

Uso de *Bacillus* sp. como promotores de crescimento e biocontrole de *Fusarium semitectum* em sementes de soja (*Glycine max* L. Merrill)

Use of *Bacillus* sp. as promoters of growth and biocontrol of *Fusarium semitectum* in soybean seeds (*Glycine max* L. Merrill)

Suzana Silva Gonçalves¹; Gustavo de Andrade Bezerra²; Tathyane Pereira de Sousa³; Niedja Bezerra Costa⁴; Patrícia Sumara Moreira Fernandes⁵; Ivaneide Oliveira Nascimento⁶

¹ UEMA, Graduada em Engenharia Agrônômica.
E-mail: suzanaherenio@gmail.com

² UFG, Doutorando em Agronomia (Fitossanidade).

³ UEMA, Doutora em Agroecologia.

⁴ UFG, Doutora em Agronomia (Fitossanidade).

⁵ UEMA, Mestre em Agricultura e Ambiente.

⁶ UFT, Graduada em Engenharia Agrônômica.

Resumo: O tratamento de sementes desempenha um papel fundamental para o sucesso da emergência de plântulas de maneira uniforme. Portanto, buscou-se avaliar a qualidade sanitária de sementes de soja e a eficácia da microbiolização com *Bacillus cereus* e *Bacillus macerans* no controle biológico de *F. semitectum* e na promoção do crescimento de plântulas de soja. Para o teste de sanidade das sementes foi empregado o método do *Blotter Test*. Os tratamentos ficaram da seguinte forma: T1 – sementes não microbiolizadas; T2 – sementes microbiolizadas com *B. cereus* (B-45); T3 – sementes microbiolizadas com *B. macerans* (B-16); T4 – sementes microbiolizadas com *B. macerans* e *B. cereus*. As sementes microbiolizadas com as bactérias foram plaqueadas em experimentos conduzidos no laboratório com DIC. Para promoção de crescimento foram avaliados 15 plântulas de cada repetição por tratamento. As análises procederam-se em intervalos de 10, 20 e 30 dias após a instalação do experimento. Realizou-se a avaliação dos parâmetros de crescimentos: germinação, comprimento da parte aérea, comprimento da raiz, massa fresca da parte aérea e de raízes, massa seca da parte aérea e de raízes. Houve 10% na germinação, 57,25% de sementes infectadas e 42,75% sadias. Na redução de fitopatógenos, de *F. semitectum* e germinação por sementes induzidas com *Bacillus* sp. houve 25% de germinação, 73,25% de sementes sadias e 33,25% infectadas. Em casa de vegetação houve a transmissão via semente nas plântulas: *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Alternaria* sp., *F. semitectum*, *Cercospora sojina*, *Penicillium* sp. e *Verticillium* sp. Com isso, o isolado de *B. cereus* apresentou melhor eficiência para todos os parâmetros avaliados no experimento.

Palavras-chave: microbiolização. Promoção de crescimento. Plântulas

Abstract: Seed treatment plays a key role in the success of uniform seedling emergence. Therefore, we sought to evaluate the health quality of soybean seeds and the effectiveness of

microbiolization with *Bacillus cereus* and *Bacillus macerans* in the biological control of *F. semitectum* and in promoting the growth of soybean seedlings. For the seed health test the *Blotter Test* method was used. The treatments were as follows: T1 - non-microbiolized seeds; T2 - microbiolized seeds with *B. cereus* (B-45); T3 - microbiolized seeds with *B. macerans* (B-16); T4 - microbiolized seeds with *B. macerans* and *B. cereus*. Microbiolized seeds with bacteria were plated in experiments conducted in the laboratory with IHD. For growth promotion, 15 seedlings of each replicate were evaluated. by treatment. The analyzes were performed at intervals of 10, 20 and 30 days after the installation of the experiment. The growth parameters were evaluated: germination, shoot length, root length, shoot and root fresh mass, shoot and root dry mass. There were 10% in germination, 57.25% of infected seeds and 42.75% healthy. In the reduction of phytopathogens, *F. semitectum* and seed germination induced with *Bacillus* sp. There were 25% of germination, 73.25% of healthy seeds and 33.25% infected. In greenhouse, seedlings were transmitted by seedlings: *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Alternaria* sp., *F. semitectum*, *Cercospora sojina*, *Penicillium* sp. and *Verticillium* sp. Thus, the *B. cereus* isolate presented better efficiency for all parameters evaluated in the experiment.

Keywords: microbiolization. Promotion of growth. Seedlings

Introdução

Dentro do agronegócio mundial, a produção de soja está entre as atividades econômicas que, nas últimas décadas, apresentaram crescimentos mais expressivos. Isso pode ser atribuído a diversos fatores, como: desenvolvimento e estruturação de um sólido mercado internacional relacionado com o comércio de produtos do complexo soja; consolidação da oleaginosa como importante fonte de proteína vegetal, especialmente para atender a demandas crescentes dos setores ligados à produção de produtos de origem animal; geração e oferta de tecnologias, que viabilizaram a expansão da exploração sojícola para diversas regiões do mundo (HIRAKURI; LAZZAROTTO, 2011)

Tendo em vista o grande número de doenças que podem afetar a cultura da soja, o emprego de medidas de controle que minimizem as perdas é fundamental. Dentre essas medidas, o uso de cultivares resistentes, sementes livres de patógenos e o tratamento químico podem garantir a obtenção de plantas mais saudáveis e produtivas (HENNING *et al.*, 1994). Dentre as espécies de *Fusarium*, a mais frequentemente encontrada em sementes de soja é o *F. semitectum* (98% ou mais), sendo considerado patogênico por afetar a germinação em laboratório (GOULART, 2010).

