



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

HELIO FERNANDES IBANHES NETO

**TRATAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO VAGEM COM  
*BACILLUS SUBTILIS***

---

Londrina  
2021

HELIO FERNANDES IBANHES NETO

**TRATAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO VAGEM COM  
*BACILLUS SUBTILIS***

Exame de defesa de doutorado apresentado à  
Universidade Estadual de Londrina - UEL, como  
requisito para a obtenção do título de Doutor em  
Agronomia.

Orientador: Prof.<sup>a</sup>. Dra. Lúcia Sadayo Assari  
Takahashi

Londrina  
2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Ibanhes Fernandes Ibanhes Neto, Helió.

Neto, Helió            Tratamento de sementes de feijão vagem com *Bacillus subtilis* / Helió  
Helió                Fernandes Ibanhes Neto. - Londrina, 2021.  
Fernandes        83 f.

Orientador: Lúcia Sadayo Assari Takahashi.  
Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2021.  
Inclui bibliografia.

1. Sementes de feijão vagem - Tese. 2. Armazenamento de sementes - Tese.  
3. Tratamento de sementes - Tese. 4. *Bacillus subtilis* - Tese. I. Sadayo Assari Takahashi, Lúcia. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 63

HELIO FERNANDES IBANHES NETO

**TRATAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO VAGEM COM  
*BACILLUS SUBTILIS***

Exame de defesa de doutorado apresentado à  
Universidade Estadual de Londrina - UEL, como  
requisito para a obtenção do título de Doutor em  
Agronomia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientadora Prof<sup>a</sup>. Dra. Lúcia S. A. Takahashi  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Fernando Teruhiko Hata  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Gustavo Henrique Freiria  
Universidade do Estado de Minas Gerais -  
UEMG

---

Prof. Dr. Maurício Ursi Ventura  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Thiago Alberto Ortiz  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 22 de novembro de 2021.

## **AGRADECIMENTOS**

Inicialmente a Deus pela dádiva da vida, a essência de tudo.

À Universidade Estadual de Londrina por todo conhecimento e estrutura ofertados durante a graduação, mestrado e doutorado. Ao Programa de Pós Graduação em Agronomia, pela oportunidade de aprimorar meus conhecimentos sempre com excelência.

À CAPES pelo financiamento e suporte em forma de bolsa e materiais durante todos os anos envolvidos com pesquisa.

À ISLA Sementes pelo interesse, parceria e fornecimento de sementes de qualidade para a pesquisa.

À Prof<sup>ª</sup>. Dra. Lúcia Sadayo Assari Takahashi, amiga, orientadora e conselheira há 13 anos, impossível mensurar o tamanho e valor dessa amizade da qual levo os melhores ensinamentos de vida e acadêmicos.

Aos Professores Dr. Ciro Hideki Sumida e Dr. Gustavo Henrique Freiria, pela amizade e interesse no trabalho, peças fundamentais para a execução do trabalho. Sempre prontos para colaborar.

Aos engenheiros agrônomos colegas de laboratório Ananda Covre da Silva, Marjori dos Santos Gouvêa, João Henrique de Almeida Vieira e Osvaldo Matsuo que contribuíram no dia a dia desde o planejamento até a execução para o sucesso do trabalho.

E à toda minha família a qual está o alicerce de toda rotina e uma das motivações da busca pela qualificação profissional. Sempre a postos para apoiar.

IBANHES NETO, Helio Fernandes. **Tratamento de sementes de feijão vagem com *Bacillus subtilis***. 2021. 82 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

## RESUMO

A germinação e emergência de sementes definem a população da área. A busca de formas de tratamento de sementes que favoreçam o rápido estabelecimento de plântulas, aliado ao uso de microrganismos promotores de crescimento e biocontroladores tem favorecido a sustentabilidade e economia do sistema produtivo. O objetivo do estudo é avaliar o armazenamento, desenvolvimento inicial e produção de feijão vagem tratado com diferentes formas e doses de produto a base de *Bacillus subtilis*. O experimento foi realizado no Laboratório de Fitotecnia e Área experimental da Universidade Estadual de Londrina. Lotes de sementes da cultivar Macarrão Baixo de feijão vagem foram submetidos à duas formas de tratamento de sementes: peliculização com secagem e biopriming. Em cada tratamento foram utilizadas caldas contendo doses de produto a base de *B. subtilis* nas proporções 0,0; 7,0; 14,0 e 28,0 mL de produto comercial por kg<sup>-1</sup> de semente, acrescidos de testemunha sem aplicação ou tratamento. Para avaliação foram analisados teor de água, teste de germinação e primeira contagem, condutividade elétrica, comprimento e massa de plântulas, índice de velocidade de emergência e emergência final em seguida ao tratamento e após 14, 28 e 56 dias de armazenamento. Nas análises em vasos em casa de vegetação avaliou-se emergência de plântulas, altura de planta, comprimento, largura e área foliar a cada 10 dias, e na colheita altura de vagem, número de trifólios, número de vagens comerciais, número de grãos por vagem, massa fresca e seca de vagens, rendimento de colheita em duas colheitas e total. Os dados foram submetidos à análise de multivariada e quando significativos, analisados via de componentes principais e rede de correlação de Pearson. Os tratamentos que submetem as sementes à rápida embebição apresentaram desempenho inferior. O uso dos tratamentos pré embebição e biopriming destacaram em relação aos demais para ambos os experimentos. As doses respostas associadas a estes tratamentos variaram entre 7 e 28 mL de produto comercial por kg<sup>-1</sup> de semente, tanto para o armazenamento até 14 dias, como para as análises de crescimento, desenvolvimento e produção.

**Palavras-chave:** *phaseolus vulgaris* L.; peliculização; biopriming; armazenamento; rizobactérias.

IBANHES NETO, Helio Fernandes. **Pod bean seed treatment with *Bacillus subtilis***. 2021. 82 p. Thesis (Doctor of Agronomy) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

## ABSTRACT

Seed germination and emergence define the population of the area. The search for ways to treat seeds that favor the rapid establishment of seedlings, combined with the use of growth-promoting microorganisms and biocontrollers, has favored the sustainability and economy of the production system. The study aims to evaluate the storage, growth, development, and production of snap beans treated with different forms and doses of product based on *Bacillus subtilis*. The experiment was carried out at the Phytotechnics Laboratory and experimental area of the State University of Londrina. Seed lots of the cultivar Macarrão Baixo of snap bean were subjected to two forms of seed treatment: filming with drying and biopriming. In each treatment, syrups containing doses of product based on *B. subtilis* in the proportions of 0.0 were used; 7.0; 14.0, and 28.0 mL of commercial product per kg<sup>-1</sup> of seed, plus absolute control without application or treatment. For evaluation were analyzed the water content, germination test and first count, electrical conductivity, seedling length and mass, emergence speed index, and final emergence after treatment and after 14, 28, and 56 days of storage were. In the analysis in pots in a greenhouse, seedling emergence, plant height, length, width, and leaf area were evaluated every 10 days, and at harvest pod height, number of trefoils, number of commercial pods, number of grains per pod, fresh and dry mass of pods, harvest yield in two harvests and total. Data were subjected to multivariate analysis and, when significant, analyzed via principal components and Pearson's correlation network. The treatments that submit the seeds to rapid imbibition showed lower performance. The use of pre-imbibition and biopriming treatments stood out concerning the others for both experiments. The response doses associated with these treatments varied between 7 and 28 mL of commercial product per kg<sup>-1</sup> of seed, both for storage up to 14 days, as well as for the analysis of growth, development, and production.

**Key words:** *phaseolus vulgaris* L.; seed coating; biopriming; storage; rhizobacteria.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 3.1** – Curva de embebição para caracterização das fases da germinação do lote de sementes de feijão vagem cultivar Macarrão Baixo .....42
- Figura 3.2** – Biplot indicando as variáveis (N, A, SNG, VP, VN, PCG, CE, CPR, CPA, MSR, MSPA, IVE e EF) projetadas pelos dois primeiros componentes principais para discriminação de quatro tempos de armazenamento (0, 14, 28 e 56 dias), dois tratamentos de sementes (PCS e BP) e quatro doses de *B. subtilis* (0, 7, 14, 28 mL de p. c..kg de semente<sup>-1</sup>).....45
- Figura 3.3** – Biplot indicando as variáveis projetadas pelos dois primeiros componentes principais para discriminação de quatro tempos de armazenamento (0, 14, 28 e 56 dias), dois tratamentos de sementes (PCS e BP) e quatro doses de *B. subtilis* (0, 7, 14, 28 mL de p. c..kg de semente<sup>-1</sup>).....46
- Figura 4.1** – Curva de embebição para caracterização das fases da germinação do lote de sementes de feijão vagem cultivar Macarrão Baixo .....57
- Figura 4.2** – Mapa perceptual bidimensional para características Emergência de plântulas (EM), Altura de planta (A), Comprimento (C), Largura (L) e Área Foliar (AF) de feijão vagem durante o período vegetativo, sob tratamentos Peliculização sem (PC) e Com Secagem (PCS), Pré Embebição (PE) e Biopriming (BP) com adição de doses de *B. subtilis* (0, 7, 14 e 28 mL de p. c..kg de semente<sup>-1</sup>) .....58
- Figura 4.3** – Mapa perceptual bidimensional para os tratamentos Peliculização sem (PC) e Com Secagem (PCS), Pré Embebição (PE) e Biopriming (BP) com adição de doses de *B. subtilis* (0, 7, 14 e 28 mL de p. c..kg de semente<sup>-1</sup>) durante o período Vegetativo .....60
- Figura 4.4** – Mapa perceptual bidimensional para características altura de vagem (AV), Número Trifólios (NT), Número de Vagens (NV), Número de Grãos por vagem (NG), Massa Fresca de vagem

(MF), Massa Seca de vagem (MS) e Rendimento de Colheita (RC) de feijão vagem durante o período vegetativo, submetido aos tratamentos Peliculização sem (PC) e Com Secagem (PCS), Pré Embebição (PE) e Biopriming (BP) com adição de doses de *B. subtilis* (0, 7, 14 e 28 mL de p. c..kg de semente<sup>-1</sup>) .....61

**Figura 4.5** – Mapa perceptual bidimensional para os tratamentos Peliculização sem (PC) e Com Secagem (PCS), Pré Embebição (PE) e Biopriming (BP) com adição de doses de *B. subtilis* (0, 7, 14 e 28 mL de p. c..kg de semente<sup>-1</sup>) durante o período reprodutivo .....62

**Figura 4.6** – Rede de correlação de Pearson composta pelas características avaliadas nos períodos vegetativo e reprodutivo de feijão vagem determinado cultivar Macarrão Baixo .....63

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 3.1</b> – Análise de variância da interação entre tempos de armazenamento (A), tipos de tratamentos de sementes (T) e doses de <i>B. subtilis</i> (D) para características de viabilidade e vigor .....	42
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Altura
AF	Área Foliar
AV	Altura de Vagem
BP	Biopriming
b. u.	Base Úmida
CA	Comprimento de parte Aérea
CE	Condutividade Elétrica
CIAT	Centro Internacional de Agricultura Tropical
C	Comprimento foliar
CR	Comprimento Radicular
CV	Comprimento de vagem
C.V.	Coeficiente de variação
EF	Emergência Final
GL	Grau de Liberdade
H	horas
IVE	Índice de Velocidade de Emergência
Kg	Kilograma
L	Largura
L.	Linnaeus
MF	Massa Fresca de vagem
MFA	Massa Fresca de parte Aérea
MFR	Massa Fresca de Raízes
mL	mililitro
MS	Massa Seca de vagem
MSA	Massa Seca de parte Aérea
MSR	Massa Seca Radicular
NG	Número de Grãos
NV	Número de Vagens
PA	Plântula Anormal
PC	Peliculização
p. c.	Produto Comercial
PCG	Primeira Contagem da Germinação

PCS	Peliculização com Secagem
PE	Pré Embebição
PN	Plântula Normal
RC	Rendimento de Colheita
RCT	Rendimento de Colheita Total
RPCP	Rizobactérias Promotoras de Crescimento em Plantas
SNG	Sementes Não Germinadas
TA	Teor de Água
VN	Vigor Negativo
VP	Vigor Positivo
UEL	Universidade Estadual de Londrina

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE BIBLIOGRÁFICA</b> .....	14
2.1	ASPECTOS GERAIS SOBRE FEIJÃO VAGEM.....	14
2.2	SEMENTES DE FEIJÃO VAGEM E SEUS ATRIBUTOS .....	17
2.2.1	Qualidade Fisiológica de Sementes .....	17
2.2.1.1	Germinação de sementes.....	19
2.2.1.2	Vigor de sementes.....	21
2.2.1.3	Deterioração e armazenamento de sementes.....	23
2.3	TRATAMENTO DE SEMENTES .....	25
2.3.1	Condicionamento Fisiológico .....	27
2.4	RIZOBACTÉRIAS .....	31
<b>3</b>	<b>ARTIGO A</b> .....	35
3.1	RESUMO.....	35
3.2	ABSTRACT .....	35
3.3	INTRODUÇÃO .....	36
3.4	MATERIAL E MÉTODOS .....	38
3.5	RESULTADOS.....	41
3.6	DISCUSSÃO .....	47
3.7	CONCLUSÃO .....	50
<b>4</b>	<b>ARTIGO B</b> .....	51
4.1	RESUMO.....	51
4.2	ABSTRACT .....	52
4.3	INTRODUÇÃO .....	52
4.4	MATERIAL E MÉTODOS .....	54
4.5	RESULTADOS.....	57
4.6	DISCUSSÃO .....	64
4.7	CONCLUSÃO .....	67
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	69

## 1 INTRODUÇÃO

O feijão vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa amplamente cultivada e consumida como hortaliça no Brasil. Isto se deve ao seu diferencial na forma de consumo, colhido na fase de vagem verde, durante o enchimento de grão. Já o cultivo para produção de sementes é mantido a campo até a maturação.

O número inadequado de plantas por área, afetado por fatores intrínsecos ao lote semeado, ou ainda fatores edafoclimáticos que incidam no momento ou próximo da implantação a campo, comprometem o potencial produtivo por área. Logo, o crescimento e o desenvolvimento inicial das plantas necessita de ferramentas que potencializem esta fase e proteja de danos fitossanitários.

Para o feijão vagem são pesquisadas técnicas que visam melhorar o manejo empregado pelos produtores com foco em eficiência produtiva com baixo custo financeiro e dano ambiental. Desta forma o uso de rizobactérias biocontroladoras e promotoras de crescimento tem sido estudado. No entanto, para garantia da eficiência, é necessário conhecimento prévio da dose de resposta que se adeque à cultura, pois tratando-se de organismos vivos, conhecer o número de unidades formadoras de colônia ideal resulta em menor competição com a planta, redução do uso de produto e conseqüentemente de investimento.

As rizobactérias como *Bacillus subtilis* estão presentes em algumas áreas produtivas e sua aplicação com estirpe e dose conhecida garantem eficiência produtiva devido à simbiose com as plantas cultivadas. Esta associação benéfica proporciona solubilização de nutrientes, tal como fósforo, sintetização de hormônios e de moléculas que favorecem o desenvolvimento das plantas, além da competição com fitopatógenos e nematóides. Como seu estabelecimento é favorecido pela presença de plantas associativas na área, a aplicação destes microrganismos pode ser realizada junto ao tratamento de sementes, o que favorece a forma de aplicação e aumenta o período de contato com a cultura no campo.

Nas propriedades o tratamento de sementes é feito através da imersão em calda, a qual contém produtos desejados para o estímulo e proteção do cultivo. Estudos a respeito buscam sanar dúvidas sobre a possibilidade de uso em conjunto de produtos, doses aplicadas, armazenamento após tratamento e formas de contato dos produtos com as sementes.

O tratamento pode ser utilizado como condicionador para uniformização do vigor de lotes, realizado com a manutenção das sementes em contato com a água em condições controladas de temperatura e umidade. Este contato pode ser por imersão, em câmara úmida ou entre papel umedecido. A entrada de água nas sementes, resulta em reorganização do sistema de membranas de forma gradual e retomada do processo metabólico. Esta técnica denominada condicionamento fisiológico, evita danos iniciais no vigor do lote e até os mais extremos na viabilidade.

No processo de embebição controlada, o veículo utilizado pode ser apenas água, com intuito de uniformizar a condição fisiológica e acelerar o processo germinativo, ou com adição de produtos protetores ou estimulantes de natureza química ou biológica. Associando o condicionamento fisiológico às aplicações de produtos biológicos, tal como *B. subtilis*, tem se mostrado uma alternativa para incremento de produção e preservação ambiental, com baixo custo de aplicação.

Portanto o presente estudo objetiva avaliar o desempenho inicial, armazenamento e multiplicação de sementes de feijão vagem tratadas com diferentes formas e doses de produto a base de *Bacillus subtilis*.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE FEIJÃO VAGEM

O feijão vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) originário das Américas do Sul e Central é derivado da seleção de genótipos com baixo teor de fibra e alta suculência nas vagens dentro do grupo de feijão comum. A diferença entre os cultivos encontra-se no produto final, no qual o “comum” é visado para o consumo dos grãos secos, enquanto na vagem tem como foco a estrutura reprodutiva colhida imatura. A vagem é destinada ao consumo humano *in natura* ou processado (FURLAN et al., 2016; SINGH, 1999; SANTOS et al., 2012).

Rico em ferro, cálcio, proteínas, carboidratos, fibras, lisina e vitaminas, o feijão vagem é utilizado como complemento nutricional. Em sua composição média, estima-se que 22% seja proteína, o que permite seu uso até em substituição a outros alimentos proteicos, e 56% carboidrato (RIOS; ABREU; CORREA, 2002).

Apesar de rico em carboidrato é classificado como pertencente à classe Eudicotiledônea, família Leguminosae, gênero *Phaseolus* e espécie *vulgaris*. Caracterizado como uma planta anual herbácea, com raiz pivotante, haste angulosa e pilosa simples, a qual origina ramos laterais, apresenta folhas compostas trifolioladas. Suas flores são hermafroditas com tonalidades entre roxo e branco, e polinização autógena (PEIXOTO; CARDOSO, 2016).

A espécie *P. vulgaris* podem ser classificadas em relação ao hábito de crescimento determinado ou indeterminado, sendo diferenciados através de uma inflorescência no ápice do ramo principal, que limita o crescimento para porte determinado, enquanto no indeterminado, encontra-se um meristema vegetativo (ATHANÁZIO; BRANDÃO, 2019).

O Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) subdivide as cultivares de hábito determinado e indeterminado em quatro tipos principais: tipo I de crescimento determinado com arquitetura arbustiva e porte ereto com inflorescência no ápice; tipo II indeterminado, também arbustivo e porte de planta ereto com poucas ramificações e gema vegetativa no ápice caulinar; tipo III indeterminado, arquitetura semi-prostrada ou prostrada, com ramificações abertas e desenvolvidas; e o tipo IV

indeterminado e trepador, que apresenta forte dominância apical e conseqüentemente poucas ramificações laterais (SILVA, 2005).

A maioria das áreas cultivadas no Brasil utilizam cultivares de porte indeterminado. Isto deve-se à maior produtividade destes materiais que possibilitam várias colheitas, contudo devido ao ciclo de 120 dias, a susceptibilidade a pragas e doenças e os gastos com manejo e mão de obra são maiores. Outro fator atrativo é o uso em rotação de culturas na produção de tomate e pepino, reaproveitando adubações anteriores e os sistemas de tutoramento e irrigação (MOREIRA et al., 2009; SANTOS et al., 2012).

