

CONTROLE DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* EM SEMENTES E PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO INICIAL DO FEIJOEIRO POR *Bacillus* sp. LABIM09

Maicon Fernando Petry de Paula¹,
Renata Mori Thomé²,
Viviane Yummi Baba³,
Luiz Vitor Barbosa de Oliveira⁴,
Admilton Gonçalves de Oliveira Junior⁵,
Maria Isabel Balbi-Peña⁶

¹Aluno do Curso de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina – UEL, email: maicon.fernando@uel.br

²Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UEL

³Pós-Doutoranda do Departamento de Agronomia da UEL

⁴Aluno do Curso de Agronomia da UEL

⁵Professor Doutor do Departamento de Microbiologia da UEL

⁶Orientadora, Professora Doutora do Departamento de Agronomia da UEL.

RESUMO

Dentre as doenças do feijoeiro, podemos destacar a murcha de fusarium, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Fop). O tratamento de sementes com fungicidas químicos é recomendado para seu controle, entretanto, causa acúmulo de resíduos no meio ambiente, bem como aumenta a pressão de seleção sobre os patógenos. O tratamento de sementes com produtos biológicos é uma das alternativas para conter a transmissão de doenças via semente. Os objetivos desse trabalho foram determinar se o tratamento de sementes de feijoeiro com um produto à base da cepa LABIM09 de *Bacillus* sp. (em duas concentrações) reduz a incidência de Fop em sementes, bem como avaliar o crescimento inicial das plântulas oriundas de sementes tratadas com o produto. Para instalação dos ensaios, sementes foram inoculadas com Fop, e posteriormente receberam os seguintes tratamentos: água, água + Fop, fungicida químico 200 mL/100 kg de sem. (Metalaxil 20 g/L+Tiabendazol 150 g/L+Fludioxonil 25 g/L+Tiamotoxan 350 g/L) + Fop, meio de cultura de LABIM09 + Fop, LABIM09 150 (150 g de ativo liofilizado/100 kg de sem.) + Fop e LABIM09 300 (300g de ativo liofilizado/100 kg de sem.) + Fop. Foi montado um teste de germinação em rolo de papel e avaliadas a germinação e a incidência de Fop após nove dias. Para verificar o efeito de LABIM09 no crescimento inicial das plântulas montou-se outro experimento em rolos de papel onde as sementes receberam os tratamentos: água, meio de cultura de LABIM09, LABIM09 150 e LABIM09 300. Após nove dias, as plântulas foram secas e a massa das raízes e parte aérea foi determinada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições. A germinação das sementes tratadas com o fungicida (99%) e com LABIM09 150 (87%) não diferiram do controle (94%). A incidência de Fop em plântulas oriundas de sementes tratadas com LABIM09 150 foi de 13%, inferior que o controle positivo (34,3%) e superior que o fungicida (não apresentou plantas doentes). LABIM09 300 determinou aumento do peso de raízes das plântulas em relação ao controle e as duas formulações com LABIM09 aumentaram a relação raiz/massa total das plântulas. Conclui-se que, o tratamento de sementes de feijoeiro com o produto biológico à base da cepa LABIM09 150, apresenta redução da incidência de Fop em sementes previamente inoculadas com o patógeno e promove o crescimento inicial da raiz em relação ao total da plântula quando a semente é tratada com o produto à base da bactéria.

Palavras-chave: atividade antifúngica, bioativos, controle biológico, murcha de fusarium

Introdução

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) possui grande relevância sociocultural para o Brasil, uma vez que a leguminosa compõe a dieta típica brasileira, fornecendo alto teor de vitaminas, proteínas, ferro e sais minerais (Antunes, Bilhalva, Elias e Soares, 1995; Castro, Fidelis e Wander, 2019). Na safra de 2019/20 foram produzidos no país 3.222,1 mil toneladas em uma área de 2,9 mil hectares. Da produção total estima-se que 2.008 mil toneladas são de feijão-comum cores, 712,6 mil toneladas de feijão-caupi e 509,5 mil toneladas de feijão-comum preto. O maior estado produtor é o Paraná que, na mesma safra, produziu cerca de 580,1 mil toneladas (Companhia Nacional de Abastecimento [CONAB], 2021).

Um dos fatores que causa maior redução da produtividade da cultura é a incidência de doenças. Mais de 45 doenças são descritas para a cultura do feijão (Wendland, Moreira, Bianchini e Giampan, 2016) e, dentre as principais, podemos destacar a murcha de fusarium causada pelo patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Fop).

