

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DO SERTÃO PERNAMBUCANO
CAMPUS PETROLINA ZONA RURAL**

CURSO DE BACHARELADO EM AGRONOMIA

**Microbiolização na qualidade de sementes e
crescimento de plantas de feijão-caupi**

MYLENNÁ NÁDJA FERREIRA DE SÁ

PETROLINA, PE

2019

MYLENNÁ NÁDJA FERREIRA DE SÁ

**Microbiolização na qualidade de sementes e
crescimento de plantas de feijão-caupi**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao IF SERTÃO-PE
Campus Petrolina Zona Rural, exigido
para a obtenção de título de
Engenheira Agrônoma.

PETROLINA, PE

2019

S111

Sá, Mylenna Nádja Ferreira de.

Microbiolização na qualidade de sementes e crescimento de plantas de feijão-caupi / Mylenna Nádja Ferreira de. - 2019.

20 f.: il. ; 30 cm.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia)-Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, Petrolina, 2019.

Bibliografia: f. 15-20.

1. Controle biológico. 2. Feijão-caupi. 3. Sementes. I. Título.

CDD 632.96

Microbiolização na qualidade de sementes e crescimento de plantas de feijão-caupi

Microbiolização de feijão-caupi

Resumo

O feijão-caupi tem grande importância como fonte de alimento e como gerador de emprego e renda para a população rural. No Brasil, a cultura do feijão-caupi ainda apresenta baixa produtividade, devido principalmente a utilização de sementes de baixa qualidade. Neste sentido, o tratamento de sementes através da microbiolização, apresenta benefícios na germinação de sementes, emergência e desenvolvimento das plântulas e produção de grãos. Este trabalho objetivou avaliar a qualidade fisiológica e sanitária de sementes microbiolizadas com diferentes microrganismos e seu efeito na nodulação e no crescimento de plantas de feijão-caupi BRS Pujante. Os organismos utilizados na microbiolização das sementes foram *Bacillus subtilis* (LCB30), *Bacillus subtilis* (LCB45), *Bacillus* sp. (BMH), *Bacillus* sp. (INV) e *Trichoderma* sp. Avaliou-se o percentual de germinação, o crescimento da radícula e a incidência de fungos nas sementes microbiolizadas. Foram utilizados os mesmos microrganismos para microbiolização no teste em viveiro. Sendo analisada massa fresca da parte aérea (MFPA), e raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR), e contagem de nódulos (NN), após 51 dias de crescimento das plantas. Para as análises foi utilizado o DIC, com 4 repetições para teste de germinação, e 10 repetições para teste em casa de vegetação. Os dados foram submetidos ao teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Todos os tratamentos proporcionaram o incremento na germinação de sementes de feijão-caupi BRS Pujante, exceto INV, com apenas 81% das sementes germinadas. Porém, na análise sanitária, todas as sementes microbiolizadas reduziram a incidência de fungos. A microbiolização das sementes com os diferentes microrganismos não se mostrou eficiente na nodulação das plantas. E no crescimento das plantas, o isolado LCB 30 promoveu aumento significativo na MSPA e MSR de plantas de feijão-caupi.

PALAVRAS-CHAVE: *Bacillus subtilis*, controle biológico, *Trichoderma*, *Vigna unguiculata* L. Walp.

Microbiolization in seed quality and growth of cowpea plants

Microbiolization of cowpea bean

Abstract

Cowpea bean has great importance as a source of food and as a generator of employment and income for the rural population. In Brazil, the cowpea bean crop still presents low productivity, mainly due to the use of low quality seeds. In this sense, seed treatment through microbiolization, is beneficial in seed germination, seedling emergence and development, and grain production. This work aimed to evaluate the