As plantas de hábito determinado têm como características caule curto e ereto, ramificado com inflorescências terminal e laterais. Tem como vantagens o ciclo curto, a dispensa de tutoramento e a possibilidade de mecanização em todo o cultivo, além da otimização da colheita, que pode ser realizada em até cinco repasses nas plantas, ou uma única vez retirando todas as plantas do campo e beneficiando-a fora da área permitindo o início de outros cultivos. Os frutos obtidos são de formato afilado e polpa espessa contendo as sementes desenvolvidas (PINTO et al., 2001; VIDAL et al., 2007).

De modo geral, o cultivo de feijão vagem é realizado nos mais diversos tipos de solo. Contudo, condições de solos próximas de arenosas, boa drenagem, pH na faixa de 5,5 a 6,8, e elevados teores de minerais e matéria orgânica, favorecem a cultura. Plantas de hábito determinado requerem menor teor de nutrientes devido ao seu porte e ciclo reduzido em comparação aos de hábito indeterminado (ISHIMURA et al., 1985).

Outro fator ambiental importante é a disponibilidade hídrica. A necessidade durante o ciclo produtivo é estimada entre 300 a 500 mm de chuva, que pode ser provida por irrigação, buscando manter o potencial de água no solo próximo de  $-0,024$  MPa. Entre os estádios fenológicos, 60% da água é requisitada durante o desenvolvimento vegetativo, enquanto os 40% restantes é exigido durante o florescimento. Estes valores consideram a profundidade efetiva do sistema radicular entre 20 a 60 cm, dependendo da localidade e condições de cultivo (SOUZA; DI PACE, 1991; VIEIRA et al., 1998).

O ambiente ideal para o cultivo compreende temperatura média entre 17 e 25 °C. Temperaturas baixas tem potencial danoso no crescimento das plantas e o desenvolvimento das vagens. Em contrapartida, temperaturas próximas a 35°C

ocasionam abortamento floral. Isto indica que o cultivo é sensível às temperaturas, de modo que mesmo adaptado para cultivo o ano todo e em várias regiões do país, carece de atenção em fases críticas que definem o potencial produtivo das áreas (GOMES et al., 2016).

Quando o cultivo é para produção de sementes, Moreira et al. (2009) indicam não haver complexidade ou necessidade de gastos elevados. Os autores apontam que materiais resistentes a fitopatógenos, adaptabilidade às condições ambientais e sementes de qualidade poderiam ser obtidas com uso de melhoramento genético.

Cultivares com grãos maiores não são desejadas, pois estas conferem aparência externa indesejável à vagem. Logo, a colheita deve ocorrer em estádios de desenvolvimentos precoces, caracterizando em perda de produtividade final devido ao grão com menor peso. Contudo, grãos maiores somados a tegumento de cor branco podem ser utilizados para duplo propósito, comércio de grãos secos e vagens (PEIXOTO et al., 2002b).

A produtividade média de feijão vagem indeterminado é de 25 toneladas por hectare no Brasil (TESSARIOLI NETO; GROPPPO, 1992), enquanto as cultivares determinadas apresentam praticamente metade deste potencial com até 13 toneladas por hectare. Quando o propósito é multiplicação de sementes, médias entre 1,8 e 2,0 toneladas por hectare são obtidas utilizando o manejo convencional (VIDAL et al., 2007).

Os dados de produtividade média de feijão vagem estão associados a caracteres morfológicos constantes e variáveis. Os constantes indicam características taxonômicas específicas das cultivares, enquanto as variáveis, correspondem às interações entre genótipo e ambiente, sendo os componentes de produção resultado fenotípico (PEIXOTO et al., 2002a).

Utilizando os componentes de produção Leite et al. (2007) averiguaram a variação da produtividade de duas cultivares de feijão vagem sob efeito de doses de molibdênio aos 20 dias após a semeadura. Os autores encontraram variação no número final de vagens por área e massa de cem sementes, sendo 255 g.ha<sup>-1</sup> a dose ótima, e a máxima de 2560 g.ha<sup>-1</sup> aplicada sem prejuízos nos componentes de rendimento.

Os principais componentes de produção ou rendimento são número de vagens por unidade de área, número de sementes por legume e massa de grãos.

Os quais apresentam efeito compensatório em caso de alteração na população de plantas por área ou de algum dos três componentes citados (HAWERROTH; CRESTANI; SANTOS, 2011; ZILIO et al., 2011).

Dentre os componentes, a população de plantas é um fator decisivo da produtividade. Os processos de germinação e emergência das sementes são essenciais para a obtenção do estande desejado. Estes processos fisiológicos são considerados a fase crítica da planta, pois a plântula depende das reservas cotiledonares para o desenvolvimento das primeiras raízes e folhas (OLIVEIRA, 1999; ZABOT et al., 2008).

## 2.2 SEMENTES DE FEIJÃO VAGEM E SEUS ATRIBUTOS

As sementes de feijão vagem apresentam formato reniforme e achatada, sendo a maioria das cultivares com tegumento branco, presença de rafe e hilo. Em seu interior o embrião cilíndrico, alongado e curvo encontram-se entre dois cotilédones, de modo que estes são projetados para sobre o solo no processo de emergência e estabelecimento a campo (MENEZES JÚNIOR, 1960).

Apesar dos inúmeros fatores atrelados à produção para o sucesso do cultivo é imprescindível o uso de sementes de qualidade. Danos em diferentes graus nas estruturas morfológicas da semente comprometem a expressão do potencial genético na formação de plântulas em condições de campo. Portanto, busca-se com o uso de sementes certificadas e lotes padronizados a obtenção de plântulas normais, providas de raiz primária longa, delgada, preenchida com pelos absorventes e raízes secundárias, hipocótilo alongado, reto e delgado, com os dois cotilédones verdes e foliáceos (BRASIL, 2009).

### 2.2.1 Qualidade Fisiológica de Sementes

A população ideal da cultura no campo é limitada pela competição intraespecífica, o que impede o aumento de produtividade através do aumento populacional por área. A qualidade de sementes torna-se importante para o cultivo visando não apenas a presença da plântula emergida nos locais determinados, mas

também seu crescimento e desenvolvimento vigorosos que afetam diretamente a produção final com melhor arquitetura, enfolhamento e estruturas reprodutivas como flores e legumes. A avaliação qualitativa é definida pelos atributos: físico, varietal, sanitário e fisiológico (NASCIMENTO; CRODA; LOPES, 2012).

O atributo físico é caracterizado pela pureza de um lote, livre de outras cultivares e/ou espécies, e também de materiais inertes que podem advir do campo de multiplicação, do beneficiamento ou do transporte, como os restos vegetais, torrões, pedras e até estruturas de reprodução de patógenos (FREITAS; NASCIMENTO, 2012).

Lotes sem padrão de pureza aumentam as chances de contaminação das áreas por plantas daninhas, e conseqüentemente a redução da produtividade devido a competição por água, luz e/ou nutrientes, além de hospedar pragas e doenças (OLIVEIRA et al., 2008).

Sistemas consorciados ou com manejo inadequado com matocompetição são considerados inadequados para campos de produção de sementes. Nakagawa et al. (2009) atestaram que para produção de sementes de sorgo granífero consorciado com espécies de adubo verde, tornam-se inviáveis devido à dificuldade na colheita e às impurezas dos lotes colhidos.

O atributo varietal considera características intrínsecas ao material, tal como pureza genética, tolerância ou resistências a pragas, doenças ou efeitos adversos ambientais, precocidade, qualidade de sementes e potencial de produtividade. Todos estes são avaliados por fatores genéticos via marcadores moleculares, ou identificação visual por características morfológicas, que auxiliam na distinção de genótipos, seleção de características, preservação de materiais e fatores que afetam a qualidade da semente (SILVA; NASCIMENTO, 2011).

O aspecto sanitário é um fator importante para o início do cultivo sadio, além de evitar ataques no momento mais sensível da plântula no campo, a emergência, prevenindo o tráfego de doenças e pragas entre áreas (PAIVA et al., 2016).

Por fim, o potencial fisiológico que é representado por características como germinação e vigor, os quais refletem o sistema de manejo empregado na produção da semente e seu desempenho futuro, podendo ser diferenciado através de testes qualitativos e quantitativos aplicados nos lotes que receberam diferentes manejos (NASCIMENTO; CRODA; LOPES, 2012).

Mertz et al. (2007) verificaram a qualidade fisiológica de sementes de feijão miúdo (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) submetidas a mesa gravitacional para separação em lotes, e encontraram associação entre sementes densas com maior potencial fisiológico e sanidade em comparação às sementes leves. Logo, a presença de patógenos no campo de produção, pode comprometer a formação de sementes bem estruturadas e com maior massa, além do risco de transmissão, pois alguns microrganismos podem se manter no lote colhido e comprometer a futura semeadura.

Araujo Neto et al. (2014) afirmam que o tamanho das sementes de feijão caupi (*V. unguiculata*) é um indicativo de qualidade de lotes. Isto se deve ao manejo empregado e as intempéries que o acometeram no campo, acarretando em formações de vários tamanhos. Esta variação proporciona diferentes taxas de germinação e vigor devido ao processo de formação do embrião e suas reservas, que consequentemente estão presentes nas sementes maiores.

#### 2.2.1.1 Germinação de sementes

A germinação da semente ou capacidade de gerar plântula em condições ideais, ocorre em três fases: inicia-se pela reativação, na qual a semente é embebida, tem seus processos metabólicos retomados, a começar pela respiração, posteriormente entra na fase de indução de crescimento, que é considerado um momento de repouso na hidratação, há a preparação via processos metabólicos para a fase final, o alongamento celular, que compreende a emissão da raiz primária (MARCOS FILHO, 2015).

As fases podem variar de acordo com as características das espécies, tal como tamanho da semente e permeabilidade do tegumento, além de fatores ambientais como substrato utilizado, umidade e temperatura (COSTA; BUENO; FERREIRA, 2011). Devido a importância da água no processo, Bewley e Black (1982) observaram e propuseram divisões para a hidratação das sementes também em três fases, as quais acompanham as fases da germinação.

A fase log ou I da embebição compreende a rápida reabsorção de água pela semente, intensificação da respiração e da atuação de sistemas de reparo e digestão das reservas. A presença de água no sistema é considerada limitante para o início do processo germinativo de *P. vulgaris*, o qual ocorre apenas em condições

de umidade satisfatórias (MAGALHÃES; CARELLI, 1972). A primeira fase é acompanhada de ganho de peso e volume pelas sementes, porém, estas variações não são uniformes em todo o lote (TAYLOR et al., 1992).

A essencialidade da água deve-se ao seu potencial de alteração do estado quiescente para crescimento ativo. Isto é possível devido a processos físicos que permitem sua entrada na semente e atuação como agente de ativação enzimática, reagente, solubilização e transporte de outros reagentes. Sendo assim, devido às especificidades metabólicas, cada espécie necessita de um teor mínimo de água para o início do processo (FORTI; CÍCERO; PINTO, 2009; MARCOS FILHOS, 2015).

A estrutura responsável pelo primeiro contato com a umidade do meio e regulação é o tegumento, devido ao seu posicionamento externo e de envolvimento na semente. Além desta função, também atua na resistência a danos, frente à deterioração protegendo o eixo embrionário e o tecido de reserva, nas trocas gasosas entre semente e meio externo, além da contenção de substâncias intracelulares perdidas por danos de embebição. Devido a isto, a espessura e composição do tegumento têm sido estudadas visando à otimização no desempenho destas características (OLIVO et al., 2011).

A permeabilidade do tegumento das sementes através dos pontos de entradas de água e eventuais fissuras por danos mecânicos permitem a reidratação. A velocidade de reabsorção está baseada na disponibilidade hídrica, associada à temperatura do ambiente, nas quais as mais elevadas proporcionam velocidade ao processo. A velocidade somada ao tegumento comprometido podem maximizar danos ao sistema de reorganização de membranas que atua durante a embebição. Com as membranas rompidas os conteúdos celulares podem ser exsudados pela semente ao meio, os quais podem ser estimados através de teste de condutividade elétrica do lote (ROSSETTO et al., 1997).

Assim como a absorção de água, a respiração apresenta alta atividade nas primeiras horas da germinação. Durante a primeira fase, Al-Ani e colaboradores (1985) afirmam que a taxa respiratória é elevada, de modo que ao entrar na fase II a mesma taxa estabiliza ou apresenta menores acréscimos até a protrusão radicular na fase III e conclusão do processo germinativo.

Condições para germinação hipóxicas ou anóxicas representam risco às sementes, devido à recorrência ao processo anaeróbio, que resulta em álcool e

acetaldeído como subprodutos no interior celular. Estas moléculas podem ser degradadas em pequenas quantidades, contudo, altas concentrações podem afetar a germinação (CUSTODIO et al., 2002).

A fase II do processo germinativo, também chamada de fase lag da embebição, é marcada por processos bioquímicos e metabólicos de suas reservas que prepararão a semente para emitir radícula. Após a embebição e aumento na respiração, o sistema de reparo de membranas é ativado permitindo que as células se reorganizem de forma similar às condições de turgidez anteriores à dessecação. Outros processos como ativação enzimática, síntese de ácidos nucleicos e proteínas, permitem a lise de açúcares das reservas para proporcionar energia ao embrião (CANTLIFFE, 1998).

Importantes processos metabólicos, além da respiração também estão inclusos na fase II, tal como a glicólise e a degradação de reservas. A primeira compreende a catalisação enzimática de moléculas de glicose, fornecendo substrato para que a cadeia de Krebs e a cadeia respiratória funcionem. Enquanto a digestão de reservas engloba a hidrólise, de carboidratos, lipídeos e proteínas, que não podem ser transmitidas célula a célula para chegar nos pontos de metabolismo mais ativo, caso não sejam reduzidas (MARCOS FILHO, 2015).

Por fim a fase III, que após o preparo metabólico, permitem que os pontos de crescimento alongar as células, intensificar as divisões mitóticas e desenvolver o eixo embrionário. Este alongamento permite que o embrião possa ser exposto inicialmente pela radícula através dos cotilédones e do tegumento presentes nas sementes de feijão vagem, seguido da plúmula. A passagem da fase II para a III da germinação também altera a característica de tolerância a dessecação das sementes. Nas duas primeiras fases permite-se a desidratação das sementes, enquanto na fase III, a plântula não apresenta o mesmo potencial (TAYLOR et al., 1992).

#### 2.2.1.2 Vigor de sementes

O vigor de sementes pode ser descrito como características que permitem a emergência de forma rápida e uniforme em condições de ambientes variados. Considerado como um complemento do teste de germinação, o vigor deve

ser avaliado por um conjunto de análises de desempenho na emergência e que mantenha a qualidade, no transporte do lote e no potencial de armazenamento (MARCOS FILHO, 1999; MARCOS FILHO, 2015).

O vigor de sementes é explicado através da bioquímica, considerando a eficiência da biossíntese de energia e de metabólitos, através da ativação dos processos celulares, em associação ao consumo das reservas e à condição de integridade das membranas, assim como pela quantidade de reservas das sementes. As maiores são relacionadas a elevado vigor e potencial de armazenamento (HENNING et al., 2010, LOBO JÚNIOR; BRANDÃO; MARTINS, 2013).

Os testes de vigor são capazes de separar lotes através da análise de características morfológicas, bioquímicas e condições de estresses em temperatura e umidade variadas. A análise de comprimento, classificação e emergência de plântulas, condutividade elétrica de exsudatos e tetrazólio, deterioração controlada e teste de frio, são exemplos. Os testes de frio e envelhecimento acelerado submetem lotes a condições similares às adversidades encontradas após a semeadura (MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA; MARCOS FILHO, 2009; SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2003).

Conforme Santos et al. (2003), os resultados podem variar de acordo com o grau de umidade e temperatura durante o teste e estrutura da semente. Testes como envelhecimento acelerado tem resultados mais expressivos para sementes com teor de água elevado, pois apresentam eficiência devido à aceleração que a temperatura proporciona a atividade metabólica. O teste de tetrazólio é utilizado para análise de vigor de lotes com sementes duras ou dormentes como complemento ao teste de germinação.

Para comparar a qualidade fisiológica de sementes de feijão vagem obtidas de manejos convencional e orgânico submetidas ao congelamento, Brito et al. (2013) utilizaram os testes de germinação e de sanidade, análises de vigor via primeira contagem da germinação e condutividade elétrica, para avaliar o extravasamento do conteúdo celular após congelamento. Assim, os autores verificaram que sementes com teor de água entre 9 e 12% armazenadas durante 24 horas a  $-18^{\circ}\text{C}$ , não apresentaram prejuízos à qualidade fisiológica e tiveram redução na incidência de fungos.

Apesar dos inúmeros testes que se diferenciam em metodologia, duração e aplicabilidade, os mais utilizados são os focados em eventos iniciais da

deterioração, pois nesta fase ocorre a degradação de membranas, redução da biossíntese de compostos e na respiração das sementes. A queda da viabilidade obedece ao padrão sigmóide trifásico na deterioração, sendo a primeira fase mais estável e lenta e por isto apresenta dificuldade na separação de lotes (AUMONDE et al., 2012).

O máximo potencial fisiológico das sementes expresso pela germinação e pelo vigor é obtido no ponto de maturação fisiológica, quando ocorre o desligamento da planta mãe. Importante salientar que o máximo potencial sempre terá limitações para expressão de seu potencial genético causados por intempéries durante a formação da semente. Além disto, a partir deste momento o processo de deterioração passa interferir inicialmente nos atributos de vigor e posterior na germinação (MARCOS FILHO, 2015; ZINK et al., 1976).

### 2.2.1.3 Deterioração e armazenamento de sementes

A deterioração, ou perda da capacidade de gerar plântulas normais de feijão vagem, depende de fatores genéticos, teor de água da semente, embalagem, além da umidade e temperatura do ambiente. A característica higroscópica das sementes gera danos no tegumento, devido a busca de equilíbrio entre seu teor de água com o ambiente. Quanto mais ciclos de hidratação e secagem ocorrerem, maiores podem ser os danos (SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2005).

Variações de temperatura e umidade, ainda no campo na fase de maturação ou durante o armazenamento intensificam os danos. Estes iniciam no tegumento, estendendo a danos internos com a variação na taxa respiratória, perda da integridade das membranas e danos no sistema de reparo, peroxidação de lipídeos, lixiviação de solutos, alterações nas atividades enzimáticas, desregulação do gradiente eletroquímico, perda da compartimentalização nas células e acúmulo de substâncias tóxicas (BRAGANTINI, 2005; SANTOS; SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2003).

Esta série de danos internos intensificam a queda na viabilidade, reduzindo o intervalo de tempo entre o topo da curva de deterioração, compreendido pelo máximo potencial fisiológico, e a perda da viabilidade, extremo inferior da curva. O processo de deterioração é irreversível, mas pode ser amenizado a ponto de manter

as sementes viáveis por períodos maiores. A duração deste período dependerá também da embalagem e do teor de água adequados (TOLEDO et al., 2009).

O teor de água elevado nas sementes durante a colheita, transporte, beneficiamento e armazenamento pode causar danos mecânicos. Independente da forma de colheita, manual ou mecanizada, o grau de umidade ideal para a operação é próximo de 13%. Este índice é tido como referência para colheita de sementes e armazenamento temporário, evitando o desenvolvimento de fungos e insetos no armazenamento (ANDRADE, 2005; SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2005). Em casos de armazenamento de até dois anos, se faz necessário ainda reduzir o teor de água através de secagem para abaixo de 10% e armazenamento em sacos plásticos (ZINK et al., 1976).

A embalagem utilizada para as sementes nos armazéns também influi na qualidade fisiológica das sementes. A composição da embalagem, determina através de poros a permeabilidade. Materiais porosos permitem trocas entre o meio interno e externo, atuando conjuntamente com a característica higroscópica das sementes para reduzir a qualidade (ALVES; LIN, 2003).