O fungo *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* é um habitante do solo e ocorre em todo o território brasileiro, principalmente em áreas de monocultivo e é favorecido em áreas de solo compactado, temperaturas baixas e alta umidade (Wordell Filho, Chiaradia e Balbinot, 2013). O patógeno infecta a planta pelas raízes e coloniza os vasos do xilema, causando a murcha da parte aérea (Wendland et al., 2016). Os sintomas iniciais surgem na raiz e são estrias verticais avermelhadas, que se tornam marrons ao coalescer (Wendland et al., 2016; Wendland, Lobo Junior e Faria, 2018). Os sintomas principais são clorose foliar que evolui para a senescência, murcha e seca total da planta. Em plantas jovens o desenvolvimento é reduzido, podendo causar até a morte da planta. Em condições de alta umidade, sobre o caule da planta desenvolve-se micélio branco, que se torna rosado a partir da produção de conídios. A severidade da doença aumenta em regiões onde há presença de nematoides como *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus* spp., pois estes causam ferimentos nas raízes e facilitam a infecção pelo fungo (Wendland et al., 2016; Wendland et al., 2018).

Os clamidósporos de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* podem estar presentes nas sementes ou no solo e estes utilizam os exsudados da própria planta hospedeira para germinar e infectar a raiz, por meio de lesões já pré-existentes (Lugo, 2008). Quando infecta a planta, o patógeno se desenvolve no córtex e sistema vascular, onde produz microconídios, que serão transportados pelo xilema por toda a planta (Beckman, 1987). A colonização do xilema interrompe o transporte de água e nutrientes, causando o sintoma de murcha (Silva, 2012).

Do ponto de vista epidemiológico, a associação desse fungo com sementes é a responsável pela introdução e disseminação de inóculo inicial entre regiões de cultivo. Muitos fungos transmitidos por sementes, como no caso de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, podem resultar no tombamento de pré ou pós-emergência, e, conseqüentemente na diminuição do estande. O tratamento das sementes visando ao controle do inóculo infectivo são medidas que auxiliam em grande escala o combate a esse tipo de doença (Costa et al., 2003). O tratamento e uso de sementes certificadas pode diminuir a propagação do patógenos para áreas não infestadas, bem como o uso de cultivares resistentes e com grande volume de raiz e o plantio em áreas bem drenadas são medidas eficazes de controle (Wendland et al., 2016; Wendland et al., 2018).

A utilização de defensivos agrícolas sintéticos, para o controle de pragas e doenças, aumentou nos últimos anos. O uso intensivo de agrotóxicos, causa acúmulo de resíduos no meio ambiente, bem como aumenta a pressão de seleção sobre os patógenos, podendo gerar o surgimento de populações de microrganismos resistentes aos princípios ativos utilizados.

Bactérias, fungos filamentosos ou leveduriformes podem ser utilizados para produzir produtos biológicos (Nayaka et al., 2009). Os microrganismos possuem diversas estratégias para exercer ação antagonista sobre outro, como o parasitismo, predação, competição por nutrientes e produção de metabólitos tóxicos (Punja, 2003).

O gênero *Bacillus* tem como modo de ação o parasitismo e a competição, entretanto, na maioria das vezes, essa ação se dá por meio da produção de metabólitos com ação antimicrobiana (Earl, Losick e Kolter, 2008). As bactérias pertencentes a esse gênero estão presentes em diversos ambientes, o que se deve à capacidade de sobreviver em condições adversas, desenvolvimento acelerado e baixa exigência nutricional (Bluma & Etcheverry, 2006).

No controle de doenças fúngicas de plantas, o gênero *Bacillus* é amplamente empregado. A linhagem PGPBACCA1 de *Bacillus amyloliquefaciens* inibiu diversos patógenos, entre eles: *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani* (Torres et al., 2017). Tian et al. (2020), verificaram que a cepa w176 de *Bacillus* sp. reduziu a incidência do bolor verde dos citros, causado por *Penicillium digitatum* em 89,3%, tendo um controle semelhante ao do fungicida procloraz.

Além de possuir atividade antagonista, as bactérias deste gênero também podem promover o crescimento vegetal. Para ser considerada promotora de crescimento, uma cepa bacteriana deve melhorar o desenvolvimento vegetal.

A atividade das rizobactérias pode trazer benefícios desde a emergência da plântula, até seu desenvolvimento final. Estes benefícios devem-se ao aumento da fixação de nitrogênio e solubilização de nutrientes (Schisler, Slininger, Behle e Jackson, 2004; Tortora, Diaz-Ricci e Pedraza, 2010) e à produção de hormônios vegetais como a giberelina (Holl, Chanway, Turkington e Radley, 1988). Neste aspecto, podemos observar diversos exemplos na literatura. Szilagyi-Zecchin, Mógor, Ruaro e Röder (2014) verificaram que uma cepa de *B. amyloliquefaciens*, quando aplicada em sementes, causava o aumento dos teores de clorofila e do desenvolvimento da parte aérea do tomateiro. Chen et al. (2019) observaram, em mudas de amendoim inoculadas com *B. velezensis* (LD02), um aumento de 25,2 e 18,4% no comprimento e na massa seca da raiz, respectivamente, quando comparadas com a controle após 14 dias de cultivo em vasos.

