

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROBIOLOGIA**

Letícia Barão Medeiros

**BIOPRODUTOS COM *Bacillus* spp. E *Trichoderma* sp. NO
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE LENTILHA**

**Santa Maria, RS, Brasil
2019**

Letícia Barão Medeiros

**BIOPRODUTOS COM *Bacillus* spp. E *Trichoderma* sp. NO DESENVOLVIMENTO
INICIAL DE LENTILHA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Agrobiologia**

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Ferreira da Silva

Santa Maria, RS, Brasil
2019

Medeiros, Letícia Barão
BIOPRODUTOS COM *Bacillus* spp. E *Trichoderma* sp. NO
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE LENTILHA / Letícia Barão
Medeiros.- 2019.
54 p.; 30 cm

Orientador: Antonio Carlos Ferreira da Silva
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Agrobiologia, RS, 2019

1. *Lens culinaris* 2. microrganismo 3. interação planta
microrganismo I. Ferreira da Silva, Antonio Carlos II.
Título.

Letícia Barão Medeiros

**BIOPRODUTOS COM *Bacillus* spp. E *Trichoderma* sp. NO
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE LENTILHA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Agrobiologia**

Aprovado em 12 de julho de 2019:



Antonio Carlos Ferreira da Silva, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



Sylvio Henrique Bidet Dornelles, Dr. (UFSM)



Danie Martini Sanchotene, Dr. (URI)

**Santa Maria, RS
2019**

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo que me foi dado e por guiar meus pensamentos nas horas difíceis.

Aos meus pais, Alencar (*in memoriam*) e Sílvia, que me proporcionaram chegar até aqui, me apoiando e fazendo dos meus sonhos se tornarem deles também. Ao meu irmão Alencar, que sempre com muito carinho me deu força nessa caminhada.

Ao meu orientador, Antonio Carlos Ferreira da Silva, por toda a atenção, conselhos, paciência e sabedoria durante esse tempo de mestrado.

As minhas amigas, Gabriela Milanesi e Daniela Lixinski que me acompanharam desde a graduação e dividiram os acertos e incertezas comigo.

Aos orientados do Laboratório de Interação Planta-microrganismo e do Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em Herbologia por toda a ajuda e parceria durante esse período.

As empresas FMC e Araunah pelo fornecimento dos produtos biológicos para a realização dos experimentos.

A Universidade Federal de Santa Maria e ao programa de Pós-Graduação em Agrobiologia pela oportunidade e a CAPES pelo auxílio financeiro.

Enfim, a todos que de alguma maneira contribuíram na realização deste trabalho, muito obrigada!

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)

“O que prevemos raramente ocorre; o que menos esperamos geralmente acontece”.

(Benjamin Disraeli)

RESUMO

BIOPRODUTOS COM *Bacillus* sp. E *Trichoderma* sp. NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE LENTILHA

AUTORA: Letícia Barão Medeiros

ORIENTADOR: Antonio Carlos Ferreira da Silva

Embora pouco estudada no território brasileiro, a lentilha (*Lens culinaris* Medik.) pode ser uma alternativa de diversidade na fonte de renda principalmente do pequeno produtor. Além disso, a procura por alimentos com menor uso de agrotóxicos está crescendo cada vez mais, assim, o uso de bioprodutos formulados através de microrganismos presentes no solo, em especial na rizosfera das plantas, pode ser visto como alternativa para a agricultura. Fungos do gênero *Trichoderma* e bactérias do gênero *Bacillus* podem estimular o crescimento inicial das plantas e também promover a proteção contra possíveis infecções nas raízes. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a aplicação de bioprodutos, isolados ou combinados, no desenvolvimento inicial de plântulas de lentilha. O primeiro experimento foi conduzido em laboratório e teve por objetivo verificar a ação de altas doses, no tratamento de sementes, de bioprodutos a base de *Trichoderma* sp. e *Bacillus* sp., isolados ou em combinação, na germinação, desenvolvimento inicial e índice mitótico de plântulas de lentilha dez dias após a semeadura. No segundo experimento, realizado em estufa, o objetivo foi avaliar a ação de bioproduto a base de *Bacillus* spp., aplicado no tratamento de sementes em comparação com a aplicação no sulco de semeadura, na emergência e no desenvolvimento inicial de raiz e parte aérea de plântulas de lentilha aos 15 e 30 dias após a semeadura. Através dos resultados obtidos no primeiro experimento, doses elevadas dos bioprodutos a base de *Trichoderma* sp. (10,0g de Majestic®) e *Bacillus* sp. (10,0ml de Rizos®), combinados ou não, influenciam negativamente a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas de lentilha. Para o índice mitótico ocorreu ação antiproliferativa e proliferativa em células de ponta de raízes, em relação ao tratamento controle. No segundo experimento foi observado que aplicação do bioproduto formulado a base de *Bacillus* spp., tanto na aplicação no tratamento de sementes quanto no sulco de semeadura, contribuiu de maneira efetiva no desenvolvimento inicial de raiz e massa fresca de plântulas de lentilha aos 15 dias após semeadura. Portanto, através dos resultados obtidos neste trabalho, podemos concluir que a ação desses microrganismos depende de muitos fatores, como o tipo de substrato, estirpe utilizada, temperatura, dose aplicada, entre outros aspectos essenciais para o bom desenvolvimento e interação planta-microrganismo.

Palavras-chave: *Lens culinaris*, microrganismo, interação planta-microrganismo.

ABSTRACT

BIOPRODUCTS WITH *Bacillus* sp. E *Trichoderma* sp. IN THE INITIAL DEVELOPMENT OF LENTILHA

AUTHOR: Letícia Barão Medeiros
ADVISOR: Antonio Carlos Ferreira da Silva

Although little studied in the Brazilian territory, the lentil (*Lens culinaris* Medik.) can be an alternative of diversity in the source of income mainly of the small producer. In addition, the demand for food with less use of agrochemicals is increasing, so the use of bioproducts formulated through microorganisms present in the soil, especially in the rhizosphere of plants, can be seen as an alternative to agriculture. Fungi of the genus *Trichoderma* and bacteria of the genus *Bacillus* can stimulate the initial growth of plants and also promote the protection against possible infections in the roots. Therefore, the objective of the present work was to evaluate the application of isolated or combined bioproducts in the initial development of lentil seedlings. The first experiment was conducted in the laboratory and had as objective to verify the action of high doses, in the treatment of seeds, of bioproducts based on *Trichoderma* sp. and *Bacillus* sp., alone or in combination, on germination, initial development and mitotic index of lentil seedlings ten days after sowing. In the second greenhouse experiment, the objective was to evaluate the bio - product action based on *Bacillus* spp., Applied to the treatment of seeds in comparison to the application in the sowing furrow, in the emergence and initial development of root and aerial part of lentil seedlings at 15 and 30 days after sowing. Through the results obtained in the first experiment, high doses of the bioproducts based on *Trichoderma* sp. (10,0 g Majestic®) and *Bacillus* sp. (10,0 ml Rizos®), combined or not, negatively influence the germination and initial development of lentil seedlings. For the mitotic index, antiproliferative and proliferative action occurred in root tip cells, in relation to the control treatment. In the second experiment, it was observed that the application of the bioproduct formulated with *Bacillus* spp., Both in the seed treatment application and in the sowing furrow, effectively contributed to the initial development of root and fresh mass of lentil seedlings at 15 days after sowing. Therefore, through the results obtained in this work, we can conclude that the action of these microorganisms depends on many factors, such as the type of substrate, strain used, temperature, applied dose, among other essential aspects for good development and plant-microorganism interaction.

Key words: *Lens culinaris*, microorganism, plant-microorganism interaction.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

Figura 1 - Células em prófase (1), metáfase (2), anáfase (3) e telófase (4) utilizadas no cálculo do índice mitótico de raízes primárias de *Lens culinaris* em tratamentos com bioformulados à base de *Trichoderma* sp. (Majestic®) e *Bacillus* sp. (Rizos®), combinados ou não36

Figura 2 - Células em prófase (1), metáfase (2), anáfase (3) e telófase (4) utilizadas no cálculo do índice mitótico de raízes secundárias de *Lens culinaris* em tratamentos com bioformulados à base de *Trichoderma* sp. (Majestic®) e *Bacillus* sp. (Rizos®), combinados ou não36

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1 - Germinação (G%), Índice de velocidade de germinação (IVG) e Comprimento de parte aérea (CPA) de plântulas de lentilha dez dias após a semeadura em tratamentos com bioformulados à base de *Trichoderma* sp. (Majestic®) e *Bacillus* sp. (Rizos®), combinados ou não31

Tabela 2 - Comprimento (CR), Área superficial (ASR) e Volume (VR) de raiz de plântula de lentilha dez dias após a semeadura em tratamentos com bioformulados à base de *Trichoderma* sp. (Majestic®) e *Bacillus* sp. (Rizos®), combinados ou não. 32

Tabela 3 - Massa fresca de parte aérea (MFPA), Massa fresca de raiz (MFR), Massa seca de parte aérea (MSPA) e Massa seca de raiz (MSR) de plântula de lentilha dez dias após a semeadura em tratamentos com bioformulados à base de *Trichoderma* sp. (Majestic®) e *Bacillus* sp. (Rizos®), combinados ou não33

Tabela 4 - Número de células meristemáticas de raízes primárias de lentilha analisadas em interfase, divisão e os Índices Mitóticos (IM) em tratamentos com bioformulados à base de *Trichoderma* sp. (Majestic®) e *Bacillus* sp. (Rizos®), combinados ou não34

Tabela 5 - Número de células meristemáticas de raízes secundárias de lentilha analisadas em interfase, divisão e os Índices Mitóticos (IM) em tratamentos com bioformulados à base de *Trichoderma* sp. (Majestic®) e *Bacillus* sp. (Rizos®), combinados ou não35

ARTIGO 2

Tabela 1 - Coeficiente e estimativas de contrastes ortogonais à emergência (%) e Índice de velocidade de emergência (IVE) de plântulas de lentilha aos 15 e 30 dias após a semeadura em tratamentos com bioformulado a base de *Bacillus* sp. (Presence®) no tratamento de sementes e sulco de semeadura49

Tabela 2 - Coeficiente e estimativas de contrastes ortogonais ao comprimento de parte aérea de plântulas de lentilha aos 15 e 30 dias após a semeadura em tratamentos com bioformulado a base de *Bacillus* sp. (Presence®) no tratamento de sementes e sulco de semeadura.....50

Tabela 3 - Coeficiente e estimativas de contrastes ortogonais ao comprimento, área superficial e volume de raiz de plântulas de lentilha aos 15 e 30 dias após a semeadura em tratamentos com bioformulado a base de *Bacillus* sp. (Presence®) no tratamento de sementes e sulco de semeadura.....51

Tabela 4 - Coeficiente e estimativas de contrastes ortogonais à massa fresca de parte aérea e raiz de plântulas de lentilha aos 15 e 30 dias após a semeadura em tratamentos com bioformulado a base de *Bacillus* sp. (Presence®) no tratamento de sementes e sulco de semeadura.....52

Tabela 5 - Coeficiente e estimativas de contrastes ortogonais à massa seca de parte aérea e raiz de plântulas de lentilha aos 15 e 30 dias após a semeadura em tratamentos com bioformulado a base de *Bacillus* sp. (Presence®) no tratamento de sementes e sulco de semeadura.....53

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
REFERÊNCIAS	14
ARTIGO 1: Desenvolvimento inicial e índice mitótico de lentilha sob doses superiores de <i>Bacillus</i> sp. e <i>Trichoderma</i> sp.	16
RESUMO.....	16
ABSTRACT	17
INTRODUÇÃO	18
MATERIAL E MÉTODOS	20
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
AGRADECIMENTOS	27
REFERÊNCIAS.....	27
ARTIGO 2: <i>Bacillus</i> spp. na emergência e desenvolvimento inicial da lentilha	37
RESUMO.....	37
ABSTRACT	38
INTRODUÇÃO	39
MATERIAL E MÉTODOS	40
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
AGRADECIMENTOS	46
REFERÊNCIAS.....	47
CONSIDERAÇÕES FINAIS	54

INTRODUÇÃO

As chamadas leguminosas de grão seco, entre elas a lentilha (*Lens culinaris* Medik.), originária do mediterrâneo, são plantas cultivadas no Brasil no período de inverno. Além do seu alto valor alimentício, esta leguminosa possui rápido cozimento e seu paladar se assemelha ao do feijão (EMBRAPA, 1993). No território brasileiro a lentilha macrosperma, que possui grãos achatados, verde amarelados, é a mais consumida.

A composição dos grãos de lentilha é de aproximadamente 12,4% de água; 0,7% de óleo; 59,7% de carboidratos; 25,1% de proteína; e 2,1% de cinzas (KAY, 1979), sendo uma leguminosa de alto valor nutritivo. Por este motivo, o ano de 2016 foi chamado de ano das leguminosas, e teve por objetivo conscientizar sobre os benefícios destas culturas e incentivar os agricultores e o setor privado a trocar informações sobre produção, comércio e consumo de leguminosas (FAO, 2017).