Uma vez armazenada, desde o campo até as instalações fechadas, a qualidade da semente não pode ser melhorada, apenas mantida (SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2005). Devido ao elevado número de patógenos e insetos que podem advir do campo o uso de tratamentos de sementes tem mostrado resultados tanto para o uso de produtos com princípio ativo químico, como os biológicos baseado em microrganismos (BRAGANTINI, 2005).

Novembre e Marcos Filho (1991) ao avaliarem o tratamento de fungicida sobre a conservação de sementes de feijão, combinando diferentes fungicidas químicos e lotes com qualidade fisiológica variada encontraram respostas favoráveis ao tratamento pré armazenamento, sendo interativas de acordo com os produtos utilizados e a condição do lote, de modo que os de qualidade intermediária foram beneficiados em períodos maiores.

Gonçalves et al. (2003) testaram a qualidade fisiológica de feijão com armazenamento de seis meses em embalagens de fibra de algodão e lata metálica, e com tratamento de sementes químico sintético e natural. Verificaram eficiência da embalagem metálica na conservação das sementes, além do controle de patógenos como *Aspergillus flavus*, *Penicillium* spp. e *Macrophomina phaseolina*, porém com redução no índice de velocidade de germinação quando utilizado extrato de cravo da

Índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) a 10%. Além deste extrato, os outros dois tratamentos, Captan isolado e associado à óleo de dendê (*Elaeis guianensis* L.) também preveniram o desenvolvimento de fungos durante o armazenamento.

O feijão vagem após a semeadura pode ser suscetível a fitopatógenos, pragas e nematóides que comprometem a expressão do potencial genético de cultivares, o que acarreta em baixas produtividades de vagem e dificuldades para obtenção de sementes de alta qualidade (PIRES; BRAGANTINI; COSTA, 2004).

Então o uso de tratamentos de sementes classificados como preventivos ou curativos, baseados em princípios físicos, químicos ou biológicos e de ação herbicida, fungicida, inseticida, além de reguladores de crescimento, são ferramentas importantes para evitar danos iniciais no cultivo de feijão vagem (BARROS; BARRIGOSI; COSTA, 2005; VECHIATO, 2001).

### 2.3 TRATAMENTO DE SEMENTES

O tratamento de sementes consiste na aplicação de processos e/ou substâncias que preservam ou melhoram a expressão do potencial produtivo definido pela genética da semente. Desta forma é possível evitar ataques de pragas e doenças de armazenamento e de campo. Outra função exercida é de evitar o tráfego de organismos potencialmente danosos entre áreas (PARISI; MEDINA, 2013).

Os tipos de tratamento classificam-se em físicos, químicos e biológicos. No físico há exposição aos efeitos da temperatura, por exemplo, enquanto o químico, confere proteção através de moléculas químicas sintéticas diluídas em caldas, e o biológico, que protege com uso de microrganismos antagonistas às moléstias veiculadas junto à semente ou presentes no solo (FANTINEL et al., 2015).

A aplicação de tratamentos químicos e biológicos são realizadas com pequenas dosagens, necessitando de veículos para diluição e aumentar o alcance de cobertura. A diluição é feita em solventes orgânicos ou inorgânicos, como a água. Dependendo do veículo utilizado e da permeabilidade da testa há interação com a semente, influenciando seu teor de água e conseqüentemente o início do processo germinativo. Além disto, inchaço da semente após embebição pode prejudicar a semeadura mecânica, forçando um novo processo de secagem caso a semeadura

não seja imediata (BARBA; REIS; FORCELINI, 2003; PEDRINI et al., 2017).

O tratamento de sementes pode conter a combinação de dois ou mais produtos com propósitos diferenciados, visando maximizar a proteção inicial do cultivo e promover o desenvolvimento em baixas doses. Um exemplo bastante utilizado é a associação entre micronutrientes como cobalto e molibdênio, inseticidas, fungicidas e microrganismos, estes também chamados inoculantes. Este amplo uso deve-se ao baixo custo, facilidade na execução e segurança para quem executa e o meio ambiente (PARISI; MEDINA, 2013).

Nestas ocasiões, o contato entre fungicida utilizado contra ataques de fitopatógenos e microrganismos benéficos pode ocorrer, anulando o efeito destes dependendo do período. Para isto, recomenda-se inoculação de no máximo 24 horas antes da sementeira, tornando difícil o tratamento de lotes volumosos para atender grandes áreas (FAVERO et al., 2018).

Pereira et al. (2009) verificaram que a peliculização como tratamento de sementes de soja (*Glycine max* L. Merrill) com dez combinações entre princípios ativos de fungicidas e rizóbios não afetou a qualidade fisiológica, a emergência e a sanidade das sementes. Contudo, os autores verificaram que o crescimento de planta e a nodulação no estágio fenológico R2 foram afetados com uso dos fungicidas thiabendazol+thiram, captan, carboxim+thiram, tolylfluanid e fludioxonil+metalaxil-M, causado pela ação dos fungicidas no início do ciclo sobre as bactérias fixadoras de nitrogênio.

O tratamento químico sintético é amplamente utilizado pelos agricultores, isto pode ser justificado pela facilidade da aquisição de lotes já tratados pelas sementeiras (tratamento industrial) ou pela possibilidade de realização do processo nas propriedades (tratamento "on farm"). A pesquisa por esta técnica busca aprimorá-la reduzindo as doses dos produtos utilizados, melhorando a eficiência e aderência dos princípios ativos à semente, além de novos produtos. Estas inovações, devido aos possíveis danos e custos, estimulam e aumentam a demanda por estudos de outros métodos de proteção menos danosos e onerosos (LIMA et al., 2006).

Dentro do conjunto de técnicas ou procedimentos aplicados em sementes para favorecer seu desempenho no campo, estão inseridos além do recobrimento de sementes que também é denominado seed coating, a peliculização, a inoculação e o condicionamento fisiológico (MARCOS FILHO, 2015).

Sementes com tamanho reduzido ou morfologia desfavorável em

relação à eficiência no processo de semeadura, podem ter suas características externas modificadas. Denominado recobrimento de sementes, a aplicação de materiais inertes pode simular um novo formato sem prejudicar o potencial fisiológico, ou ainda, receber materiais adesivos que contenham tratamentos físico, químico ou biológico (BAYS et al. 2007).

A peliculização de sementes objetiva formar uma película no entorno do tegumento sem alterar seu formato natural. Nesta técnica é realizada a dissolução de produtos estimulantes ou fitossanitários buscando a melhora do crescimento e desenvolvimento inicial da cultura (DINIZ et al., 2006). Enquanto a inoculação consiste na aplicação de microrganismos benéficos diluídos em calda e aplicados sobre as sementes, seja por peliculização ou outra técnica que altere o formato da semente.

Cavalcante et al. (2017) estudaram o comportamento de quatro cultivares de feijão caupi (*V. unguiculata*), inoculadas com duas estirpes de rizóbios, visando a substituição da prática de adubação nitrogenada ou seu incremento, e detectaram que apenas a cultivar Preto responde à inoculação, sendo necessária a aplicação de nitrogênio nas demais.

### 2.3.1 Condicionamento Fisiológico

O condicionamento fisiológico de sementes visa uniformizar o vigor das plântulas, o que traz rapidez para a germinação e maior tolerância às condições adversas. Os efeitos de sua aplicação são visíveis em lotes com qualidade mediana devido aos problemas edafoclimáticos/fitossanitários durante sua formação ou armazenamento inadequado. Sementes nestas condições apresentam avanço na deterioração quando comparados aos lotes de elevada qualidade (FANAN; NOVENBRE, 2007; TAYLOR et al., 1992).

O condicionamento fisiológico é realizado através da embebição de forma controlada, para retomada do metabolismo e preparo da semente para o processo de emissão radicular. Esta tecnologia pode ser aplicada em várias espécies (KIKUTI, 2005).

O potencial de ação sobre o vigor é proporcionado pela equiparação dos processos metabólicos entre sementes de um mesmo lote. O uso do condicionamento não afeta a germinação, as condições ideais mantém a taxa estável, enquanto os erros na técnica prejudicam. A impossibilidade de efeito positivo sobre a

germinação, se deve ao consumo de reservas pelas sementes para a geração de ATP e a manutenção dos processos metabólicos mínimos durante o armazenamento. Uma vez consumida, torna-se inviável a reposição das reservas energéticas (MACOS FILHO, 2015).

Quando submetidas a condições controladas, de umidade e de temperatura, ocorre a embebição em condições ideais para a espécie, passando pelas fases I e II da germinação com máxima eficiência no uso das reservas restantes para reativação do metabolismo, além da degradação de reservas para estimular o embrião. Ao final da fase II as sementes podem ser semeadas com umidade elevada e prestes a emitir radícula, o que é denominado pré embebição, ou realizar a secagem do lote até teores de água para armazenamento (LIMA; MARCOS FILHO, 2009; NASCIMENTO, 2005).

A realização da técnica é possível devido à capacidade de tolerância à dessecação das sementes. Durante as fases em que ocorre hidratação, I e II da germinação, as sementes toleram a dessecação, enquanto na fase III durante o alongamento celular, não. Assim há possibilidade de aplicação de tratamento de sementes com período de imersão pré determinado para hidratação parcial e interrupção do processo de embebição antes da protrusão radicular para secagem da semente sem danos à qualidade (TAYLOR, 1992).

Conforme Franzin et al. (2007) a semeadura com sementes hidratadas é chamada de pré embebição. A técnica está compreendida no condicionamento fisiológico, apresentando vantagem de uniformidade de emergência, devido à reorganização de membranas, aumento da disponibilidade de metabólitos, além da diminuição de perdas de soluto. Ressalvas devem ser feitas para a metodologia utilizada, pois a imersão de sementes por longos períodos causam danos e ativam a rota de respiração anabólica, prejudicando a germinação, enquanto a embebição controlada otimiza a mobilização de reservas e a respiração aeróbica.

A técnica de condicionamento fisiológico é classificada de acordo com o veículo utilizado para embeber as sementes. A água durante a embebição caracteriza o hidrocondicionamento, substâncias com potenciais osmóticos conhecidos, como polietilenoglicol (PEG), denomina-se osmocondicionamento, enquanto no matricondicionamento, se utiliza material inerte para o controle do teor de água. Estas técnicas podem ser agregadas com uso de microrganismos benéficos (MACOS FILHO, 2015).

Segundo Lopes e colaboradores (2018) o hidrocondicionamento apresenta eficiência para feijão-fava (*Vicia faba* L.). Outras leguminosas, como o feijão vagem, podem ser prejudicadas pela técnica devido à susceptibilidade para exsudação de solutos. Isto ocorre através de fissuras no tegumento, principalmente em sementes maiores. Os mesmos autores verificaram que o método do tambor, com rotação constante e 20 a 30% do peso seco das sementes em água, para embebição lenta, proporciona vantagens ao potencial fisiológico de sementes maiores de feijão vagem.

A diferença entre potencial hídrico do meio e das sementes é um dos fatores que regulam a entrada de água. Caso o substrato esteja com umidade elevada, ou a semente com teor de água próximo ou abaixo de 11%, altera-se a velocidade de embebição devido à variação na permeabilidade, pois tende ocorrer rapidamente. Logo, quando comparado o tratamento de sementes via peliculização, que imerge as sementes, e o condicionamento fisiológico, com embebição controlada, verifica-se menores danos no potencial fisiológico com a segunda técnica (FORTI; CÍCERO; PINTO, 2009).

Conforme Custodio e colaboradores (2002), condições de alagamento do substrato após a semeadura causam danos severos às sementes devido à rápida absorção. O dano por embebição será proporcional a diferença entre o potencial de água interno da semente e o externo do meio, sendo que sementes com vigor de qualidade mediana são as mais afetadas. Estes autores verificaram que sementes de feijão comum submetidas ao alagamento de até dois dias a 25°C tem o potencial fisiológico afetado nas oito horas iniciais, chegando à queda de 55% da germinação após este período.

O condicionamento fisiológico pode agregar vantagens com uso de microrganismos. Estes proporcionam biocontrole de fitopatógenos de sementes e do meio externo, estímulo do metabolismo secundário, além de interações como solubilização de nutrientes. O uso de microrganismos em suspensão no veículo de embebição das sementes é denominado biopriming ou microbiolização, enquanto o condicionamento osmótico associado ao uso de biofilme contendo microrganismos benéficos é chamado condicionamento biosmótico, já a peliculização com microrganismos, denomina-se condicionamento biológico (MARCOS FILHO, 2015; MAHMOOD et al., 2016).

A inoculação com microrganismos não pode afetar o potencial

fisiológico das sementes, de forma que comprometa o desenvolvimento inicial. Para isto, as condições de temperatura, contato entre microrganismo e semente, além da quantidade de células viáveis por dose devem ser estimadas através de testes prévios. A assertividade da técnica além de reduzir danos, também poupa materiais, tempo e custos (MIGLIORINI et al., 2017).

Marcos Filho (2015) afirma que há necessidade de desinfecção das sementes previamente com soluções fungicidas para o sucesso da técnica, pois o condicionamento proporciona umidade ideal também para o desenvolvimento de fungos como *Alternaria* spp.. Mahmood et al. (2016) expõem o uso da desinfecção das sementes como variável entre as culturas estudadas.

Dalzotto et al. (2020) utilizando na microbiolização de feijão crioulo (*P. vulgaris*) com 100 mL de produto comercial a base de *Trichoderma harzianum* para cada quilograma de sementes, verificaram controle de *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Fusarium oxysporum*, além do favorecimento do potencial fisiológico. Os autores recomendam a técnica como alternativa aos tratamentos e às doses de fungicidas químicos sintéticos.

Silva e et al. (2009), testaram a microbiolização de *Pseudomonas* sp. em sementes de *P. vulgaris* para indução de resistência e monitoramento enzimático envolvido. Foi verificado aumento na produção de proteínas solúveis totais e atividade de polifenol oxidase nos tratamentos microbiolizados, enzimas que estão envolvidas com a indução de resistência da planta de feijão.

Cruz e colaboradores (2020) também encontraram resultados ao utilizar *Trichoderma harzianum* e *Saccharomyces cerevisiae* na microbiolização de sementes orgânicas de algodão, com ganhos em relação à testemunha e ao tratamento químico quando analisado o crescimento inicial da cultura.

Junges et al. (2013) encontraram resposta positiva para o crescimento e desenvolvimento de plântulas de milho, com uso de condicionamento osmótico associado à peliculização contendo *B. subtilis* em sementes de milho. O uso de peliculização traz vantagens como a manutenção da uniformidade de formato e do tamanho de peneira, facilitando a semeadura mecanizada, além da identificação de lotes tratados por coloração (JUNGES et al., 2017).

Manrique e et al. (2013) comparando lotes novo e velho de *Brachiaria brizantha*, tratados com peliculização e biopriming com *B. subtilis*, para características de perfilhamento e crescimento inicial, e massa foliar cortada aos 45 dias após

semeadura encontraram valores superiores à testemunha.

O uso de microrganismos no tratamento de sementes apesar de ser uma técnica antiga, tem recebido atenção. Microrganismos benéficos como os fungos do gênero *Trichoderma* spp. e as bactérias do gênero *Bacillus* spp. são estudados com resultados para aplicação em várias espécies. (JUNGES et al., 2019).

## 2.4 RIZOBACTÉRIAS

O solo é formado por rocha matriz e uma série de organismos vivos que interagem entre si e com as plantas. Associadas às raízes, algumas colônias de microrganismos são atraídas pela exsudação radicular, formando microagregados ricos em polissacarídeos e aminoácidos. Alguns destes microrganismos foram identificados como benéficos ao interagir com a planta alvo, o que favorece seu desenvolvimento direto ou indiretamente, como exemplo temos as chamadas rizobactérias promotoras de crescimento de plantas, também denominadas “RPCP” (CAMELO; VERA; BONILLA, 2011).

As rizobactérias são aplicadas diretamente no solo, nas plantas ou nas sementes em pré semeadura. O enriquecimento do leito de semeadura com microrganismos pode proporcionar associação com a planta desde o início do ciclo, os quais são atraídos pelas raízes jovens através da quimiotaxia. Cabe à exsudação radicular proporcionar atração química e resposta dos quimiorreceptores presentes nos genes das bactérias para que haja interação. Para esta forte intra relação benéfica é importante que haja condições ambientais favoráveis, caso contrário, práticas de irrigação, correção e adubação de solo são recursos para melhorar o ambiente para maximizar a eficiência dos organismos envolvidos (HASHIM; TABASSUM; ABD\_ALLAH, 2019; REYES et al., 2008).

Almeida e colaboradores (2010), afirmam que apesar de haver estirpes de bactérias, principalmente as diazotróficas, registradas para a cultura do feijão comum no Ministério da Agricultura e Pecuária, com o avanço do melhoramento genético as novas cultivares apresentam respostas variadas. As recomendações das melhores estirpes para cada cultivar são regionalizadas, devido aos fatores edafoclimáticos como acidez, disponibilidade de nutrientes, umidade e temperatura do solo.

A promoção do crescimento vegetal proporcionado pelas rizobactérias é entendido diretamente como aumento da altura de planta e na produção, portanto massa seca. Indiretamente há promoção pelo controle de patógenos ou redução na severidade das doenças, permitindo que o gasto energético da planta seja canalizado para seu desenvolvimento. Conseqüentemente, pode ocorrer a emergência rápida em semeadura direta no solo ou as mudas levadas ao campo em tempo reduzido (COELHO et al., 2007; HASHEM; TABASSUM; ABD\_ALLAH, 2019).

Algumas rizobactérias como os gêneros *Pseudomonas* spp., *Rizhobium* spp., *Azospirillum* spp. e *Bacillus* spp. são capazes de sintetizar e liberar na rizosfera substâncias como sideróforos, cianeto, quitinases, antibióticos, glucanases e pigmentos fluorescentes, colaborando indiretamente com as plantas devido ao potencial controlador (ANGULO et al., 2014; ARAUJO; GUABERTO; SILVA, 2012).

A indução de resistência é um fenômeno impulsionado de forma sistêmica nas plantas. Este processo envolve tanto a resposta enzimática, como as oxidativas peroxidases e polifenol oxidase, as quais participam da formação de lignina na parede celular e na formação de outros compostos oxidativos. As fitoalexinas e os compostos fenólicos também são produzidas por enzimas, tais como a tirosina amônia liase e fenilalanina amônia liase. Este mecanismo é estimulado através da interação com microrganismos benéficos específicos para as culturas, proporcionando maior proteção (SILVA et al., 2009).

Entre as RPCP, reforça-se o valor do gênero *Bacillus* spp. na natureza. Este foi descoberto há mais de 40 anos e em 2019 teve registro de 377 espécies. Inicialmente o grupo do gênero *Bacillus* spp. contava com quatro espécies: *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*, and *Bacillus subtilis*, os quais deram origem a novas pesquisas moleculares, fisiológicas e quimiotaxonômicas descobrindo inúmeras novas espécies e subespécies (CAULIER, et al. 2019).

O *B. subtilis* tem potencial de uso em cultivos agrícolas, pois auxiliam na produção de húmus via decomposição de matéria orgânica e de precursores de fitohormônios, além de auxiliar na germinação, emergência e na fixação biológica de nitrogênio e solubilização de fosfato. O uso do grupo *B. subtilis* também como supressor antimicrobiano deve-se ao fato de 4-5% de seu genoma ser voltado para

produção de compostos antimicrobianos (CAULIER, et al. 2019; ROCHA et al. 2017).

Joshua e Mmbaga (2020) isolaram fitopatógenos e bactérias endofíticas presentes em raízes de feijão vagem e encontraram efeito de supressão em fungos do gênero *Fusarium* spp. e *Macrophomina phaseolina*. Tal resultado ocorreu quando aplicados sobre os fitopatógenos meio de cultura retirados do entorno das colônias de *B. subtilis* na placa de petri. Como não foram visualizadas células de *B. subtilis* na aplicação, sugeriu-se a produção e liberação de antibióticos pelas rizobactérias para justificar o efeito encontrado.