O emprego de espécies de *Bacillus* para promover o crescimento vegetal e o controle biológico de doenças, demonstra ser eficiente, atrativo e menos agressivo ao meio ambiente quando comparado aos defensivos químicos, o que o torna uma alternativa econômica e ambientalmente sustentável (Shafi, Tian e Ji, 2017).

O presente trabalho teve como objetivo determinar se o tratamento de sementes de feijoeiro com um produto biológico à base da cepa LABIM09 de *Bacillus* sp. (testado em duas concentrações) apresenta controle da incidência de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* em sementes previamente inoculadas com o patógeno, bem como avaliar o crescimento inicial das plântulas oriundas de sementes tratadas com o produto à base da bactéria.

Material e Métodos

Manutenção dos isolados fúngicos e bacterianos

O isolado de (Fop) foi mantido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Londrina (UEL), em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) a 25 °C e fotoperíodo de 12/12 h. A cepa LABIM09 de *Bacillus* sp. está mantida na coleção do Laboratório de Biotecnologia Microbiana (LABIM) da UEL, Paraná.

Preparação dos produtos à base de Bacillus sp. LABIM09

Para o preparo do pré-inóculo, colônias puras de LABIM09 foram suspensas em solução salina (0,85% cloreto de sódio) e ajustada para 0,5 na escala de McFarland (1.5×10^8 UFC/mL). Para o preparo do inóculo, trinta microlitros dessa suspensão foram transferidos para frascos erlenmeyer de 125 mL contendo 30 mL de caldo Luria Bertani (LB) e incubado a 28 °C por 24 h a 125 rpm. Para a produção de metabólitos antifúngicos, alíquotas de 1% (v:v) de cada inóculo foram transferidos para frascos erlenmeyer de 1000 mL contendo 400 mL de meio formulado (meio composto por fontes de carbono, nitrogênio e diferentes micronutrientes – formulação em pedido de patente). Após inoculação, os frascos foram incubados a 28 °C e 200 rpm em incubadora giratória por 72 h e posteriormente, a cultura foi centrifugada a 4 °C e 9000 rpm por 10 minutos e filtrada em membranas de 0.22 µm para obtenção do sobrenadante livre de células (SLC). O SLC foi congelado a -80 °C e liofilizado por 48 h a -60 °C. Após liofilização foi obtida uma concentração de 1×10^{10} UFC/g de ativo liofilizado.

Inoculação de sementes com F. oxysporum f. sp. phaseoli

Tabela 1 - Produtos e doses utilizados para o tratamento de sementes de feijão.

Tratamentos
T1 - Água
T2 - Água e inoculado com Fop
T3 - Fungicida químico 200 mL/ 100 kg de sementes [Metalaxil (20 g/L) + Tiabendazol (150 g/L) + Fludioxonil (25 g/L) + Tiamotoxan (350 g/L)] e inoculado com Fop
T4 - Meio de cultura de LABIM09 e inoculado com Fop
T5 - LABIM09 150 g de ativo liofilizado/100 kg de semente e inoculado com Fop
T6 - LABIM09 300 g de ativo liofilizado/100 kg de semente e inoculado com Fop

Para a obtenção de sementes de feijão infectadas por Fop foi usada a técnica de restrição hídrica com meio BDA modificado com manitol com potencial osmótico de -1,0 MPa (Costa et al., 2003; Carvalho, De Mello, Lobo Junior e Silva, 2011).

O fungo foi incubado durante seis dias em placas de petri de 9 cm de diâmetro (três discos/placa) e uma vez constatada a total colonização da superfície do meio, as placas receberam sementes de feijão, da cultivar Rosinha, previamente desinfestadas (1 min com hipoclorito de sódio 1%, lavadas duas vezes por 1 minuto em água deionizada esterilizada e secas em fluxo laminar por 30 minutos). As sementes foram distribuídas na superfície do meio colonizado e incubadas por dois dias a 25 °C e fotoperíodo de 16/8 h (luz/escuro).

As sementes receberam os tratamentos e doses especificados na Tabela 1. O tratamento da semente com os produtos foi realizado em um becker de 250 mL com um volume de calda

na proporção de 1 L/100 kg de semente e por homogeneização manual por 1 minuto. Após o tratamento, as sementes foram secas em câmara de fluxo laminar por 30 minutos.