Para o seu bom desenvolvimento, a cultura da lentilha necessita de temperaturas do ar entre 15 e 25°C para que a emergência das plântulas ocorra em um período de cinco a seis dias; temperaturas abaixo de 10°C atrasam o florescimento, aumentando o ciclo da cultura e, assim, tornando os meses de abril e maio os mais indicados para o plantio no Brasil central (GIORDANO et al., 1988).

Para o cultivo dessa e qualquer outra cultura, sabe-se que algumas práticas devem ser tomadas para o sucesso da lavoura, entre elas a escolhas de sementes de qualidade e o tratamento de sementes, que visam expressar o maior potencial das culturas no campo (BARBOSA et al., 2012).

Com o objetivo de promover o controle de doenças nas plantas, juntamente com um menor custo de produção, aumento na produtividade e diminuição do uso de agrotóxicos, pesquisas procuram encontrar métodos alternativos para que isso se torne possível. Assim, o uso de bioprodutos, formulados através de microrganismos presentes no solo, possui a capacidade de promover o aumento da porcentagem de germinação e crescimento inicial das plantas, se tornando uma alternativa viável, que deve ser vista como um pacote tecnológico, pois apresenta potencial de eficiência agrônômica e também pode contribuir na preservação do meio ambiente (MACHADO et al., 2012).

Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) vivem no solo e geralmente são encontradas na rizosfera de plantas cultivadas. Entre as mais

abundantes presentes na rizosfera encontram-se as do gênero *Bacillus*, que podem influenciar de forma positiva a germinação, o desenvolvimento inicial e a produtividade de culturas através da produção de substâncias que melhoram a nutrição e promovem o crescimento das plantas (GAGNÉ-BOURQUE et al., 2015). Conforme Calvo et al. (2010), *Bacillus subtilis* age diretamente na alteração ou produção de fitohormônios, solubilização de fosfatos minerais e fixação de nitrogênio através da promoção do desenvolvimento de raízes. Em trabalho realizado por Braga Junior et al. (2018), com inoculação da estirpe *B. Subtilis* UFT-Bs10 em soja cv. M 9144 RR, esta bactéria proporcionou aumento da biomassa, acréscimo na nodulação de raízes, manutenção do estande plantas e maior produtividade da cultura em experimento realizado em condições de campo.

Além das RPCPs, existem no solo fungos que habitam a rizosfera e também promovem o crescimento de plantas. Considerados um dos fungos mais estudados devido ao seu potencial de colonizar a rizosfera e alguns órgãos das plantas, o gênero *Trichoderma* age fazendo papel antagonista na ação de outros fungos e também pode promover benefícios no desenvolvimento das plantas (CHAGAS JUNIOR et al., 2014). Segundo Saito et al. (2009), a presença deste fungo no solo torna os nutrientes mais solúveis, facilitando a absorção destes pelas culturas.

Estudos com a utilização de trichoderma mostram que esse fungo apresenta capacidade de promover um aumento na porcentagem de germinação, estimular maior altura de plantas e desenvolver raízes laterais (MELO, 1996). Porém, existem poucos estudos relacionados a dosimetria de bioprodutos e seus efeitos em altas doses nas plantas. Em experimento realizado por Ethur et al. (2008) na cultura do tomate, a aplicação de trichoderma apresentou efeito neutro na promoção do crescimento das plantas, sem observar diferença estatística entre os tratamentos estudados. A aplicação de doses altas, superiores a recomendada, de um bioproduto comercial formulado a partir do fungo trichoderma, demonstrou menor comprimento da parte aérea de plantas de alface quando comparadas ao tratamento controle (WIETHAN et al., 2018).

Assim, é possível observar que a ação desses microrganismos nas plantas depende de diversos fatores, como por exemplo, a cultura estudada, do tipo de solo, clima, estirpe utilizada, dose aplicada, entre outros aspectos para que os resultados observados apresentem valores satisfatórios.

Levando em consideração tais aspectos, o objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização de bioprodutos comerciais a base *Trichoderma* spp. e *Bacillus* spp., de forma isolada e associada, na germinação, emergência, índice mitótico de raízes primárias e secundárias e desenvolvimento inicial de plântulas de lentilha.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, R.M.; SILVA, C.B.; MEDEIROS, M.A.; CENTURION, M.A.P.C.; VIEIRA, R.D. Condutividade elétrica em função do teor de água inicial de sementes de amendoim. *Ciência Rural*, v. 42, n. 01, p.45-51, 2012.

BRAGA JUNIOR, G. M.; CHAGAS, L. F. B.; AMARAL, L. R. O.; MILLER, L. O.; CHAGAS JUNIOR, A. F. Efficiency of inoculation by *Bacillus subtilis* on soybean biomass and productivity. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.13, n.4, e.5571, 2018.

CALVO, P.; ORMEÑO-ORRILLO, E.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; ZÚÑIGA, D. Characterization of *Bacillus* isolates of potato rhizosphere from Andean soils of Peru and their potential PGPR characteristics. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 41, n.4, p.899-906, 2010.

CHAGAS JUNIOR A. F.; OLIVEIRA, A. G.; REIS, H. B.; SANTOS, G. R.; CHAGAS, L. F. B.; MILLER, L. O. Eficiência da inoculação combinada de Rizóbio e *Trichoderma* spp. em diferentes cultivares de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) no cerrado (Savana Brasileira). *Revista de Ciências Agrárias*, v.37, n.1, p.20-28, 2014.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), 1993. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/100652/as-culturas-da-ervilha-e-da-lentilha>. Acessado em 11 de maio de 2018.

ETHUR, L. Z.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B.; CAMARGO, R. F.; FLORES, M. G. V.; CRUZ, J. G.; MENEZES, J. P. *Trichoderma harzianum* no desenvolvimento e na proteção de mudas contra fusariose do tomateiro. *Revista Ciência e Natura*, v.30, n.2, p.57-69, 2008.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2017. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/fao-ano-internacional-das-leguminosas-e-encerrado-com-forte-apelo-para-produtores/>. Acessado em 11 de maio de 2018.

GAGNÉ-BOURQUE, F.; MAYER, B. F.; CHARRON, J.; VALI, H.; BERTRAND, A.; JABAJI, S. Accelerated growth rate and increased drought stress resilience of the model grass *Brachypodium distachyon* colonized by *Bacillus subtilis* B26. *Plos one*, v.10, n.6, p.1-23, 2015.

GIORDANO, L. B., PEREIRA, W.; LOPES, J. F. Cultivo da lentilha. Embrapa – Instruções Técnicas do Centro Nacional de Pesquisas em Hortaliças. Brasília, DF. v.9, p.3, 1988.

KAY, D. E. Food legumes. Tropical Products Institute. London, TPI crop and product digest, n.3, p.435, 1979.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: O fungo e o bioagente. Revista de Ciências Agrárias, v.35, p.274-288, 2012.

MELO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. Revisão Anual de Patologia de Plantas, v.4, p.261–295, 1996.

SAITO, L. R.; SALES, L. L. S. R.; MARTINCKOSKI, L.; ROYER, R.; RAMOS, M. S.; REFFATTI, T. Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma* spp. no biocontrole de patógenos de culturas agrícolas. Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia, v.2, n.3, 2009.

WIETHAN, M. M. S.; BORTOLIN, G. S.; PINTO, R. S.; SILVA, A. C. F. Initial development of lettuce in vermicompost at higher trichoderma doses. Horticultura Brasileira, v.36, n.1, p.77-82, 2018.

ARTIGO 1

Desenvolvimento inicial e índice mitótico de lentilha sob doses superiores de *Bacillus* sp. e *Trichoderma* sp.

RESUMO

A lentilha (*Lens culinaris* Medik) pode ser considerada uma alternativa econômica para os agricultores no período de inverno, apesar de pouco estudada e cultivada no território brasileiro. O uso de produtos com formulação biológica vai ao encontro de uma agricultura sustentável, cada vez mais requerida pela sociedade. Com base neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos do tratamento de sementes de lentilha com doses crescentes e superiores as recomendadas de bioformulados comerciais à base de *Trichoderma* sp. e *Bacillus* sp., combinados ou não, na germinação, desenvolvimento inicial de raiz e parte aérea, e no índice mitótico de raízes primárias e secundárias. O experimento foi composto por dezesseis tratamentos: três doses de bioformulados à base de *Bacillus* sp. (0,1 mL; 1,0 mL e 10,0 mL de Rizos®) e três à base de *Trichoderma* sp. (0,1 g; 1,0 g e 10,0g de Majestic®), nove combinações das dosagens dos bioformulados e o tratamento controle, em delineamento inteiramente casualizado. As variáveis avaliadas foram germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento de parte aérea e raiz, massa fresca, massa seca e índice mitótico de raízes primárias e secundárias de plântulas de lentilha. Os tratamentos compostos pelas maiores doses dos bioprodutos (10,0g de Majestic® e 10,0mL de Rizos®), isoladas ou combinadas, influenciaram negativamente a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas de lentilha. Os tratamentos com 0,1 mL de Rizos®; 0,1 mL de Rizos® combinado com 0,1 g de Majestic®; 1,0 mL de Rizos® com 0,1 g de Majestic® e, 1,0 mL de Rizos® com 1,0 g de Majestic® aumentaram a proliferação celular no índice mitótico, auxiliando o desenvolvimento inicial de raízes primárias de lentilha; no entanto, os tratamentos com 10 mL de Rizos® e, 1,0 mL de Rizos® combinado com 10,0 g de Majestic® apresentaram ação antiproliferativa no índice mitótico, mostrando relação direta na redução do comprimento de raiz primária de lentilha.

Palavras-chave: *Lens culinaris*, tratamento de sementes, microrganismos, citogenética.

**Initial development and mitotic index of lentil under higher doses of
Bacillus sp. and *Trichoderma* sp.**

ABSTRACT

Lentil (*Lens culinaris* Medik) can be an economical alternative for the farmers in the winter period, although it is little studied and cultivated in the Brazilian territory. The use of products with biological formulation is in line with a sustainable agriculture, increasingly required by society. Based on this context, the objective of the present study was to evaluate the effects of the treatment of lentil seeds with increasing doses and higher than those recommended for commercial bioformulates based on *Trichoderma* sp. and *Bacillus* sp., combined or not, on germination, initial root and aerial part development, and mitotic index of primary and secondary roots. The experiment was composed of sixteen treatments: three doses of bioformulates based on *Bacillus* sp. (0,1 mL, 1,0 mL and 10,0 mL Rizos®) and three based on *Trichoderma* sp. (0,1 g, 1,0 g and 10,0 g Majestic®), nine combinations of the dosages of the bioformulates and the control treatment, in a completely randomized design. The evaluated variables were germination, germination speed index, shoot and root length, fresh mass, dry mass and mitotic index of primary and secondary roots of lentil seedlings. Treatments composed of the highest doses of the bioproducts (10,0g Majestic® and 10,0mL Rizos®), isolated or combined, negatively influenced the germination and initial development of lentil seedlings. The treatments with 0,1 mL of Rizos®; 0,1 mL of Rizos® combined with 0,1 g of Majestic®; 1,0 mL of Rizos® with 0,1 g of Majestic® and 1,0 mL of Rizos® with 1,0 g of Majestic® increased cell proliferation at mitotic index, aiding the initial development of primary roots of lentils; however, treatments with 10,0 mL of Rizos® and 1,0 mL of Rizos® combined with 10,0 g of Majestic® showed antiproliferative action on the mitotic index, showing a direct relationship in reducing lentil primary root length.

Key words: *Lens culinaris*, seed treatment, microorganisms, cytogenetics.

INTRODUÇÃO

A lentilha (*Lens culinaris* Medik.), originária do mediterrâneo, está entre as chamadas leguminosas de grão seco, que são plantas cultivadas no Brasil no período de inverno e podem ser vistas como alternativa econômica principalmente para os pequenos agricultores. É uma das leguminosas mais antigas cultivadas pelo homem e, atualmente, a região com maior área cultivada e maior consumo se localiza na Ásia, nos países da Índia e Turquia. Na América seu cultivo está localizado principalmente no Canadá, Chile e Argentina (VIEIRA; ROCHA, 2004). Apesar do Brasil apresentar boas condições edafoclimáticas para seu cultivo, ela ainda é pouco estudada e seu consumo depende, em grande parte, de importação.

A utilização de sementes sadias é essencial principalmente para um bom estado inicial de plantas. Nesse sentido é de suma importância o tratamento de sementes visando à preservação da qualidade sanitária bem como a promoção da germinação das sementes para o desenvolvimento vegetativo inicial (MENTEN, 2010).