As rizobactérias do gênero *Bacillus* spp. apresentam formação de endósporos de resistência, tolerância a dessecação, maior taxa de sobrevivência quando formulada com polímeros, consideradas vantagens para inoculação em sementes. Uma vez aplicada em dose compatível com o feijão vagem, as células viáveis estarão próximas à radícula no leito de semeadura. Isto poupa a etapa de migração das bactérias já presentes no solo, tornando imediata a relação com as raízes, com posterior crescimento e estabelecimento populacional. A dose ideal também favorece a próxima etapa, que é de persistência na rizosfera, utilizando exsudatos radiculares para se multiplicar (KOVÁCS, 2019; MELO; AZEVEDO, 1998).

Chagas e colaboradores (2017) estudaram o acúmulo de biomassa em plantas de feijão-caupi, soja, milho e arroz oriundas de sementes inoculadas com *B. subtilis* e *Trichoderma asperellum* (isolados ou em combinação) e cultivadas em vasos com solos de cultivo. Foi verificado que o tratamento *B. subtilis* proporcionou aos 20 dias ganho de massa seca de parte aérea da soja, além de aumento nas massas seca radicular, de parte aérea e total de feijão. O mesmo microrganismo também foi superior às testemunhas de soja e feijão após 40 dias de emergência.

Corrêa et al. (2012) verificaram eficiência no uso de estirpes de *B. cereus* combinadas com *Pseudomonas fluorescens* para controle de *Meloidogyne incógnita*, causador de galhas em feijão. Obteve-se maior massa seca de sistema radicular, parte aérea e vagens com a combinação, e controle da reprodução com uso isolado de *P. fluorescens*, *P. veroni* e *B. cereus*.

Corrêa et al. (2008) testaram a microbiolização de sementes de feijão com diferentes bactérias para controle de *Colletotrichum lindemuthianum* presentes naturalmente no lote. Foram encontrados estímulos para crescimento das plântulas, além do controle do fungo, com tratamentos à base de *P. veronii*, *Bacillus* spp., *B. cereus*, *Rodhococcus fascians* e *P. fluorescens*.

Singh, Gupta e Pandey (2016) estudaram a aplicação de biofilme de *B. subtilis* associado com o bioflavonóide rutina em sementes de arroz, verificaram aumento no comprimento da raiz e caule, nos teores de clorofila e carotenóides, melhorando a taxa fotossintética, além de menor formação de espécies reativas de oxigênio devido ao aumento na atividade de eliminação de radicais livres e potencial antioxidante total.

Devido à quantidade de fatores que influenciam o sucesso da técnica, estudos devem ser realizados. Isolados favoráveis ao tratamento de sementes podem apresentar dificuldades de estabelecimento quando postos em condições de campo. Portanto, exige-se antes do lançamento comercial de produtos à base de RPCP, estudos sobre a ecologia do microrganismo na rizosfera, especificidade do hospedeiro, mecanismos de colonização, interação com outros microrganismos e com o ambiente (COELHO, 2007).

### 3 ARTIGO A

Armazenamento de sementes de feijão vagem tratadas com doses de *Bacillus subtilis*

#### 3.1 RESUMO

A manutenção da qualidade de lotes de sementes de feijão vagem armazenados dependem diretamente de fatores como qualidade fisiológica inicial, condições de armazenamento e tratamento de sementes. O objetivo foi avaliar sementes de feijão vagem tratadas com doses de *B. subtilis* após períodos de armazenamento. Utilizou-se um lote de feijão vagem tipo determinado. Os tratamentos foram obtidos a partir de esquema fatorial 2x4x4+1, sendo dois tipos de tratamento de sementes: peliculização com secagem (PCS) e biopriming (BP); quatro períodos de armazenamento: 0; 14; 28 e 56 dias sob refrigeração; e quatro doses de produto comercial (p. c.) a base de *B. subtilis*: 0; 7; 14 e 28 mL p. c..kg de semente<sup>-1</sup>, com adição de uma testemunha absoluta, respectivamente. Para caracterização dos tratamentos foram analisados: teor de água, primeira contagem e germinação final, condutividade elétrica, comprimento e massa de plântulas, índice de velocidade de emergência e emergência final. O delineamento foi inteiramente casualizado e os dados submetidos a análise multivariada e quando significativos analisados via componentes principais. Os tratamentos testados apresentaram potencial de armazenamento até 28 dias em condições refrigeradas. Os tratamentos BP armazenados até 56 dias preservaram o potencial fisiológico das sementes. O uso de PCS prejudica a qualidade do lote devido aos danos por embebição. Doses até 14 mL de p. c..kg de semente<sup>-1</sup> não prejudicam os tratamentos.

**Palavras chave:** *Phaseolus vulgaris* L.. Germinação. Vigor. Biopriming. Peliculização.

#### 3.2 ABSTRACT

The maintenance of the quality of stored pod bean seed lots depends directly on factors such as initial physiological quality, storage conditions, and seed treatment. The objective was to evaluate pod bean seeds treated with doses of *B. subtilis* after

storage periods. A particular type of pod bean lot was used. The treatments were obtained from a 2x4x4+1 factorial scheme, with two types of seed treatment: film coating with drying (PCS) and biopriming (BP); four storage periods: 0; 14; 28 and 56 days under refrigeration; and four doses of commercial product (p.c.) based on *B. subtilis*: 0; 7; 14 and 28 mL p. c..kg of seed<sup>-1</sup>, with the addition of absolute control, respectively. To characterize the treatments, the following were analyzed: water content, first count and final germination, electrical conductivity, seedling length and mass, emergence speed index, and final emergence. The design was completely randomized and the data were submitted to multivariate analysis and, when significant, analyzed via principal components. The treatments tested showed storage potential for up to 28 days under refrigerated conditions. BP treatments stored up to 56 days preserved the physiological potential of the seeds. The use of PCS impairs batch quality due to soaking damage. Doses up to 14 mL of p. c..kg of seed<sup>-1</sup> do not affect the treatments.

**Keyword:** *Phaseolus vulgaris* L.. Germination. Seed Vigor. Biopriming. Peliculization.

### 3.3 INTRODUÇÃO

O feijão vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) originário das Américas do Sul e Central pertence à mesma classificação botânica do feijão comum (BOARI et al., 2020). Cultivado por pequenos produtores como fonte de renda alternativa, apresenta mercado atrativo devido a sua composição altamente proteica, que contém ferro, cálcio, fósforo e vitaminas A, C, B1 e B2 (PERES et al. 2011). Apesar do duplo propósito de comercialização, de vagens ou grãos brancos, a multiplicação no campo ocorre via sementes (OHSE et al., 2014).

As sementes utilizadas em ciclos produtivos exigem qualidade elevada para garantir população de plantas ideal. A qualidade não está associada apenas ao sistema em que a semente foi produzida, mas também às condições ocorridas após o desligamento com a planta mãe, fase chamada de ponto de maturidade fisiológica. Nesta fase, o desenvolvimento é cessado e a semente encontra-se com máxima germinação e vigor proporcionados pela planta mãe em conjunto com o ambiente, o que inicia então, o processo fisiológico de deterioração

(BRITO et al. 2013; SILVA et al., 2010).

A deterioração compreende uma série de processos físicos, bioquímicos e fisiológicos que podem comprometer inicialmente o vigor, e evoluir para a morte da semente. Estes processos reduzem gradativamente o potencial de armazenamento, que também é considerado máximo no ponto de maturidade fisiológica. Iniciados de forma conjunta, a deterioração e o potencial de armazenamento estão associados, pois quanto maior o grau de deterioração das sementes, menor o período de armazenamento. Bons lotes armazenados de forma inadequada também tem a deterioração acelerada o que impossibilita seu uso a longo prazo (COSTA, 2012).

Além das características genéticas, fatores como embalagem permeável, elevadas temperaturas e umidade relativa do ar também afetam o potencial de armazenamento de sementes de feijão vagem. Estas condições permitem e aceleram a característica higroscópica das sementes, o que aumenta a taxa respiratória e resulta em desestruturação do sistema de membranas, degradação de reservas, aumento na permeabilidade, instabilidade química de lipídeos e peroxidação lipídica, além de alterações enzimáticas e de nucleotídeos (JOSÉ et al., 2010; MARCOS FILHO, 2015; ZUCARELI, 2015).

Caso a semente atinja grau de umidade acima de 45% devido à higroscopicidade, ocorre a protrusão de raiz de feijão vagem, enquanto entre 18 e 45% há elevação na taxa respiratória das sementes e atividade de microrganismos, o que aumenta a temperatura da massa e pode causar efeitos letais. Teor de água entre 12 e 18%, favorece o desenvolvimento de microrganismos oportunistas, principalmente caso haja danos físicos, enquanto entre 8 a 12% os insetos mantem-se ativos. Desta forma, teor de água aproximadamente, 8% torna-se ideal para o armazenamento de sementes em baixas temperaturas (GOLDFARB; QUEIROGA, 2013).

O grau de umidade elevado de sementes antes do armazenamento também está associado à colheita com teores elevados, o que pode afetar negativamente o processo de transporte e beneficiamento, e até o tratamento de sementes, tal como a peliculização e o condicionamento fisiológico. Esta última técnica, estimula o início do processo germinativo até a transição entre fases II e III, e então retorna ao teor de água de armazenamento via secagem. Este processo visa uniformizar o vigor de lotes intermediários e acelerar a emergência embebendo e

secando as sementes de forma controlada. A embebição é realizada com água, substâncias orgânicas, como polietilenoglicol, ou em associação com microrganismos benéficos, como por exemplo, *Bacillus subtilis* (MANRIQUE et al., 2019).

O uso de microrganismos benéficos tem aumentado na agricultura, o que se deve ao potencial de solubilização de nutrientes, estímulo de sistema de defesa e controle fitossanitário, sendo alternativas ao uso de produtos químicos. O *B. subtilis* é classificado como rizobactéria promotora de crescimento em plantas (RPCP), que se associa às plantas cultivadas através de atrações químicas e interações simbióticas proporcionando solubilização de fosfato, sintetização de fitormônios e seus precursores, estímulo ao metabolismo secundário e ação sobre fitopatógenos e nematóides (CAMELO; VERA; BONILLA, 2011; REYES et al., 2008; ROCHA et al., 2017).

Ramos et al., (2015) verificaram que o condicionamento fisiológico com água e bioestimulante em sementes de feijão comum não causaram prejuízos à germinação após quatro meses de armazenamento em condição ambiente. Junges et al., (2017) verificaram ganhos em desenvolvimento de plântula de nabo forrageiro utilizando condicionamento fisiológico associado à *Bacillus subtilis* e *Trichoderma spp.*

Os trabalhos encontrados na literatura relatam resultados da semeadura em seguida do tratamento de sementes com *B. subtilis*. Portanto se desconhece os efeitos de diferentes formas de tratamentos de sementes com *B. subtilis* em feijão vagem após armazenamento, tanto do ponto de vista da semente, como da viabilidade e comportamento do microrganismo. O objetivo foi avaliar sementes de feijão vagem tratadas com doses de *B. subtilis* após períodos de armazenamento.

#### 3.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitotecnia da Universidade Estadual de Londrina (UEL). Utilizou-se um lote de sementes de feijão vagem da cultivar Macarrão Baixo do tipo determinado (Isla Sementes®). Para a determinação do teor de água as sementes foram pesadas em balança com precisão de 0,0001g e secas em estufa, com circulação forçada de ar a  $105 \pm 3$  °C por 24 horas,

utilizando duas subamostras de 4,5 gramas. Os resultados foram expressos em porcentagem de base úmida (b. u.) (BRASIL, 2009).

A partir do teor de água inicial a curva de embebição das sementes foi obtida pela pesagem de quatro repetições de vinte sementes, mantidas entre três folhas de papel germitest, umedecidas com água destilada no volume de 2,5 vezes o peso seco, sendo acondicionadas em bandejas dentro de germinador do tipo Mangelsdorf a 20°C. As pesagens ocorreram até que 50% de cada amostra apresentasse protrusão radicular. Os resultados foram expressos em porcentagem (b. u.).

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado. Os tratamentos foram obtidos através de fatorial triplo (2x4x4)+1, sendo o fator A a duração e tipo de contato entre calda e semente (Peliculização e Biopriming); B quatro doses de produto comercial (p. c.) a base de *Bacillus subtilis* (0,0; 7,0; 14,0 e 28,0 mL de p. c..kg de semente<sup>-1</sup>); e C tempos de armazenamento (0, 14, 28 e 56 dias), além de uma testemunha absoluta.

Os tipos de tratamentos de sementes foram:

Peliculização com secagem (PCS): as sementes foram submetidas ao contato direto com a calda via imersão e agitação manual durante três minutos dentro de sacos plásticos. Após o tratamento foram mantidas sobre papel germitest seco dentro de bandejas durante 96 horas em temperatura ambiente, até atingir teor de água de armazenamento avaliado pelo método de determinação de grau de umidade.

Biopriming (BP): sementes foram alocadas entre três folhas papel germitest umedecidos com calda na proporção de 2,5 vezes seu peso seco, e mantidas em germinador do tipo Mangelsdorf a 20°C durante 46 horas até o final da fase II da germinação, conforme curva de embebição (apresentada nos resultados). Em seguida foram mantidas sobre papel germitest seco, em bandejas, durante 96 horas em ambiente para retornar ao teor de água de armazenamento.

Para obtenção das caldas, utilizou-se o produto comercial (p. c.) Serenade, [*B. subtilis* linhagem QST 713 (mínimo de  $1 \times 10^9$  UFC.g<sup>-1</sup> de ativo)] Bayer Cropscience®. O produto nas doses 7,0; 14,0 e 28,0 mL de p. c..kg de semente<sup>-1</sup> foi diluído em 100 mL de água destilada para confecção da calda, enquanto na dose zero o tratamento utilizou apenas água destilada.

Após o tratamento, as sementes foram separadas em amostras contidas em sacos plásticos de polietileno e armazenadas em refrigerador com

temperatura média de 12°C e umidade relativa do ar de 70% durante 14, 28 e 56 dias. No tempo 0 (zero) os testes foram realizados em seguida aos tratamentos. A testemunha absoluta não recebeu tratamento de sementes e doses em todos os tempos de armazenamento.

Para a caracterização dos tratamentos foram realizados os seguintes testes:

Teste de Germinação: as quatro repetições de 50 sementes de feijão vagem foram alocadas entre três folhas de papel germitest umedecidas em 2,5 vezes o peso seco com água destilada para a confecção de rolos. Mantidos em germinador do tipo Mangelsdorf a 20°C (temperatura utilizada de acordo com as Regras de Análises de Sementes para *P. vulgaris*, e evitar superaquecimento para os tratamentos com microrganismos) durante cinco dias para a primeira contagem da germinação (PCG) e oito dias para a contagem final. As avaliações consideraram o número de plântulas normais (PN), anormais (PA) e sementes não germinadas (SNG), apresentadas em porcentagem (BRASIL, 2009).

As plântulas normais foram classificadas em relação ao vigor sendo as melhores denominadas vigor positivo (VP) e as piores chamadas de vigor negativo (VN). Os resultados foram expressos em porcentagem (VIEIRA; KRYZANOWSKI, 1999).

Comprimento (mm) e massa de plântulas (g): quatro repetições de 20 sementes cada, distribuídas em rolos de papel germitest umedecidos e dispostos conforme a metodologia do teste de germinação. Os rolos foram mantidos em germinador do tipo Mangelsdorf a 20°C durante cinco dias em ausência de luz. As avaliações consideraram 10 plântulas normais de cada repetição, as quais foram submetidas às medidas de parte radicular (CPR) e parte aérea (CPA) com auxílio de uma régua graduada em milímetros (VIEIRA; KRYZANOWSKI, 1999).

Posteriormente, as partes das plântulas do teste de comprimento foram separadas e acondicionadas em sacos de papel kraft e submetidas a secagem em estufa com circulação de ar forçada, mantida a 60°C durante 24 horas. As repetições foram pesadas em balança de precisão com quatro casas decimais, e as médias de massa seca de raiz (MSR) e de parte aérea (MSPA) expressas em  $\text{mg.plântula}^{-1}$  (VIEIRA; KRYZANOWSKI, 1999).

Condutividade elétrica (CE): quatro repetições de 25 sementes foram pesadas e imersas em 75 mL de água deionizada, em copos plásticos descartáveis

de 150 mL, a 25°C durante 24 horas em estufa B.O.D. (Biological Oxygen Demand). Os resultados foram obtidos com auxílio de condutivímetro (Medidor DIST® 6 EC/TDS/Temperatura Hanna) a partir da leitura das soluções, expressos em  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  de sementes (VIEIRA; KRYZANOWSKI, 1999).

Emergência de plântulas (EP): quatro repetições de 50 sementes foram semeadas em areia, em bandejas de plástico (21×33×5cm). Durante o teste a irrigação foi realizada diariamente. O teste ocorreu em casa de vegetação, com temperatura de 25°C durante 10 dias. A contagem final foi expressa em porcentagem de plântulas emergidas (NAKAGAWA, 1999). Juntamente com este teste, obteve-se o índice de velocidade de emergência (IVE), realizado via contagem de plântulas emergidas entre a semeadura até dez dias, quando houve a estabilização da emergência. Ao final, o resultado foi expresso através da fórmula de Maguire (1962):  $\text{IVE}=(E_1/N_1)+(E_2/N_2)+(E_n/N_n)$ , em que E compreende o número de plântulas emergidas no dia da contagem, e N o dia da contagem após a semeadura.

Aos dados aplicou-se análise de variância a 5% de significância. Em seguida avaliou-se os resultados sob análise multivariada de componentes principais (ACP) para a observação de interações múltiplas entre características e tratamentos utilizados. Os resultados também foram submetidos a análise hierárquica de agrupamento (UPGMA). Utilizou-se o software estatístico R para as análises (R, 2012).

### 3.5 RESULTADOS

A curva de embebição da cultivar de feijão vagem Macarrão Baixo está apresentada na figura 3.1. O conhecimento da hidratação de sementes sob temperatura e umidade conhecidas durante o processo de germinação permitem o controle da técnica do condicionamento fisiológico, utilizada na confecção do Biopriming (BP). Através das três fases do processo foi possível determinar a duração dos tratamentos utilizados.

O gráfico da figura 3.1 indica que condições ambientais com grau de umidade ideal permitem que as sementes absorvam cerca de 1,83% de água durante cada hora da fase I, em um total de 18 horas. Na fase II, o aumento no teor de umidade é menos acentuado, pois apesar do ganho de 0,49% por hora, o período é mais longo,

com cerca de 30 horas. A protrusão radicular (fase III) ocorreu em 50% das sementes avaliadas após 48 horas do início do teste quando atingido cerca de 58% de teor de água.