O teste de germinação foi realizado segundo a metodologia de Carvalho et al. (2011) com modificações. Cada tratamento constou de 100 sementes, divididas em quatro repetições. Em cada uma, 25 sementes foram distribuídas uniformemente sobre duas folhas de papel *germitest* (44,0 x 34,0 cm), umedecidas com água destilada (umedecido em um volume 2,5 vezes o peso do papel), e cobertas com uma terceira folha umedecida para fechamento do rolo de papel. Os rolos foram colocados dentro de saco de plástico e incubados a 25 °C por nove dias. A germinação e a verificação da incidência do patógeno foram determinadas de acordo com as Regras de Análise de Sementes (RAS) (Brasil, 2009). Fop foi identificado pela observação, ao microscópio estereoscópio e ótico, de micélio aéreo, monofiálides, microconídios e macroconídios típicos de fungo ao redor das sementes e plântulas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados de incidência foram submetidos à análise não paramétrica de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). Os dados de germinação foram submetidos à análise de variância e as médias separadas pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). Todas as análises foram realizadas usando os pacotes EasyAnova (Arnhold, 2013) e Agricolae (Mendiburu, 2020) do programa R (R Core Team, 2019).

Crescimento de plântulas de feijoeiro

Sementes previamente desinfestadas como descrito anteriormente foram tratadas com: T1 - Água, T2 - meio de cultura de LABIM09, T3 - LABIM09 150 g liofilizado/100 kg de semente e T4 - LABIM09 300 g liofilizado/100 kg de semente. Foram montados os rolos de papel como descrito anteriormente. Aos nove dias de incubação a 25 °C, as plântulas foram cortadas e as amostras de raiz e parte aérea foram secas em estufa a 65 °C até peso constante.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância ($p < 0,05$) no programa R (R Core Team, 2019) e as médias separadas pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$), usando o pacote EasyAnova (Arnhold, 2013).

População de Bacillus sp. LABIM09 na semente e na plântula de feijoeiro

A população bacteriana de *Bacillus* sp. LABIM09 foi determinada no teste de crescimento de plântulas. Foi realizada a contagem de células bacterianas nas sementes após o tratamento com os produtos à base de LABIM09 e nas plântulas oriundas dessas sementes após nove dias de crescimento em rolo de papel. Cinco sementes de feijão foram colocadas em um tubo com 9 mL de solução salina (NaCl 0,85%) esterilizada e agitada por 1 min em vortex. No caso da contagem da população bacteriana na raiz das plântulas foi utilizado o mesmo procedimento a partir de um grama de tecido fresco de raiz proveniente de quatro plântulas (uma de cada repetição). Uma alíquota de 100 µL da concentração de 10^{-5} , das suspensões resultantes, foram plaqueadas em meio ágar-nutriente e espalhadas com alça de Drigalski. As placas foram incubadas a 28 °C por 40 h e as colônias bacterianas com características morfológicas típicas de *Bacillus* sp. foram contadas.

Resultados e Discussão

Os resultados de porcentagem de germinação de sementes tratadas com água, meio de cultura de LABIM09, fungicida e formulações à base de LABIM09 e da incidência de Fop em plântulas de feijão aos nove dias após semeadura em rolo de papel podem ser observados na Figura 1 e Figura 2, respectivamente.

No teste de germinação foi verificado que o tratamento de sementes com o fungicida químico (99%) e com LABIM09 150 g/100 kg sem. (87%) não diferiram do controle negativo (água) que apresentou 94% de germinação. As sementes tratadas com LABIM09 150 g/100 kg sem. apresentaram uma germinação de sementes significativamente maior (87%) do que o tratamento controle positivo (65%), o que representa um aumento de 33,8% da germinação.