A busca por uma agricultura sustentável, com o menor uso de agrotóxicos, vem sendo cada vez mais requerida pela sociedade. Aliado a este contexto, pesquisas procuram relacionar métodos alternativos para o controle de doenças nas plantas em conjunto com o aumento da produtividade e um menor custo de produção. Assim, o uso de bioprodutos, formulados através de microrganismos presentes no solo, em especial na rizosfera das plantas, pode, por exemplo, estimular o crescimento inicial das culturas e também promover a proteção contra possíveis infecções nas raízes das plantas (MACHADO et al., 2011). A diversidade desses microrganismos, como também as relações antagônicas promovidas pelos mesmos, são ferramentas de grande importância no controle biológico (LUCON et al., 2008).

A presença desses microrganismos, provenientes naturalmente da rizosfera ou através da aplicação de bioformulados, promove uma relação simbiótica com as plantas, desde que estejam em doses adequadas. Dakora & Phillips (2002) apresentaram em seu estudo os tipos de compostos orgânicos, inorgânicos e enzimas depositados na rizosfera de diferentes espécies de plantas; entre os diversos compostos presentes, os ácidos orgânicos podem atuar como promotores do crescimento radicular (ác. oxálico), auxiliares do desenvolvimento de raízes e

tubérculos (ác. málico), quebra de dormência (ác. fumárico), reguladores do crescimento apical (ác. succínico), entre outras funções.

A promoção do crescimento de plantas através destas simbioses está relacionada à fixação de nitrogênio, solubilização de fosfato e produção de fitohormônios. Já a ativação do biocontrole de agentes fitopatogênicos é realizada através de competição por espaço e nutrientes e da liberação de exudatos pelas raízes.

Entre as bactérias mais abundantes presentes na rizosfera das plantas encontram-se as do gênero *Bacillus*, em que sua atividade como promotora do crescimento vegetal pode estimular mecanismos desejáveis aos cultivos, como a absorção de nutrientes, incremento na nodulação de leguminosas e absorção biológica de nitrogênio (SAHARAN, 2011). *Bacillus subtilis* induz na planta a síntese de fitormônios, como por exemplo, ácido abscísico, giberelinas e citocininas, que estimulam o crescimento das raízes (ARAÚJO; HUNGRIA, 1999). Trabalhos com essa bactéria mostram resultados satisfatórios em culturas como o milho, em que se obteve maior desenvolvimento das plantas e maior massa das espigas (MAZZUCHELLI, 2014); e, com o feijão, em sementes de alto vigor, com melhores resultados de massa seca de raiz primária e matéria seca de plântula (OLIVEIRA et al., 2016).

Além de bactérias, existem no solo fungos que também habitam a rizosfera e promovem o crescimento de plantas. Dentre eles, os fungos do gênero *Trichoderma* são considerados um dos microrganismos mais estudados devido ao seu potencial de colonizar a rizosfera e alguns órgãos das plantas, fazendo papel de antagonista na ação de outros fungos e promovendo benefícios no desenvolvimento das plantas (CARVALHO et al., 2011; CHAGAS JUNIOR et al., 2014), mesmo na ausência de fitopatógenos (MACHADO et al., 2012). A colonização das raízes por este fungo pode influenciar de forma positiva, neutra ou negativa na produtividade da cultura, promover a resistência a estresses abióticos, potencializar o uso de nutrientes do solo devido ao estímulo do crescimento radicular, solubilizar fosfato e sintetizar ácido indolacético (MACHADO et al., 2011) e, dependendo do tempo de contato e também outros fatores, o uso de *Trichoderma* pode danificar as sementes (ETHUR et al., 2012).

Entretanto, o uso de bioformulados ainda é limitado devido à disponibilidade de produtos comerciais que estão legalmente registrados (MACHADO et al., 2012).

Além disso, ainda são poucos os estudos em dosimetria de bioprodutos que mostram o efeito de altas doses nas plantas. Formulados biológicos, quando utilizados acima das doses recomendadas, poderão levar a prejuízos econômicos se prejudicar a germinação e o desenvolvimento. O efeito negativo observado na germinação de *Striga hermonthica* e *Panicum miliaceum* inoculados com uma grande quantidade de *Trichoderma viride* (HASSAN et al., 2013). Também pode ocorrer a inibição do crescimento em vegetais, associado a uma toxicidade devido a maior concentração de íons de amônio, quando se aplica trichoderma em doses altas na região das raízes (NEUMANN et al., 2006). É importante levar em consideração o efeito desses microrganismos quando aplicados em conjunto nas culturas, pois, estudos com trichoderma isolado de plantas tóxicas da Amazônia mostram atividade antagônica com *Bacillus* sp. e outros tipos de bactérias (SOUZA et al., 2004).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos do tratamento de sementes de lentilha com doses crescentes e superiores às recomendadas de bioformulados comerciais à base de *Trichoderma* spp. e *Bacillus* sp., combinados ou não, na germinação, desenvolvimento inicial de raiz e parte aérea, bem como, índice mitótico de raízes primárias e secundárias.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nos Laboratórios de Interação Planta – Microrganismos e de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade, ambos do Centro de Ciências Naturais e Exatas (29°42' S e 53°43' O), na Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, em dezembro de 2018. A cultivar de lentilha utilizada foi BRS Silvina e, para o tratamento de sementes, utilizou-se dois bioprodutos comerciais Majestic® (princípio ativo *Trichoderma harzianum*, isolado IBLF006, concentração de 1.10^{10} UFC.g⁻¹) na forma de pó molhável (WP) e Rizos® (princípio ativo de *Bacillus subtilis* isolado SF 202A, concentração de 3.10^9 UFC.mL⁻¹) na forma líquida, ambos adquiridos através da empresa fabricante. A dose recomendada do bioproduto Rizos® é de 2,0mL/Kg de semente.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com dezesseis tratamentos e quatro repetições, em que se estudou o efeito isolado de doses para cada bioproduto e a interação entre elas. Os tratamentos foram compostos por: T1

(Controle - ausência de bioformulados); T2 (Rizos® 0,1 mL); T3 (Rizos® 1,0 mL); T4 (Rizos® 10,0 mL); T5 (Majestic® 0,1 g); T6 (Majestic® 1,0 g); T7 (Majestic® 10,0 g); T8 (Rizos® 0,1 mL + Majestic® 0,1 g); T9 (Rizos® 0,1 mL + Majestic® 1,0 g); T10 (Rizos® 0,1 mL + Majestic® 10,0 g); T11 (Rizos® 1,0 mL + Majestic® 0,1 g); T12 (Rizos® 1,0 mL + Majestic® 1,0 g); T13 (Rizos® 1,0 mL + Majestic® 10,0 g); T14 (Rizos® 10,0 mL + Majestic® 0,1 g); T15 (Rizos® 10,0 mL + Majestic® 1,0 g) e T16 (Rizos® 10,0 mL + Majestic® 10,0 g).

Teste de germinação

Realizou-se o teste de germinação utilizando-se quatro repetições de cinquenta sementes, sendo estas tratadas conforme os tratamentos descritos anteriormente. As sementes foram semeadas em papel “germitest”, com umidade de 2,5 vezes o peso do papel seco; os rolos foram alocados em sacos plásticos e condicionados em B.O.D., com temperatura constante de 20°C, com a primeira contagem das sementes realizada aos cinco dias após a germinação e a segunda contagem aos dez dias após a germinação, de acordo com as regras para análises de sementes (BRASIL, 2009).

Índice de Velocidade de Germinação (IVG)

Em conjunto com o teste de germinação foi realizado o Índice de Velocidade de Germinação (IVG), em que a partir da primeira plântula germinada foi registrado diariamente o número de plantas que foram germinando até a estabilização do processo, conforme a equação proposta por Maguire (1962): $IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n$, em que: IVG = Índice de Velocidade de Germinação; G_1, G_2, G_n = número de plântulas germinadas, computadas na primeira, segunda, até a última contagem; N_1, N_2, N_n = número de dias da semeadura à primeira, segunda, até a última contagem.

Comprimento de plântula

Para realizar o comprimento de raiz e parte aérea de plântula o procedimento foi realizado conforme o teste de germinação, porém foram semeadas vinte

sementes por rolo, em que as sementes foram colocadas no terço superior do papel “germitest” (NAKAGAWA, 1999) e, aos dez dias após a semeadura, dez plântulas foram selecionadas ao acaso e realizou-se a medida da parte aérea com régua milimetrada; para as medições de raízes foi utilizado um scanner EPSON Expression 11000 equipado com luz adicional (TPU), com definição de 600 dpi acoplado a um computador contendo o software WinRHIZO Pro, avaliando comprimento de raiz, área superficial e volume radicular.

Massa fresca e massa seca

Para a avaliação da massa fresca das plântulas, foram cortadas na altura do colo e em seguida realizou-se a pesagem da parte aérea e radicular em balança com precisão de 0,001 g. Em seguida, as plantas foram alocadas em envelopes de papel devidamente identificados e colocadas na estufa à temperatura de 60°C. Quando o peso foi estabilizado, realizou-se novamente a pesagem para a determinação da massa seca.

Avaliação do Índice Mitótico

Para avaliação do índice mitótico, primeiramente foi realizado o teste de germinação conforme o descrito acima. Dez dias após a semeadura foram selecionadas, ao acaso, oito raízes por tratamento, separadas e acondicionadas em frascos contendo fixador Carnoy 3:1 (etanol:ácido acético) por 24 horas para cessar a divisão celular. Em seguida as raízes foram armazenadas em etanol 70% perante refrigeração até a elaboração das lâminas para análise. Foram analisadas 250 células por lâmina, totalizando mil células de raízes primárias e mil de raízes secundárias por tratamento. As lâminas foram preparadas através da técnica de esmagamento adaptada de Guerra e Souza (2002), que consiste primeiramente na hidrólise das raízes em ácido clorídrico (HCL) 1N por 5 minutos e posterior lavagem em água destilada. Logo após seccionou-se, separadamente, a região meristemática das raízes secundárias e primárias, sendo colocadas sobre a lâmina e coradas com uma gota de orceína acética 2%, esmagando com auxílio de bastão de vidro e colocando as lamínulas sobre o material. As lâminas foram observadas em microscópio óptico com aumento de 40X.

A análise das células levou em consideração a fase do ciclo celular, podendo ser interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. O cálculo do índice mitótico (IM) foi baseado na porcentagem de células em divisão em relação ao número total de células analisadas (PIRES et al., 2001).

Os dados obtidos foram comparados pelo teste de Scott-Knott em 0,01 de probabilidade de erro, utilizando o software SASM-Agri (CANTERI et al., 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados experimentais expostos para a variável germinação (%G) de sementes de lentilha não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos estudados, com exceção dos tratamentos T4 (86,5%), T14 (82,5%), T15 (82,5%) e T16 (86%) que apresentam a maior dose (10,0 mL) de Rizos®, sozinha ou em combinação com Majestic®, mostrando redução no percentual de germinação quando comparados ao tratamento controle (99%) (Tabela 1). Assim como para o índice de velocidade de germinação (IVG) em que os tratamentos T4 (14,39), T14 (14,95) e T15 (13,59) apresentaram redução neste índice quando comparados ao controle (24,5) e aos demais tratamentos. Para as doses recomendadas dos produtos bioformulados, na germinação os tratamentos não diferiram do tratamento controle. Já na variável IVG, o valor referente ao tratamento controle obteve maior média (24,5) quando comparado ao T2 (20,98) e T5 (19,48) em que apresentam as doses recomendadas dos bioprodutos.

Resultados semelhantes aos deste trabalho também foram encontrados por Martini et al. (2014) na cultura do arroz, em que tratamentos com a utilização de trichoderma não influenciaram de forma significativa o processo de germinação de sementes. Porém, também podem ser encontrados na literatura trabalhos em que este fungo ocasiona benefícios na germinação, como por exemplo, a utilização de *Trichoderma viride* na concentração de 25%, na presença do bioestimulante GR24 (0,1 ppm), em *Striga hermonthica* ocasionando maior porcentagem de germinação (90,3%) quando comparado ao controle (85,4%); entretanto, neste mesmo trabalho, mudando somente para uma concentração de 75% de *T. viride* + 0,01 ppm de GR24, a germinação foi totalmente inibida (HASSAN, et al., 2013).

No trabalho realizado por Sharma et al. (2007), os autores observaram que a inoculação de *Cicer arietinum* com *Bacillus megaterium*, bactéria que solubiliza

fosfato, gerou um maior incremento na germinação das sementes e no comprimento de radícula, em comparação ao tratamento controle. Este dado diverge dos resultados de germinação obtidos neste experimento quando se aplicou doses acima da recomendada do bioproduto formulado por *Bacillus subtilis* isolado SF 202A. Fato que pode indicar que a utilização de bioformulados com diferentes isolados como princípio ativo, bem como diferentes espécies vegetais, podem apresentar resultados diferentes.

Em relação à variável comprimento de parte aérea (CPA), pode-se observar através da análise de médias, que independente do bioproduto e da dose utilizada, não houve diferença estatística significativa entre as médias em relação ao tratamento controle (Tabela 1).