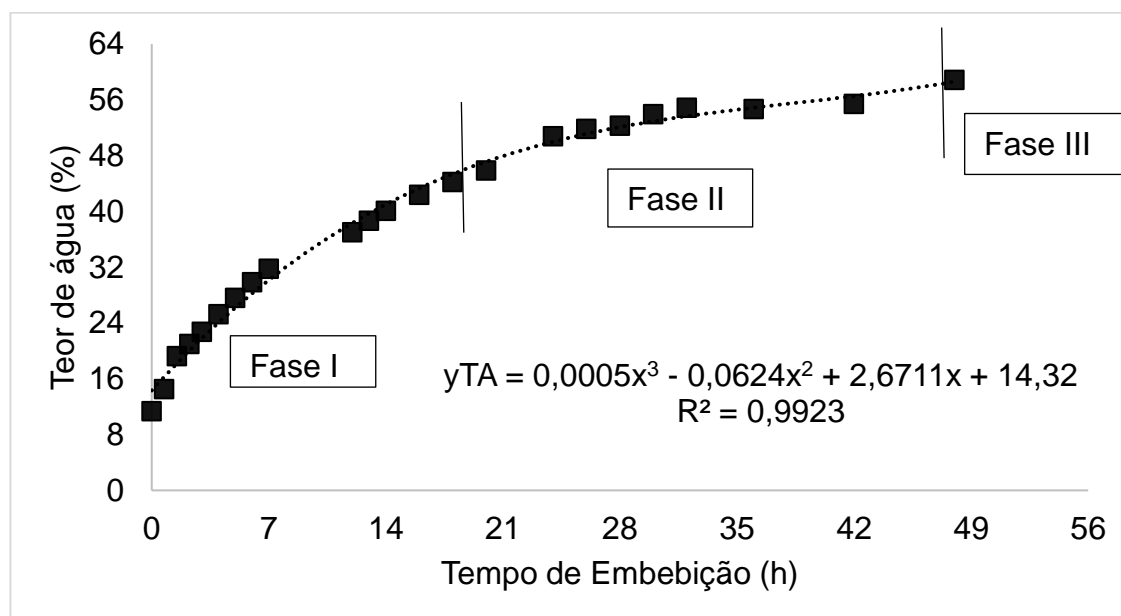


Figura 3.1. Curva de embebição para caracterização das fases da germinação do lote de sementes de feijão vagem cultivar Macarrão Baixo (IBANHES NETO et al., 2021).

Na tabela 3.1 é exposta a análise de variância da interação tripla entre tempos de armazenamento, tratamentos de sementes e doses de *B. subtilis* (A×T×D). Não houve interação tripla entre as variáveis. Verificou-se significância entre armazenamento e tratamentos (A×T) para as características plântulas anormais (PA), sementes não germinadas (SNG), plântulas mais e menos vigorosas (VP e VN), comprimento de parte aérea (CA), massa seca de parte aérea (MSA), índice de velocidade de emergência (IVE) e emergência final (EF).

Foi apontada significância para a interação dupla entre armazenamentos e doses (A×D) nas características plântulas normais (PN) e anormais (PA), sementes não germinadas (SNG), primeira contagem da germinação (PCG), comprimento radicular (CR) e de parte aérea (CA), massa seca de parte aérea (MSA), índice de velocidade de emergência (IVE), emergência final (EF). Na interação entre tratamentos e doses (T×D) apenas comprimento radicular (CR) foi significativo (Tabela 3.1).

Tabela 3.1. Análise de variância da interação entre tempos de armazenamento (A),

tipos de tratamentos de sementes (T) e doses de *B. subtilis* (D) para características de viabilidade e vigor.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio						
		PN	PA	SNG	PCG	CE	VP	VN
A	3	722,5*	746,9*	55,3*	759,2*	315,2*	1222,2*	1227,5*
T	1	1800,0*	2,8	1953,1*	1755,3*	7526,1*	244,8*	236,5*
D	3	19,9	31,2	5,1	42,1	802,2*	35,5	35,8
AxT	3	29,1	141,3*	56,8*	26,2	81,5	123,1*	124,7*
AxD	9	179,0*	121,6*	45,6*	175,8*	108,4	31,1	32,4
TxD	3	45,4	33,9	9,9	63,8	53,7	16,7	15,2
AxTxD	9	57,6	46,9	20,0	32,4	54,2	44,4	43,2
Resíduo	96	35,9	41,2	14,7	41,6	115,5	27,0	27,0
C.V. (%)		9,1	24,3	49,7	10,0	8,5	30,1	6,3
Média Geral		65,9	26,4	7,7	64,8	126,4	17,3	82,8

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio					
		CR	CA	MSR	MSA	IVE	EF
A	3	8090,1*	1357,2*	31,2*	622,7*	314,1*	174,7*
T	1	7787,5*	1910,4*	6,9*	666,6*	2482,8*	2354,7*
D	3	262,7	96,7	0,2	49,5*	162,7*	110,3*
AxT	3	220,9	779,8*	0,6	46,0*	205,6*	183,8*
AxD	9	771,6*	206,8*	1,2	63,3*	59,6*	81,2*
TxD	3	683,9*	73,7	0,8	29,1	41,7	9,6
AxTxD	9	291,5	117,4	0,9	26,4	58,3	46,9
Resíduo	96	157,1	81,2	0,7	13,9	25,1	26,3
C.V. (%)		12,0	14,9	13,9	14,0	8,2	7,0
Média Geral		104,7	60,5	5,9	26,6	61,1	73,7

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro ( $p < 0,05$ ). GL: Graus de Liberdade; C.V.: Coeficiente de Variação; PN: Plântulas Normais; PA: Plântulas Anormais; SNG: Sementes Não Germinadas; PCG: Primeira Contagem de Germinação; CE: Condutividade Elétrica; VP: Vigor Positivo; VN: Vigor Negativo; CR: Comprimento Radicular; CA: Comprimento de Parte Aérea; MSR: Massa Seca Radicular; MSA: Massa Seca Parte Aérea; IVE: Índice Velocidade Emergência; EF: Emergência Final.

Na análise de variância das características isoladas para armazenamento (A), a condutividade elétrica (CE) e a massa seca radicular (MSR) diferenciaram-se, para tratamentos (T), além destas, plântulas normais (PN) e primeira contagem da germinação (PCG) também foram significativas. Entre as doses testadas houve significância para CE (Tabela 3.1).

Na figura 3.2 que apresenta o comportamento dos tratamentos combinados com as características de germinação e vigor sob análise multivariada, verificou-se 65,47% de explicação das variâncias foram expressas pelos

componentes principais 1 e 2 (CP1 e CP2). O biplot indicou contribuição de 36,47% da CP1 e 29% da CP2. Devido a CP1 representar a maior porcentagem de explicação das variâncias, foi considerada como referência para explicação dos resultados obtidos.

O mapa perceptual bidimensional das variáveis analisadas mostra à direita da CP1 características de plântulas normais e vigorosas. Foi observado ângulo inferior a 90° e à direita da CP1 as características: plântulas normais (N) e vigor positivo (VP), primeira contagem da germinação (PCG), comprimento (CPR e CPA) e massa seca de plântula (MSR e MSA), índice de velocidade (IVE) e emergência final (EF). Em contrapartida, a esquerda da CP1 e com angulação inferior à 90° houve correlação negativa entre sementes não germinadas (SNG), condutividade elétrica (CE), plântulas anormais (PA) e vigor negativo (VN), características de sementes e plântulas com qualidade reduzida (Figura 3.2).

Os tratamentos com biopriming em sua maioria apresentaram correlação positiva à direita da CP1, e estão associados às características de lotes com potencial fisiológico elevado, com exceção de 14 BP 28, 28 BP 7 e 56 BP 28 (tempo de armazenamento, tipo de tratamento de sementes e dose de *B. subtilis*, respectivamente). À esquerda com correlação negativa encontram-se os tratamentos com PCS, associados às características de lotes com qualidade inferior, exceto 0 PCS 7 e 0 PCS 14. (Figura 3.2).

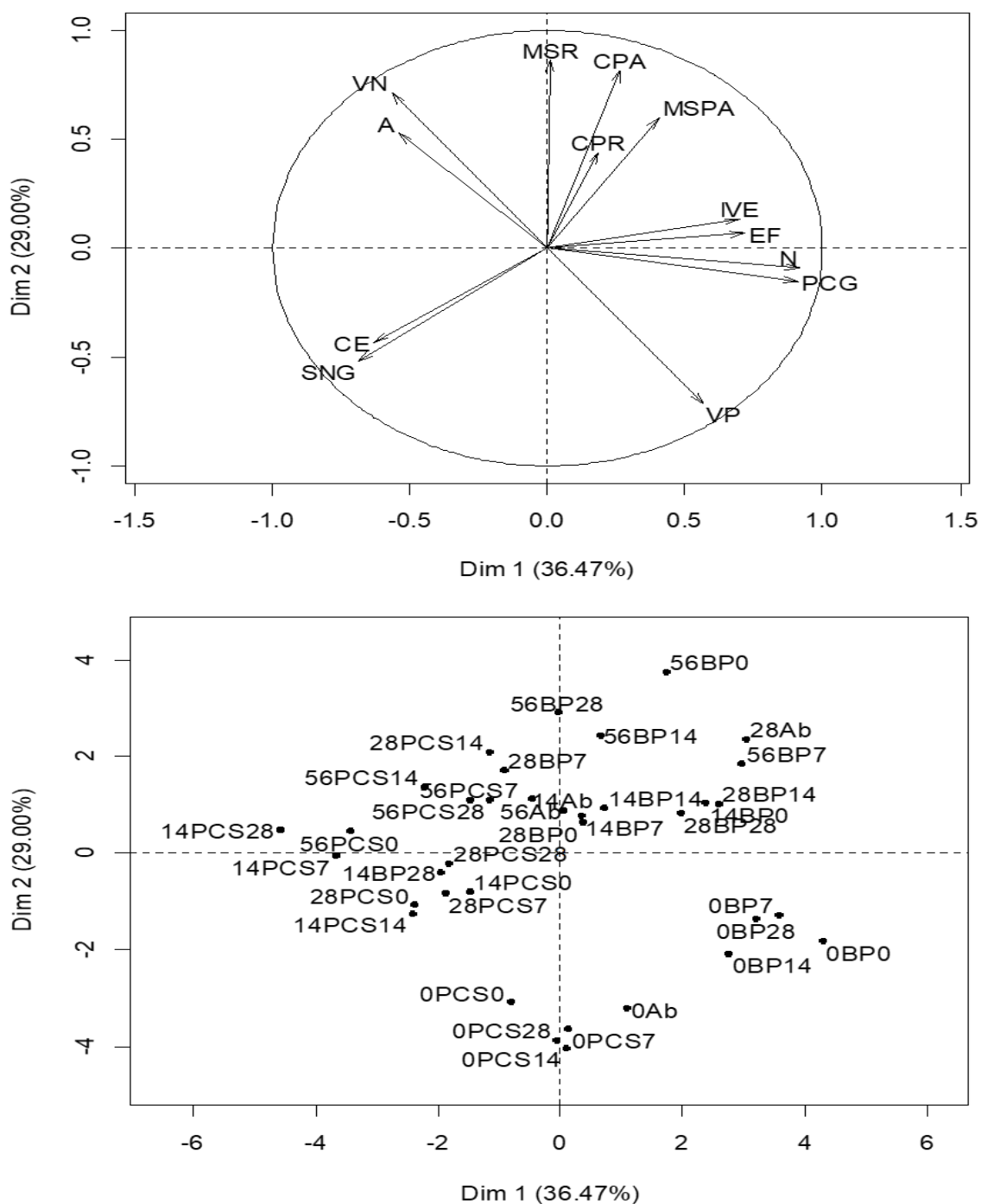


Figura 3.2. Biplot indicando as variáveis (N: Plântulas Normais; A: Plântulas Anormais; SNG: Sementes Não Germinadas; PCG: Primeira Contagem de Germinação; CE: Condutividade Elétrica; VP: Vigor Positivo; VN: Vigor Negativo; CR: Comprimento Radicular; CA: Comprimento de Parte Aérea; MSR: Massa Seca Radicular; MSA: Massa Seca Parte Aérea; IVE: Índice Velocidade Emergência; EF: Emergência Final projetadas pelos dois primeiros componentes principais para discriminação de quatro tempos de armazenamento (0, 14, 28 e 56 dias), dois tratamentos de sementes (PCS e BP) e quatro doses de *B. subtilis* (0, 7, 14, 28 mL de p. c..kg de semente<sup>-1</sup>).



estiveram associados às características de elevada viabilidade e plântulas de alto vigor e conseqüentemente menor número de plântulas anormais e de baixo vigor, sendo estes os tratamentos no tempo 0 (zero) utilizando bioprimum para aplicação das doses de *B. subtilis* e os que utilizaram peliculização com secagem (Figura 3.3).

### 3.6 DISCUSSÃO

A rápida elevação no teor de água em curto período na fase I, seguido da redução na velocidade de embebição na fase II da curva de embebição é comum em sementes com grau de umidade adequado para o armazenamento. Contudo, este padrão ocorre em condições controladas, tal como na confecção do tratamento Bioprimum (BP) ou próximas às ideais no campo, com água e oxigênio em quantidades suficientes para que a germinação ocorra.

Magalhães e Carelli (1972) afirmam que a fase I tem por característica o rápido ganho de água devido à diferença de potencial entre semente e o meio externo, tal condição é menos acentuada na fase II devido a menor diferença de umidade. A aceleração da velocidade da embebição devido ao excesso de água no sistema, tende ocasionar danos à reorganização das membranas e ao sistema de reparo, enquanto sementes submetidas à germinação com restrição hídrica são afetadas devido à baixa eficiência destes mesmos sistemas, sendo o dano agravado com o aumento do tempo em condições subótimas (FORTI et al., 2009).

O teor de água necessário para o início da fase III da germinação e o procedimento de condicionamento fisiológico varia entre as cultivares, os tratamentos de sementes e as condições dos lotes e do ambiente (LIMA; MARCOS FILHO, 2010). Para a protrusão da cultivar Macarrão Baixo foram necessários 56% de teor de água. Lopes et al. (2018) avaliaram sementes pequenas e grandes de feijão vagem submetidas ao priming via método do tambor, e encontraram protrusão radicular com umidade entre 33,8 e 51,5%.

Damalas et al. (2019) testando efeito de hidropriming em sementes de feijão fava (*Vicia faba* L.) verificaram que tempos de embebição de 8, 16 e 24 horas uniformizaram e aumentaram a velocidade da germinação. Além disso, os autores verificaram que não houve prejuízo às plantas até 14 dias após a semeadura no primeiro ano de avaliação, e melhora de 34,4% na emergência no segundo ano, sendo

os benefícios da técnica melhor evidenciados em anos de umidade do solo limitada.

Nos testes propostos para caracterização dos tratamentos, tanto o vigor, como a germinação sofreram interferências das fontes de variações aplicadas em sementes de feijão vagem (Tabela 3.1). Para melhor visualização do fatorial triplo envolvido na pesquisa e o número de testes realizados, utilizou-se da análise de componentes principais (ACP).

Analisando o mapa de indivíduos e utilizando como referência a CP1, as testemunhas absolutas avaliadas aos 0 14 e 28 dias de armazenamento encontram-se à direita e aos 56 dias à esquerda (Figura 3.2). Este resultado avaliado conjuntamente com o *plot* das características de potencial fisiológico, permitiu afirmar que até os 28 dias de armazenamento nas condições de temperatura e umidade testadas foi possível manter a qualidade do lote e reduzir os efeitos da deterioração. Isto pode estar associado à higroscopicidade da cultivar e o ambiente refrigerado, ou ainda efeito da qualidade inicial do lote que permitiu resguardo das sementes por até 28 dias.

Conforme Bragantini (2005) sementes de feijão são sensíveis às condições de armazenamento, principalmente temperatura e umidade relativa do ar. O autor justifica que a capacidade higroscópica da semente afeta a qualidade devido à frequente busca por equilíbrio com o grau de umidade do meio em que se encontra armazenada.

Araujo e et al. (2021) compararam a qualidade de lotes de feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) com 12 e 13,5% de teor de água avaliados após 0, 3, 6 e 9 meses de armazenamento em ambiente laboratorial e refrigerado, encontraram redução na emergência do lote com 13,5% de umidade após 9 meses mantido a 25°C, de forma que com 1,5% a menos de teor de água a qualidade foi mantida durante o mesmo período. O que corrobora com os resultados encontrados e a justificativa de Bragatini (2005), indicando que as condições de armazenamento influem fortemente o desempenho de sementes de feijão armazenadas.

Santos et al. (2005) estudaram o potencial fisiológico de cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e verificaram que as cultivares TPS Bionobre, TPS Nobre, TPS Bonito, Macotaço e Iapar 44 armazenadas em condições não controladas tem diferentes tempos de armazenamento. Os autores verificaram que lotes com viabilidade semelhante apresentam armazenamento variado, o que se deve ao tipo de dano que possa ter afetado o vigor antes do armazenamento.

A semelhança detectada na interação entre armazenamento e tratamentos de sementes (A×T) da tabela 3.1 e exposto nas figuras 3.2 e 3.3, pode ter ocorrido devido aos danos que os tratamentos de sementes variados causaram nas sementes oriundas de um mesmo lote para execução do experimento. Isto, conseqüentemente afetou a longevidade das sementes durante o armazenamento.

Nas figuras 3.2 e 3.3 os tratamentos BP e PCS avaliados aos 0 dias de armazenamento isolaram-se dos demais, tendo BP apresentado maior correlação com PN, PCG e VP quando comparado com PCS. As respostas encontradas para estes tratamentos explicam as diferenças estatísticas apontadas para estas características na tabela 3.1. Os tratamentos BP estão em maior parte alocados à direita da CP1 juntamente com características de elevado potencial fisiológico, o que lhe garante destaque positivo como técnica aplicável na cultivar Macarrão Baixo.

Quando realizada a peliculização com secagem foi observada relação com as características de baixo vigor de lotes, tal como CE, PA, VN e SNG. Uma vez que o tratamento tenha prejudicado a estrutura das sementes, a tendência é acelerar o processo de deterioração. Esta redução do vigor se caracteriza pelo aumento de plântulas menos vigorosas, plântulas anormais e até sementes não germinadas, conforme avistado no lado esquerdo da CP1 com tratamentos a base de PCS e características negativas de qualidade.

A diferença exposta na tabela 3.1 para a CE é visualizada na figura 3.3 com a divisão dos tratamentos em grupos (cluster). O grupo 1 é composto por tratamentos que utilizaram PCS como técnica de tratamento de semente. Este grupo está associado às características de potencial fisiológico inferior e CE elevada. Portanto, foram afetados pelos tratamentos aplicados.

Costa et al. 2008 avaliando a pré hidratação de sementes de ervilha e seu efeito sobre a germinação e vigor, verificaram que a embebição via atmosfera saturada ou substrato umedecido influenciaram o potencial fisiológico de lotes, principalmente em cultivares com tegumento rugoso, as quais são mais sensíveis ao dano por embebição. Os mesmos explicam que a hidratação das sementes como ocorre no BP permite a reorganização do sistema de membranas com maior eficiência quando comparado à embebição no campo ou em tratamentos de sementes por imersão, como ocorre na PCS.

Lopes et al. (2018) constataram que o dano causado pela entrada abrupta de água em sementes de leguminosas reduz inicialmente o vigor e posterior

a viabilidade, sendo um prejuízo passível de ser mensurado com o teste de condutividade elétrica, indicando o vigor, associado ao teste de germinação. Conforme Araujo et al. (2021) a elevação da condutividade elétrica ocorre devido ao aumento dos exsudatos na solução aquosa do teste. Fato que está atrelado aos danos no tegumento e sistemas de membranas que permitem o extravasamento do conteúdo celular, dado mensurado pela condutividade elétrica.

Ainda em relação às doses de *B. subtilis* o aumento nas doses aplicadas reflete diretamente na quantidade de células viáveis levadas a campo. Entretanto, o cálculo para doses entre 0 a 28 mL.kg de semente<sup>-1</sup> leva em conta o custo por aplicação em função do ganho direto e indireto às plantas, como proteção e aporte nutricional. Tratamentos com e sem doses utilizando biopriming, mesmo armazenados até 56 dias se mostraram mais vigorosos em relação aos que se valeram da peliculização.

Costa et al. (2013) analisaram a promoção do crescimento vegetal e diversidade genética isoladas das raízes de feijão caupi (*Vigna unguiculata* L.) encontrou efeito positivo causado por alguns microrganismos sintetizadores de fósforo e ácido indol acético (AIA), de modo que entre os não moduladores identificados estava o gênero *Bacillus*. Chagas et al. (2017) também encontraram resposta para a inoculação de *Bacillus subtilis* em feijão caupi, de forma que apresentaram maior massa de plântulas aos 20 dias após emergência.

