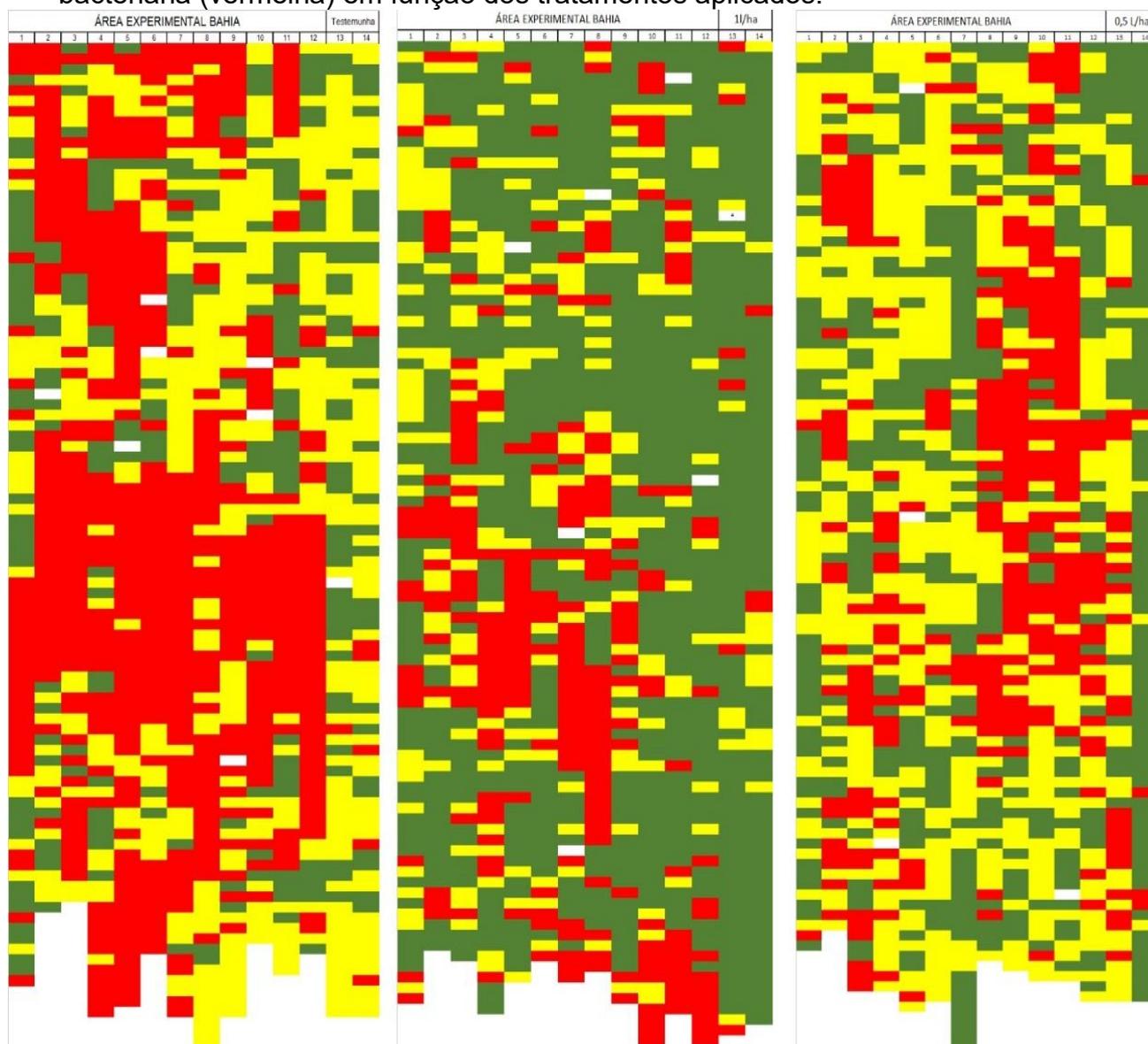
Neste contexto, apenas as folhas das plantas saudáveis e com princípio de murcha bacteriana foram avaliadas para a produtividade, e a partir disso, foi observado que o agente inoculante teve um impacto significativo nas plantas (Tabela 3; Figura 6).