physiological and sanitary quality of microbiolized seeds with different microorganisms and their effect on nodulation and growth of BRS Pujante cowpea plants. The organisms used in the microbiolization of the seeds were *Bacillus subtilis* (LCB30), *Bacillus subtilis* (LCB45), *Bacillus* sp. (BMH), *Bacillus* sp. (INV) and *Trichoderma* sp. The percentage of germination, the growth of the radicle and the incidence of fungi in the microbiolized seeds were evaluated. The same microorganisms were used for microbiolization in the nursery test. Fresh mass of the aerial part (MFPA), root (MFR), shoot dry mass (MSPA) and root (MSR), and nodule count (NN) were analyzed after 51 days of plant growth. For the analyzes, the DIC was used, with 4 replicates for germination test, and 10 replicates for greenhouse testing. Data were submitted to the Scott-Knott test at 5% probability. All treatments provided an increase in germination of BRS Pujante cowpea bean seeds, except for INV, with only 81% of germinated seeds. However, in the sanitary analysis, all microbiolized seeds reduced the incidence of fungi. The microbiolization of the seeds with the different microorganisms was not efficient in the nodulation of the plants. And in plant growth, the LCB 30 isolate promoted a significant increase in MSPA and MSR of cowpea bean plants.

KEYWORDS: *Bacillus subtilis*, biological control, *Trichoderma*, *Vigna unguiculata* L. Walp.

Introdução

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) é uma das leguminosas mais consumidas e cultivadas no Brasil, com destaque para as regiões Norte e Nordeste. É amplamente produzida por pequenos produtores, constituindo um dos principais componentes da dieta alimentar, especialmente na zona rural (Silva et al., 2018). A produção brasileira para o ano agrícola 2017/2018 foi de 848,3 mil toneladas de grãos (CONAB, 2018), configurando o Brasil como o terceiro produtor mundial.

Apesar da importância da cultura, no Brasil, sua produtividade média ainda é baixa, em função do baixo nível tecnológico empregado no cultivo (Oliveira et al., 2015). Neste sentido, a utilização de sementes com potencial fisiológico elevado é fundamental para o estabelecimento de qualquer lavoura, pois o uso de sementes de baixo potencial de germinação e vigor reduzido originam lavouras com baixa população de plantas e conseqüentemente baixa produtividade (Krzyzanowski et al., 1993).

A aplicação de microrganismos no tratamento de sementes tem sido utilizada visando o aumento da produtividade, pois protege as plantas contra fitopatógenos e promover o crescimento de plantas. De modo geral, esses mecanismos estão relacionados ao desenvolvimento das plantas, incluindo os efeitos benéficos na germinação de sementes, emergência e desenvolvimento das plântulas e produção de grãos e frutos (Harman, 2000; Bertella et al., 2016). Outros ganhos secundários têm sido observados no solo, na ação sobre nutrientes indisponíveis, que passam a estar facilmente disponíveis e, também melhorias na qualidade estrutural (Junges, 2012).

A técnica de microbiolização tem sido utilizada com resultados satisfatórios e tem se apresentado como uma estratégia viável para a redução do uso exclusivo de produtos sintéticos, proporcionando benefícios econômicos e ambientais (Junges, 2014). Entre os microrganismos mais utilizados, em termos mundiais, destacam-se *Agrobacterium radiobacter*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Trichoderma harzianum* e *Gliocladium roseum* (Luz, 1993; Lazzaretti e Bettioli, 1997).

O tratamento de sementes com *Trichoderma* spp. apresenta-se como uma alternativa para o controle de doenças em plantas, estimular o enraizamento e o crescimento vegetal, promover a germinação de sementes e, ainda, acelerar o estabelecimento de mudas no campo após o transplante (Luz, 1996). Bactérias do gênero *Bacillus* possuem mecanismos diversos sobre as plantas tais como: produção de fitohormônios e sideróforos e indução de resistência, e sobre os patógenos através de antibiose e parasitismo (Tarnawski, 2006; Ramamoorthy et al., 2015).

Pelo exposto este trabalho objetivou avaliar a qualidade fisiológica e sanitária de sementes microbiolizadas com diferentes microrganismos e seu efeito na nodulação e no crescimento de plantas de feijão-caupi cv. BRS Pujante.

Metodologia

A pesquisa foi desenvolvida no Instituto Federal do Sertão Pernambucano, campus Petrolina Zona Rural (IF SERTÃO-PE). A primeira etapa consistiu na montagem dos testes de qualidade fisiológica e sanitária das sementes, onde foram realizados no laboratório de Microbiologia da instituição.