### 3.7 CONCLUSÃO

A embebição com Biopriming favorece o potencial fisiológico de sementes de feijão vagem Macarrão Baixo. O armazenamento de sementes sem tratamento pode ser realizado até 28 dias sob refrigeração. É possível armazenar o lote por até 14 dias sob tratamento com *B. subtilis* através do biopriming também favorecendo a germinação e o vigor. Após os 14 dias de armazenamento o uso da peliculização de calda com doses de *B. subtilis* prejudica a qualidade do lote devido a danos por embebição.

## 4 ARTIGO B

Produção de feijão vagem oriunda de sementes tratadas com doses de *Bacillus subtilis*

### 4.1 RESUMO

A velocidade e a sanidade no estabelecimento de plântulas a campo tornam-se imprescindíveis para o estande final e para a produtividade, os quais podem ser melhorados por técnicas como tratamento de sementes. O objetivo do trabalho foi verificar a influência de tratamentos de sementes de feijão vagem com diferentes doses de *Bacillus subtilis* sobre o desenvolvimento e componentes de produção da cultura. O experimento utilizou sementes de feijão vagem de tipo determinado. Para obtenção dos tratamentos foi utilizado esquema fatorial duplo além de uma testemunha absoluta. Foram utilizados quatro tratamentos de sementes: peliculização com e sem secagem, além de pré embebição e biopriming, e quatro doses de produto comercial (p. c.) a base de *B. subtilis*: 0; 7; 14 e 28 mL de p. c./kg de semente<sup>-1</sup>. A caracterização dos tratamentos se deu pelo teor de água, emergência, comprimento, largura e área foliar, altura de plantas e de primeira vagem na colheita, além do número de trifólios e de vagens, comprimento e número de grãos por vagem, massa fresca e seca do fruto. Os resultados foram submetidos à análise multivariada e quando significativo, à análise de componente principal e rede correlação de Pearson. Os tratamentos em que se utilizaram de embebição controlada, pré embebição e biopriming foram iguais ou superiores à testemunha absoluta. A associação destes tratamentos com doses entre 7 a 14 mL de Serenade/kg de semente<sup>-1</sup> para pré embebição e entre 0 e 28 mL de Serenade/kg de semente<sup>-1</sup> para biopriming favorecem tanto as características avaliadas no período reprodutivo, como os componentes de rendimento de feijão vagem.

Palavras chave: *Phaseolus vulgaris* L.. Biopriming. Componentes de rendimento. Peliculização. Rizobactérias.

## 4.2 ABSTRACT

Speed and health in the establishment of seedlings in the field become essential for the final stand and productivity, which can be improved by techniques such as seed treatment. The objective of this work was to verify the influence of snap bean seed treatments with different doses of *Bacillus subtilis* on the development and production components of the culture. The experiment used pod bean seeds of a determined type. To obtain the treatments, a double factorial scheme was used, in addition to absolute control. Four seed treatments were used: filming with and without drying, in addition to pre-imbibition and biopriming, and four doses of commercial product (c.p.) based on *B. subtilis*: 0; 7; 14 and 28 mL of c.p..kg of seed<sup>-1</sup>. The characterization of treatments was based on water content, emergence, length, width and leaf area, the height of plants and first pod at harvest, in addition to the number of trefoils and pods, length, and the number of grains per pod, fresh and dry mass of the fruit. The results were submitted to multivariate analysis and, when significant, to principal component analysis and Pearson's correlation network. The treatments that used controlled imbibition, pre imbibition, and biopriming were equal to or superior to the absolute control. The association of these treatments with doses between 7 to 14 mL of Serenade.kg of seed<sup>-1</sup> for PE and between 0 and 28 mL of Serenade.kg of seed<sup>-1</sup> for BP favors both the characteristics evaluated in the reproductive period and, the snap bean yield components.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L.. Biopriming. Yield components. Seed coating. Rhizobacteria.

## 4.3 INTRODUÇÃO

Entre as 55 espécies que compreendem o gênero *Phaseolus* L., encontra-se o feijão vagem (*Phaseolus vulgaris* L.). Este, é originário das Américas do Sul e Central e foi selecionado para consumo de vagens imaturas devido ao seu teor inferior de fibras em relação ao feijão comum (BAIDA et al., 2011). Atualmente, seu cultivo está concentrado em pequenas propriedades (ALMEIDA et al., 2018), sendo alternativa de renda na rotação de culturas com pepino e tomate em ambientes

protegidos.

As características preconizadas desta hortaliça são vigor e produtividade atrelados a níveis de resistência a pragas e doenças, com vagens verde claro, formato e dimensão de vagens de padrão comercial, no caso dos produtores, já para os consumidores o sabor agradável e mínimo de fibras e fios é atraente (MOREIRA et al., 2009). A produtividade de cultivos com tais características é estimada através de componentes de produção, os quais compreendem a análise de fases e estruturas durante o desenvolvimento das plantas que determinam seu potencial produtivo.

Para cultivos de ciclo rápido que se utilizam de sementes para multiplicação, o número de plantas por área é o primeiro fator para otimização da produtividade. Uma vez estabelecido a campo, a definição do rendimento por área de feijão vagem ainda depende do número de vagens por planta, sementes por vagem e massa de sementes. Estes componentes variam entre os indivíduos na área, o que se deve a uniformidade do espaçamento e intracompetição por assimilados (DALCHIAVON; CARVALHO, 2012; LIU et al., 2010; RAMOS JÚNIOR; LEMOS; SILVA, 2005).

A capacidade de obtenção e desenvolvimento de plântulas rapidamente em condições adversas de campo está associada ao vigor de sementes. Portanto, além da qualidade no processo operacional da semeadura, o uso de sementes com elevado vigor são cruciais para não prejudicar o primeiro componente de rendimento. O estabelecimento a campo pode ser protegido ou melhorado com a aplicação de tratamentos pré germinativos em sementes (OHSE et al., 2014). O estudo e melhoramento de técnicas tende a maximizar a eficiência das plantas sob efeito de tratamentos no campo.

O tratamento de sementes tem sido associado ao uso de produtos químicos para proteção e estímulo das plântulas, contudo, o apelo ao menor risco ambiental e operacional tem promovido novas pesquisas para uso de produtos biológicos que proporcionem efeito similar (BRITO et al., 2013). Além da sustentabilidade, o baixo custo de produção de inoculantes e seus vários benefícios, como estímulo do metabolismo secundário, solubilização de nutrientes e biocontrole também chamam atenção. Fungos do gênero *Trichoderma* spp. e bactérias do gênero *Bacillus* spp. têm sido utilizados com sucesso para culturas como soja, milho, arroz e feijão-caupi (CHAGAS et al., 2017).

A espécie *Bacillus subtilis* é considerada uma rizobactéria promotora de crescimento de plantas (RPCP), assim denominada devido às suas características interativas com as raízes das plantas. Uma vez presente, tem potencial de agir na germinação e emergência de plântulas, solubilização de fosfato, síntese de hormônios, conseqüentemente, no crescimento radicular e aéreo, além de biocontrole de fitopatógenos e estímulo ao metabolismo secundário (BUCHELT et al., 2019).

Analisando a inoculação de *B. subtilis* em lotes de sementes de feijão comum com baixo e alto vigor, Oliveira et al. (2016) verificaram que houve incremento de massa seca de plântulas. Maciel et al. (2017) verificaram crescimento de mudas de *Pinus spp.* que receberam tratamento de sementes por microbiolização com *B. subtilis*. Sá et al., (2019) estudaram o tratamento de sementes de feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) com estirpes de *B. subtilis* e encontraram acréscimo na germinação, redução na incidência de fungos e aumento de massa seca de plântula.

Portanto, devido à ausência de resultados sobre o desempenho de feijão vagem inoculado com *B. subtilis* para melhorias no manejo e aumento de produção de lavouras, o objetivo foi analisar o desempenho fitométrico e produtivo de feijão vagem oriundo de sementes tratadas de diferentes modos e com doses de *B. subtilis*.

#### 4.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação (23°20'28" S, 51°12'34" O; 548 m.) na Universidade Estadual de Londrina (UEL) utilizando sementes de feijão vagem cultivar Macarrão Baixo, Isla Sementes®, do tipo determinado, obtidas comercialmente.

Inicialmente foi obtido o teor de água do lote de sementes através do método de estufa a 105°C. Duas subamostras de 4,5 gramas foram pesadas utilizando balança com duas casas decimais de precisão, e submetidas a secagem durante 24 horas. A pesagem final foi realizada a partir da estabilização da massa seca das amostras, e o resultado em base úmida (b. u.) expresso em porcentagem (BRASIL, 2009).

Para a confecção dos tratamentos foi obtida a curva de embebição da cultivar utilizando quatro repetições de vinte sementes com massa conhecida e teor

de água adequado ao armazenamento. As sementes foram alocadas entre três folhas de papel germitest embebidas em 2,5 vezes seu peso seco com água destilada, que por sua vez foram mantidos em bandejas dentro de germinador do tipo Mangelsdorf a 20°C. Foram realizadas pesagens durante 48 horas até o final da fase II da germinação, detectada pela protrusão radicular e início da fase III, a análise foi encerrada após 50% das sementes expor a radícula. Os resultados (b. u.) foram expressos em porcentagem de teor de água das sementes

O delineamento inteiramente casualizado esquema fatorial duplo, sendo o fator A tipos de tratamento de sementes (Peliculização com e sem secagem, pré embebição e biopriming) e B doses de *Bacillus subtilis* (0, 7, 14 e 28 mL de produto comercial (p. c.).kg de semente<sup>-1</sup>, com uso adicional de uma testemunha absoluta que não recebeu tratamentos.

Foram utilizados quatro tipos de tratamento de sementes:

Peliculização sem (PC) e com secagem (PCS): as amostras de sementes foram tratadas via imersão e agitação em calda durante três minutos em saco plástico. Sendo submetida posteriormente aos testes, PC, ou à secagem, PCS, sobre papel germitest durante 96 horas em condições laboratoriais até atingir condições de armazenamento com teor de água de 11%, para então serem utilizadas.

Pré Embebição (PE) e Biopriming (BP): as amostras foram mantidas entre três folhas de papel germitest embebidas em 2,5 vezes seu peso seco com calda. O material foi acondicionado em bandejas e mantido em germinador do tipo Mangelsdorf a 20°C durante 48 horas até o final da fase II da germinação. Amostras de PE foram semeadas e de BP secas sobre papel germitest em condições ambiente por 96 horas, até atingir umidade de armazenamento (cerca de 11%) novamente e ser submetidas aos testes.

As caldas contendo as doses 0,0; 7,0; 14,0 e 28,0 mL de produto comercial (p. c.) Serenade [*B. subtilis* linhagem QST 713 (mínimo de  $1 \times 10^9$  UFC.g<sup>-1</sup> de ativo)], Bayer Cropscience®, para cada quilograma de semente. Utilizou-se como veículo de calda 100 mL de água destilada. Os tratamentos na dose 0,0 mL de produto comercial (p. c.).kg de semente<sup>-1</sup> foram imersos em água destilada, enquanto a testemunha absoluta não foi submetida à técnicas de tratamentos e contato com calda.

Os tratamentos foram semeados em vasos de cerâmica com nove litros (22,3 cm de altura × 22,4 cm de diâmetro superior × 19,0 cm de diâmetro da

base). O substrato foi composto por Latossolo vermelho eutrófico, quantificado por pesagem para que todos os vasos recebam o mesmo volume de solo.

A análise química do solo indicou 5,4 de  $\text{pH}_{\text{CaCl}_2}$ ; 30,2  $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  de  $\text{P}^{3+}$ ; 3,68  $\text{cmol}_c\cdot\text{dm}^{-3}$  de  $\text{H}+\text{Al}^{3+}$ ; 0,0  $\text{cmol}_c\cdot\text{dm}^{-3}$  de  $\text{Al}^{3+}$ ; 2,66  $\text{cmol}_c\cdot\text{dm}^{-3}$  de  $\text{Ca}^{2+}$ ; 1,37  $\text{cmol}_c\cdot\text{dm}^{-3}$  de  $\text{Mg}^{2+}$  e 0,26  $\text{cmol}_c\cdot\text{dm}^{-3}$  de  $\text{K}^+$ , 3,9  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de C e 6,7  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de matéria orgânica. Para correção do pH foi aplicado por hectare o equivalente a 1,5 toneladas de calcário dolomítico e para adubação 20 toneladas de composto orgânico com 1,7% de N; 2,46% de  $\text{P}^{3+}$ ; 6,4% de  $\text{Ca}^{2+}$ ; 1,1% de  $\text{K}^+$ ; 0,73% de  $\text{Mg}^{2+}$ ; 0,21% de S; 28,72% de C orgânico e pH de 8,09.

A temperatura ambiente da casa de vegetação foi mantida entre 20 e 30°C através de sistema de refrigeração por indução de ar. O manejo de irrigação foi realizado de acordo com a necessidade da cultura (FILGUEIRA, 2003). Não houve necessidade do uso de fungicidas. Para o controle de pragas utilizou-se óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) e detergente neutro, nas dosagens 1,5 L p.c..ha<sup>-1</sup> e 5 mL.L<sup>-1</sup> de calda, respectivamente, diluídos em 200 L.ha<sup>-1</sup> de água.

Para caracterizar o desempenho dos tratamentos foram realizados os testes durante o período vegetativo:

Emergência de plântulas, no qual cinco sementes foram semeadas por vaso e contabilizadas as plântulas emergidas 10 dias após a semeadura. O resultado foi expresso em porcentagem.

Aos 10, 20, 30, 40, 50 e 60 dias após a semeadura foram avaliados a altura de planta expressa em centímetros, considerando a medida entre o colo da planta até a extremidade do trifólio central mais novo, no topo da planta. Avaliou-se também o comprimento (mm), a largura (mm) e a área do folíolo do trifólio central verdadeiro mais novo (mm<sup>2</sup>), através do uso de régua milimetrada e resultado aplicado na fórmula  $\text{Área Foliar} = 0,1026 \cdot \text{Largura}^{1,6871}$  (QUEIROGA et al., 2003).

Após a entrada no período reprodutivo, R7 – formação de vagens (OLIVEIRA et al., 2018) avaliou-se: número de trifólios verdadeiros e altura da inserção da primeira vagem em relação ao solo expressa em centímetros. Em R8 – enchimento de grãos antes do acúmulo de fibras nas vagens (BRANDÃO, 2001; CIAT, 1983), foram realizadas análises do número de frutos comerciais (acima de 10 cm), comprimento e número de grãos por vagem, além da massa fresca e seca de vagens, expressas em gramas. Realizaram-se em duas análises de colheita aos 60 e 66 dias após a semeadura considerando 42000 plantas por hectare, sendo os dados

expressos em kg.ha<sup>-1</sup>.

Os dados foram submetidos à análise de variância multivariada (MANOVA) e quando constatada a significância para tratamentos submetidos a análise de componentes principais (ACP). Houve separação das características em dois grupos, vegetativo e reprodutivo, e as análises ocorreram individualmente para cada grupo. Adicionalmente, empregou-se a rede de correlação de Pearson. As análises foram processadas no programa R (r-project.org) com auxílio dos pacotes Candisc, Faraway, Qgraph e FactoMineR (R, 2012).

#### 4.5 RESULTADOS

A curva de embebição das sementes da cultivar Macarrão Baixo é apresentada na figura 4.1. A taxa de hidratação representada pelo tempo de embebição em função do teor de água nas sementes possibilitou a detecção das três fases da germinação. Na fase I, entre 0 e 18 horas houve taxa de absorção média de 1,83%, enquanto na fase II, observou-se ganho de 0,49% de teor de água por hora, com duração total de 30 horas. A fase III, protrusão radicular de 50% das sementes avaliadas, foi atingida com 58% de teor de água. A curva de embebição permitiu a execução controlada dos tratamentos Pré Embebição (PE) e Biopriming (BP), submetendo-os a 48 horas de tratamento até o início da fase III.

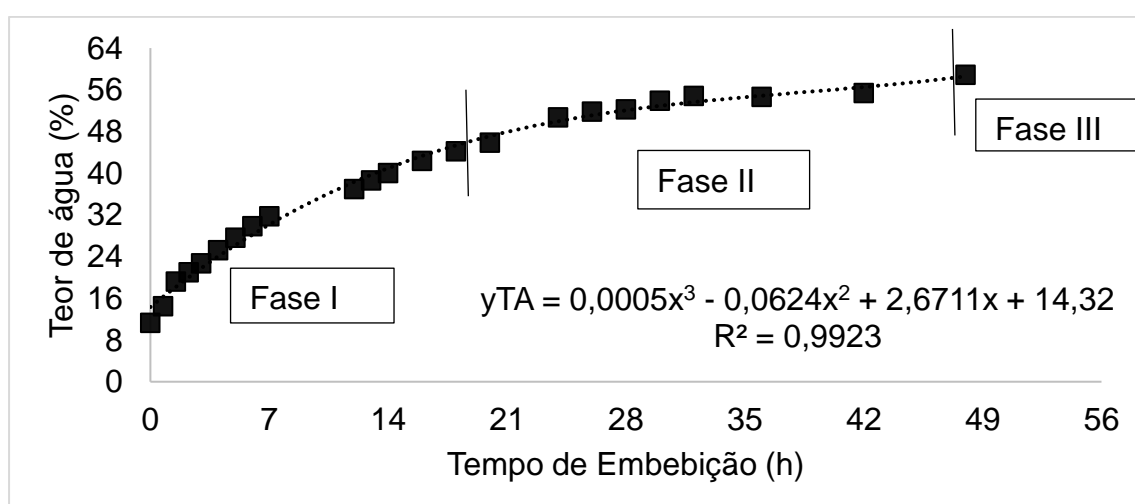


Figura 4.1. Curva de embebição para caracterização das fases da germinação do lote de sementes de feijão vagem cultivar Macarrão Baixo (IBANHES NETO et al., 2021).

Para apresentação da interação múltipla entre os tratamentos

aplicados e características avaliadas foram confeccionados dois mapas perceptuais bidimensionais. O mapa na figura 4.2, retratou o comportamento de características vegetativas avaliadas e os tratamentos de sementes e doses aplicados em feijão vagem. A Componente Principal 1 (CP1-Dim1) obteve explicação de 51,16% para as interações múltiplas, enquanto a Componente Principal 2 (CP2-Dim2) 18,23%. Somadas as componentes principais 69,39% das interações foram respondidas.