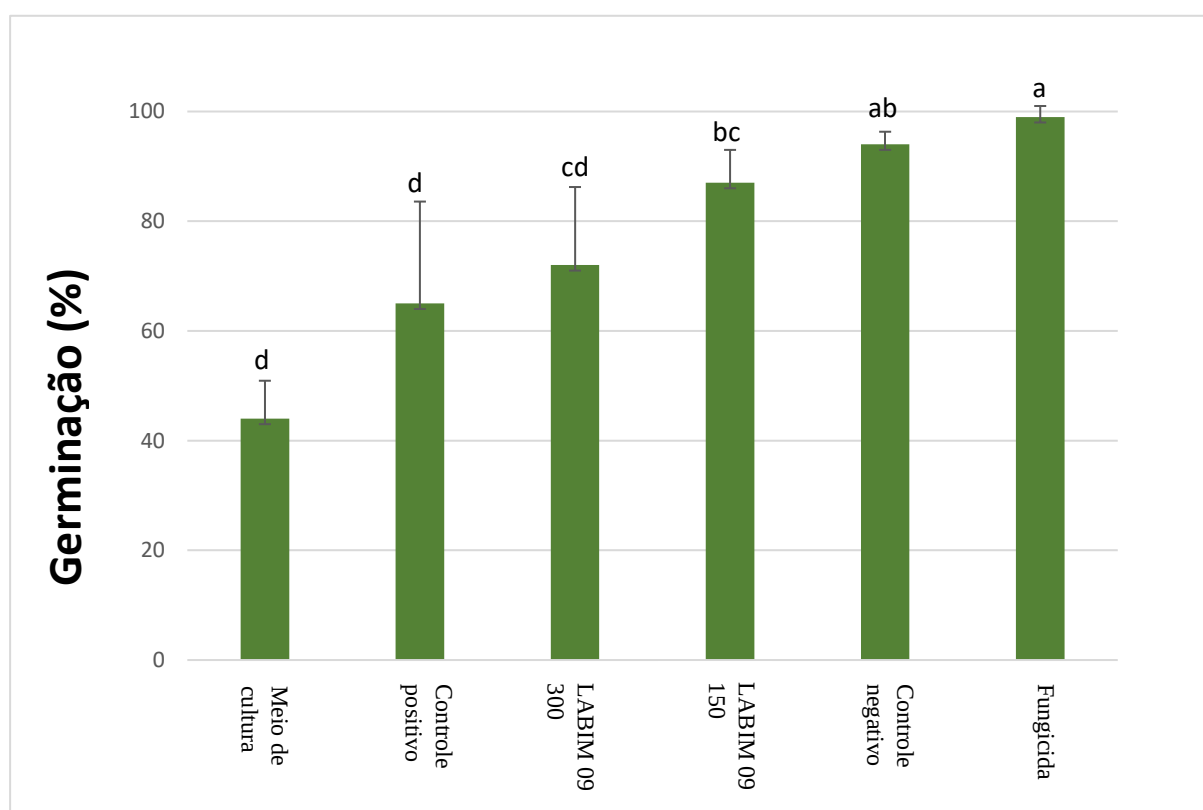


Figura 1 – Germinação de sementes de feijão inoculadas com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Fop) e tratadas com água, meio de cultura de *Bacillus* sp. LABIM09, formulação de *Bacillus* sp. LABIM09 nas concentrações de 150 g/100 kg sementes e 300 g/100 kg de sementes e fungicida químico na dose de 200 mL/100 kg de sementes (Metalaxil: 20 g/L + Tiabendazol: 150 g/L + Fludioxonil: 25 g/L + Tiamotoxan: 350 g/L). As barras de erro representam o desvio padrão com base em quatro repetições. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

Assim como o tratamento com fungicida sintético, o tratamento de semente realizado com LABIM09 150 g/100 kg sem. apresentou valor de germinação superior a 80%, que é o valor mínimo exigido pelas RAS (BRASIL, 2009) para comercialização de sementes.

As plântulas derivadas dos tratamentos de sementes com o fungicida químico sintético e as não inoculadas com Fop não apresentaram incidência do patógeno. Já as plântulas oriundas

de sementes tratadas com LABIM09 150 g/100 kg sem. apresentaram incidência de 13% de Fop. Quando comparamos as plântulas inoculadas com Fop e tratadas com água (34,3%) com as tratadas com LABIM09 150 g/100 kg sem. + Fop (13%), verifica-se uma redução de 62% da incidência de Fop, o que revela um significativo grau de controle do produto biológico.

A incidência de um patógeno em sementes, não causa necessariamente o comprometimento da germinação, mas pode determinar queda expressiva da produtividade final e a introdução de inóculo em áreas livres da doença.