Tabela 3 - Produtividade (Kg.ha<sup>-1</sup>) de plantas saudáveis, com princípio de murcha bacteriana e plantas com murcha bacteriana em função dos tratamentos aplicados

<b>Classificação</b>	<b>T0</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>
Plantas saudáveis	378	649	1113
Plantas com princípio de murcha	350	403	180
Plantas com murcha	0	0	0

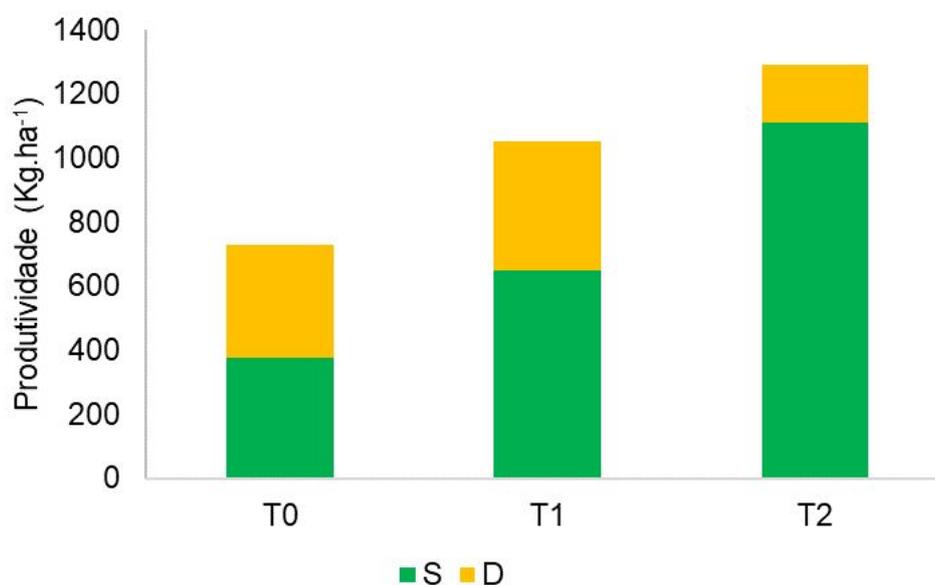
<b>Total</b>	728	1052	1292
--------------	-----	------	------

**Figura 6.** Croqui das quadras experimentais com as identificações das plantas saudáveis (verde), com princípio de murcha bacteriana (amarelo) e com a murcha bacteriana (vermelha) em função dos tratamentos aplicados.



No tratamento que envolveu a aplicação de  $1,0 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$  de Biotrio, a produtividade das plantas saudáveis foi a mais alta, atingindo  $1.113 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . O T1, com  $0,5 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$ , também registrou uma produtividade razoável de  $649 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . Em contraste, o T0, que não recebeu aplicação, apresentou a menor produtividade de plantas saudáveis, com  $378 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , cerca de 66% a menos que a obtida no tratamento 2. Isso sugere que a aplicação do biocontrole contra a murcha bacteriana, especialmente na dose mais elevada, teve um impacto positivo na saúde e produção dessas plantas. Em relação as plantas com princípio de

murcha bacteriana, o T1 alcançou a maior produtividade, com 403 kg.ha<sup>-1</sup>, seguido T0 a segunda maior produção de folhas por hectare (350kg) e por fim, pelo T2, registrando 180 kg.ha<sup>-1</sup> (Figura 7).



**Figura 7.** Produtividade de plantas saudáveis (S) e plantas com princípio de murcha bacteriana (D) em função dos tratamentos aplicados.

O padrão observado, em que o aumento da dosagem de inoculantes à base de *Bacillus* spp. pode contribuir para a melhoria da sanidade e qualidade das plantas, é consistentemente corroborado em diversos estudos na literatura. Por exemplo, em Araújo (2008), a inoculação de sementes de milho, soja e algodão com *B. subtilis* formulado com farinha de ostra resultou em um maior crescimento das plantas à medida que a dosagem do inoculante foi aumentada. De forma semelhante, a pesquisa de Lima et al. (2011) indicou que um aumento na dosagem do inoculante em plantas de milho levou a um aumento significativo no teor de nitrogênio nas folhas, sugerindo uma melhoria na absorção de nutrientes e, conseqüentemente, na saúde das plantas.