Diferentes tipos de microrganismos estão sendo investigados, no Brasil, onde antagonistas isolados podem inibir o crescimento de patógenos, em meio de cultura. O potencial de agentes microbianos de biocontrole, através da microbiolização das sementes, já foi registrado. Esses microrganismos atuam como indutores de resistência, provocando alterações citoquímicas durante o ataque de patógenos (KLOEPPER; GARDENER; DRIKS, 2004). A microbiolização consiste na utilização de microrganismos ou de seus metabólitos na proteção de sementes, sendo este método já utilizado na promoção de germinação e crescimento e no controle de diferentes patógenos (FARIA; ALBUQUERQUE; CASSETARI NETO; 2003).

Os fungos associados à semente podem causar a sua deterioração, ou ser transmitidos para a plântula, colonizando órgãos radiculares e aéreos. A transmissão de um patógeno pela semente pode ser influenciada por uma série de fatores, como espécie cultivada, condições ambientais, práticas culturais, sobrevivência do inóculo, vigor da semente, e microflora do solo e da semente entre outros (McGEE, 1988; CASA; REIS; NERBASS, 2006).

A transmissão por sementes de soja contendo esporos e clamidósporos de *Fusarium* spp leva à infecção por meio do desenvolvimento de micélio do patógeno nos tecidos do hospedeiro. A transmissibilidade do fungo através da massa de grãos pode perdurar por até um ano em sementes armazenadas e resíduos de colheita, assim como partículas de solo podem, efetivamente, transferir inóculo de *Fusarium* spp. quando em contato com sementes de soja (VENTURA, 1999).

As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP) são bactérias encontradas na rizosfera, podendo estar na superfície ou em associação com as raízes, sendo capazes de potencializar o crescimento da planta de maneira direta ou indireta (GALDIANO JUNIOR, 2011). As pesquisas sobre as RPCP têm aumentado cada vez mais desde que o termo foi utilizado pela primeira vez por Kloepper e colaboradores no final de 1970 (VESSEY, 2003). Entre os gêneros mais estudados destacam-se: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum* e *Rhizobium*. Esses microrganismos têm ação sobre o desenvolvimento das plantas, incluindo os efeitos benéficos tanto na germinação de sementes, quanto na emergência de plântulas e crescimento das plantas (LAZZARETTI; BETTIOL, 1997). As RPCP agem de forma complexa. Dessa forma, as rizobactérias podem apresentar uma combinação de ações positivas para o crescimento das plantas (AHMAD; AHMAD; KHAN, 2008).

O crescimento de fungos, bactérias e nematoides fitopatogênicos pode ser inibido por vários microrganismos benéficos habitantes da rizosfera. A atividade e os efeitos antagonistas de microrganismos benéficos às plantas, atuando na rizosfera estão bem estudados para as bactérias pertencentes ao grupo das Proteobacteria (*Pseudomonas* e *Burkholderia*) e Firmicutes (*Bacillus* e gêneros afins) (RAAIJMAKERS *et al.*, 2009). As rizobactérias podem suprimir as doenças envolvendo vários mecanismos de ação, como: antagonismo relacionado à produção de antibióticos antifúngicos como a iturina em *B. subtilis* (ARAÚJO; HUNGRIA; HENNING, 2005); competição por espaço e nutrientes com fitopatógenos e outros microrganismos prejudiciais à rizosfera (PEIXOTO, 1997; ROBIN *et al.* 2008); e indução de resistência nas plantas (WALL; SANCHEZ, 1993). Neste contexto, objetivou-se avaliar a qualidade sanitária de sementes de soja e a eficácia da microbiolização de sementes com *Bacillus cereus* e *Bacillus macerans* no controle biológico de *F. semitectum* e na promoção do crescimento de plântulas de soja.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido nos Laboratórios de Fitopatologia, Microbiologia e Alimento e de Entomologia da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA/CESI). Foram utilizadas sementes de soja da cultivar M9144Y colhidas no ciclo de 2013/2014. O teste de sanidade consistiu na utilização de 400 sementes. As sementes de soja foram

inicialmente desinfestadas através de imersão em uma solução de hipoclorito de sódio (NaOCl), a 1% de cloro ativo por 3 minutos, seguida de 3 lavagens com água destilada. Em seguida, as mesmas foram plaqueadas em placas de Petri previamente esterilizadas, contendo três camadas de papel de filtro umedecido com água destilada e esterilizada (ADE), sendo plaqueadas 20 sementes (BRASIL, 2009). As placas foram acondicionadas em bancadas por sete dias em condições de fotoperíodo (16h de luz e 8h de escuro), sendo possível realizar um levantamento de patógenos nas sementes, com auxílio de microscópio óptico e metodologia comparativa de Barnett e Hunter (1998).