Oliveira et al. (2016) também observaram que sementes de baixo vigor de feijão, cultivar BRS Estilo, não apresentaram maior incremento no comprimento total de plântulas quando inoculadas com um produto a base de *Bacillus subtilis*, não diferindo os tratamentos da testemunha.

Wiethan et al. (2018) aplicaram dose superior à recomendada e crescentes de um bioproduto formulado a partir do fungo trichoderma e verificaram que o comprimento da parte aérea das plantas de alface foi inferior ao tratamento controle (ausência de produto biológico), aos 28 dias após a semeadura

A apresentação dos dados referentes à avaliação do sistema radicular das plântulas de lentilha mostra os parâmetros comprimento e área superficial de raiz, em que os tratamentos T2 (23,45 cm; 4,91 cm²) e T3 (21,09 cm; 4,55 cm²) não diferiram estatisticamente do tratamento controle (20,46 cm; 4,29 cm²) apresentando as melhores médias (Tabela 2). Os tratamentos com doses mais elevadas dos dois bioprodutos, combinados ou não, apresentaram as menores médias para o comprimento e área superficial de raiz. Para volume de raiz, os tratamentos T2 (0,0803 cm³), T3 (0,079 cm³), T5 (0,072 cm³) e T6 (0,068 cm³) apresentaram as médias maiores, não diferindo do tratamento controle (0,073 cm³).

Hjeljord et al. (2003) justificam o comportamento observado em altas concentrações de propágulos de trichoderma através da ocorrência de um processo chamado de autoinibição, em que essas elevadas doses provocam uma inibição na germinação dos conídios do próprio fungo. Ou seja, a utilização de doses muito altas ocasiona o aumento da competição entre os microrganismos, prejudicando assim o desenvolvimento das plantas.

Para volume e área superficial de raiz, Bortolin et al. (2019) também encontraram, em *Paspalum regnellii* Mez, decréscimo nos valores, comparando aos demais tratamentos, quando aplicou dose superior a concentração de 30×10^9 conídios viáveis kg^{-1} de sementes de um bioproduto a base de *Trichoderma harzianum*. No comprimento de raiz primária de feijoeiro cultivado em casa de vegetação com sementes de alto vigor, Oliveira et al. (2016) observou em seu experimento que a aplicação de diferentes doses de inoculante a base de *Bacillus subtilis* influenciou de forma significativa este parâmetro.

Os resultados obtidos para os parâmetros radiculares podem depender da espécie e/ou da estirpe utilizada de cada microrganismo. Isto explica as diferentes maneiras com que estes fungos e bactérias reagem para cada situação, com o tipo de solo, as condições climáticas, cultura estudada, dose aplicada, presença ou ausência de fitopatógenos e diversos fatores que possam interferir na sua atuação.

Pode-se observar que os resultados obtidos para a massa fresca de parte aérea não apresentaram diferença significativa entre as médias dos tratamentos (Tabela 3). Este fato também foi encontrado por Resende et al. (2004) em experimento realizado com sementes de milho inoculadas com *Trichoderma harzianum*, em que os autores não obtiveram resultados significativos para a altura de plantas e massa fresca de parte aérea.

Quanto à massa fresca de raiz (MFR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR), os resultados que apresentaram as menores médias, para as três variáveis, estão relacionados com os tratamentos que possuem as maiores doses dos bioprodutos (10,0mL de Rizos® e 10,0g de Majestic®) isoladas ou combinadas (Tabela 3).

Em experimento realizado com plantas de tomate, Ozbay e Newman (2004) observaram que a massa seca da parte aérea nos tratamentos com isolados T22 e T95 de *Trichoderma harzianum* (concentração de 10^7 esporos mL^{-1}) obteve resultados inferiores ao do tratamento controle. Wiethan et al. (2018) também relatou que ao aplicar doses crescentes (4,0; 8,0; 12,0; 16,0) de ICB Nutrisolo Trichoderma (10^{11} UFC Kg^{-1}) em alface, cultivar Regina, obteve valores menores do que os observados no tratamento controle. A alta produção, por alguns isolados de trichoderma, do fito-hormônio auxina na rizosfera, pode reduzir o desenvolvimento do sistema radicular (VINALE et al., 2008), o que pode, em parte, explicar os resultados obtidos pelos autores e neste trabalho.

Assim como ocorre para trichoderma, o tipo de isolado de *Bacillus subtilis* e a cultura vegetal estudada influenciam as variáveis avaliadas, o que pode ser observado, diferente do que ocorreu neste trabalho, em resultados obtidos por Araujo (2008), no qual inoculou sementes de milho com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras, e observou maior incremento da massa seca da parte aérea. Araújo et al. (2009) também observaram o incremento da massa seca de parte aérea e raiz em feijão-caupi inoculado com rizóbio, *Bacillus subtilis*, fósforo e potássio.

O índice mitótico de células de pontas de raízes primárias de lentilha apresenta o número de células em interfase e o número de células em divisão celular (Tabela 4). Entre os tratamentos que se mostraram inferiores as médias do tratamento controle, se destacam o T13 (Galleon® 1,0 mL + Majestic® 10,0 g) e o T4 (Rizos® 10,0 mL). Também pode ser observado que estes mesmos dois tratamentos obtiveram menores médias no comprimento radicular conforme apresentado na Tabela 2, ou seja, a ação antiproliferativa dos tratamentos T4 e T13 teve como consequência direta a redução do comprimento das raízes de lentilha submetidas à eles.

Por outro lado, os tratamentos T2 (Rizos® 0,1 mL), T8 (Rizos® 0,1 mL + Majestic® 0,1 g), T11 (Rizos® 1,0 mL + Majestic® 0,1 g) e T12 (Rizos® 1,0 mL + Majestic® 1,0 g) aumentaram a proliferação celular em relação ao tratamento controle, mostrando que com a utilização de doses recomendadas ou superiores, porém intermediárias entre os tratamentos apresentados no trabalho, podem auxiliar o desenvolvimento inicial de raízes primárias de lentilha.

Na análise das células de pontas de raízes primárias de lentilha, todas as fases do ciclo celular (interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase) foram encontradas (Figura 1).

Dados referentes à análise mitótica de células de pontas de raízes secundárias são apresentados na Tabela 5. Os tratamentos cujos resultados se mostram superiores ao tratamento controle foram os que apresentaram o bioproduto à base do fungo trichoderma, combinado ou não com *Bacillus* sp.. Este fato pode ser explicado utilizando-se como base o estudo realizado por Contreras-Cornejo *et al.* (2009), com *Arabidopsis thaliana*, em que os autores estudaram o desenvolvimento e crescimento da planta quando inoculada com *Trichoderma atroviride* e *T. virens*, em um sistema de interação planta-fungo e concluíram que a estimulação do

desenvolvimento de raízes laterais era uma das características fenotípicas destes fungos relacionadas a produção de auxina.

Na análise das células de pontas de raízes secundárias de lentilha, todas as fases do ciclo celular (interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase) também foram encontradas (Figura 2) auxiliando o cálculo do índice mitótico nos tratamentos estudados.

Portanto, conclui-se através dos resultados obtidos que as doses dos bioprodutos a base de *Trichoderma* sp. e *Bacillus* sp., acima das recomendadas (10,0 g de Majestic® e 10,0 mL de Rizos®, respectivamente), combinadas ou não, influenciam negativamente a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas de lentilha. Para a análise do índice mitótico, os tratamentos Rizos® na dose 10,0 mL e Rizos® 1,0 mL + Majestic® 10,0 g apresentaram ação antiproliferativa em relação ao tratamento controle, mostrando relação direta na redução do comprimento de raiz primária de lentilha; no entanto, os tratamentos com 0,1 mL de Rizos®; 0,1 mL de Rizos® combinado + 0,1 g de Majestic®; 1,0 mL de Rizos® + 0,1 g de Majestic® e, 1,0 mL de Rizos® + 1,0 g de Majestic® aumentaram a proliferação celular quando comparados ao tratamento controle, podendo auxiliar positivamente o desenvolvimento inicial de raízes primárias de lentilha.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Maria e ao programa de Pós-Graduação em Agrobiologia pela formação acadêmica proporcionada.

Agrademos a CAPES pelo apoio financeiro.

Os autores agradecem a empresa Araunah Agro pelo fornecimento e disponibilidade das informações a respeito do produto biológico.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, A. S. F., CARNEIRO, R. F. V., BEZERRA, A. A. C., ARAÚJO, F. F.; 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*, 2009.

ARAÚJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. *Ciência e Agrotecnologia*. Lavras, v. 32, n.2, p. 456-462, 2008.

ARAÚJO, F.F.; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum/bradyrhizobium elkanii*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.34, p.1633-1643, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, p.399, 2009.

BORTOLIN, G. S., WIETHAN, M. M. S., VEY, R. T., OLIVEIRA, J. C. P., KÖPP, M. M., SILVA, A. C. F.; *Trichoderma* na promoção do desenvolvimento de plantas de *Paspalum regnellii* Mez. Revista de Ciências Agrárias, v.42, n.1, p.135-145, 2019.

CANTERI, M. G., ALTHAUS, R. A., VIRGENS FILHO, J. S., GIGLIOTI, E. A., GODOY, C. V. SASM - Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott - Knott, Tukey e Duncan. Revista Brasileira de Agrocomputação, v.1, n.2, p.18-24, 2001.

CARVALHO, D. C.; MELLO, S. C. M.; LOBO JÚNIOR, M.; M. C. 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, 2011.

CHAGAS JUNIOR A. F.; OLIVEIRA, A. G.; REIS, H. B.; SANTOS, G. R.; CHAGAS, L. F. B.; MILLER, L. O. Eficiência da inoculação combinada de Rizóbio e *Trichoderma* spp. em diferentes cultivares de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) no cerrado (Savana Brasileira). Revista de Ciências Agrárias, v.37, n.1, p.20-28, 2014.

CONTRERAS-CORNEJO, H.A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; CORTÉS-PENAGOS, C. E LÓPEZ-BICIO, J. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, v.149, n.3, p.1579–1592, 2009.

DAKORA, F. D.; PHILLIPS, D. A. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Plant and Soil*, v.245, p.35-47, 2002.

ETHUR, L. Z.; LUPATINI, M.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B.; ANTONIOLLI, Z. I.; LORENTZ, L. H. *Trichoderma asperellum* na produção de mudas contra a fusariose do pepineiro. *Scientia Agraria Paranaensis*, v.11, n.4, p.73-84, 2012.

GUERRA, A.; SOUZA, M.J. Como observar os cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002.

HASSAN, M. M.; DAFFALLA, H. M.; MODWI, H. I.; OSMAN, M. G.; AHMED, I. I.; GANI, M. E. A.; BABIKER, A. G. E. Effects of fungal strains on seeds germination of millet and *Striga hermonthica*. *Universal Journal of Agricultural Research*, v. 2, p. 83-88, 2013.

- HJELJORD, L. G.; TRONSMO, A. Effect of germination initiation on competitive capacity of *Trichoderma atroviride* P1 conidia. *Phytopathology*, v. 93, p. 1593-1598, 2003.
- LUCON, C.M.M.; AKAMATSU, M.A.; HARAKAVA, R. Promoção de crescimento e controle de tombamento de plântulas de pepino por rizobactérias. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v.43, n.6, p.691-697, 2008.
- MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: O fungo e o bioagente. *Revista de Ciências Agrárias*, v.35, p.274-288, 2012.
- MACHADO, R.G.; SÁ, E.L.S.; DAMASCENO, R.G.; HAHN, L.; ALMEIDA, D.; MORAES, T.; CAMARGO, F.A.O.; REARTES, D.S. Promoção de crescimento de *Lotus corniculatus* L. e *Avena strigosa* Schreb pela inoculação conjunta de *Trichoderma harzianum* e rizóbio. *Revista Ciência e Natura*, v.33, n.2, 2011.
- MAGUIRE, J.D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, Madison, v.2, p.176-177, 1962.
- MARTINI, L. B., ETHUR, L. Z., DORNELES, K. R.; Influência de metabólitos secundários de *Trichoderma spp.* no desenvolvimento de fungos veiculados pelas sementes e na germinação de sementes de arroz. *Ciência e Natura*, v.36, n.2, p.86-91, 2014.
- MAZZUCHELLI, R. C. L.; SOSSAI, B. F.; ARAUJO, F. F. Inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasiliense* na cultura do milho. *Colloquium Agrariae*, v.10, n.2, 2014.
- MENTEN, J. O.; MORAES, M. H. D. Tratamento de sementes: Histórico, tipos, características e benefícios. *Informativo ABRATES*, v.20, n.3, 2010.
- NAKAGAWA, J. Teste de vigor baseado no desempenho das plântulas. In: KRZYZAMOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (ed.). *Vigor de sementes: conceito e testes*. Londrina: ABRATES, p.1-24, 1999.
- NEUMANN B, LAING M. 2007. A mechanism for growth inhibition in plants, associated with *Trichoderma* application. In proceedings of the meeting fundamental and practical approaches to increase biocontrol efficacy; September; Spa; Belgica; Spa; Elad Y, Ongena M, Höfte M, Haïssam JM (Eds); p.265, 2006.
- OLIVEIRA, G. R. F.; SILVA, M. S.; MARCIANO, T. Y. F.; PROENÇA, S. L.; SÁ, M. E. Crescimento inicial do feijoeiro em função do vigor de sementes e inoculação com *Bacillus subtilis*. *Brazilian Journal of Biosystems Engineering*, v.10, n.4, p.439-448, 2016.
- PIRES, N.M.; SOUZA, I.R.P.; PRATES, H.T.; FARIA, T.C.L.; FILHO, I.A.P.; MAGALHÃES, P.C. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v.13, n.1, p.55-65, 2001.