Em outro estudo, realizado por Santos et al. (2021), a biometria e o estado nutricional de plantas de aveia branca inoculadas com *B. subtilis* e *B. megaterium* foram avaliados. Os resultados apontaram que maiores dosagens do inoculante tiveram um impacto positivo na absorção de fósforo pelas plantas, contribuindo para a melhoria da saúde vegetal. Além disso, a pesquisa conduzida por Chagas et al. (2018) investigou o aumento da biomassa em plantas de soja, feijão-caupi,

milho e arroz, após a inoculação de *B. subtilis* e *Trichoderma* spp., e concluiu que doses mais elevadas do inoculante promoveram o crescimento das plantas, aumentando a disponibilidade de nutrientes e estimulando a produção de hormônios.

#### 4. CONCLUSÃO

Com base nos resultados deste estudo, o uso do agente inoculante à base de *Bacillus* spp. revelou um impacto positivo no controle da murcha bacteriana em plantas de tabaco. Sendo a aplicação da dosagem de 1L.ha<sup>-1</sup> a mais eficiente, propiciando um menor percentual de plantas afetadas pela doença e em uma produtividade superior das plantas saudáveis

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALOYCE, A.; NDAKIDEMI, P. A.; MBEGA, E. R. Identification and Management Challenges Associated with *Ralstonia solanacearum* (Smith), Causal Agent of Bacterial Wilt Disease of Tomato in Sub-Saharan Africa. **Pakistan journal of biological sciences: PJBS**, Pakistan, v. 20, n. 11, p. 530-542, 2017.

ARAÚJO, F. F. de. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, p. 456-462, 2008.

BAI, W.; KONG, F.; LIN, Y.; ZHANG, C. Extract of *Syringa oblata*: a new biocontrol agent against tobacco bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Massachusetts, v. 134, p. 79-83, 2016.

CHAGAS, L. F. B.; MARTINS, A. L. L.; CARVALHO FILHO, M. R. DE; MILLER, L. DE O.; OLIVEIRA, J. C. *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* sp. no incremento da biomassa em plantas de soja, feijão-caupi, milho e arroz. **Agri-environmental sciences**, Palmas, v. 3, n. 2, p. 10-18, 2017.

CHANG, X.; WANG, Y.; SUN, J.; XIANG, H.; YANG, Y.; CHEN, S.; YANG, C. Mitigation of tobacco bacteria wilt with microbial degradation of phenolic allelochemicals. **Scientific Reports**, London, v. 12, n. 1, p. 20716, 2022.

CHARKOWSKI, A.; SHARMA, K.; PARKER, M. L.; SECOR, G. A.; ELPHINSTONE, J. Bacterial diseases of potato. *In*: CAMPOS, H.; ORTIZ, O. **The potato crop: its agricultural, nutritional and social contribution to humankind**. Berlin: Springer Nature. 2020. p. 351-388.

CHARLTON, A. Medicinal uses of tobacco in history. **Journal of the royal society of medicine**, Bristol, v. 97, n. 6, p. 292-296, 2004.

CHEN, Y.; CAO, S.; CHAI, Y.; CLARDY, J.; KOLTER, R.; GUO, J. H.; LOSICK, R. A *Bacillus subtilis* sensor kinase involved in triggering biofilm formation on the roots of tomato plants. **Molecular microbiology**, London, v. 85, n. 3, p. 418-430, 2012.

CHEN, Y.; YAN, F.; CHAI, Y.; LIU, H.; KOLTER, R.; LOSICK, R.; GUO, J. H. Biocontrol of tomato wilt disease by *Bacillus subtilis* isolates from natural environments depends on conserved genes mediating biofilm formation. **Environmental microbiology**, London, v. 15, n. 3, p. 848-864, 2013

DING, T.; SU, B.; CHEN, X.; XIE, S.; GU, S.; WANG, Q.; HUANG, D.; JIANG, H. An endophytic bacterial strain isolated from *Eucommia ulmoides* inhibits southern corn leaf blight. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 8, p. 903, 2017.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solos. 5ed. 2018.

GARCÍA, R. O.; KERNS, JIM P.; THIESSEN, LINDSEY. *Ralstonia solanacearum* species complex: a quick diagnostic guide. **Plant Health Progress**, Saint Paul, v. 20, n. 1, p. 7-13, 2019.