Para avaliar a redução da incidência dos fitopatógenos em sementes de soja, foi adotada a metodologia citada por Ludwig *et al* (2004) com modificações, que consiste em microbiolizar as sementes com os isolados de *Bacillus*, na forma de suspensão, adicionando-se solução salina (NaCl 0,85%) a cada um dos *Bacillus*, sendo a concentração ajustada para OD₅₄₀=0,5 AA. As sementes foram imersas nesta suspensão e agitadas durante 2 horas a 25 °C. Após esse procedimento, as sementes foram plaqueadas, pelo método do papel de filtro (BRASIL, 2009) e incubadas a 25°C, sob regime de fotoperíodo. A avaliação da incidência dos patógenos ocorreu após sete dias, examinando-se individualmente as sementes em microscópio estereoscópico para observação da incidência dos fitopatógenos. O delineamento estatístico adotado foi inteiramente casualizado, com quatro isolados e cinco repetições, sendo que cada placa de Petri com 20 sementes constituiu uma unidade experimental. Os tratamentos ficaram da seguinte forma: T1 – sementes não microbiolizadas; T2 – sementes microbiolizadas com *B cereus* (B-45); T3 – sementes microbiolizadas com *B macerans* (B-16); T4 – sementes microbiolizadas com *B. macerans* e *B. cereus*.

Na avaliação da promoção de crescimento, o experimento conduzido em bandeja foi instalado em casa de vegetação no CDT (Centro de Difusão Tecnológica) no Município de Imperatriz do Estado do Maranhão. Foram utilizados 4 tratamentos (T1 – sementes não microbiolizadas; T2 – sementes microbiolizadas com *Bacillus cereus* (B-45); T3 – sementes microbiolizadas com *Bacillus macerans* (B-16); T4 – sementes microbiolizadas com *Bacillus macerans* e *Bacillus cereus*), contendo cada um 30 sementes, totalizando 120 sementes/tratamento, usando como substrato vermiculita fina. As análises procederam em intervalos de 10, 20 e 30 dias após a instalação do experimento. Realizou-se a avaliação dos parâmetros de crescimentos:

- Germinação: segundo metodologia adaptada de Machado *et al* (2002), as contagens de germinação foram feitas a partir da instalação do teste com intervalos de 10, 20 e 30 dias após a instalação do experimento. O critério adotado para a avaliação do teste baseia-se nas recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), em que se consideraram germinadas as sementes que originaram plântulas normais, com todas as estruturas essenciais, demonstrando, assim, sua aptidão para produzirem plantas normais sob condições favoráveis de campo.
- Comprimento de parte aérea: foi realizado por intermédio de uma régua graduada, sendo medido do colo ao maior ápice da ramificação (COUTO *et al*, 2009).

- Comprimento de parte radicular: foi realizado por intermédio de uma régua graduada, sendo medido do colo à maior ponta da raiz (COUTO *et al.*, 2009).
- Biomassa: as plantas utilizadas para determinação de comprimento de parte aérea e radicular foram utilizadas posteriormente para avaliação da biomassa fresca, quando se procedeu com o acondicionamento das plantas em sacos de papel, previamente identificados por tratamento e repetição e levados à balança digital para pesagem. Em seguida foi levado para estufa de circulação forçada, com temperatura de 70°C (± 5°C) por 24 horas para obtenção da biomassa seca. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com auxílio do programa ASSISTAT 7.0.

Na avaliação para o teste de transmissibilidade, a metodologia foi adaptada segundo a metodologia de Lazarotto *et al.* (2012). As avaliações foram feitas com intervalos de 10, 20 e 30 dias depois da instalação do experimento. As mesmas consistiram na observação dos sintomas de doenças nas plântulas e coletadas para análise em laboratório. Avaliaram-se 5 (cinco) plantas por repetição/tratamento em intervalos de 10, 20, 30 dias. Para essas avaliações, utilizou-se a metodologia descrita por Rego (2008), avaliando-se emergência de plântulas saudáveis e plântulas com sintomas de doenças. As sementes não germinadas foram retiradas, lavadas em água esterilizada e colocadas em câmara úmida, onde permaneceram por sete dias, sendo identificados os patógenos associados a estas e o mesmo foi feito com as mudas sintomáticas. O mesmo procedimento se repetiu aos 20 e 30 dias.

A taxa de transmissão avaliada foi feita pela metodologia de Teixeira e Machado (2003). Os dados obtidos foram expressos em porcentagem de transmissão em cada um dos tratamentos.

$$T.T(\%) = \frac{T.I(\%) \times 100}{I.S(\%)}$$

em que:

T.T (%) – taxa de transmissão de patógenos;

T.I – taxa de infecção em sementes por fungos;

I.S – incidência do fungo em sementes avaliadas no “Blotter test”.