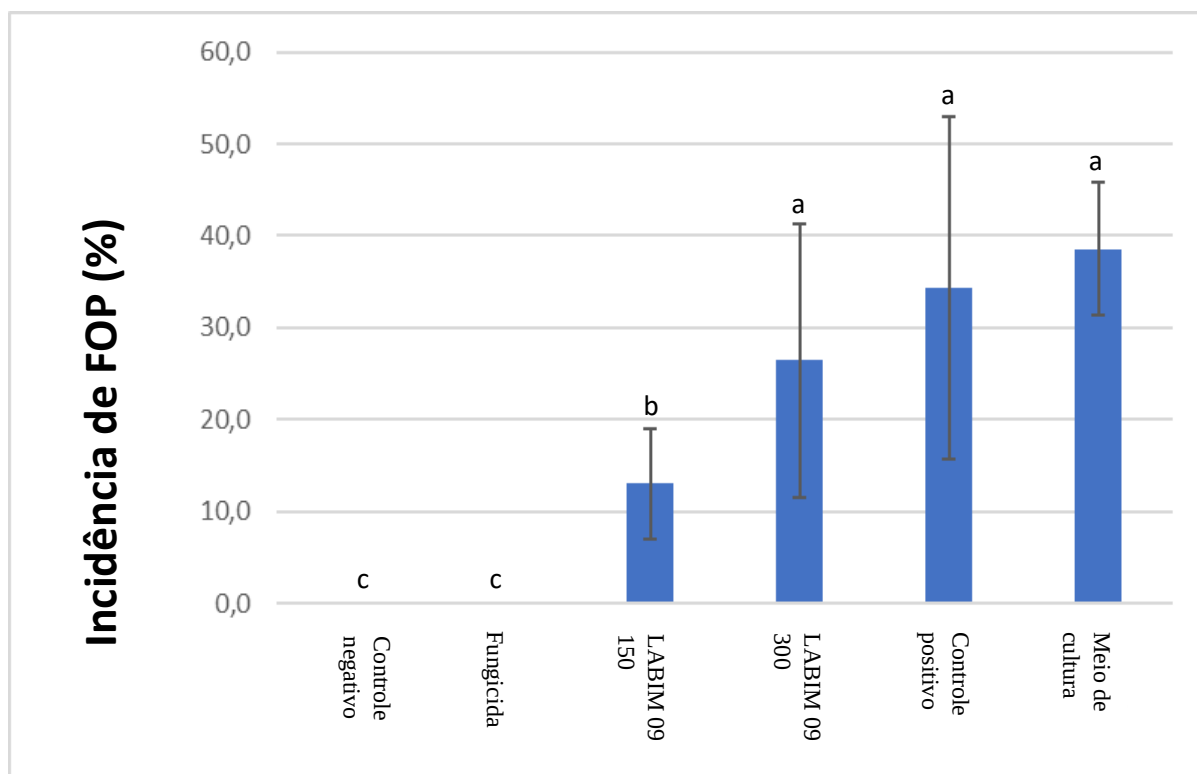


Figura 2 – Porcentagem da incidência de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Fop) em plântulas de feijoeiro oriundas de sementes inoculadas com Fop e tratadas com água, meio de cultura de *Bacillus* sp. LABIM09, formulação de LABIM09 nas concentrações de 150 g/100kg sementes e 300 g/100kg de sementes e fungicida químico na dose de 200 mL/100 kg de sementes (Metalaxil: 20 g/L + Tiabendazol: 150 g/L + Fludioxonil: 25 g/L + Tiamotoxan: 350 g/L). As barras de erro representam o desvio padrão com base em quatro repetições. Letras iguais não diferem entre si pela análise não-paramétrica de Kruskal-Wallis, a 0,05 de probabilidade.

Os resultados encontrados nesse teste são similares aos obtidos por Carvalho et al. (2011) onde o controle com isolados do fungo *Trichoderma harzianum* reduziu entre 35 e 51% a incidência de Fop, sendo inferior ao controle do fungicida químico, mas significativamente superior ao controle positivo (água).

No ensaio para verificar o crescimento de plântulas de feijoeiro oriundas de sementes tratadas com produtos à base de LABIM09 (Tabela 2), verificamos que o tratamento com LABIM09 300 g/100 kg sem. promoveu um aumento de 22% na matéria seca da raiz (0,59 g) quando comparado ao tratamento água (0,48 g). Resultados similares foram observados por

Szilagyi-Zecchin et al., (2014), onde a cepa de *Bacillus* sp. CNPSO 2481 promoveu um aumento de 39% na produção de matéria seca das raízes

O tratamento com LABIM09 150 g/100 kg sem. (0,56 g) não diferiu estatisticamente do LABIM09 300 g/100 kg sem. nem do tratamento água. Entretanto, a porcentagem da raiz sobre a massa total da planta foi significativamente maior em ambos os tratamentos com produtos biológicos.

Tabela 2 – Porcentagem de germinação, peso da massa seca da raiz (PMSR), peso da massa seca da parte aérea (PMSA), peso total da planta e porcentagem da massa de raiz/massa total de plântulas de plântulas de feijoeiro a partir de sementes tratadas com formulações à base de *Bacillus* sp. LABIM09.