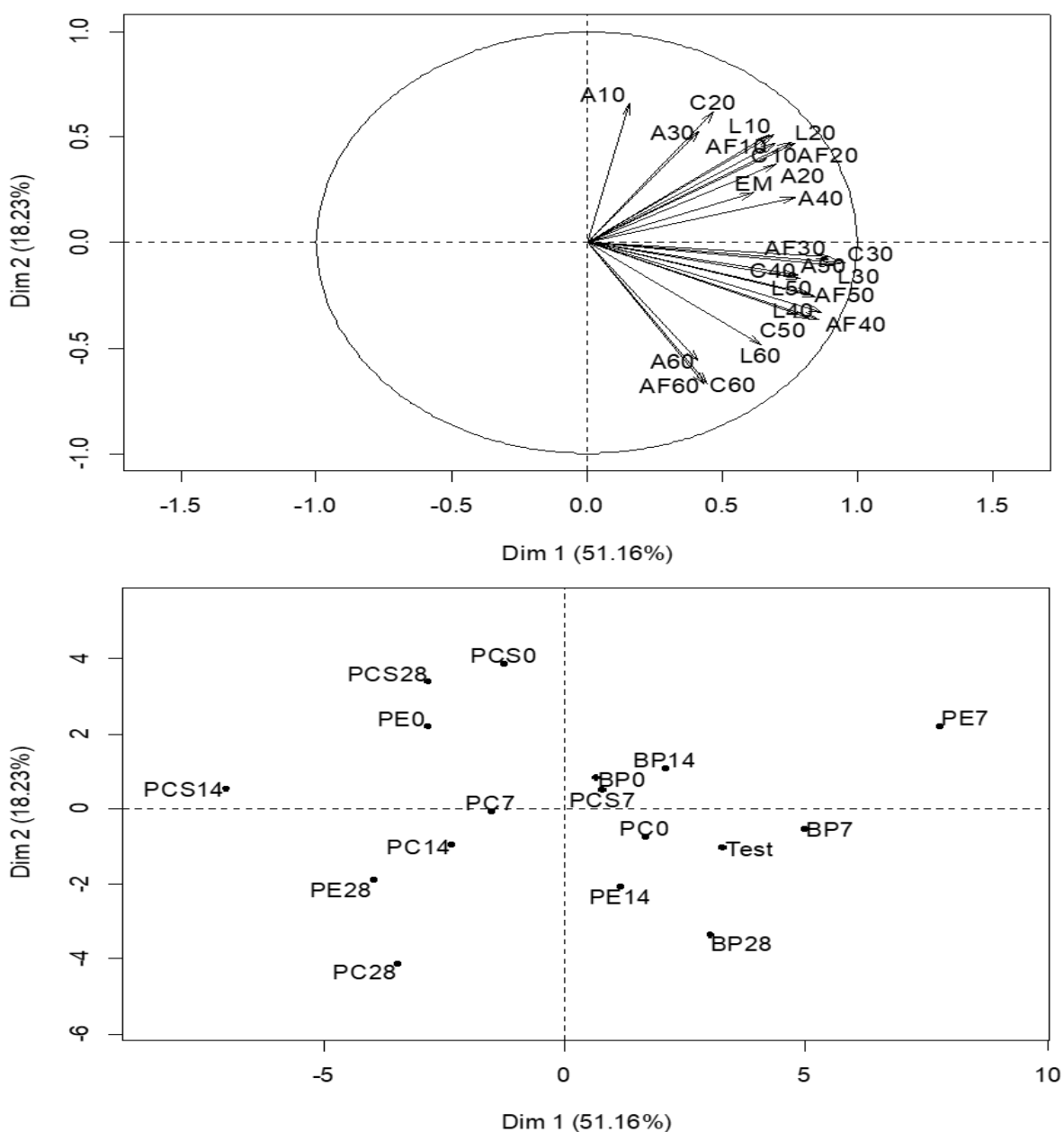


Figura 4.2. Mapa perceptual bidimensional para características Emergência de plântulas (EM), Altura de planta (A), Comprimento (C), Largura (L) e Área Foliar (AF) de feijão vagem durante o período vegetativo (10, 20, 30, 40, 50 e 60 dias após a

semeadura), sob tratamentos Testemunha Absoluta (Test.), Peliculização sem (PC) e Com Secagem (PCS), Pré Embebição (PE) e Biopriming (BP) com adição de doses de *B. subtilis* (0, 7, 14 e 28 mL de p. c..kg de semente<sup>-1</sup>).

A distribuição das características observadas com referência da CP1 posiciona Emergência de plântulas (EM), Altura de planta (A10, A20, A30, A40, A50 e A60), Comprimento de trifólio central (C10, C20, C30, C40, C50 e C60), Largura de trifólio central (L10, L20, L30, L40, L50 e L60) e Área Foliar do trifólio central (AF10, AF20, AF30, AF40, AF50 e AF60) à direita da CP1. Também neste lado encontram-se os tratamentos Testemunha absoluta, PC0, PCS7, PE7, PE14, BP0, BP7, BP14 e BP28 (Figura 4.2).

Sob o ponto de vista da CP2, à direita superior visualizou-se grande parte das avaliações iniciais até os 30 dias associadas aos tratamentos PCS7, PE7, BP0 e BP14, enquanto o quadrante à direita inferior concentram-se as avaliações finais, a partir de 40 dias majoritariamente, combinado com tratamentos testemunha absoluta, PC0, PE14, BP7 e BP28 (Figura 4.2).

Para melhor visualizar a resposta dos tratamentos dentro das características avaliadas, na figura 4.3 foi possível verificar a segregação dos tratamentos em dois grupos (cluster), o cluster 1 (cor preta) foi composto pelos tratamentos PC7, PC14, PC28, PCS0, PCS14, PCS28, PE0 e PE28. Enquanto o cluster 2 (cor vermelha) conteve testemunha absoluta, PC0, PCS7, PE7, PE14, BP0, BP7, BP14 e BP28, de modo que este agrupamento tem correlação positiva para com as características avaliadas.

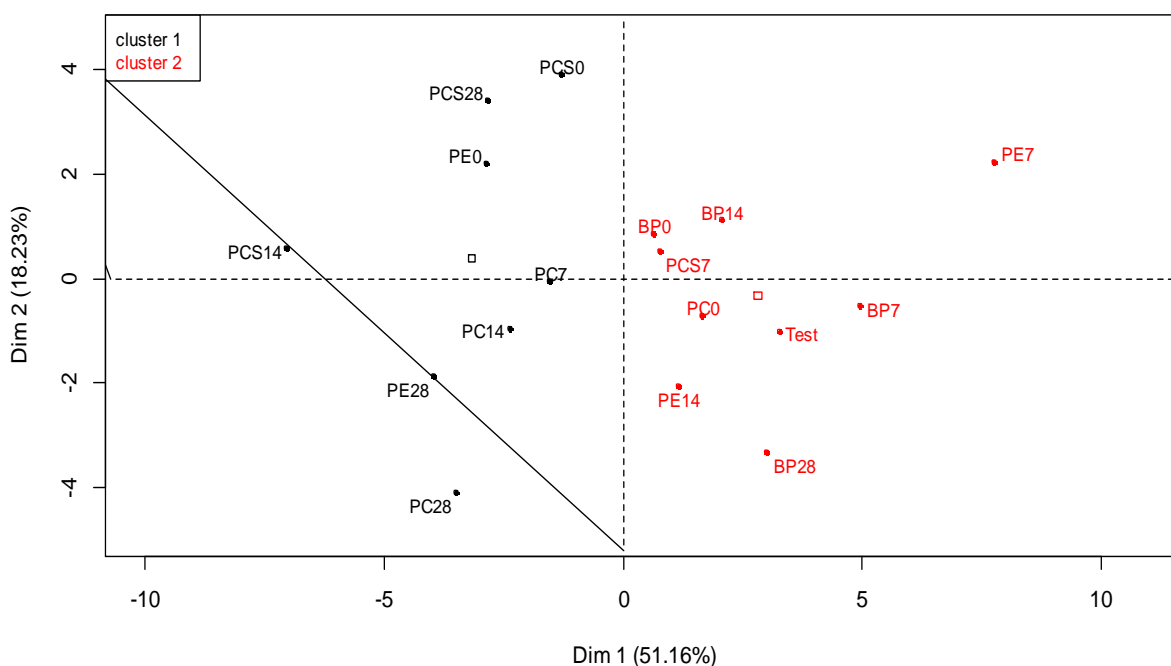


Figura 4.3. Mapa perceptual bidimensional para os tratamentos Testemunha Absoluta (Test.), Peliculização sem (PC) e Com Secagem (PCS), Pré Embebição (PE) e Biopriming (BP) com adição de doses de *B. subtilis* (0, 7, 14 e 28 mL de p. c..kg de semente<sup>-1</sup>) durante o período vegetativo.

O tratamento BP em todas as suas doses testadas assim como a testemunha absoluta mostraram-se correlacionados com maiores taxa de emergência após 10 dias, altura de planta, comprimento, largura e área foliar do folíolo central (Figura 4.3).

Na figura 4.4 encontra-se o mapa perceptual bidimensional com as características avaliadas no período reprodutivo. A CP1 explicou 41,46% dos dados, enquanto a CP2 33,66%. A soma das explicações foi de 75,12%, utilizando-se ambos componentes principais como referência para interpretação dos resultados, de forma a obter quatro quadrantes, esquerda inferior e superior, direita inferior e superior.

Na análise das características avaliadas, à direita inferior da CP1 os componentes de produção da primeira colheita foram localizados, tal como Número de Trifólios (NT), Número de Vagens comerciais (NV1), Número de Grãos por vagem (NG1), Massa Fresca de vagem (MF1), Massa Seca de vagem (MS1) e Rendimento de Colheita (RC1). À direita superior, estiveram os componentes de produção avaliados na segunda colheita, com exceção de NT. À esquerda inferior esteve apenas Altura de Vagem (AV) (Figura 4.4).

Sobre a análise do comportamento dos tratamentos em relação à

CP1, à direita inferior encontram-se PE7, PE14, BP0, BP7 e BP28, sendo estes correlacionados com características de produtividade elevada na primeira colheita, enquanto a segunda colheita e no rendimento total correlacionaram-se com testemunha absoluta, PC28 e PE28. Os tratamentos PC0, PC7, PCS0, PCS28 e BP14 correlacionaram-se com altura de vagem (figura 4.4).

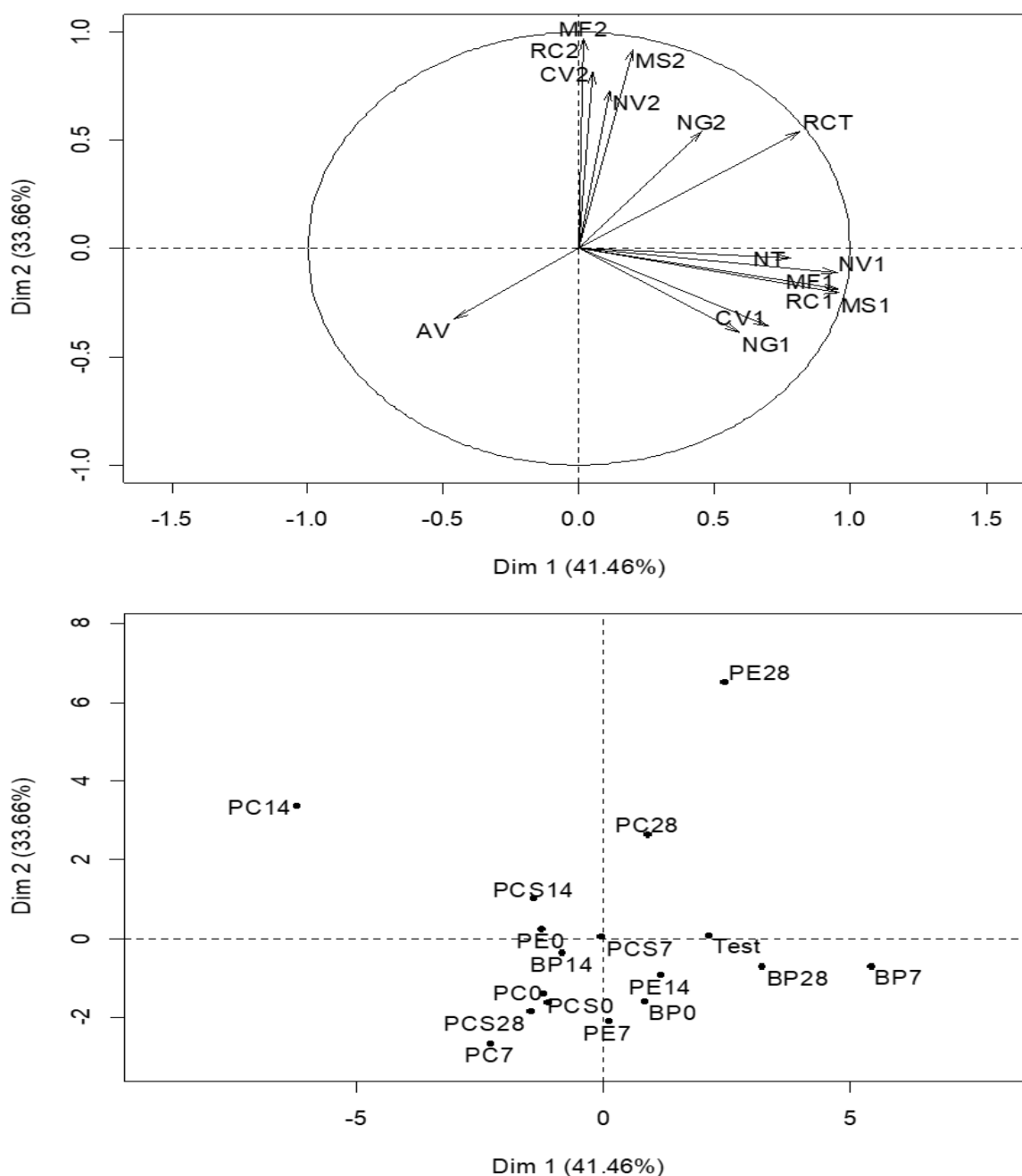


Figura 4.4. Mapa perceptual bidimensional para características altura de vagem (AV), Número Trifólios (NT), Número de Vagens (NV), Número de Grãos por vagem (NG),

Massa Fresca de vagem (MF), Massa Seca de vagem (MS) e Rendimento de Colheita (RC) de feijão vagem durante o período reprodutivo, submetido aos tratamentos Testemunha Absoluta (Test.), Peliculização sem (PC) e Com Secagem (PCS), Pré Embebição (PE) e Biopriming (BP) com adição de doses de *B. subtilis* (0, 7, 14 e 28 mL de p. c..kg de semente<sup>-1</sup>).

Na figura 4.5 observou-se quatro agrupamentos distintos, o primeiro (cor preta) compreende o tratamento PC14, sem correlação com características de produção avaliadas na primeira colheita. No grupo 2 (cor vermelha) encontraram-se a testemunha absoluta (test), PC0, PC7, PC28, todos os tratamentos PCS, PE0, PE7, PE14, BP0 e BP14. O grupo 3 (cor verde) foi composto por PE28, enquanto o grupo 4 (cor azul) teve os tratamentos BP7 e BP28. O destaque ficou para os tratamentos BP 7 e BP28 correlacionados com as componentes principais da primeira avaliação, enquanto PE 28 foi correlacionado fortemente com a segunda avaliação.

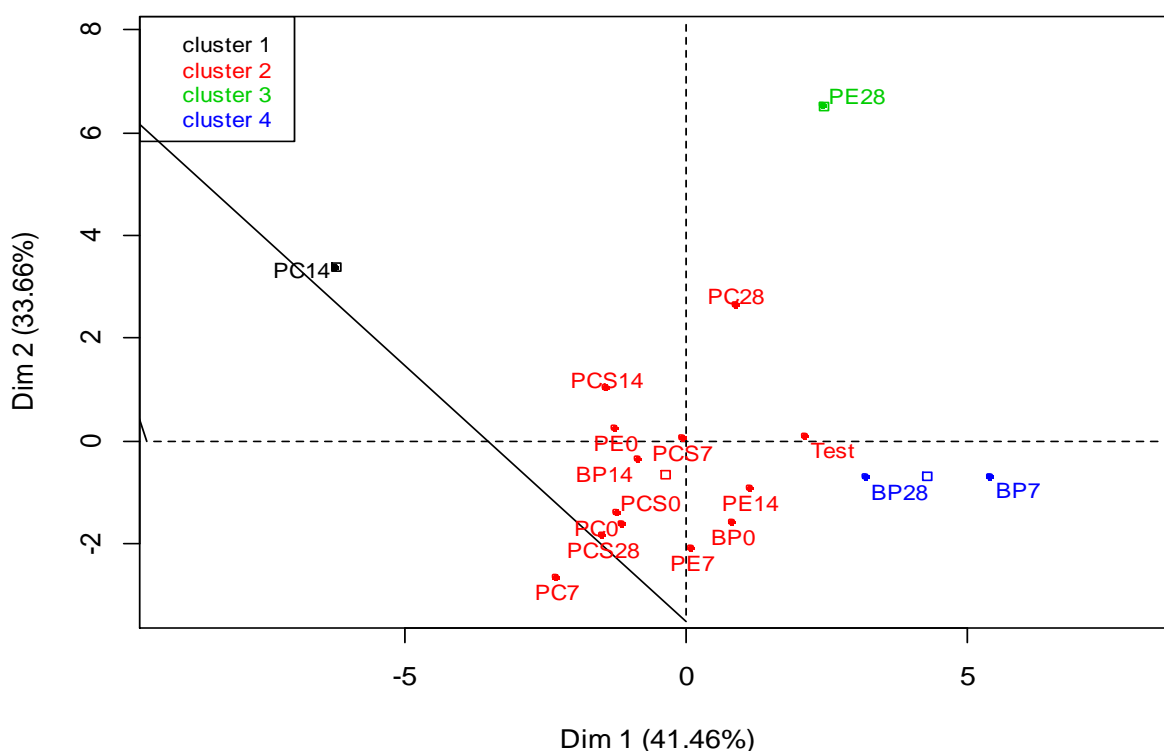


Figura 4.5. Mapa perceptual bidimensional para os tratamentos Testemunha Absoluta (Test.), Peliculização sem (PC) e Com Secagem (PCS), Pré Embebição (PE) e Biopriming (BP) com adição de doses de *B. subtilis* (0, 7, 14 e 28 mL de p. c..kg de semente<sup>-1</sup>) durante o período reprodutivo.

A figura 4.5 destaca a rede de correlação de Pearson, na qual foi possível visualizar que as características iniciais avaliadas até o 20º dia se correlacionaram positivamente (linha verde) e fortemente (linha espessa), com exceção da EM apesar da proximidade da característica.