Foram utilizadas sementes de feijão-caupi cv. BRS-Pujante, adquiridas na Embrapa Semiárido, Petrolina-PE. Os organismos utilizados na microbiolização das sementes foram oriundos da coleção de microrganismos do laboratório de controle biológico da Embrapa Semiárido, Petrolina-PE (Tabela 1).

Tabela 1. Microrganismos utilizados para microbiolização de sementes de feijão-caupi BRS Pujante.

Tratamentos	Microrganismos
1	<i>Bacillus</i> sp. (BMH)
2	<i>Bacillus subtilis</i> (LCB 30)
3	<i>Bacillus subtilis</i> (LCB 45)
4	<i>Bacillus</i> sp. (INV)
5	<i>Trichoderma</i> sp.
6	Testemunha – Água destilada esterilizada (ADE)

Os isolados bacterianos foram multiplicados em placas de Petri contendo meio de cultura ágar nutriente (AN) e mantidos em câmara BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio) para crescimento por 48 horas a 28°C. Para obtenção das suspensões bacterianas foi adicionada solução salina estéril (0,85%) nas placas e realizada a

raspagem com alça de Drigalski e coletada em tubos de Eppendorf® (2000 µl). Em seguida, a suspensão final de cada bactéria foi ajustada em espectrofotômetro (comprimento de onda de 600nm e absorvância de 0,5).

A suspensão de *Trichoderma* sp. foi obtida pela adição de 20 ml de água destilada esterilizada (ADE) e 1 gota de Tween® sob colônias do fungo crescidas em placas de Petri contendo meio de cultura batata dextrose e ágar (BDA) por 10 dias a 28°C. A concentração final foi ajustada para 10^7 conídios ml^{-1} por meio de contagens em câmara de Neubauer.

Antes do início dos testes, as sementes foram desinfestadas superficialmente por meio da imersão em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1% (1 min.) e álcool a 70% (1 min.), seguida de três lavagens sucessivas com água destilada esterilizada e secagem em papel absorvente.

Para a microbiolização foi adotada a metodologia adaptada por Bezerra et al. (2013), onde 50 sementes foram imersas em cada uma das suspensões (70 ml) e agitadas durante 60 minutos. Como testemunha as sementes foram imersas somente em 70 ml de ADE. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com quatro repetições.

As sementes microbiolizadas foram submetidas ao teste de germinação em papel tipo Germitest, umedecidos com água destilada estéril na proporção de 2,5 vezes ao peso do papel seco e colocadas para germinar em BOD a 25°C, conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Aos quatro e sete dias após a instalação do teste, foi avaliado o número de sementes germinadas para calcular a porcentagem de germinação (BRASIL, 2009). Ao

final do período de sete dias, dez plântulas foram escolhidas ao acaso para avaliar o comprimento da radícula com auxílio de um paquímetro digital. A partir do teste de germinação também foi realizado o teste de sanidade das sementes, onde determinou-se a porcentagem de sementes infectadas por fungos patogênicos, e estes foram identificados a nível de gênero sob lupa ou microscópico óptico.

A segunda etapa do trabalho foi realizada em casa de vegetação da instituição, onde as sementes microbiolizadas foram plantadas em sacos de plantio (com capacidade para 3 litros) contendo solo agrícola, utilizando dez repetições por tratamento (Tabela 1).

O preparo da suspensão de *Trichoderma* sp. (10^7 conídios ml^{-1}) foi o mesmo realizado para o teste de germinação de sementes. Entretanto, para obtenção das suspensões das bactérias, os isolados cultivados em meio AN (48 horas) foram colocados com auxílio de uma alça inoculadora em Erlenmeyers com 125 ml de caldo nutriente e mantidos por 24 horas em mesa agitadora para o crescimento. Logo após, as suspensões foram padronizadas em espectrofotômetro ($A=600\text{nm}$) para 0,5.

Para o plantio foram utilizadas 3 sementes por saco, e 3 ml da suspensão em cada repetição por respectivo tratamento. Após 20 dias após a semeadura (DAS), foi realizado o desbaste, permanecendo uma planta por saco. E 30 DAS foi realizado a reaplicação das suspensões.