Tratamento	Germinação (%)	PMSR (g)	PMSA (g)	Peso total (g)	Raiz/massa total (%)
Meio de cultura	97 ^{NS}	0,42 c	2,66 ^{NS}	3,08 ^{NS}	13,50 b
Água	99	0,48 bc	2,78	3,26	14,69 b
LABIM09 150 ¹	93	0,56 ab	2,49	3,05	18,37 a
LABIM09 300 ²	99	0,59 a	2,62	3,22	18,34 a
C.V. (%)	3,15	11,77	10,47	10,28	6,67

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan (p<0,05). NS - Não significativo pelo ANOVA (p<0,05)

¹LABIM09 150 g ativo liofilizado/100 kg de semente

²LABIM09 300 g ativo liofilizado/100 kg de semente.

Sabe-se que o maior desenvolvimento da raiz nos estádios iniciais das plantas possibilita melhor desempenho na fase de implantação, pois raízes mais desenvolvidas melhoram a fixação e absorção de água e nutrientes por parte da planta. Esse aumento da relação massa raiz/massa total detectado nas plântulas oriundas de sementes tratadas com LABIM09 pode ser uma vantagem comparativa em relação ao uso de fungicidas químicos e deve ser avaliada em estágios posteriores de desenvolvimento do feijoeiro.

Na tabela 3 apresentam-se as estimativas da população de bactérias nas sementes tratadas com produtos à base de LABIM09 e nas plântulas oriundas destas sementes aos nove dias após semeadura em rolo de papel.

Tabela 3 – População de *Bacillus* sp. LABIM09 em sementes tratadas e em raízes de plântulas oriundas dessas sementes

	UFC/g ¹	
	Semente	Raiz
LABIM09 150 ²	1,4 x 10 ⁷	0,09 x 10 ⁷
LABIM 09 300 ³	3,0 x 10 ⁷	0,52 x 10 ⁷

¹Os dados da semente foram coletados imediatamente após a aplicação do produto à base de LABIM09 nas sementes e os dados da raiz foram coletados das raízes da plântulas após nove dias da montagem dos rolos de papel com sementes tratadas com LABIM09.

²LABIM09 150 g ativo liofilizado/100 kg de semente

³LABIM09 300 g ativo liofilizado/100 kg de semente.

A estimativa do número de células da bactéria por grama de tecido, em ambos os tratamentos, foi maior nas amostras de sementes do que nas amostras de raiz de plântulas. O tamanho da população de LABIM09 nas raízes de feijoeiro diminuiu após 9 dias, sendo essa a

população final um 93,6% e um 82,7% da inicial para a formulação LABIM09 150 e LABIM09 300, respectivamente.

Conclusão

Podemos concluir que o tratamento de sementes de feijoeiro com produto biológico à partir da cepa LABIM09 de *Bacillus* sp. na concentração de 150 g/100 kg de semente, diminuiu a incidência de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em 62% e aumentou a germinação em 33,8% em relação ao controle em sementes previamente infectadas com o fungo. Na concentração de 300 g/100 kg de sementes, a bactéria promoveu o crescimento radicular inicial das plântulas de feijoeiro e nas concentrações de 150 e 300 aumentou a porcentagem da raiz sobre a massa total da planta.

Referências bibliográficas

- ANTUNES, P. L.; BILHALVA, A. B.; ELIAS, M. C. & SOARES, G. J.D. (1995). Valor nutricional de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.), cultivares rico 23, carioca, piratã-1 e rosinha-g2. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas – RS, v. 1, n. 1, p. 12-18.
- ARNHOLD, E. (2013). Package in the R environment for analysis of variance and complementary analyses. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.50, n.6, p.488-492.
- BECKMAN, C. H. (1987). **The nature of with diseases of plants**. St. Paul: APS Press, p. 175.
- BLUMA, R.V. & ETCHEVERRY, M.G. (2006). Influence of *Bacillus* spp. isolated from maize agroecosystem on growth and aflatoxin B1 production by *Aspergillus* section Flavi. **Pest Management Science**, Sussex, v. 62, p. 242–251.
- BRASIL. (2009) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília – DF, Mapa/ACS.
- CARVALHO, D.D. C.; DE MELLO, S. C. M. LOBO JUNIOR, M. & SILVA, M. C. (2011). Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in vitro e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 1, p. 28-34.
- CASTRO, E. C.; FIDELIS, A. C. & WANDER, A. E. (2019). MERCADO DE CULTIVARES DE FEIJÃO-COMUM (*Phaseolus vulgaris*) NO BRASIL. **Informe Gepec**, v. 23, n. 1, p. 181- 198.
- CHEN, L., SHI, H., HENG, J., WANG, D. & BIAN, K. (2019). Antimicrobial, plant growth-promoting and genomic properties of the peanut endophyte *Bacillus velezensis* LDO2. **Microbiological Research**, v. 2018, p. 41-48.
- CONAB. (2021). Acompanhamento da safra brasileira de grãos. **Acomp. safra brasileira de grãos**, v.8– Safra 2020/21, n. 4 - Quarto levantamento, Brasília, p. 11-13.
- COSTA, M. L. N., MACHADO, J. C., GUIMARÃES, R. M., POZZA, E. A. & ORIDE, D. (2003). Inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em sementes de feijoeiro através de restrição hídrica. **Ciência e Agrotecnologia**, Lravas – MG. V. 27, n. 5, p. 1023-1030.
- EARL, A. M., LOSICK, R. & KOLTER, R. (2008). Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. **Trends in Microbiology**, MA, USA, v. 16, n. 6, p. 269-275.
- MENDIBURU, F. (2020). agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research. R package version 1.3-3. <https://CRAN.R-project.org/package=agricolae>
- 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**, San Diego, v. 20, n. 1, p. 19-24.