HU, Y.; LI, C.; YANG, X.; FENG, J.; WANG, L.; CHEN, S.; YANYAN, L.; YONG, Y. Integrated biological control of tobacco bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) and its effect on rhizosphere microbial community. **Journal of Biosciences and Medicines**, [online], v. 9, n. 3, p. 124-142, 2021.

HU, Y.; ZHAO, W.; LI, X.; FENG, J.; LI, C.; YANG, X.; GUO, Q.; WANG, L.; CHEN, S.; LI, Y.; YANG, Y. Integrated biocontrol of tobacco bacterial wilt by antagonistic bacteria and marigold. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 16360, 2021

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agropecuária Municipal. **IBGE**, 2021. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457#resultado>. Acesso em: 10 Ago.2023.

IGIEHON, N. O.; BABALOLA, O. O. Biofertilizers and sustainable agriculture: exploring arbuscular mycorrhizal fungi. **Applied microbiology and biotechnology**, New York, v. 101, p. 4871-4881, 2017.

INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. Banco de Dados Meteorológicos do INMET. **INMET**, 2023. Disponível em: <https://bdmep.inmet.gov.br/#>. Acesso em: 01 Nov. 2023.

KARIM, Z.; HOSSAIN, M. S. Management of bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) of potato: focus on natural bioactive compounds. **Journal of Biodiversity Conservation and Bioresource Management**, Bangladesh, v. 4, n. 1, p. 73-92, 2018.

LI, Y.; FENG, J.; ZHENG, L.; HUANG, J.; YANG, Y.; LI, X. Intercropping with marigold promotes soil health and microbial structure to assist in mitigating tobacco bacterial wilt. **Journal of Plant Pathology**, Basel, v. 102, p. 731-742, 2020.

LIMA, F. F.; NUNES, L. A.; FIGUEIREDO, M. do V. B.; araújo, f. F. de; LIMA, L. M.; ARAÚJO, A. S. de. Bacillus subtilis e adubação nitrogenada na produtividade do milho. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 6, n. 4, p. 657-661, 2011.

MASSOLA JUNIOR, N. S.; PULCINELLI, C. E.; JESUS JUNIOR, W. C.; GODOY, C. V. Doenças do fumo (*Nicotiana tabacum*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Agonômica Ceres, 2005.

MILA, A. L.; RADCLIFF, J. **Flue-Cured Tobacco Production Guide**. Raleigh: Cooperative Extension Service, North Carolina State University, p. 140-174, 2009.

MOURA, A. B.; ROMEIRO, R. da S.; NEVES, M. C. P. Bioensaio para avaliação massal de actinomicetos antagonistas a *Ralstonia solanacearum*, em tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 12, p. 2065-2072, 1998.

NION, Y. A.; TOYOTA, K. Recent trends in control methods for bacterial wilt diseases caused by *Ralstonia solanacearum*. **Microbes and environments**, Taiwan, v. 30, n. 1, p. 1-11, 2015.

NTUSHELO, K.; LEDWABA, L. K.; RAUWANE, M. E.; ADEBO, O. A.; NJOBEH, P. B. The mode of action of Bacillus species against Fusarium graminearum, tools for investigation, and future prospects. **Toxins**, Basel, v. 11, n. 10, p. 606, 2019.

POPOVA, V.; IVANOVA, T.; STOYANOVA, A.; NIKOLOVA, V.; HRISTEVA, T.; ZHELJAZKOV, V. D. GC-MS composition and olfactory profile of concretes from the flowers of four *Nicotiana* species. **Molecules**, Basel, v. 25, n. 11, p. 2617, 2020.

RAHMAN, M. M.; ALI, M. E.; KHAN, A. A.; AKANDA, A. M.; UDDIN, M. K.; HASHIM, U.; ABD HAMID, S. B. Isolation, characterization, and identification of biological control agent for potato soft rot in Bangladesh. **The Scientific World Journal**, London, v. 2012, 2012.

ROCHA, D. J.; MOURA, A. M. Controle biológico da murcha do tomateiro causada por *Ralstonia solanacearum* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* por rizobactérias. **Tropical Plant Pathology**, Nashville, v. 38, n.5, p.423-430, 2013.

SANTOS, A. F. dos; CORRÊA, B. O.; KLEIN, J.; BONO, J. A. M.; PEREIRA, L. C.; GUIMARÃES, V. F.; FERREIRA, M. B. Biometria e estado nutricional da cultura da aveia branca (*Avena sativa* L.) sob inoculação com *Bacillus subtilis* e *B. megaterium*. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v.10, n. 5, p.1-14, 2021.