Após 51 DAS as plantas foram coletadas e as raízes e parte aérea foram separadas, sendo as raízes lavadas em água corrente para separação do solo. Para obtenção da massa seca, as partes vegetais foram acondicionados em sacos de papel e secos em estufa de circulação forçada a $60\text{ }^\circ\text{C}$, por 24 horas. Em balança analítica de

precisão, foi aferida a massa seca da parte aérea (MSPA) e das raízes (MSR) e os resultados expressos em gramas. Para as análises foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com dez repetições.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e tiveram as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, em nível de 5% probabilidade (Ferreira, 2000).

Resultados e Discussão

Verifica-se na Tabela 2 que os isolados bacterianos *Bacillus* sp. (BMH), *B. subtilis* (LCB 30), *B. subtilis* (LCB 45) e *Trichoderma* sp. promoveram um aumento a germinação das sementes quando comparada a testemunha. No entanto, a aplicação de *Bacillus* sp. (INV) nas sementes não mostrou incremento na germinação, sendo inferior aos demais tratamentos e a testemunha.

Tabela 2. Germinação de sementes (%), comprimento de radícula (cm) e incidência de fungos (%) em sementes de feijão-caupi cv. BRS Pujante microbiolizadas com diferentes microrganismos.

Tratamentos	Germinação (%)	Comp. Radícula (cm)	Incidência (%)
<i>Bacillus</i> sp. BMH	98,00a ¹	1,05d ¹	8,25a ¹
<i>B. subtilis</i> LCB 30	100,00a	4,36b	6,75a
<i>B. subtilis</i> LCB 45	99,50a	5,59a	11,00a
<i>Bacillus</i> sp. INV	81,00c	1,61d	16,00b
<i>Trichoderma</i> sp.	99,00a	2,08c	18,25b
Testemunha	93,00b	1,32d	40,75c

¹Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade.

Rocha et al. (2017) demonstraram o potencial de isolados de *Trichoderma asperellum* e *Bacillus subtilis* na elevação da germinação e velocidade de emergência de

sementes de feijão-caupi Sempre Verde e BRS Verde. Da mesma forma, sementes de feijão variedade BRS Estilo quando submetidas ao tratamento com isolados de *Trichoderma* spp. apresentaram percentagem e precocidade germinativa estatisticamente superior a testemunha (Marques et al., 2014).

Os efeitos de bactérias do gênero *Bacillus* spp. são diversos, incluindo potencial ação na germinação e emergência de plântulas, auxiliam na fixação de nitrogênio, produzem hormônios importantes para o crescimento vegetal (Cerqueira et al., 2015). Em alguns trabalhos, observou-se que o aumento no percentual de germinação, índice de velocidade de germinação e crescimento de plantas, por essas bactérias, tem sido relacionado a produção de giberelinas, auxinas e ácidos lácticos succínio (Holl et al., 1988, Boronin et al., 1993, Yoshikawa, 1993).

As radículas com maiores comprimentos (CR), foram verificadas nas sementes tratadas com *B. subtilis* (LCB 45) e *B. subtilis* (LCB 30) (Tabela 2). No entanto, notou-se menores valores para comprimento nas sementes tratadas com *Bacillus* sp. (BMH) e *Bacillus* sp. (INV), não diferindo da testemunha. Conforme Freitas et al., (2005) e Nakagawa (1999) a avaliação do comprimento de radícula tem como princípio de que lotes de sementes que emitem radícula e hipocótilo em menor tempo são mais vigorosos e mais aptos as condições de estresse ambiental, garantindo maiores sobrevivência no campo.

Na análise da sanidade de sementes de feijão-caupi microbilizadas com diferentes microrganismos (Tabela 2), foram identificados os fungos a nível de gênero sendo eles: *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp. e *Rhizopus* spp. Observou-se que a maior incidência de fungos patogênicos ocorreu no tratamento testemunha

(ausência de microrganismo) com percentual de 40,75%. Os menores percentuais de incidência foram observados nas sementes microbiolizadas com *Bacillus* sp. (BMH), *B. subtilis* (LCB 30) e *B. subtilis* (LCB 45) sendo, respectivamente 8,25%; 6,75% e 11,00%. As sementes tratadas com *Bacillus* sp. (INV) (16,00%) e *Trichoderma* sp. (18,25%) mostraram desempenho superior à testemunha.