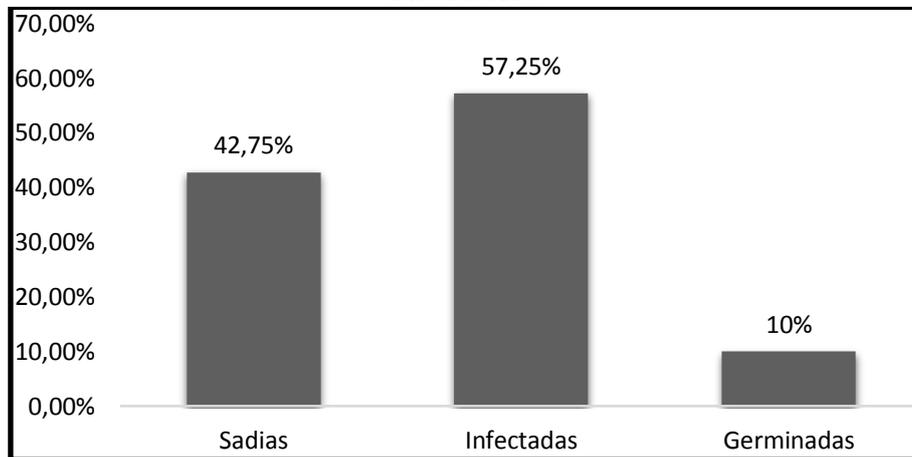
Os dados obtidos foram expressos em porcentagem de transmissão em cada um dos tratamentos.

Resultados e Discussão

As sementes de soja apresentaram baixa taxa de germinação, que pode estar associada com a incidência de fungos fitopatogênicos. Observa-se que as sementes de soja apresentaram 57,25% de sementes infectadas, resultado que pode estar relacionado com a baixa germinação das mesmas, que foi de 10% (Figura 1). O método de armazenamento das sementes pode diminuir o vigor germinativo das mesmas, uma vez que as sementes que foram coletadas para análise encontravam-se armazenadas em ambiente fora da refrigeração por um determinado período de tempo. Logo, a falta

de refrigeração no armazenamento torna-se um fator limitante também podendo estar relacionado com a baixa germinação das sementes.

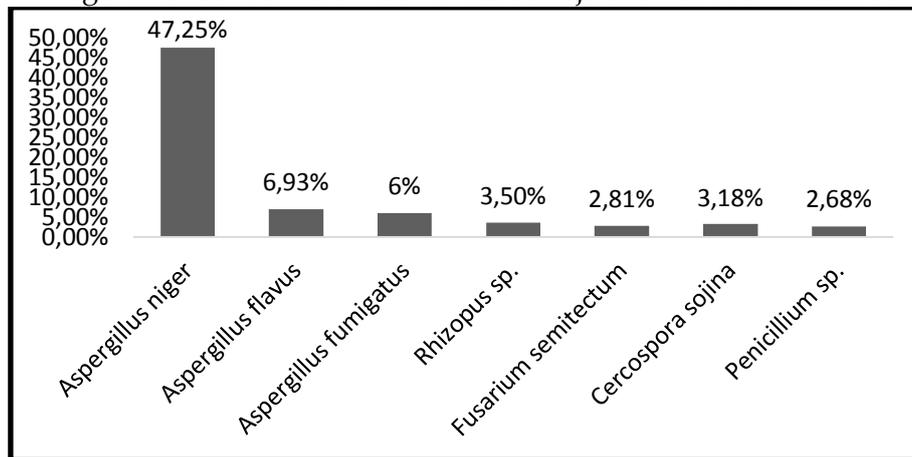
Figura 1. Condição sanitária de sementes de soja submetidas à teste de sanidade pelo método de papel de filtro e germinação em experimento realizado em condições de laboratório.



Fonte: Dados da pesquisa

Em relação a sanidades das sementes de acordo com a incidência fúngica, foram identificadas as seguintes espécies fitopatogênicas: *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium semitectum*, *Cercospora sojina*, *Rhizopus* sp. e *Penicillium* sp. (Figura 2).

Figura 2. Patógenos encontrados em sementes de soja submetidas ao teste de sanidade.



Fonte: Dados da pesquisa

Na avaliação sanitária das sementes, houve elevada incidência de patógenos de armazenamento nas variedades analisadas. O fungo *Aspergillus niger* foi o de maior incidência, com 47,25%, seguido do *Aspergillus flavus*, com 6,93%. Entretanto, os patógenos que transmitem doenças de campo tiveram baixa incidência, como no caso do *Fusarium semitectum*, que obteve o percentual de incidência de 2,81%, de acordo com

o teste de saúde, causador de doenças como podridão de sementes, podridão do colo e podridão de raiz.

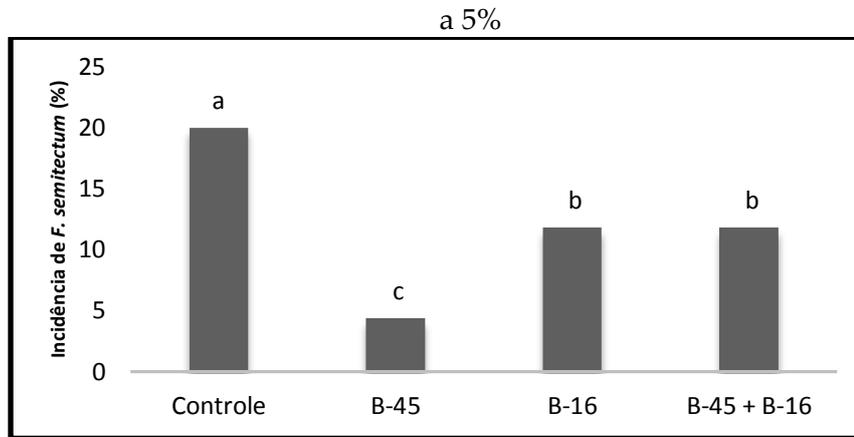
Diversos fatores podem influenciar na variação dos testes de incubação, dentre os principais está a condição de armazenamento das amostras, sendo o controle da temperatura e da umidade relativa do ar indispensável para preservar a viabilidade da semente e dos patógenos (HENNING, 2005). A duração e as condições de armazenamento podem levar a resultados completamente diferentes entre laboratórios, devido à perda da viabilidade dos patógenos de campo ou a proliferação de fungos de armazenamento.