RESENDE ML; OLIVEIRA JA.; GUIMARÃES RM; PINHO RGV; VIEIRA AR. Inoculação de Sementes de Milho Utilizando o *Trichoderma harzianum* como Promotor de Crescimento. *Ciência e Agrotecnologia* v.28, p.793-798, 2004.

SAHARAN, B. S. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sciences and Medicine Research*, v.2011. Published 30 april, 2011.

SHARMA, K., DAK, G., AGRAWAL, A., BHATNAGAR, M., SHARMA, R. Effect of phosphate solubilizing bacteria on the germination of *Cicer arietinum* seeds and seedling growth. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*. n.1, p.61-63, 2007.

SOUZA, A. Q. L.; SOUZA, A. D. L.; FILHO, S. A.; PINHEIRO, M. L. B.; SARQUIS, M. I. M.; PEREIRA, J. O. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da amazônia: *Palicourea longiflora* (aubl.) rich e *Strychnos cogens* bentham. *Acta Amazonica*, v.34, n.2, p.185-195, 2004.

VIEIRA, R. F., ROCHA, G. S. Desempenho de lentilhas precoces em alguns municípios de Minas Gerais. *Revista Ceres*. v.51, n.298, p.803-808, 2004.

VINALE F; SIVASITHAMPARAM K; GHISALBERTI EL; MARRA R; BARBETTIMJ; LI H; WOO SL; LORITO M. A noel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. v.72, p.80-86, 2008.

WIETHAN, M. M. S., BORTOLIN, G. S., PINTO, R. S., SILVA, A. C. F.; Initial development of lettuce in vermicompost at higher trichoderma doses. *Horticultura Brasileira*. v.36, n.1 p.77-82, 2018.

TABELAS E FIGURAS

Tabela 1 – Germinação (G%), Índice de velocidade de germinação (IVG) e Comprimento de parte aérea (CPA) de plântulas de lentilha dez dias após a semeadura em tratamentos com bioformulados à base de *Trichoderma* sp. (Majestic®) e *Bacillus* sp. (Rizos®), combinados ou não.

TRATAMENTOS	G %	IVG	CPA (cm)
T1 Controle (ausência de bioformulados)	99 a	24,5 a	3,42 a
T2 Rizos® 0,1 mL	97,5 a	20,98 b	3,22 a
T3 Rizos® 1,0 mL	95,5 a	19,66 b	4,01 a
T4 Rizos® 10,0 mL	86,5 b	14,39 d	2,9 a
T5 Majestic® 0,1 g	96 a	19,48 b	3,15 a
T6 Majestic® 1,0 g	97,5 a	18,94 b	3,53 a
T7 Majestic® 10,0 g	95,5 a	18,87 b	3,6 a
T8 Rizos® 0,1 mL + Majestic® 0,1 g	96,5 a	18,86 b	3,83 a
T9 Rizos® 0,1 mL + Majestic® 1,0 g	98,5 a	18,74 b	3,74 a
T10 Rizos® 0,1 mL + Majestic® 10,0 g	97 a	19,12 b	3,47 a
T11 Rizos® 1,0 mL + Majestic® 0,1 g	96 a	18,96 b	3,99 a
T12 Rizos® 1,0 mL + Majestic® 1,0 g	94,5 a	17,36 c	3,24 a
T13 Rizos® 1,0 mL + Majestic® 10,0 g	93 a	17,4 c	3,19 a
T14 Rizos® 10,0 mL + Majestic® 0,1 g	82,5 b	14,95 d	3,07 a
T15 Rizos® 10,0 mL + Majestic® 1,0 g	82,5 b	13,59 d	3,5 a
T16 Rizos® 10,0 mL + Majestic® 10,0 g	86 b	16,14 c	3,5 a
CV (%)	3,97	6,45	11,98

*Médias não seguidas pela mesma letra diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott em nível de 0,01 de probabilidade de erro.

Tabela 2 – Comprimento (CR), Área superficial (ASR) e Volume (VR) de raiz de plântula de lentilha dez dias após a semeadura em tratamentos com bioformulados à base de *Trichoderma* sp. (Majestic®) e *Bacillus* sp. (Rizos®), combinados ou não.

TRATAMENTOS	CR (cm)	ASR (cm²)	VR (cm³)
T1 Controle (ausência de bioformulados)	20,46 a	4,29 a	0,073 a
T2 Rizos® 0,1 mL	23,45 a	4,91 a	0,0803 a
T3 Rizos® 1,0 mL	21,09 a	4,55 a	0,079 a
T4 Rizos® 10,0 mL	8,64 c	2,39 d	0,053 b
T5 Majestic® 0,1 g	15,47 b	3,74 b	0,072 a
T6 Majestic® 1,0 g	13,41 b	3,38 c	0,068 a
T7 Majestic® 10,0 g	10,9 b	2,54 d	0,048 b
T8 Rizos® 0,1 mL + Majestic® 0,1 g	12,62 b	2,92 c	0,054 b
T9 Rizos® 0,1 mL + Majestic® 1,0 g	13,01 b	3,12 c	0,059 b
T10 Rizos® 0,1 mL + Majestic® 10,0 g	12,06 b	2,95 c	0,058 b
T11 Rizos® 1,0 mL + Majestic® 0,1 g	13,6 b	3,14 c	0,062 b
T12 Rizos® 1,0 mL + Majestic® 1,0 g	12,05 b	2,96 c	0,058 b
T13 Rizos® 1,0 mL + Majestic® 10,0 g	9,37 c	2,54 d	0,056 b
T14 Rizos® 10,0 mL + Majestic® 0,1 g	7,2 c	2,03 d	0,046 b
T15 Rizos® 10,0 mL + Majestic® 1,0 g	7,57 c	2,1 d	0,046 d
T16 Rizos® 10,0 mL + Majestic® 10,0 g	11,36 b	2,8 c	0,056 b
CV (%)	17,48	14	12,77

*Médias não seguidas pela mesma letra diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott em nível de 0,01 de probabilidade de erro.

Tabela 3 – Massa fresca de parte aérea (MFPA), Massa fresca de raiz (MFR), Massa seca de parte aérea (MSPA) e Massa seca de raiz (MSR) de plântula de lentilha dez dias após a semeadura em tratamentos com bioformulados à base de *Trichoderma* sp. (Majestic®) e *Bacillus* sp. (Rizos®), combinados ou não.

TRATAMENTOS	MFPA (cm)	MFR (cm)	MSPA (cm)	MSR (cm)
T1 Controle (ausência de bioformulados)	0,47 a	1,07 a	0,055 a	0,56 a
T2 Rizos® 0,1 mL	0,42 a	1,03 a	0,055 a	0,553 a
T3 Rizos® 1,0 mL	0,50 a	0,98 a	0,056 a	0,486 a
T4 Rizos® 10,0 mL	0,36 a	0,59 c	0,043 b	0,177 c
T5 Majestic® 0,1 g	0,43 a	0,86 b	0,056 a	0,342 b
T6 Majestic® 1,0 g	0,43 a	0,81 b	0,053 a	0,295 b
T7 Majestic® 10,0 g	0,45 a	0,65 c	0,05 b	0,247 b
T8 Rizos® 0,1 mL + Majestic® 0,1 g	0,50 a	0,78 b	0,052 a	0,296 b
T9 Rizos® 0,1 mL + Majestic® 1,0 g	0,42 a	0,82 b	0,052 a	0,312 b
T10 Rizos® 0,1 mL + Majestic® 10,0 g	0,46 a	0,72 c	0,056 a	0,21 c
T11 Rizos® 1,0 mL + Majestic® 0,1 g	0,46 a	0,78 b	0,055 a	0,292 b
T12 Rizos® 1,0 mL + Majestic® 1,0 g	0,4 a	0,75 b	0,047 b	0,311 b
T13 Rizos® 1,0 mL + Majestic® 10,0 g	0,43 a	0,64 c	0,049 b	0,175 c
T14 Rizos® 10,0 mL + Majestic® 0,1 g	0,36 a	0,48 d	0,043 b	0,096 d
T15 Rizos® 10,0 mL + Majestic® 1,0 g	0,42 a	0,51 d	0,051 b	0,074 d
T16 Rizos® 10,0 mL + Majestic® 10,0 g	0,43 a	0,68 c	0,05 b	0,165 c
CV (%)	11,68	11,08	8,73	19,96

*Médias não seguidas pela mesma letra diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott em nível de 0,01 de probabilidade de erro.

Tabela 4 – Número de células meristemáticas de raízes primárias de lentilha analisadas em interfase, divisão e os Índices Mitóticos (IM) em tratamentos com bioformulados à base de *Trichoderma* sp. (Majestic®) e *Bacillus* sp. (Rizos®), combinados ou não.

TRATAMENTOS	Células em interfase	Células em divisão	IM (%)
T1 Controle (ausência de bioformulados)	928	72	7,2 b
T2 Rizos® 0,1 mL	889	111	11,1 a
T3 Rizos® 1,0 mL	921	79	7,9b
T4 Rizos® 10,0 mL	984	16	1,6 c
T5 Majestic® 0,1 g	960	40	4 c
T6 Majestic® 1,0 g	918	82	8,2 b
T7 Majestic® 10,0 g	905	95	9,5 b
T8 Rizos® 0,1 mL + Majestic® 0,1 g	869	131	13,1 a
T9 Rizos® 0,1 mL + Majestic® 1,0 g	959	41	4,1 c
T10 Rizos® 0,1 mL + Majestic® 10,0 g	920	80	8 b
T11 Rizos® 1,0 mL + Majestic® 0,1 g	876	124	12,4 a
T12 Rizos® 1,0 mL + Majestic® 1,0 g	881	119	11,9 a
T13 Rizos® 1,0 mL + Majestic® 10,0 g	926	74	2 d
T14 Rizos® 10,0 mL + Majestic® 0,1 g	924	76	7,5 b
T15 Rizos® 10,0 mL + Majestic® 1,0 g	925	75	7,5 b
T16 Rizos® 10,0 mL + Majestic® 10,0 g	939	61	6,1 c
CV (%)			23,75

*Médias não seguidas pela mesma letra diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott em nível de 0,01 de probabilidade de erro.

Tabela 5 – Número de células meristemáticas de raízes secundárias de lentilha analisadas em interfase, divisão e os Índices Mitóticos (IM) em tratamentos com bioformulados à base de *Trichoderma* sp. (Majestic®) e *Bacillus* sp. (Rizos®), combinados ou não.

TRATAMENTOS	Células em interfase	Células em divisão	IM (%)
T1 Controle (ausência de bioformulados)	957	43	4,3 c
T2 Rizos® 0,1 mL	963	37	3,7 c
T3 Rizos® 1,0 mL	963	37	3,7 c
T4 Rizos® 10,0 mL	968	32	3,2 c
T5 Majestic® 0,1 g	915	85	8,5 b
T6 Majestic® 1,0 g	914	86	8,6 b
T7 Majestic® 10,0 g	895	105	10,5 a
T8 Rizos® 0,1 mL + Majestic® 0,1 g	892	108	10,8 a
T9 Rizos® 0,1 mL + Majestic® 1,0 g	918	82	8,2 b
T10 Rizos® 0,1 mL + Majestic® 10,0 g	941	59	5,9 c
T11 Rizos® 1,0 mL + Majestic® 0,1 g	895	105	10,5 a
T12 Rizos® 1,0 mL + Majestic® 1,0 g	868	132	13,2 a
T13 Rizos® 1,0 mL + Majestic® 10,0 g	954	46	4,6 c
T14 Rizos® 10,0 mL + Majestic® 0,1 g	958	42	4,2 c
T15 Rizos® 10,0 mL + Majestic® 1,0 g	963	37	3,7 c
T16 Rizos® 10,0 mL + Majestic® 10,0 g	976	24	2,4 c
CV (%)			22,18

*Médias não seguidas pela mesma letra diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott em nível de 0,01 de probabilidade de erro.