Conforme Machado (2000), no manejo integrado de doenças o tratamento sanitário de sementes com agentes biocontroladores tem sido uma prática recomendada devido controlar doenças na fase que antecede a implantação da cultura, possibilitando redução do uso de defensivos químicos. Ethur et al., (2006) sugerem que caso essas sementes fossem semeadas, as estruturas desses microrganismos benéficos poderiam se estabelecer no solo, tornando-o supressivo a diversos patógenos.

Estes resultados preliminares apresentam-se como um passo importante para conhecer os prováveis mecanismos de ação desses organismos biocontroladores de patógenos que causam danos em sementes. Neste sentido, bactérias antagonicas, como *B. subtilis*, de modo geral agem significativamente por antibiose e, ocasionalmente, por parasitismo e competição, e seus isolados produzem uma grande variedade de metabólitos antifúngicos, entre os quais se encontram lipopeptídeos das famílias da surfactina, iturina e fengicina (Lanna Filho et al., 2010).

A capacidade do antagonista *Trichoderma* spp. de controlar fitopatógenos presentes no solo, tem sido associado, principalmente, aos mecanismos de micoparasitismo, antibiose e competição (Harman, 2006).

Para a variável massa fresca da parte aérea (MFPA), observou-se que não houve diferença entre os tratamentos (Tabela 3). As massas verificadas variaram de 2,44 a 3,95

g planta⁻¹. Com relação à matéria fresca de raiz (MFR) os tratamentos contendo *Trichoderma* sp. (2,40 g planta⁻¹) e *Bacillus* sp. (INV) (1,96 g planta⁻¹) mostraram valores superiores aos demais. Taiz e Zeiger (2004), sugerem que a melhor forma para avaliação do crescimento de uma planta seja a massa seca, pois a massa fresca é um parâmetro muito sensível às oscilações hídricas, uma vez que a maior parte dos vegetais é formada por água. O teor de água é bastante variável devido, por exemplo, a perda de água por transpiração que pode ocorrer desde o local da amostragem até o local de pesagem (Reis e Muller, 1978).

Tabela 3. Massa fresca de parte aérea (MFPA) e massa fresca de raiz (MFR) de plantas de feijão-caupi cv. BRS Pujante submetidas a microbiolização durante a semeadura e durante crescimento vegetativo.

Tratamentos	MFPA (g)	MFR (g)
<i>Bacillus</i> sp. BMH	3,28a ¹	0,98b ¹
<i>B. subtilis</i> LCB 30	3,95a	0,94b
<i>B. subtilis</i> LCB 45	2,89a	1,39b
<i>Bacillus</i> sp. INV	2,94a	1,96a
<i>Trichoderma</i> sp.	3,17a	2,40a
Testemunha	2,44a	1,52b

¹Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade.

Com relação a variável massa seca da parte aérea (MSPA), o tratamento *B. subtilis* (LCB 30) apresentou maior massa seca (2,88 g planta⁻¹) quando comparado aos demais tratamentos (Tabela 4). Resultado semelhante foi observado por Chagas et al., (2017) que ao avaliaram o efeito do uso *B. subtilis* (UFT BS10) como promotor de crescimento vegetal na cultura de feijão-caupi observaram que aplicação isolada da bactéria promoveu incremento da MSPA das plantas. Conforme Lazzareti (2005),

constatou que o uso de *B. subtilis* é uma estratégia promissora para promover crescimento de plantas de feijoeiro.

A aplicação dos tratamentos *Trichoderma* sp., *B. subtilis* (LCB 30) e *Bacillus* sp. (INV) nas sementes de feijão-caupi promoveram o aumento significativo da massa seca da raiz (MSR), obtendo-se os valores 0,52; 0,42 e 0,40 g planta⁻¹ respectivamente (Tabela 4).