No experimento realizado para avaliação do efeito dos isolados de *B. cereus* e *B. macerans*, tanto para o controle de fitopatógenos, quanto para a promoção de crescimento, pôde-se perceber um crescente efeito desses isolados e suas combinações na redução de fitopatógenos e na germinação de sementes em condições de laboratório, visto que houve uma redução na porcentagem de sementes infectadas com 26,75% de infestação fúngica, quando comparado aos dados de sanidade de sementes (Figura 1). O uso de isolados de *Bacillus* sp. foi eficiente para redução de fitopatógenos em sementes de soja.

Houve um acréscimo na taxa de germinação das sementes de soja quando submetidas aos tratamentos com uso de *Bacillus* sp. De acordo com as análises feitas por Paz *et al.* (1997), ao avaliar o efeito inibitório do surgimento de agentes patogênicos na germinação de sementes de feijão e milho microbiolizadas com um isolado endofítico de *Bacillus subtilis*, constatou-se que a inibição da germinação pode ter ocorrido devido a alguns fatores, entre estes pode-se destacar um inóculo elevado, existindo um efeito de competição por nutrientes entre o microrganismo e o embrião vegetal. Outro fator de inibição pode ter ocorrido pela produção de metabolitos tóxicos pela bactéria à semente, o que pode ter acarretado uma diminuição nos índices de crescimento das radículas ou a morte do embrião, levando, assim, a uma redução também no surgimento de fungos fitopatogênicos.

Houve uma redução da incidência de microrganismos em relação ao tratamento controle. As sementes tratadas com B-45 apresentaram eficiência contra o *F. semitectum*, reduzindo em 85% a infestação em relação ao controle (Figura 3). Alguns autores constataram que isolados de diversas espécies de *Bacillus* são capazes de inibir o crescimento fúngico em várias culturas. Foi constatado no experimento de Remuska e Pria (2007) que alguns *Bacillus* como *B. thuringiensis* e *B. subtilis* inibiram o crescimento micelial de diversos fungos em condições de laboratório como os *Fusarium solani* e *Rizoctonia solani*.

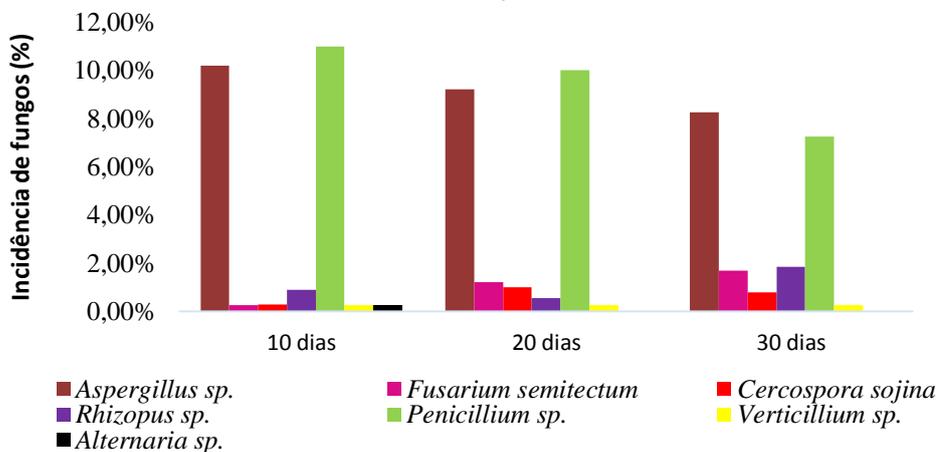
Figura 3. Análise do efeito de isolados de *B. cereus* (B – 45) e *B. macerans* (B – 16) no controle de *F. semitectum* em sementes de soja, em experimento realizado em laboratório. As letras diferentes representam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%



Fonte: Dados da pesquisa

Na avaliação da transmissão de fitopatógenos em plântulas de soja e redução da incidência induzidas por *B. cereus* e *B. macerans*, observou-se baixa incidência de fitopatógenos em plântulas de soja quando relacionadas ao teste de sanidade. Com a análise, os fungos transportados pelas sementes foram *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Alternaria* sp., *F. semitectum*, *C. soja*, *Penicillium* sp. e *Verticillium* sp. (Figura 4).