- LUGO, L. S. C. (2008). **Manejo biorracional de la pudrición de la corona y raíz (*Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopercisi*) del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.)**. Tese de Mestrado, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa, Departamento Agropecuario, Guasave, Sinaloa, México, p. 79.
- NAYAKA, S. C., SHANKAR, A. C. U., REDDY, M. S., NIRANJANA, S. R., PRAKASH, H. S., SHETTY, H. S. & MORTENSEN, C. N. (2009). Control of *Fusarium verticillioides*, cause of ear rot of maize, by *Pseudomonas fluorescens*. **Pest Management Science**, London, v. 65, p. 769-775.
- PUNJA, Z. K. (2003). Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. **Trends in Biotechnology**, p. 400-407.
- R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- SCHISLER, D. A., SLININGER, P. J., BEHLE, R. W. & JACKSON, M. A. (2004). Formulation of *Bacillus* spp. for biological control of plant diseases. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 94, n. 11, p. 1267-1271.
- SHAFI, J., TIAN, H., JI, M. (2017). *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, Abingdon, v. 1, n. 1, p. 446-459.
- SILVA, T. D. (2012). **Análise do perfil protéico em raiz de tomateiro submetido à inoculação com *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici***. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Biotecnologia, Recife, p. 50.
- SZILAGYI-ZECCHIN, V.J., IKEDA, A.C., HUNGRIA, M., ADAMOSKI, D., KAVACORDEIRO, V., GLIENKE, C., GALLI-TERASAWA, L.V. (2014). Identification and characterization of endophytic bacteria from corn (*Zea mays* L.) roots with biotechnological potential in agriculture. **AMB Express**, v. 4, n. 1, p. 1-26.
- SZILAGYI-ZECCHIN, V. J., MÓGOR, A. F., RUARO, L. & RÖDER, C. (2015). Crescimento de mudas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) estimulado pela bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* FZB42 em cultura orgânica. **Revista de Ciências Agrárias**, v.38, n.1, p. 26-33.
- TIAN, Z., CHEN, C., CHEN, K., LIU, P., FAN, Q., ZHAO, J. & LONG, C. A. (2020). Biocontrol and the mechanisms of *Bacillus* sp. w176 against postharvest green mold in citrus. **Postharvest Biology and Technology**, v.159, p. 1110.
- TORRES, M. J., BRANDAN, C. P., SABATÉ, D. C., PETROSELLI, G., ERRABALSELLS, R. & AUDISIO, M. C. (2017). Biological activity of the lipopeptide-producing *Bacillus amyloliquefaciens* PGPBacCA1 on common bean *Phaseolus vulgaris* L. pathogens. **Biological Control**, San Diego, v. 105, p. 93-99.

- TORTORA, M. L., DIAZ-RICCI, J. C. & PEDRAZA, R. O. (2010). *Azospirillum brasilense* siderophores with antifungal activity against *Colletotrichum acutatum*. **Archives of Microbiology**, v.193, p. 275–286.
- WENDLAND, A., LOBO JUNIOR, M. & de FARIA, J. C. (2018). Manual de identificação das principais doenças do feijoeiro-comum. **Embrapa Arroz e Feijão**. Capítulo em livro técnico (INFOTECA-E). Obtido em <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1102266/manual-de-identificacao-das-principais-doencas-do-feijoeiro-comum>
- WENDLAND, A., MOREIRA, A. S., BIANCHINI, A. & GIAMPAN, M. J. (2016). Doenças do feijoeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Org.). **Manual de fitopatologia. Doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, v. 2, p. 383-396.
- WORDELL FILHO, J. A., CHIARADIA, L. A. & BALBINOT, A. (2013). **Manejo Fitossanitário na Cultura do Feijão**. EPAGRI, Florianópolis – SC, v. 1, p. 47.