SILVA, A. P. de A. **Produção Fumageira: fazendas e lavradores no recôncavo da Bahia 1774-1830**. 2017. 120f. Dissertação (Mestrado em História Social) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2015.

SILVA, T. S.; COELHO FILHO, M. A.; COELHO, E. F. **Boletim meteorológico da estação convencional de Cruz das Almas, BA**: variabilidade e tendência climáticas. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura. 2016, 72p.

SINDITABACO. Sindicato Interestadual da Indústria do Tabaco. **Sinditabaco**, 2019. Disponível em: [https://www.sinditabaco.com.br/wp-content/uploads/2021/02/anuario-TABACO\\_2019.pdf](https://www.sinditabaco.com.br/wp-content/uploads/2021/02/anuario-TABACO_2019.pdf). Acesso em: 01 Jul. 2023.

SINDITABACO. Sindicato Interestadual da Indústria do Tabaco. Sobre o setor: estatísticas. **Sinditabaco**, 2021. Disponível em: <http://www.sinditabaco.com.br/sobre-o-setor/estatisticas/>. Acesso em: 24 Set. 2023.

SINDITABACO. Sindicato Interestadual da Indústria do Tabaco. Tipos de tabaco, classificação do tabaco e estatísticas. **Sinditabaco**, 2018. Disponível em: <http://www.sinditabaco.com.br>. Acesso em: 8 Jul. 2023.

SINDITABACO. Sindicato Interestadual da Indústria do Tabaco. **Trabalho no Sul do Brasil**: tradição e renda. Relatório Institucional Sinditabaco. 2014.15p. Disponível em: <https://www.sinditabaco.com.br/wp-content/uploads/2017/05/relat%C3%B3rio-institucional.pdf>. Acesso em: 01 Jul. 2023.

SOBRINHO, G.; BRITO, N.; SANTOS, A.; NOVAES, Q. Atividade antagonista de *Bacillus subtilis* sobre dois isolados de *Fusarium solani* do maracujazeiro, por diferentes métodos. **enciclopedia biosfera**, Jandaiaa, v. 15, n. 28, 2018.

YULIAR, Y.; TOYOTA, K. Recent trends in control methods for bacterial wilt diseases caused by *Ralstonia solanacearum*. **Microbes and Environments**, v.30, p.1-11. 2015.

YUAN, Saifei et al. Avaliação de fertilizante orgânico fortificado com *Bacillus* para controle da murcha bacteriana do tabaco em experimentos em casa de vegetação e campo. **Ecologia aplicada do solo**, v. 75, p. 86-94, 2014.

WANG, J.; PENG, Y.; XIE, S.; YU, X.; BIAN, C.; WU, H.; WANG, Y.; DING, T. Biocontrol and molecular characterization of *Bacillus velezensis* D against tobacco bacterial wilt. **Phytopathology Research**, London, v. 5, n. 1, p. 1-14, 2023.

WEI, Y.; CACERES-MORENO, C.; JIMENEZ-GONGORA, T.; WANG, K.; SANG, Y.; LOZANO-DURAN, R.; MACHO, A. P. The *Ralstonia solanacearum* csp22 peptide, but not flagellin-derived peptides, is perceived by plants from the Solanaceae family. **Plant Biotechnology Journal**, New Jersey, v. 16, n. 7, p. 1349-1362, 2018.

WEI, Z.; YANG, X.; YIN, S.; SHEN, Q.; RAN, W.; XU, Y. Efficacy of Bacillus-fortified organic fertiliser in controlling bacterial wilt of tomato in the field. **Applied soil ecology**, Amsterdam, v. 48, n. 2, p. 152-159, 2011.

WU, B.; WANG, X.; YANG, L.; YANG, H.; ZENG, H.; QIU, Y.; CHEN, S. Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* ZM9 on bacterial wilt and rhizosphere microbial communities of tobacco. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 103, p. 1-12, 2016.

WU, L.; WU, H. J.; QIAO, J.; GAO, X.; BORRIS, R. Novel routes for improving biocontrol activity of Bacillus based bioinoculants. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 6, p. 1395, 2015.