Figura 4. Incidência fúngica associada à produção de plântulas de soja em casa de vegetação



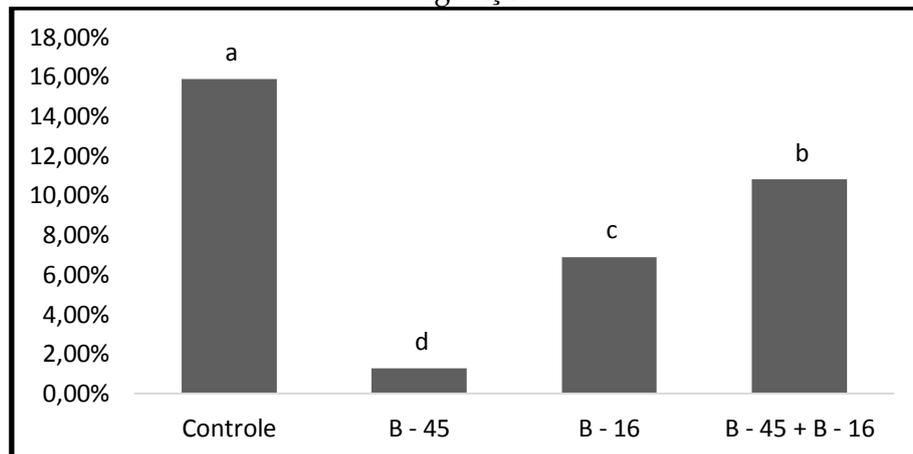
Fonte: Dados da pesquisa

Em trabalho realizado por Corrêa *et al.* (2008), houve controle significativo do *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* em antagonismo com *B. subtilis* na redução de transmissão desse fitopatógeno em plântulas de feijão, podendo relacionar com os dados obtidos com a soja.

Quando submetidas aos tratamentos com indutores biológicos para a redução de fitopatógenos, as plântulas de soja apresentaram redução na incidência desses

fitopatógenos (Figura 5) e as plântulas apresentam aspectos sanitários satisfatório para a produção. O tratamento (B – 45), com suspensão de *B. cereus*, apresentou menor incidência de patógenos.

Figura 5. Avaliação do efeito de isolados de *B. cereus* (B – 45) e *B. macerans* (B – 16) no controle de *F. semitectum* em plântulas de soja em experimento realizado em casa de vegetação



Fonte: Dados da pesquisa

No controle de *F. semitectum*, o tratamento com uso de *Bacillus cereus* (B 45) se destacou. No trabalho feito por Costa, Dhingra e Silva (2005), utilizando a influência de inóculo interno de *F. semitectum* associados às sementes e plântulas, os resultados observados mostraram que o inóculo de *F. semitectum* em sementes pode estar associado à podridão radicular de mudas e ao crescimento em plântulas.

Em relação à promoção de crescimento de plântulas de soja, quando feita a avaliação para germinação, foi observado um incremento na germinação induzido por tratamentos bacterianos, mostrando que os tratamentos realizados não influenciaram na germinação (Tabela 1)

Tabela 1. Germinação de sementes de soja avaliadas aos 10, 20 e 30 dias após a semeadura, tratadas com *Bacillus* sp promotores de crescimento de plantas

Tratamentos	Germinação (%)		
	10 dias	20 dias	30 dias
Controle	9,50 a	10,75 a	11,75 a
B45	8,75 a	9,75 a	12,00 a
B16	7,00 a	7,50 a	8,25 a
B45 + B16	6,75 a	7,25 a	7,75 a
CV (%)	31,15	27,65	29,09
F	1.1544 ^{ns}	1.9754 ^{ns}	2.4214 ^{ns}

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. Legenda: B – 45 (*Bacillus cereus*); B – 16 (*Bacillus macerans*).

Fonte: Dados da pesquisa

Na avaliação de parâmetros morfoagronômicos, os dados demonstram que há um crescimento do comprimento de parte aérea e raízes e incremento de massa fresca e seca de parte aérea e de raízes, quando submetidos ao tratamento com B-45 (Tabela 2, 3 e 4), devido ao incremento de produção de biomassa que esses microrganismos benéficos proporcionam à cultura. Ao avaliarem resposta da co-inoculação de bactérias promotoras de crescimento em plantas, Rodrigues *et al.* (2012) verificaram que a promotora de crescimento da parte aérea e da raiz no feijão caupi com espécies de *Bacillus* sp. promoveram efeitos positivos. Esses resultados são semelhantes aos obtidos por Araújo e Carvalho (2009), os quais observaram que o tratamento com *B. subtilis* aumentou a produção de massa fresca da parte aérea e de raízes de plântulas de leguminosas.

Tabela 2. Avaliação do comprimento da parte aérea (CPA) e da raiz (CR) de plântulas de soja avaliadas aos 10, 20 e 30 dias após a semeadura, induzidas por *B. cereus* e *B. macerans*

Tratamentos	Comprimento (cm)					
	10 dias		20 dias		30 dias	
	CPA	CR	CPA	CR	CPA	CR
Controle	2,075 c	2.750 a	5.025 b	3.275 b	7.000 c	3.825 b
B – 45	5,725 a	3.425 a	8.225 a	4.225 a	12.525 a	5.100 a
B – 16	3,875 b	2.750 a	4.875 b	3.225 b	8.675 b	4.100 b
B – 45 + B –16	3.800 b	2.800 a	4.575 b	3.100 b	7.025 c	3.625 b
CV (%)	3.82	11.17	6.37	10.03	5.08	7.71
F	406.4286**	4.0602*	89.4268**	8.9203**	135.0708**	16.6559**

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem entre si em nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. Legenda: B – 45 (*Bacillus cereus*); B – 16 (*Bacillus macerans*).