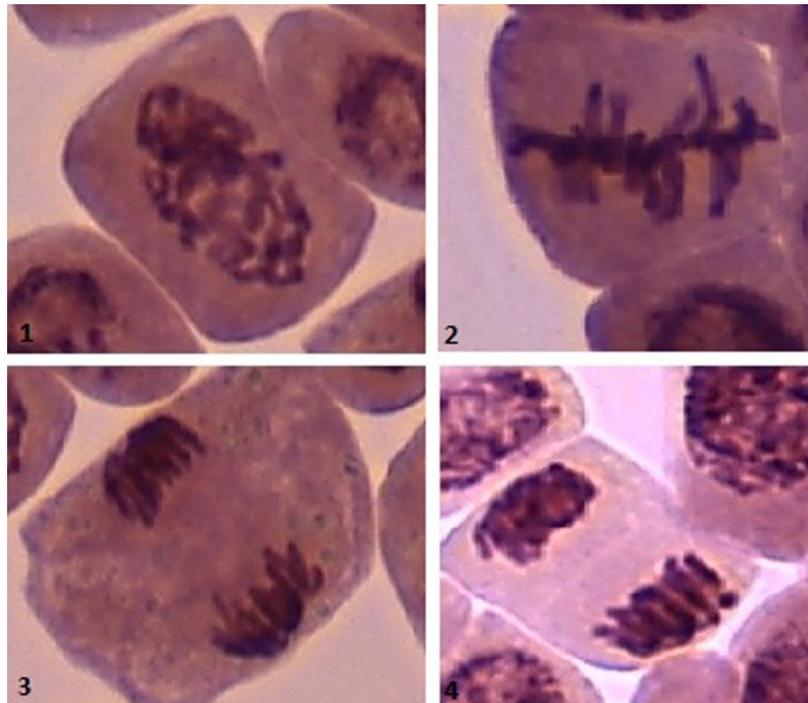


Figura 1 – Células em prófase (1), metáfase (2), anáfase (3) e telófase (4) utilizadas no cálculo do índice mitótico de raízes primárias de *Lens culinaris* em tratamentos com bioformulados à base de *Trichoderma* sp. (Majestic®) e *Bacillus* sp. (Rizos®), combinados ou não.

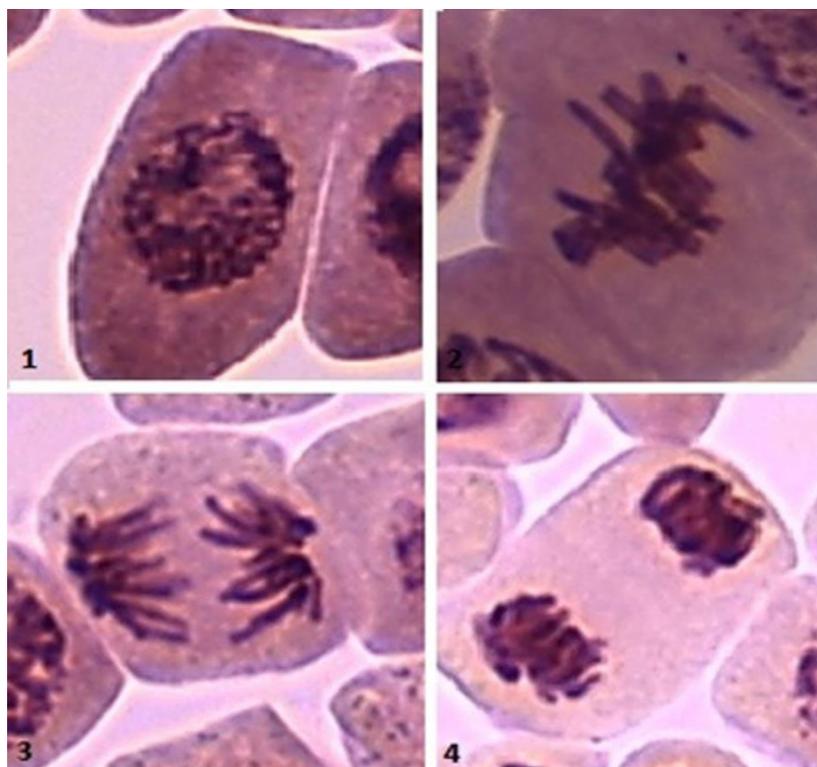


Figura 2 – Células em prófase (1), metáfase (2), anáfase (3) e telófase (4) utilizadas no cálculo do índice mitótico de raízes secundárias de *Lens culinaris* em tratamentos com bioformulados à base de *Trichoderma* sp. (Majestic®) e *Bacillus* sp. (Rizos®), combinados ou não.

ARTIDO 2

***Bacillus* spp. na emergência e desenvolvimento inicial da lentilha**

RESUMO

A lentilha (*Lens culinaris* Medik.) ainda é pouco consumida e estudada no território brasileiro. Seu cultivo ocorre no período do inverno no Brasil, podendo ser uma fonte de renda principalmente para o pequeno produtor. Além disso, a busca por alimentos com menor uso de agrotóxicos vem se destacando cada vez mais no cenário atual, tornando o uso de bioprodutos, formulados através de microrganismos presentes no solo, mais comum na agricultura. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a utilização do tratamento de sementes comparado com a aplicação no sulco de semeadura do bioproduto formulado a base de *Bacillus* spp. (Presence®) no desenvolvimento inicial da lentilha. As variáveis analisadas foram: emergência; índice de velocidade de emergência; comprimento de parte aérea; comprimento, área superficial e volume de raiz; massa fresca e massa seca de plântulas de lentilha aos 15 e 30 dias após a semeadura. O experimento foi composto por sete tratamentos baseados na dose recomendada do produto de 100 g.100 Kg⁻¹ de semente: T1 (controle – ausência de bioformulado); T2 (1/2 dose de Presence® no TS); T3 (dose de Presence® no TS); T4 (2x dose de Presence® no TS); T5 (1/2 dose de Presence® no Sulco); T6 (dose de Presence® no Sulco) e T7 (2x dose de Presence® no Sulco). Os dados foram submetidos ao teste de contraste ortogonal a 5% de probabilidade do erro. A aplicação do bioproduto formulado a base de *Bacillus* spp., tanto na aplicação no tratamento de sementes quanto no sulco de semeadura, contribuiu de maneira efetiva no desenvolvimento inicial de raiz e massa fresca de plântulas de lentilha aos 15 dias após semeadura.

Palavras-chave: *Lens culinaris*, tratamento de sementes, sulco de semeadura, microrganismos.

***Bacillus* spp. in the emergence and initial development of lentil**

ABSTRACT

Lentil (*Lens culinaris* Medik.) is still a little consumed and studied in the Brazilian territory. Its consumption takes place in the winter of Brazil, being able to be a source of income, mainly for the producer small. In addition, the search for food with less use of agrochemicals has been emphasizing more and more in the current scenario, making the use of bioproducts, formulated through microorganisms present in the soil, most common in agriculture. Therefore, the objective of the present work was to evaluate the use of seed treatment compared to the application in the sowing groove of the bioproduct formulated with *Bacillus* spp. (Presence®) in the initial development of the lentil. The analyzed variables form: emergence; emergency speed index; length of aerial part; length, surface area and root volume; fresh mass and dry mass of lentil seedlings at 15 and 30 days after sowing. The experiment consisted of seven treatments based on the recommended dose of the product of 100 g.100 kg⁻¹ of seed: T1 (control - absence of bioformulation); T2 (1/2 dose of Presence® in TS); T3 (Presence® dose in TS); T4 (2x dose of Presence® in TS); T5 (1/2 dose of Presence® in Groove); T6 (dose Presence® in Groove) and T7 (2x dose Presence® in Groove). The data were submitted to the orthogonal contrast test at 5% probability of error. The application of the bio - product formulated with *Bacillus* spp., Both in the seed treatment and in the sowing groove, effectively contributed to the initial development of root and initial developmen fresh mass of lentil seedlings at 15 days after sowing.

Key-words: *Lens culinaris*, seed treatment, sowing groove, microorganisms.

INTRODUÇÃO

Considerada como uma das leguminosas mais antigas cultivadas pelo homem, a lentilha (*Lens culinaris* Medik.) teve sua origem no mediterrâneo e, atualmente, a região com maior consumo e maior área cultivada se localiza na Ásia, especialmente na Índia e Turquia. O cultivo deste grão no continente americano se localiza principalmente nos países do Canadá, Chile e Argentina (VIEIRA; ROCHA, 2004). No Brasil, apesar de apresentar boas condições edafoclimáticas para o cultivo desta cultura, ela ainda é pouco estudada e seu consumo depende, na maior parte, de importação.

Como estratégia de cultivo principalmente para o pequeno produtor, a diversificação de culturas é de extrema importância para a renda das famílias, especialmente no período do inverno. Assim, a busca por alternativas competitivas e rentáveis se torna um desafio para a pesquisa, que procura relacionar aumento de produtividade juntamente com alternativas para o controle de doenças nas plantas e um menor custo de produção.

Independente da cultura, a utilização de sementes sadias é fundamental para um bom estande inicial de plantas. A preservação da qualidade sanitária, germinação e desenvolvimento vegetativo inicial através do tratamento de sementes (MENTEN, 2010) ou da aplicação de defensivos no sulco de semeadura são de extrema importância para a proteção e estabelecimento das plântulas. Além disso, a busca por uma agricultura com menor uso de agrotóxicos tem se tornado cada vez mais comum no cenário atual e, juntamente com esse contexto, o uso de bioprodutos formulados através de microorganismos presentes no solo pode ser considerado uma ferramenta na proteção contra possíveis doenças nas raízes das plantas ou até mesmo estimular o crescimento inicial das culturas (MACHADO et al., 2011).

Assim, podemos citar as rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) que vivem no solo e geralmente são encontradas na rizosfera de plantas cultivadas. Entre os gêneros considerados mais estudados, as que se destacam são: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum* e *Rhizobium* (ARAUJO, 2008). No desenvolvimento das plantas, o efeito benéfico desses microrganismos está relacionado à germinação, emergência e crescimento (LAZZARETI; BETTIOL, 1997). Tendo em vista estes benefícios, a possibilidade de sua aplicação no solo

traz vantagens diretas na produção das culturas agrícolas e, ao mesmo tempo, promove redução da aplicação de insumos químicos (FIGUEIREDO et al., 2009).

Bactérias do gênero *Bacillus* estão entre as mais abundantes encontradas na rizosfera. Sua atividade como promotora do crescimento em plantas pode estimular a absorção de nutrientes, a nodulação de leguminosas e também a absorção biológica de nitrogênio (SAHARAN, 2011). *Bacillus pumilus* aplicado em tomateiro para controle de pinta bacteriana, causada por *Pseudomonas syringae pv tomato*, apresentou resultados satisfatórios também para o incremento na altura das plantas em estágio inicial de desenvolvimento (SILVA et al., 2008). Em cana-de-açúcar, *Bacillus* spp. aumentaram a produção de açúcar e colmos por hectare, em comparação à testemunha (BRANDI et al., 2018).

Através deste contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de doses de um bioproduto comercial à base de *Bacillus* spp., aplicado no tratamento de sementes e no sulco de semeadura, na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de lentilha.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em estufa do Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em Herbologia em parceria com o Laboratório de Interação Planta – Microrganismos, ambos pertencentes ao Centro de Ciências Naturais e Exatas (29°42' S e 53°43' O), situados na Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do sul, em maio de 2018. A cultivar utilizada foi BRS Silvina. O experimento foi conduzido em baldes de 5 litros contendo uma mistura de substrato comercial da marca Mecplant e areia. Previamente à semeadura, realizou-se a determinação da umidade dos baldes, sendo esta mantida durante as avaliações em 50 % da capacidade de retenção de água. A adubação de plantio foi de 500 kg.ha⁻¹ de NPK na formulação 4-20-20, sendo esta quantidade convertida para a área do balde (0,49 m²). Para o tratamento de sementes e a aplicação no sulco de semeadura utilizou-se o bioproduto comercial Presence® (princípio ativo de *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* linhagem QST713, na concentração de 1.10¹¹ UFC.g⁻¹) na forma de pó para preparação de pasta em água (WS), adquirido através da empresa fabricante. A dose recomendada para este bioproduto é de 100 g.100 Kg⁻¹ de semente.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com sete tratamentos e quatro repetições, em que se estudou o efeito de doses do bioproduto no tratamento de sementes (TS) e no sulco de semeadura. As doses foram ajustadas para 150g de semente na realização do tratamento de sementes e, para a aplicação no sulco de semeadura, as doses foram ajustadas de acordo com a área do balde (0,49 m²). Os tratamentos foram compostos por: T1 (controle – ausência de bioformulado); T2 (1/2 dose de Presence® no TS); T3 (dose de Presence® no TS); T4 (2x dose de Presence® no TS); T5 (1/2 dose de Presence® no Sulco); T6 (dose de Presence® no Sulco) e T7 (2x dose de Presence® no Sulco), baseados na dose recomendada do bioproduto de 100 g.100 Kg⁻¹ de semente.