Oliveira (2016) verificou que diferentes doses de um produto a base de *B. subtilis* associada a sementes de alto vigor, promoveram maior acúmulo de MSPA e MSR de plantas de feijoeiro cv. BRS Estilo.

Estes resultados podem estar relacionados ao fato de que *B. subtilis* induzir na planta a síntese de fitohormônios, como ácido indolacético, ácido abscísico, giberelinas e citocininas que favorecem o crescimento das raízes e o aumento no número dos pelos radiculares (Araújo et al., 2009). Outros estudos têm sido realizados com diferentes linhagens de *Trichoderma* spp. demonstrando promoção de crescimento de plantas pelo aumento na disponibilidade de nutrientes e produção de hormônios e crescimento (Kapri e Tewari, 2010; Chagas et al., 2015).

Tabela 4. Massa seca de parte aérea (MSPA), de raiz (MSR) e número de nódulos (NN) de plantas de feijão-caupi cv. BRS Pujante submetidas a microbiolização durante a semeadura e durante crescimento vegetativo.

Tratamento	MSPA (g)	MSR (g)	NN
<i>Bacillus</i> sp. BMH	1,35b ¹	0,20b ¹	5,10a ¹
<i>B. subtilis</i> LCB 30	2,88a	0,42a	2,50a
<i>B. subtilis</i> LCB 45	1,76b	0,29b	1,00a

<i>Bacillus</i> sp. INV	1,43b	0,40a	0,80a
<i>Trichoderma</i> sp.	1,69b	0,52a	2,80a
Testemunha	1,09b	0,27b	0,40a

¹Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade.

Todas as plantas microbiolizadas de feijão-caupi avaliadas apresentaram nodulação e com a contagem do número de nódulos (NN) não se verificou diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 4). Resultados contrários foram obtidos por Araújo et al., (2009) demonstraram aumento na nodulação de feijão-caupi quando coinoculado com *B. subtilis* e *Bradyrhizobium*, atribuindo-se influência positiva do *Bacillus* pela competição com o rizóbio, aumentando os sítios de infecção e a ação inibitório do crescimento de fungos nas raízes.

Conclusões

- A microbiolização com *Bacillus* sp. (BMH), *B. subtilis* (LCB 30), *B. subtilis* (LCB 45) e *Trichoderma* sp. promoveram o aumento da germinação nas sementes de feijão-caupi BRS Pujante;
- O tratamento das sementes com *B. subtilis* (LCB 45) proporcionou um maior comprimento da radícula em sementes de feijão-caupi;
- A microbiolização reduziu a incidência de fungos nas sementes de feijão-caupi;
- A inoculação dos diferentes microrganismos nas sementes de feijão-caupi não se mostra eficiente para melhoraria da nodulação de plantas de feijão-caupi;
- O isolado *B. subtilis* (LCB 30) promove aumento da massa seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR) de plantas de feijão-caupi.

Bibliografia

Araújo, A. S. F. de; Carneiro, R. F. V.; Bezerra, A. A. C.; Araújo, F. F. de. (2009). Coinoculação rizóbio e *Bacillus subtilis* em feijão-caupi e leucena: efeito sobre a nodulação, a fixação de N₂ e o crescimento das plantas. *Ciência Rural*, 40(1), 182-185.

[Link](#).

Bertella, M. (2016). Microbiolização e peliculização: efeitos sobre a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja e trigo (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade Federal da Fronteira Sul, Erechim, Rio Grande do Sul. [Link](#).

Bezerra, G. A.; Macedo, D. A.; Nascimento, I. O.; Sousa, T. P.; Costa, N. B.; Sousa, L. F. R. A. (2013). Uso de *Bacillus* spp. no controle de fitopatógenos em sementes de soja variedade BRS Valiosa RR. *Revista Agroecossistemas*, 5(1), 68-73. doi: [10.18542/ragros.v5i1.1414](https://doi.org/10.18542/ragros.v5i1.1414)

Boronin, A. M.; Kochetkov, V.; Dubeikovski, A.; Mordukhova, E. (1993). Biological control of soilborne plant pathogens by PGPR *Pseudomonas* isolated in Russia. In: International Congress of Plant Pathology, Montreal – Canada. Anais... Montreal – Canada: Int. Soc. Path, p. 276.