Fonte: Dados da pesquisa

Tabela 3. Avaliação da massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca das raízes (MFR) de plântulas de soja (*Glycine max* L. Merrill), avaliadas aos 10, 20 e 30 dias após a semeadura, induzidas por *Bacillus cereus* e *Bacillus Macerans*

Tratamentos	Peso (g)					
	10 dias		20 dias		30 dias	
	MFPA	MFR	MFPA	MFR	MFPA	MFR
Controle	0.859 b	0.472 c	0.392 b	0.600 b	1.352 d	0.725 b
B45	1.144 a	0.662 b	0.591 a	0.798 a	3.525 a	0.885 a
B16	0.969 b	0.594 ab	0.368 b	0.651 b	2.700 b	0.694 b
B45 + B16	0.973 b	0.581 b	0.467 ab	0.677 b	2.025 c	0.714 b
CV (%)	7.41	5.84	13.32	6.83	12.26	6.26
F	10.4144**	21.8489**	10.9401**	13.0804**	39.9356**	13.8638**

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem entre si em nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. B – 45 (*Bacillus cereus*); B – 16 (*Bacillus macerans*).

Fonte: Dados da pesquisa

Em trabalho semelhante, Araújo, Araújo e Sousa (2012), na sua avaliação de produção de massa seca da parte aérea e de raiz do feijão-caupi, efetuada aos 40 e 55 dias após a semeadura, observaram que o tratamento que recebeu a inoculação com *B. subtilis* promoveu crescimento significativo da planta na avaliação aos 55 dias. Esse resultado demonstra que a inoculação de sementes, apenas com *B. subtilis*, promoveu maior crescimento da planta.

Tendo em vista esses resultados, o uso de bactérias promotoras do crescimento vegetal está relacionado com o ganho de incrementos da plântula, levando a uma arquitetura vegetal reforçada, impedindo o surgimento de doenças devido ao seu efeito direto, que é o controle de doenças de plantas. O acúmulo de auxinas que está relacionada ao crescimento vegetal auxilia nesse progresso de acúmulo de massa fresca e seca, tanto de parte aérea como de raízes.

Tabela 4. Avaliação da massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca das raízes (MSR) de plântulas de de soja (*Glycine max* L. Merrill), avaliadas aos 10, 20 e 30 dias após a semeadura, induzidas por *Bacillus cereus* e *Bacillus Macerans*

Tratamentos	Peso (g)					
	10 dias		20 dias		30 dias	
	MSPA	MSR	MSPA	MSR	MSPA	MSR
Controle	0.128 c	0.071 b	1.127 c	0.115 b	0.607 b	0.167 a
B – 45	0.323 a	0.120 a	2.262 a	0.191 a	0.801 a	0.262 a
B – 16	0.268 ab	0.104 a	1.550 b	0.141 ab	0.554 b	0.192 a
B – 45 + B – 55	0.258 b	0.104 a	1.575 b	0.142 ab	0.638 b	0.167 a
CV (%)	11.57	12.78	9.78	21.00	10.27	26.11
F	33.9192**	10.6626**	34.7668**	4.2172*	10.1538**	3.0345 ^{ns}

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem entre si em nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. Legenda: B – 45 (*Bacillus cereus*); B – 16 (*Bacillus Macerans*).

Fonte: Dados da pesquisa

O efeito direto que esses microrganismos antagonistas provocam sobre fitopatógenos pode estar relacionado com a ação de metabólitos que têm efeito inibitório sobre os mesmos, elevando a planta a uma condição sanitária satisfatória, o que acarreta em ganhos de produtividade e, conseqüentemente, ganhos econômicos.

Conclusão

Na avaliação sanitária das sementes de soja, obteve-se incidência fúngica consideravelmente alta e baixa germinação. No teste de sanidade, foi possível identificar os seguintes fitopatógenos: *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *F. semitectum*, *C. sojina*, *Rhizopus* sp. e *Penicillium* sp. Na avaliação do controle de fitopatógenos e de *Fusarium semitectum* e da germinação por sementes microbiolizadas com *Bacillus* sp. houve aumento na taxa de semente sadia devido ao tratamento com *Bacillus cereus* (B45), que proporcionou o melhor resultado em sementes de soja. Os fitopatógenos

transmitidos em plântulas de soja foram: *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Alternaria* sp., *F. semitectum*, *C. sojae*, *Penicillium* sp. e *Verticillium* sp. O isolado de *B. cereus* (B45) apresentou melhor eficiência nos parâmetros avaliados na promoção de crescimento, como crescimento da parte aérea e de raiz, massa fresca e seca da parte aérea e da raiz. (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR).

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior e À Universidade Estadual do Maranhão.

Referências

AHMAD, F.; AHMAD, I.; KHAN, M. S. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. **Microbiological Research**, v. 163, n. 2, p. 173-181, 2008.

ARAÚJO, F. F.; HUNGRIA, M.; HENNING, A.A. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, n. 8/9, p. 1639-1645, 2005.

ARAÚJO, F. F.; ARAÚJO A. S. F.; SOUSA, M. F.; Inoculação do feijão-caupi com rizobactérias promotoras de crescimento e desempenho na produção de biomassa. **PAP-Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, Pernambuco, Recife, v. 17, n. único, p. 53-58, jan./dez. 2012.