Teste de germinação

O teste de germinação foi realizado utilizando-se quatro repetições de cinquenta sementes, em que estas foram tratadas conforme os tratamentos descritos anteriormente. Semeadas em papel “germitest”, com umidade de 2,5 vezes o peso do papel seco; os rolos foram condicionados em sacos plásticos e alocados em B.O.D., com temperatura constante de 20°C, sendo realizada a primeira contagem das sementes aos cinco dias após a germinação e a segunda contagem aos dez dias após a germinação (BRASIL, 2009).

Tratamento de sementes

Para realizar o tratamento de sementes utilizou-se a metodologia proposta por Astro (2008) com algumas modificações, em que o bioproduto foi diluído em água destilada, formando uma calda homogênea; a mistura foi realizada em sacos plásticos de 2 kg, agitando-se durante dois minutos com o objetivo de uniformizar a calda sobre as sementes. Logo após, os sacos foram abertos para que as sementes secassem em temperatura ambiente por 24h para posterior semeadura.

Aplicação no sulco de semeadura

Para a aplicação do bioproduto no sulco de semeadura, o cálculo foi baseado na quantidade aplicada em um hectare. Logo após, foi medida a área do balde (0,49 m²) e a quantidade foi revertida para tal medida.

Índice de Velocidade de Emergência (IVE)

A partir da primeira plântula emergida foi registrado diariamente o número de plantas que foram emergindo até a estabilização do processo, conforme a equação proposta por Maguire (1962): $IVE = E_1/N_1 + E_2/N_2 + \dots + E_n/N_n$, em que: IVE = Índice de Velocidade de Emergência; E_1, E_2, E_n = número de plântulas emergidas, computadas na primeira, segunda, até a última contagem; N_1, N_2, N_n = número de dias da semeadura à primeira, segunda, até a última contagem.

Comprimento de plântula

Para realizar o comprimento de raiz e parte aérea as plântulas foram coletadas aos 15 e 30 dias após semeadura e separadas na região do colo. Para realizar a medição da parte aérea foi utilizado régua milimetrada; para as análises de raiz foram avaliadas variáveis morfológicas com auxílio de um scanner EPSON Expression 11000 equipado com luz adicional (TPU), com definição de 600 dpi para raízes acoplado a um computador contendo o software WinRHIZO Pro, avaliando comprimento de raiz, área superficial e volume radicular.

Massa fresca e massa seca

Para a avaliação da massa fresca, realizou-se um corte na altura do colo das plântulas de lentilha e, em seguida, foi feita a pesagem da parte aérea e radicular em balança com precisão de 0,001 g. Posteriormente, as plantas foram condicionadas em envelopes de papel devidamente identificados e alocadas na estufa à temperatura de 60°C. Quando se estabilizou o peso, realizou-se novamente a pesagem para a determinação da massa seca. Estes procedimentos foram realizados aos 15 e 30 dias após a semeadura.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode-se observar que os resultados para a variável emergência não apresentaram diferença significativa entre os contrastes ortogonais estudados, com exceção do contraste 3 (C₃), em que foi comparado somente a aplicação do bioproduto no tratamento de sementes e o T3 (dose de Presence® no TS) apresentou maiores médias para esta variável quando comparado aos tratamentos T2 (1/2 dose de Presence® no TS) e T4 (2x dose de Presence® no TS) (Tabela 1). Já para a variável Índice de Velocidade de Emergência (IVE), o único contraste ortogonal que se mostrou significativo foi o C₂, que compara a aplicação do bioproduto no tratamento de sementes em relação à aplicação no sulco de semeadura, em que o TS apresentou um incremento de 4,05 vezes mais efetivo para este índice quando comparado ao sulco.

Resultados semelhantes ao deste trabalho, em que a aplicação de *Bacillus* não apresentou diferença significativa na emergência de plântulas quando comparada ao tratamento controle, também foram encontrados por Lazzaretti et al. (1997), quando avaliou o efeito de *B. subtilis* sobre a emergência de plântulas de trigo, feijão e soja aos 15 dias após a semeadura. Já os resultados obtidos por Araujo et al. (2008) na emergência de soja e algodão, com aplicação de *B. subtilis* formulado com resíduos orgânicos, proporcionou aumento na porcentagem de emergência de plântulas comparando-se à testemunha. Esses resultados mostram que a interação entre a estirpe de *B. subtilis* utilizada e as culturas avaliadas são específicas.

Em relação à variável comprimento de parte aérea (Tabela 2), foram realizadas medições aos 15 e aos 30 dias após a semeadura. Para as duas avaliações o contraste 2 (C₂) apresentou diferença significativa, mostrando que a aplicação do bioproduto no TS foi mais efetiva do que a aplicação no sulco de semeadura. Porém, ambos os tratamentos não diferiram significativamente do tratamento controle. Para a segunda avaliação, aos 30 dias após a semeadura, o contraste 5 (C₅), que avalia somente a aplicação do bioproduto no sulco de semeadura, apresentou diferença significativa, em que a aplicação da dose recomendada (T6 - dose de Presence® no Sulco) se mostrou mais eficiente do que os tratamentos T5 (1/2 dose de Presence® no Sulco) e T7 (2x dose de Presence® no Sulco).

Araújo e Marchesi (2009), em experimento realizado com promoção do crescimento de tomateiro e aplicação de *B. subtilis*, obtiveram resultados

semelhantes ao apresentado neste experimento, em que a presença da rizobactéria não apresentou diferença significativa dos tratamentos em relação à testemunha, para a altura de plantas aos 85 dias após o transplante. Diferentemente dos resultados obtidos por Harthmann et al. (2010) na cultura da cebola, em que a aplicação de *B. megaterium* W19 e *B. cereus* UFV40 nas sementes promoveu maior crescimento das plantas em relação ao tratamento controle, 90 dias após o transplante.

A apresentação dos dados referentes ao desenvolvimento do sistema radicular das plântulas de lentilha é mostrada através de variáveis como o comprimento, área superficial e o volume das raízes nas duas épocas de coleta, aos 15 e 30 dias após a semeadura (Tabela 3). O comprimento e a área superficial na primeira avaliação apresentaram diferença significativa no contraste 1 (C_1), que compara a aplicação ou não do bioproduto, e mostrou que a aplicação dos diferentes tratamentos obteve maiores médias quando comparadas ao tratamento controle para essas duas variáveis. Já para os resultados da segunda avaliação, somente o contraste 6 (C_6) obteve diferença significativa; ele compara somente a aplicação no sulco de semeadura dos tratamentos T5 (1/2 dose de Presence® no Sulco) e T7 (2x dose de Presence® no Sulco) e mostrou que para as três variáveis a aplicação do T5 foi mais efetiva, embora nenhum dos contrastes tenha diferido significativamente do tratamento controle.

Cerqueira et al. (2015), em experimento inoculando diferentes estirpes de *Bacillus* na cultura do feijão, mesmo obtendo resultados positivos por essas estirpes para a produção de ácido indol acético (AIA), fitohormônio que pode ser capaz de promover nas plantas a expansão, divisão e diferenciação celular (YANG et al., 2009), não verificaram diferença significativa no comprimento de raízes de feijão quando comparados ao tratamento sem aplicação da rizobactéria. Já Oliveira et al. (2016), também trabalhando com a cultura do feijão, obteve influência significativa na aplicação de inoculante a base de *B. subtilis* em raiz primária de feijoeiro cultivado em casa de vegetação.

Podemos observar nos resultados obtidos para massa fresca (Tabela 4), que nos valores da primeira avaliação o contraste 1 (C_1) demonstrou diferença significativa. Este contraste avalia a aplicação ou não de bioproduto e, neste caso, a aplicação dos tratamentos se mostrou mais efetiva em relação ao tratamento controle, tanto para massa fresca de parte aérea como de raiz. Também na primeira

avaliação, o contraste 2 (C₂) apresentou significância, este contraste avalia a aplicação do bioproduto no tratamento de sementes comparado à aplicação no sulco e, para massa fresca de raiz, a aplicação no sulco de semeadura se mostrou mais eficiente. Além disso, para o contraste 3 (C₃) que também apresentou diferença significativa na primeira avaliação, foram comparadas somente as doses aplicadas no tratamento de sementes, e a dose recomendada do bioproduto (T3) foi mais efetiva que as outras doses testadas no TS (T2 e T4) para a massa fresca de parte aérea.

Já os resultados obtidos para massa fresca na segunda avaliação (Tabela 4), aos 30 dias após a semeadura, mostraram significância somente no contraste 6 (C₆) para massa fresca de raiz. Este contraste compara apenas a aplicação do tratamento 5 (1/2 dose de Presence® no Sulco) em relação a aplicação do tratamento 7 (2x dose de Presence® no Sulco) e mostrou que a aplicação do T5 é mais eficaz do que o T7. Para os demais resultados não foram obtidas diferenças significativas entre os tratamentos.

Resultados satisfatórios na massa fresca com aplicação de *B. subtilis* no sulco de semeadura também foram encontrados por Mazzuchelli et al. (2014), em que o autor observou aumento de 14,87% na massa fresca da parte aérea do milho em relação ao tratamento controle, 120 após o plantio da cultura. Em experimento realizado com soja, variedade TMG132, a aplicação de 0,4 mL.Kg⁻¹ de bioproduto a base de *B. subtilis* estirpe pant001, proporcionou aumento de 4,7g de massa fresca da parte aérea das plantas em relação a testemunha (Costa et al., 2019).

Para os parâmetros observados de massa seca de plântulas de lentilha (Tabela 5), na primeira avaliação, aos 15 dias após a semeadura, o único contraste que obteve diferença significativa foi o contraste 2 (C₂), que compara a aplicação do bioproduto no tratamento de sementes e no sulco de semeadura, mostrando-se mais efetiva a aplicação no sulco para a variável massa seca de raiz. Em relação ao tratamento controle nenhum dos contrastes obteve diferença significativa para os valores da primeira avaliação.

Já para a segunda avaliação da massa seca (Tabela 5), aos 30 dias após a semeadura, os valores referentes à massa seca de raiz mostraram que os tratamentos com aplicação do bioproduto a base de *Bacillus* apresentaram maiores médias quando comparados ao tratamento controle, conforme apresentado no contraste 1 (C₁); este fato pode estar relacionado com o auxílio de *B. subtilis* no

desenvolvimento das plantas devido a produção de fitohormônios (ARAUJO et al., 2005), resultando em maior aumento de massa seca de plântula. No contraste 4 (C₄) foi observado que valores referentes ao T4 (2x dose de Presence® no TS) obtiveram maiores médias de massa seca de raiz quando comparados à aplicação do T2 (1/2 dose de Presence® no TS). Já para o contraste 6 (C₆), tanto para massa fresca de parte aérea quanto de raiz, o T5 (1/2 dose de Presence® no Sulco) mostrou maior eficiência para essas variáveis quando comparado ao T7 (2x dose de Presence® no Sulco).

Em experimento realizado com aplicação de *B. subtilis* para o controle de nematóides na cultura do tomate, Bavaresco e Araujo (2017) observaram que para a variável massa seca de parte aérea, não ocorreu interação significativa entre os cultivares estudados e a aplicação de *Bacillus* nas mudas ou no sulco de semeadura, não diferindo significativamente estes tratamentos do tratamento controle. Já em experimento realizado por Mazzuchelli e Araujo (2011) na cultura de cana-de-açúcar, a variedade RB867515 proporcionou maior incremento de massa seca de parte aérea quando inoculada com *B. subtilis* AP-3, apresentando aumento significativo da média (38,6) quando comparada ao tratamento controle (24,8).

De acordo com Araújo (2008), a espécie da planta ou da bactéria estudada e seus diferentes modos de ação, fazem com que a interação planta-microrganismo ocorra de maneira positiva, neutra ou negativa. Portanto é importante efetuar estudos para definir os mecanismos de ação destes microrganismos e utilização de suas estirpes para interação com determinadas plantas.

Portanto, conclui-se através dos resultados obtidos neste trabalho, que a aplicação do bioproduto formulado a base de *Bacillus* spp., tanto na aplicação no tratamento de sementes quanto no sulco de semeadura, contribuiu de maneira efetiva no desenvolvimento inicial de raiz e massa fresca de plântulas de lentilha aos 15 dias após semeadura.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Maria e ao programa de Pós-Graduação em Agrobiologia pela formação acadêmica proporcionada.

Agrademos a CAPES pelo apoio financeiro.

Os autores agradecem a empresa FMC pelo fornecimento e disponibilidade das informações a respeito do produto biológico.

REFERÊNCIAS

ARAUJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. Ciência e Agrotecnologia. Lavras, v. 32, n.2, p. 456-462, 2008.