Brasil. (2009). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para Análise de Sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 398p.

Cerqueira, W. F.; Morais, J. S.; Miranda, J. S.; Mello, I. K. S. (2015). Influência de bactérias do gênero *Bacillus* sobre o crescimento de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.). *Enciclopédia Biosfera*, 11(20), p. 82. [Link](#).

Chagas, L.F.B.; Chagas Junior, A.F.; Carvalho, M.R. de; Miller, L. de O. & Colonia, B.S.O. (2015). Evaluation of the phosphate solubilization potential of *Trichoderma* strains (Trichoplus JCO) and effects on rice biomass. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 15(3),794-804. doi: [10.4067/S0718-95162015005000054](https://doi.org/10.4067/S0718-95162015005000054)

Chagas, L. F. B.; Martins, A. L. L.; Carvalho Filho, M. R. de; Miller, L. O.; Oliveira, J. C.; Chagas Junior, A. F. (2017). *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* sp. no incremento da biomassa em plantas de soja, feijão-caupi, milho e arroz. Agri-environmental sciences, 3(2),10-18. [Link](#).

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. (2018). Acompanhamento da safra brasileira de grãos: safra 2016/17 e 2017/18 décimo primeiro levantamento, 5(11). 148 p.

Ethur, L. Z.; Rocha, E. K. da; Milanesi, P.; Marlove, F. B. M.; Blume, E. (2006). Sanidade de sementes e emergência de plântulas de nabo forrageiro, aveia preta e centeio submetidas a tratamentos com bioprotetor e fungicida. Ciência e Natura, 28(2), 17 - 27. [Link](#).

Ferreira, D. F. (2000). Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 255- 258.

Freitas, T. A. S.; Barroso, D. G.; Carneiro, J. G. de A.; Penchel Filho, R. M.; Lamônica, K. R.; Ferreira, D. de A. (2005). Desempenho radicular de mudas de eucalipto produzidas em diferentes recipientes e substratos. Revista Árvore, 29(6), 853-861. [Link](#).

Harman, G.E. (2000). Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T- 22. *Plant Disease*, 84(4), 377-393. doi: [10.1094/PDIS.2000.84.4.377](https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.4.377)

Harman, G. E. (2006). Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96, 190-194. doi: [10.1094/PHYTO-96-0190](https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0190)

Holl, F. B.; Chanway, C. P.; Turkington, R.; Radley, R. A. (1988). Response of crested wheatgrass (*Agropyron cristatum* L.), perennial ryegrass (*Lolium perenne*) and white clover (*Trifolium repens* L.) to inoculation with *Bacillus polymyxa*. *Soil Biology and Biochemistry*, 20, 19-24. doi: [10.1016/0038-0717\(88\)90121-6](https://doi.org/10.1016/0038-0717(88)90121-6)

Junges, E. (2012). Técnicas de microbiolização de sementes de milho, feijão, nabo forrageiro e aveia preta. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul. [Link](#).

Junges, E; Bastos, B. O.; Toebe, M., Muller, J.; Pedroso, D. C.; Muniz, M. F. B. (2014). Restrição hídrica e peliculização na microbiolização de sementes de milho com *Trichoderma* spp. *Comunicata Scientiae*, 5(1), 18-25. [Link](#).

Kapri, A. & Tewari, L. (2010). Phosphate solubilization potential and phosphatase activity of rhizospheric *Trichoderma* spp. *Brazilian Journal of Microbiology* 41(3),787-795. doi: [10.1590/S1517-83822010005000001](https://doi.org/10.1590/S1517-83822010005000001)

Krzyzanowski, F.C.; Gilioli, J.L.; Miranda, L.C. (1993). Produção de sementes nos cerrados. In: Arantes, N.E.; Souza, P.I.M. *Cultura da soja nos cerrados*. Piracicaba: Potafos, p.465-522.