ARAÚJO, F. F.; CARVALHO, M. H. M. Crescimento de tomateiro após tratamento de mudas com *bacillus subtilis* e carbofuran. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 25, n. 4, p. 59-64, Jul./Ago. 2009.

BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrated Genera of Imperfect Fungi**. APS PRESS: Fourth, 1998.

BRASIL. **Manual de Análise Sanitária de Sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 200 p.

CORRÊA, B.O. *et al.* Influência da microbiolização de sementes de feijão sobre a transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* (Saac e Magn.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 2, p. 156-163, 2008.

CASA, R.T.; REIS, E.M.; NERBASS, F.R. Implicações epidemiológicas da transmissão de fungos em sementes de milho. *In: Manejo de doenças de grandes culturas: feijão, batata, milho e sorgo*. Lavras: UFLA, 2006. p. 202-212.

COSTA, M. L. N.; DHINGRA, O. D.; SILVA, J. L. Influence of Internal Seedborne *Fusarium semitectum* on Cotton Seedlings. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 2, mar.-abr. 2005.

COUTO, M. et al. Crescimento de plantas micropropagadas de amoreira-preta. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 31, n. 3, p. 792-797, set. 2009.

FARIA, A. Y. K, ALBUQUERQUE, M. C. F. E.; CASSETARI NETO, D. Qualidade fisiológica de sementes de algodoeiro submetidas a tratamentos químico e biológico. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 1, p. 121-127, 2003.

GALDIANO JR., R. F. **Isolamento, identificação e inoculação de bactérias produtoras de auxinas associadas às raízes de orquídeas**. Jaboticabal. Disponível em: <http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/gmp/m/3614.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2014.

GOULART, A. C. P. Critérios técnicos para o sucesso do tratamento de sementes com fungicidas. **Revista Cultivar Grandes Culturas**, n. 135, p. 23, ago. 2010.

HENNING, A. A. *et al.* **Tratamento e inoculação de sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1994. 6p.

HENNING, A. A. *et al.* **Manual de Identificação de Doenças de Soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. (Documentos Embrapa Soja, n. 256). p. 72.

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. Evolução e perspectivas de desempenho econômico associadas com a produção de soja nos contextos mundial e brasileiro. **Embrapa Soja**, Londrina, PR. Doc. 319, p. 11-13, 2011.

KLOEPPER, J. W.; GARDENER, B. B.; DRIKS, A. Nature and application of biocontrol microbes: *Bacillus* spp. **American Phytopathological Society**, v. 94, n. 11, p. 1259-1266, 2004.

LAZZAROTTO, M. *et al.* Sanidade, transmissão via semente e patogenicidade de fungos em sementes de *Cedrela fissilis* procedentes da região sul do Brasil. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 22, n. 3, p. 493-503, jul.-set. 2012.

LAZZARETI, E.; BETTIOL, W. 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**, Piracicaba, v. 54, n. 1 p. 89-96, 1997.

LUDWIG, J. *et al.* Incidência de *Gerlachia oryzae* em lotes de sementes microbiolizadas com isolados de bactérias biocontroladoras. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 8., 2004, João Pessoa, **Anais...** João Pessoa, 2004. p. 184.

MACHADO, C.F. *et al.* Metodologia para a condução do teste de germinação em sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson). **Cerne**, v. 8, n. 2, p. 017-025, 2002.

McGEE, D.C. **Maize disease**: a reference source for seed technologists. St. Paul: The American Phytopathological Society. 1988. 150p

PAZ, I.C.P. *et al.* Controle biológico da murcha bacteriana do tomateiro, por *Pseudomonas* spp. fluorescentes. **Ciência Rural**, v.27, n.1, p.153-160, 1997.

RAAIJMAKERS, J. M. *et al.* The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. **Plant and Soil**, v. 321, n. 2, p. 341-361, 2009.

REGO, S. S. **Germinação, morfologia e sanidade de sementes de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg e *Myrceugenia gertii* Landrum – Myrtaceae**. 2008. 114 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

REMUSKA, A. C.; PRIA, M. D. Efeito de *Bacillus thuringiensis* e *Trichoderma* sp. no crescimento de fungos fitopatogênicos. UEPG Ci. **Exatas Terra, Ci. Agr. Eng.**, Ponta Grossa, v. 13, n. 3, p. 31-36, dez. 2007.

ROBIN, A. *et al.* Iron dynamics in the rhizosphere: consequences for plant health and nutrition. **Advances in Agronomy**, v. 99, n. 1, p. 183-225, 2008.

RODRIGUES, A. C. *et al.* Resposta da co-inoculação de bactérias promotoras de crescimento em plantas e *Bradyrhizobium* sp. em caupi. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, Supplement 1, p. 196-202, mar. 2012.

TEXEIRA, H.; MACHADO, J. C. Transmissibilidade e efeito de *Acremonium strictum* em semente de milho. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 5, p. 1045-1052, set/out. 2003.

VENTURA, J. A. Taxonomia de *Fusarium* e seus segregados: I – História, meios e procedimentos de cultivo. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 7, p. 271-297. 1999.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v. 255, n. 2, p. 571-586, 2003.

WALL, G.C.; SANCHEZ, J.L. A biocontrol agent for *Pseudomonas solanacearum*. In: HATMAN, G.L.; HAYWARD, A.C. (Ed.). **Bacterial wilt**, ACIAR Proceeding, 1993. p.320-321.