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

ARAÚJO, F. F.; MARCHESI, G. V. P. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção de crescimento do tomateiro. Ciência Rural, v.39, n.5, p.1558-1561, 2009.

ARAÚJO, F. F. Rizobactérias e indução de resistência a doenças em plantas. Parte II – Micro-organismos Promotores de Crescimento em Plantas. In: FIGUEIREDO, M. do V. B.; BURITY, H. A.; STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. R. S. Micro-organismos e agrobiodiversidade: o novo desafio para agricultura. 1. 47a.Guaíba, Agrolivros.. p. 197-210, 2008.

ASTRO, A.; BOGIANI, J. C.; SILVA, M. G.; GAZOLA, E.; ROSOLEM, C. A. Tratamento de sementes de soja com inseticidas e um bioestimulante Gustavo Spadotti Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.43, n.10, p.1311-1318, out. 2008.

BAVARESCO, L. G.; ARAUJO, F. F. Aplicação de *Bacillus subtilis* no controle de 47actéria47s das galhas em tomateiro. Colloquium Agrariae, v.13, n. Especial, p.41-46, 2017.

BRANDI, F.; HECK, D. W.; THIAGO COSTA FERREIRA, T. C.; BETTIOL, W. Commercial formulations of *Bacillus* spp. for sugarcane pineapple disease control and growth promotion. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.53, n.12, p.1311-1319, 2018.

CERQUEIRA, W. F.; MORAIS, J. S.; MIRANDA, J. S.; MELLO, I. K. S.; SANTOS, A. F. J. Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer, v.11, n.20, p.83, 2015.

COSTA, L. C.; TAVANTI, R. F. R.; TAVANTI, T. R.; PEREIRA, C. S. Desenvolvimento de cultivares de soja após inoculação de estirpes de *Bacillus subtilis*. Nativa, Sinop, v.7, n.2, p.126-132, 2019.

FERREIRA, D. F. Sisvar – Sistema de análise de variância para dados balanceados. Lavras: UFLA, p.19, 1998.

FIGUEIREDO, M.V.B., LIRA JUNIOR, M.A., MESSIAS, A.S., MENEZES, R.S.C. Potential impact of biological nitrogen fixation and organic fertilization on corn yield in low external input systems In: Danforth, A.T. (Ed.). Corn crops production: growth, fertilization and yield. New York: Nova Science Publishers, v.5, p.239-267, 2009.

HARTHMANN, O. E. L.; MÓGOR, A. F.; FILHO, J. A. W.; LUZ, W. C. Rizobactérias no crescimento e na produtividade da cebola. *Ciência Rural*, v.40 n.2 , 2010.

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 Agrícola*, Piracicaba, v.54, p.89-96, 1997.

MACHADO, R.G.; SÁ, E.L.S.; DAMASCENO, R.G.; HAHN, L.; ALMEIDA, D.; MORAES, T.; CAMARGO, F.A.O.; REARTES, D.S. Promoção de crescimento de *Lotus corniculatus* L. e *Avena strigosa* Schreb pela inoculação conjunta de *Trichoderma harzianum* e rizóbio. *Revista Ciência e Natura*, v.33, n.2, 2011.

MAZZUCHELLI, R. C. L.; ARAÚJO, F. F. Eficácia do controle de nematóides por *Bacillus subtilis* em duas variedades de cana-de-açúcar. *Colloquium Agrariae*, v.7, n. Especial, p.51-58, 2011.

MAZZUCHELLI, R. C. L.; SOSSAI, B. F.; ARAUJO, F. F. Inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. *Colloquium Agrariae*, v.10, n.2, p.40-47, 2014.

MENTEN, J. O.; MORAES, M. H. D. Tratamento de sementes: Histórico, tipos, características e benefícios. *Informativo ABRATES*, v.20, n.3, 2010.

OLIVEIRA, G. R. F.; SILVA, M. S.; MARCIANO, T. Y. F.; PROENÇA, S. L.; SÁ, M. E. Crescimento inicial do feijoeiro em função do vigor de sementes e inoculação com *Bacillus subtilis*. *Brazilian Journal of Biosystems Engineering*, v.10, n.4, p.439-448, 2016.

SAHARAN, B. S. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sciences and Medicine Research*, v.2011. Published 30 april, 2011.

SILVA, J.R.C.; SOUZA, R.M.; ZACARONE, A.B.; SILVA, L.H.C.P. E CASTRO, M.A.S. Bactérias endofíticas no controle e inibição *in vitro* de *Pseudomonas syringae* 48a tomato, agente da pinta bacteriana do tomateiro. *Ciência e Agrotecnologia*, v.32, n.4, p.1062-1072, 2008.

VIEIRA, R. F. e ROCHA, G. S. Desempenho de lentilhas precoces em alguns municípios de Minas Gerais. *Revista Ceres*, v.51, n.298, p.803-808, 2004.

YANG J. , KLOEPPER J. W., RYU C. M. Rhizosphere 48actéria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science* v.14, n.1, 2009.

TABELAS E FIGURAS

Tabela 1 – Coeficiente e estimativas de contrastes ortogonais à emergência (%) e Índice de velocidade de emergência (IVE) de plântulas de lentilha em tratamentos com bioformulado a base de *Bacillus* sp. (Presence®) no tratamento de sementes e sulco de semeadura.

Tratamentos	Contrastes						
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	
T1 Controle	6	0	0	0	0	0	
T2 1/2 dose Presence® TS	-1	1	-1	1	0	0	
T3 Dose Presence® TS	-1	1	2	0	0	0	
T4 2x dose Presence® TS	-1	1	-1	-1	0	0	
T5 1/2 dose Presense® sulco	-1	-1	0	0	-1	1	
T6 Dose Presence® sulco	-1	-1	0	0	2	0	
T7 2x dose Presence® sulco	-1	-1	0	0	-1	-1	
<i>Estimativas</i>							
	CV (%)						
Emergência (%)	19,5	-37,5	6,25	43,75*	-18,75	-6,25	0
IVE	47,22	-1,85	4,05*	1,53	-0,94	0,19	0,15

*- significativo pelo teste de Contrastes ortogonais em nível de 0,05 de probabilidade de erro.

Tabela 2 – Coeficiente e estimativas de contrastes ortogonais ao comprimento de parte aérea de plântulas de lentilha aos 15 e 30 dias após a semeadura em tratamentos com bioformulado a base de *Bacillus* sp. (Presence®) no tratamento de sementes e sulco de semeadura.

Tratamentos	Contrastes						
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	
T1 Controle	6	0	0	0	0	0	
T2 1/2 dose Presence® TS	-1	1	-1	1	0	0	
T3 Dose Presence® TS	-1	1	2	0	0	0	
T4 2x dose Presence® TS	-1	1	-1	-1	0	0	
T5 1/2 dose Presense® sulco	-1	-1	0	0	-1	1	
T6 Dose Presence® sulco	-1	-1	0	0	2	0	
T7 2x dose Presence® sulco	-1	-1	0	0	-1	-1	
<i>Estimativas 1ª avaliação</i>							
	CV (%)						
Comprimento PA	7,12	-0,42	3,77*	-1,5	0,65	0,77	0,37
<i>Estimativas 2ª avaliação</i>							
	CV (%)						
Comprimento PA	6,85	-3,25	2,9*	0,07	1,12	4,1*	1,45

*- significativo pelo teste de Contrastes ortogonais em nível de 0,05 de probabilidade de erro.

Tabela 3 – Coeficiente e estimativas de contrastes ortogonais ao comprimento, área superficial e volume de raiz de plântulas de lentilha aos 15 e 30 dias após a semeadura em tratamentos com bioformulado a base de *Bacillus* sp. (Presence®) no tratamento de sementes e sulco de semeadura.

Tratamentos	Contrastes						
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	
T1 Controle	6	0	0	0	0	0	
T2 ½ dose Presence® TS	-1	1	-1	1	0	0	
T3 Dose Presence® TS	-1	1	2	0	0	0	
T4 2x dose Presence® TS	-1	1	-1	-1	0	0	
T5 ½ dose Presense® sulco	-1	-1	0	0	-1	1	
T6 Dose Presence® sulco	-1	-1	0	0	2	0	
T7 2x dose Presence® sulco	-1	-1	0	0	-1	-1	
<i>Estimativas 1ª avaliação</i>							
	CV (%)						
Comprimento	35,73	-98,87*	-20,22	27,99	-7,16	-14,01	8,81
Área superficial	34,57	-21,16*	-5,61	5,45	-1,67	-1,27	1,32
Volume	35,44	-0,35	-0,12	0,08	-0,03	0,01	0,012
<i>Estimativas 2ª avaliação</i>							
	CV (%)						
Comprimento	15,29	-40,12	-56,85	28,25	-43,49	50,12	98,82*
Área superficial	13,99	-4,31	-5,92	8,62	-8,29	11,11	16,08*
Volume	14,53	-0,02	-0,01	0,16	-0,13	0,19	0,21*

*- significativo pelo teste de Contrastes ortogonais em nível de 0,05 de probabilidade de erro.

Tabela 4 – Coeficiente e estimativas de contrastes ortogonais à massa fresca de parte aérea e raiz de plântulas de lentilha aos 15 e 30 dias após a semeadura em tratamentos com bioformulado a base de *Bacillus* sp. (Presence®) no tratamento de sementes e sulco de semeadura.

Tratamentos	Contrastes						
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	
T1 Controle	6	0	0	0	0	0	
T2 1/2 dose Presence® TS	-1	1	-1	1	0	0	
T3 Dose Presence® TS	-1	1	2	0	0	0	
T4 2x dose Presence® TS	-1	1	-1	-1	0	0	
T5 1/2 dose Presense® sulco	-1	-1	0	0	-1	1	
T6 Dose Presence® sulco	-1	-1	0	0	2	0	
T7 2x dose Presence® sulco	-1	-1	0	0	-1	-1	
<i>Estimativas 1ª avaliação</i>							
	CV (%)						
Massa fresca PA	8,56	-0,66*	0	0,2*	0,09	0,01	0,07
Massa fresca RAIZ	10,38	-0,45*	-0,4*	0,12	0,05	0,01	0,01
<i>Estimativas 2ª avaliação</i>							
	CV (%)						
Massa fresca PA	16,64	0,4	0,34	0,01	-0,17	0,23	0,21
Massa fresca RAIZ	14,58	0,13	-0,1	0,2	-0,07	0,06	0,028*

*- significativo pelo teste de Contrastes ortogonais em nível de 0,05 de probabilidade de erro.

Tabela 5 – Coeficiente e estimativas de contrastes ortogonais à massa seca de parte aérea e raiz de plântulas de lentilha aos 15 e 30 dias após a semeadura em tratamentos com bioformulado a base de *Bacillus* sp. (Presence®) no tratamento de sementes e sulco de semeadura.

Tratamentos	Contrastes						
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	
T1 Controle	6	0	0	0	0	0	
T2 ½ dose Presence® TS	-1	1	-1	1	0	0	
T3 Dose Presence® TS	-1	1	2	0	0	0	
T4 2x dose Presence® TS	-1	1	-1	-1	0	0	
T5 ½ dose Presence® sulco	-1	-1	0	0	-1	1	
T6 Dose Presence® sulco	-1	-1	0	0	2	0	
T7 2x dose Presence® sulco	-1	-1	0	0	-1	-1	
<i>Estimativas 1ª avaliação</i>							
	CV (%)						
Massa seca PA	30,71	0,016	0,002	0,01	-0,009	0,007	0
Massa seca RAIZ	30,16	-0,003	-0,009*	0	0,003	0,001	0
<i>Estimativas 2ª avaliação</i>							
	CV (%)						
Massa seca PA	17,83	-0,134	0,021	0,025	-0,008	0,023	0,034*
Massa seca RAIZ	15,94	-0,036*	-0,005	0	-0,01*	0,008	0,011*

*- significativo pelo teste de Contrastes ortogonais em nível de 0,05 de probabilidade de erro.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através da realização deste trabalho, foi possível concluir que a interação planta-microrganismo depende de inúmeros fatores, bióticos e/ou abióticos, que farão com que os resultados sejam negativos, neutros ou positivos.

Observou-se que doses superiores e crescentes, acima das doses recomendadas, de bioprodutos comerciais formulados através de fungo do gênero *Trichoderma* e bactéria do gênero *Bacillus*, isoladas ou não, influenciaram negativamente o processo de germinação e desenvolvimento inicial aos dez dias após a semeadura. Para o índice mitótico de plântulas de lentilha, tratamentos que causaram ação antiproliferativa das células de pontas de raízes tiveram como consequência direta a redução do comprimento das raízes de lentilha submetidas a eles.

Já em experimento realizado em estufa, a ação de produto comercial biológico, formulado a partir de bactéria do gênero *Bacillus*, contribuiu de maneira significativa no desenvolvimento inicial de raiz e massa fresca de plântulas de lentilha aos 15 dias após a semeadura, tanto na aplicação através do tratamento de sementes como no sulco de semeadura.