Lanna Filho, R.; Ferro, H. M.; De Pinho, R. S. C. (2010). Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas, 4(2), 12-20. [Link](#).

Lazzaretti, E.; Bettiol, W. (1997). Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado a base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. Scientia Agricola, 54(1-2), 89-96. doi: [10.1590/S0103-90161997000100013](https://doi.org/10.1590/S0103-90161997000100013)

Lazzaretti, E. (2005). Influência de *Bacillus subtilis* na promoção de crescimento de plantas e nodulação de raízes de feijoeiro. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento N° 28. Embrapa Ambiente, 15p. [Link](#).

Luz, W. C. (1993). Microbiolização de sementes para o controle de doenças de plantas. Revista Anual de Patologia de Plantas.

Luz, W. C. (1996). Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. Revisão Anual de Patologia de Plantas, 4, 1-49. [Link](#).

Machado, J. C. (2000). Tratamento de sementes no controle de doenças. Lavras: LAPS/UFLA/ FAEPE, p. 138. [Link](#).

Marques, E.; Santos, D. B.; Silva, J. B.T.; Martins, I.; Mello, S. C.M. (2014). Avaliação do tratamento biológico com isolados de *Trichoderma* spp. na germinabilidade de sementes de feijão. Cadernos de Agroecologia, 9(3). [Link](#).

Nakagawa, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: Krzyzanoski, F.C.; Vieira, R.D.; França Neto, J.B. (1999). (Ed.). Vigor em sementes: conceitos e testes. Londrina: Abrates, p.2.1-2.24.

Oliveira, G. R. F.; Silva, M. S.; Marciano, T. Y. F.; Proença, S. L.; Sá, M. E. (2016). Crescimento inicial do feijoeiro em função do vigor de sementes e inoculação com *Bacillus subtilis*. *Brazilian Journal of Biosystems Engineering*, 10(4), 439-448. doi: [10.18011/bioeng2016v10n4p439-448](https://doi.org/10.18011/bioeng2016v10n4p439-448)

Oliveira, L. M. de; Schuch, L. O. B.; Bruno, R.; Peske, S. T. (2015). Qualidade de sementes de feijão-caupi tratadas com produtos químicos e armazenadas em condições controladas e não controladas de temperatura e umidade. *Semina: Ciências Agrárias*, 36(5). doi: [10.5433/1679-0359.2015v36n3p1263](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n3p1263)

Ramamoorthy, V.; Viswanathan, R.; Raguchander, T.; Prakasam, V.; Samiappan, R. (2015). Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protection*, 20(1), 1-11. doi: [10.1016/S0261-2194\(00\)00056-9](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00056-9)

Reis, G. G.; Muller, M. W. (1978). *Análise de crescimento de plantas - mensuração do crescimento*. Belém, 35p.

Rocha, W. S.; Sakai, T. R.; Souza, D. L. A.; Junior, A. F. C.; Santos, M. M. (2017). Efeito da microbiolização na germinação e crescimento inicial de feijão caupi no Estado do Tocantins. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*, 11(6), 41-47. [Link](#).

Silva, M. C. A.; Santos, M. M. dos; Santos, M. G. dos. (2018). Uso de bioestimulante em caupi via semente e foliar em diferentes fases vegetativas. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*, 12(1), 37-42. [Link](#).

Taiz, E.; Zeiger, L. *Fisiologia vegetal*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

Tarnawski, S.; Hamelin, J.; Jossi, M.; Aragno, M.; Fromin, N. (2006). Phenotypic structure of *Pseudomonas* populations is altered under elevated pCO₂ in the rhizosphere of perennial grasses.. *Soil Biology & Biochemistry*, 38(6), 1193-1201. doi: [10.1016/j.soilbio.2005.10.003](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.10.003)

Yoshikawa, M.; Hirai, N.; Wakabayashi, K.; Sugizaki, H.; Iwamura, H. (1993). Succinic and lactic acids as plant growth promoting compounds produced by rhizosphere *Pseudomonas putida*. *Canadian Journal of Microbiology*, 39, 1150-1154. doi: [10.1139/m93-173](https://doi.org/10.1139/m93-173)