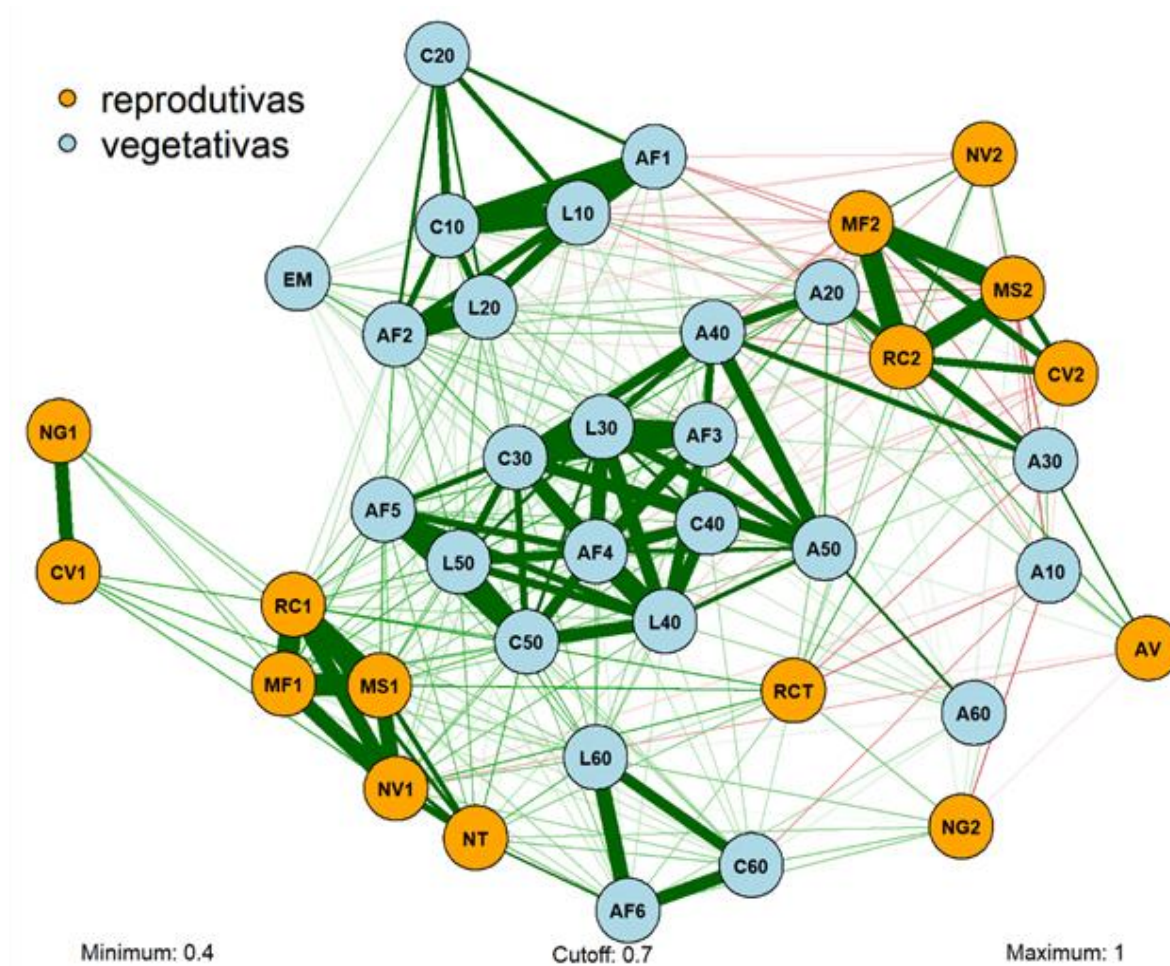


Figura 4.6. Rede de correlação de Pearson (linha verde positiva e vermelha negativa) composta pelas características avaliadas nos períodos vegetativo (Emergência de plântulas (EM), Altura de planta (A), Comprimento (C), Largura (L) e Área Foliar (AF) de feijão vagem durante o período vegetativo (10, 20, 30, 40, 50 e 60 dias após a semeadura)) e reprodutivo (altura de vagem (AV), Número Trifólios (NT), Número de Vagens (NV), Número de Grãos por vagem (NG), Massa Fresca de vagem (MF), Massa Seca de vagem (MS) e Rendimento de Colheita por colheita (RC) e total (RCT)) de feijão vagem determinado cultivar Macarrão Baixo.

Contudo, após o 30º dia de análises, as avaliações do período

vegetativo concentram-se no centro da rede, se correlacionando fortemente (linha verde espessa) entre si, mas segregando os dois períodos de colheita. Resultados com melhor desempenho aos 50 e 60 dias se mantiveram próximos da primeira colheita, o que possibilita inferir que se desenvolveram melhor com maior altura, número de trifólios e área foliar, acarretando em elevado desempenho reprodutivo logo na primeira colheita (Figura 4.6).

As avaliações da segunda colheita mantiveram correlação negativa e fraca (linha vermelha) com características vegetativas mensuradas até os 30 dias de cultivo (Figura 4.6).

#### 4.6 DISCUSSÃO

O comportamento da testemunha absoluta nas avaliações permite afirmar que o lote original era de qualidade fisiológica elevada. Nos períodos avaliados, a testemunha esteve entre os melhores tratamentos observados no vegetativo e entre os medianos no reprodutivo, tal como observado nas figuras 4.3 e 4.5. Os tratamentos aplicados e comparados com o tratamento referência devem manter ou agregar atributos benéficos.

O uso de técnicas como PC ou PCS em sua maioria tiveram desempenho inferior, correlacionando-se à esquerda das componentes principais de referência nos dois períodos de cultivo. Isto pode estar atrelado à condição do vigor das sementes após os tratamentos. Lopes et al. (2018) avaliaram o uso de priming pelo método do tambor em feijão comum, e afirmaram que o vigor é a primeira característica afetada na ocorrência de dano por embebição, e ainda que em casos extremos pode afetar a viabilidade da semente.

Ogawa et al. (2016) estudaram a submersão de sementes de feijão preto e o desenvolvimento inicial das plantas, e encontraram danos nas plântulas após quatro horas. Os autores alegam que a entrada abrupta de água na semente proporciona hipoxia ou ainda anoxia, o que acarreta em inversão da via respiratória de aeróbica para anaeróbica, o que afeta diretamente o vigor e o desenvolvimento inicial.

Conforme Silva et al. (2014) a absorção de água pelas sementes de feijão ocorre em pontos específicos do tegumento e não uniformemente tal como pode

ser o contato com a água. Detalham ainda que as zonas de crescimento meristemáticas, radícula e plúmula são mais sensíveis à deterioração. Portanto além das características de parte aérea avaliadas no presente trabalho, danos não observados podem ter sido causados às raízes no início do cultivo.

Para Forti et al. (2009) a protrusão e o crescimento da plântula demandam energia e material de reserva para a confecção de novos tecidos, tal maquinário fisiológico só é acionado com quantidade mínima de água para hidratação e catalisação de processos metabólicos por enzimas nos cotilédones, sendo máximo quando atingido a disponibilidade hídrica ideal. Os autores testaram sete cultivares de feijão comum submetidas à germinação com teores de água das sementes 9, 11 e 13% em substratos com disponibilidade hídrica de -0,04, -0,1, -0,2 e -0,4 Mpa no substrato, encontrando resposta de redução na germinação conforme aumenta-se a deficiência hídrica para todos os materiais.

Os tratamentos que proporcionaram embebição controlada, utilizando-se do cenário proposto pela curva de embebição (figura 4.1) da cultivar obtiveram melhor desempenho nas avaliações vegetativas e reprodutivas, com destaque para PE7, PE14, BP0, BP7 e BP28 que se mantiveram à direita da CP1. Isto somado ao resultado apresentado na rede de correlação de Pearson, sustentam o fato de aumento de crescimento e desenvolvimento desde o estabelecimento de plântulas, assim como o aumento de tamanho de planta e de área foliar podem refletir em produção elevada na primeira colheita, portanto precocidade.

Mitra et al. (2021) apontaram esta tendência de uso da técnica de biopriming com rizobactérias na modernização da agricultura, reforçando ganhos das características citadas, além de biocontrole de fitopatógenos e favorecimento à sustentabilidade nos cultivos.

Nunes et al. (2018) avaliaram a pré hidratação de sementes de feijão caupi relatam que sementes submetidas a esta técnica apresentam melhor organização do complexo de membranas, o que conseqüentemente reduz o teor de lixiviados no meio quando comparados com sementes que não foram pré embebidas. Fato observado na superioridade de PE e BP sobre PC e PCS.

Aragão et al. (2002) analisaram o efeito de ciclos de embebição e secagem sobre sementes de feijão, detectaram favorecimento dos lotes embebidos e desidratados durante ciclos de 6, 12 e 24 horas, com aumento na primeira contagem da germinação. Guimarães et al. (2013) verificaram que a pré embebição de sementes

de melancia durante 12 horas favoreceu a emergência de plântulas, enquanto hidratações por 48 e 72 horas originaram plântulas maiores e pesadas.

Resultados favoráveis ao condicionamento fisiológico também foram encontrados por Kumari et al. (2018) que avaliaram o crescimento de plantas de *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek oriundas de sementes submetidas à biopriming com *Pseudomonas aeruginosa* BHU B13-398 e *B. subtilis* BHU M., com aumento de 32,26% e 13,38% em comprimento de parte aérea, além de 84,60% e 61,94% no comprimento de raiz, para os respectivos microrganismos. Resultado atribuído pelos autores aos testes prévios positivos para ação solubilizadora de sideróforos, fosfato, amônia e cianeto de hidrogênio.

Neji et al. (2020) testaram o uso do biopriming em sementes de *P. vulgaris* com isolados nativos de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas, *Rhizobium* spp. e *Trichoderma* spp. e encontraram aumento na germinação, crescimento de plantas, rendimento na colheita de vagens e de sementes, qualidade de sementes quando aplicado estirpes específicas de cada um dos gêneros ou em combinação.

Monalisa et al. (2017) aplicaram *Trichoderma* spp. e *Pseudomonas fluorescense* via biopriming em sementes de feijão comum também encontraram que esta última bactéria proporcionou acréscimo na germinação, no comprimento de parte aérea e radicular, além do peso de muda. Os autores justificam que além do efeito benéfico dos microrganismos, o conhecimento e uso da curva de embebição pré determinado para a espécie, colabora para evitar danos por embebição e maximizar o uso de reservas.

Alguns tratamentos apresentaram destaque no desempenho em apenas um período, tal como PC0 e PCS7 no vegetativo, e PC28 e PE28 no reprodutivo. Contudo, os dois primeiros se correlacionaram de forma fraca com os vetores de características vegetativas, quando comparado aos melhores tratamentos à direita da CP1 nas figuras 4.4 e 4.5. Os destaques apenas no reprodutivo, sofreram interferência da dose elevada de produto comercial a base de *B. subtilis*, devendo ser realizados novos estudos para estes tratamentos com doses superiores.

A escolha da dose a ser utilizada nos tratamentos é baseada no custo benefício da aplicação, o que se mostrou variável dentro dos tratamentos utilizados. Quando aplicado em pré embebição, as melhores doses resposta foram entre 7 e 14 mL de p. c./kg de semente<sup>-1</sup>. Enquanto o uso do biopriming apontou vantagens em

todas as doses testadas. Conforme citado anteriormente, em casos de infestação de fitopatógenos que respondem à aplicação de *B. subtilis* as doses podem ser ajustadas.

Lazzaretti e Bettiol (1997) testaram a composição de novo produto a base de pó molhável associado às células e aos metabólitos de *B. subtilis* sobre variáveis como biocontrole, nodulação e emergência inicial de arroz, trigo, feijão e soja. A dose utilizada de  $2,57 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup> não afetou a emergência das culturas, possibilitou aplicação conjunta com inoculantes sem prejuízos à nodulação, além do biocontrole semelhante aos fungicidas recomendados ante *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, e *Aspergillus* sp..

Costa et al. (2019) avaliaram a aplicação de doses entre 0 e 8 mL.kg de semente<sup>-1</sup> de produto comercial a base de *B. subtilis* em duas cultivares de soja, visualizaram aumento no índice Spad de clorofila de ambos os materiais, além do acréscimo de massa fresca de parte aérea aos 30 DAS e volume de raízes aos 45 DAS na cultivar TMG132.

Tu et al. (2016) testaram efeitos de doses e longevidade de microcápsulas de *B. subtilis* aplicados como recobrimento nas sementes de algodão, encontrando acréscimo de 2,70% no peso de plântulas, 25,13% no comprimento de raiz, 46,47% na massa fresca e 33,21% na massa seca de plantas quando utilizado 10% da composição do recobrimento com microcápsulas da RPCP.

Ibanhes Neto et al. (2021) testaram diferentes tipos de tratamentos associados às doses de *B. subtilis* entre 0 e 28 mL de p. c..kg de semente<sup>-1</sup> de feijão vagem para características referentes ao potencial fisiológico de sementes em laboratório, verificaram melhor desempenho do vigor com uso de PE em calda com 16 a 20 mL de p. c..kg de semente<sup>-1</sup>. Já o uso de BP privilegiou a massa seca de plântulas 18 e 22 mL de p. c..kg de semente<sup>-1</sup>. Fato este pode estar associado à melhor resposta para características avaliadas no período vegetativo e os componentes de rendimento no presente estudo.

#### 4.7 CONCLUSÃO

Os tratamentos pré embebição associados às doses 7 e 14 mL de Serenade.kg de semente<sup>-1</sup>, assim como os submetidos ao biopriming nas doses 0, 7

e 28 mL de Serenade.kg de semente<sup>-1</sup> favorecem as características de crescimento e desenvolvimento durante o período vegetativo de feijão vagem. Os mesmos tratamentos aumentam as componentes de rendimento de feijão vagem, com colheita mais rápida comparada aos tratamentos peliculização e peliculização com secagem.

#### 4.8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo da influência de formas de aplicações associadas às doses de *B. subtilis* sobre o armazenamento de sementes tratadas e seu uso a campo, visando potencializar a implantação da cultura foi realizado com êxito.

Os resultados apresentados permitem dar segmento à linha de pesquisa de promoção de crescimento inicial, biocontrole de fitopatógenos e solubilização de nutrientes que tem voltado à tona, muito por conta da sustentabilidade. Além disso, abre precedentes para estudos futuros envolvendo outras áreas além da fitotecnia, além do efeito a longo prazo do uso desta prática, o qual pode enriquecer o ambiente quando utilizado na técnica de co-inoculação com outros microrganismos.

Apesar da dificuldade que envolve trabalhar com microrganismos e a manutenção de sua viabilidade, a metodologia foi projetada para fácil aplicação, utilizando materiais, ferramentas e produtos ao alcance do produtor. Novas formas de aplicação com as mesmas doses, máquinas de tratamento que permitam usar o tratamento, testes da técnica em diferentes microclimas, além da associação à fertilizantes e colaboração da técnica na eficiência de controle fitossanitários são passos que etapas a ser discutidas e testadas futuramente.

## REFERÊNCIAS

AL-ANI, Ali; BRUZAU, Françoise; RAYMOND, Philippe; SAINT-GES, Véronique; LEBLANC, Jean Marc; PRADET, Alain. Germination, respiration, and adenylate energy charge of seeds at various oxygen partial pressures. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 79, n. 3, p. 885-890, nov., 1985.

ALMEIDA, Antônio L. G.; ALCÂNTARA, Rosa M.; NÓBREGA, Rafaela S.; NÓBREGA, Júlio C.; LEITE, Luiz F.; SILVA, José A. L.. Produtividade do feijão-caupi cv BR 17 Gurguéia inoculado com bactérias diazotróficas simbióticas no Piauí. **Embrapa Meio-Norte**: Artigo em periódico indexado (ALICE), Teresina, 2010.

ALMEIDA, Willian F. de; PAZ, Vital P. da S.; JESUS, Ana P. C. de; SILVA, Jucicléia S. da; GONÇALVES, Karoline S.; OLIVEIRA, Andressa S. de. Yield of green beans subjected to continuous and pulse drip irrigation with saline water. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 22, n. 7, jul., 2018.

ALVES, Antônio Carlos; LIN, Hiow Shong. Tipo de embalagem, umidade inicial e período de armazenamento em sementes de feijão. **Scientia Agraria**, Piracicaba, v. 4, n. 1-2, p. 21-26, 2003.

ANDRADE, Messias José Bastos. **Sistema de produção** – Colheita e Pós colheita. 2005. Disponível em: [https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/territorio\\_sisal/arvore/CONT000fckm577202wx5eo0a2ndxy5oh7h4q.html#:~:text=Ponto%20de%20colheita%20e%20seca gem&text=Independentemente%20do%20sistema%20de%20colheita,de%20fungos%20e%20de%20carunchos](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/territorio_sisal/arvore/CONT000fckm577202wx5eo0a2ndxy5oh7h4q.html#:~:text=Ponto%20de%20colheita%20e%20seca gem&text=Independentemente%20do%20sistema%20de%20colheita,de%20fungos%20e%20de%20carunchos). Acessado em 17 jul. 2019.

ANGULO, Violeta C.; SANFUENTES, Eugenio A.; RODRIGUEZ, Francisco Rodríguez; SOSSA, Katherine E.. Caracterização de rizobactérias promotoras de crescimento de mudas de *Eucalyptus nitens*. **Revista Argentina de Microbiologia**, Espanã, v. 46, n. 4, p. 338-347, dez. 2014.

ARAGÃO, Carlos Alberto; DANTAS, Bárbara França; ALVES, Elza; CORRÊA, Marcelo Rocha. Sementes de feijão submetidas a ciclos e períodos de hidratação-secagem. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 59, n. 1, p. 87-92, jan./mar. 2002.

ARAUJO, Fábio Fernando; GUABERTO, Luciana Machado; SILVA, Iassanã Francisco. Bioprospecção de rizobactérias promotoras de crescimento em *Brachiaria brizantha*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, vol. 41, no. 3, mar. 2012.

ARAUJO NETO, Anderson Costa; NUNES, Renan Thiago Carneiro; ROCHA, Pablo Alves; ÁVILA, Joseani Santos; MORAIS, Otoniel Magalhães. Germinação e vigor de sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) de diferentes tamanhos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 9, n. 2, p. 71 – 75, 2014.

ARAUJO, Damiana Justino; AZEREDO, Gilvaneide Alves; GUEDES, Luciano Raposo; SILVA, João Henrique Constantino Sales; TARGINO, Vitor Araujo. Conservação de

sementes de feijão-caupi sob diferentes condições de armazenamento. **Diversitas Journal**, Santana do Ipanema, v. 6, n. 1, p. 74-88, 2021.

ATHANÁZIO, João Carlos; BRANDÃO, Rosangela Aparecida Parra. **Características das vagens de feijão-vagem em relação à época de colheita**. Disponível em: [http://www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos/Download/Biblioteca/44\\_683.pdf](http://www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos/Download/Biblioteca/44_683.pdf) Acesso em 17 jul. 2019.

AUMONDE, Tiago Zanatta; MARINI, Patricia; MORAES, Dario Munt; MAIA, Manoel de Souza; PEDÓ, Tiago; TILLMANN, Maria Angela André; VILLELA, Francisco Amaral. Classificação do vigor de sementes de feijão-miúdo pela atividade respiratória. **Interciência**, Caracas, v. 37, n. 1, p. 55-58, 2012.

BAIDA, Fernando César; SANTIAGO, Débora Cristina; TAKAHASHI, Lúcia Sadayo Assari, ATHANAZIO, João Carlos; CADIOLI, Marina Capparelli; LEVY, Ricardo Michael. Reação de linhagens de feijão-vagem ao *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis* em casa de vegetação. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 33, n. 2, p. 237-241, 2011.

BARBA, Javier Toledo; REIS, Erlei M.; FORCELINI, Carlos A.. Efeito de solventes orgânicos usados como veículos de fungicidas no controle in vitro e in vivo da incidência e da transmissão de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de cevada. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 2, p.136-141, mar./abr. 2003.

BARROS, Rosana Gonçalves; BARRIGOSI, José Alexandre F.; COSTA, Jefferson Luis da Silva. Efeito do armazenamento na compatibilidade de fungicidas e inseticidas, associados ou não a um polímero no tratamento de sementes de feijão. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 3, p. 459-465, 2005.

BAYS, Rodrigo; BAYDET, Leopoldo; HENNING, Ademir Assis; LUCCA FILHO, Orlando. Recobrimento de sementes de soja com micronutrientes, fungicida e polímeros. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p. 60-67, 2007.

BRAGANTINI, Cláudio. Alguns aspectos do armazenamento de sementes e grãos de feijão. **Embrapa Arroz e Feijão-Documentos (INFOTECA-E)**, 2005.

BRANDÃO, Rosangela Aparecida Parra. **Avaliação da qualidade das vagens e sementes de feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.), cvs. UEL-1 e AG-274, em função da idade e época de cultivo**. 2001. 22 fls. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina. 2001.

BEWLEY, J. Derek; BLACK, Michael. **Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination**. Springer-Verlag, New York. 1982.

BOARI, Alessandra Jesus; QUADROS, Auane Fernanda Ferreira; NECHET, Kátia Lima; KAUFFMANN, Caterynne Melo. **Mela em feijão vagem**. Comunicado técnico 320. EMBRAPA, Belém do Pará, 2020.

BRASIL. **Regras para Análise de Sementes**. Brasil: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 395 p., 2009.

BRITO, Renata; LOPES, Higino Marcos; FERNANDES, Maria do Carmo de Araújo;

AGUIAR, Luiz Augusto; CEARÁ, Paula Senna. Avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) produzidas sob manejo orgânico e submetidas ao congelamento. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Florianópolis, v. 8, n. 3, p. 131-140, 2013.

BUHELDT, Antonio Carlos; METZLER, Carlos Renato; CASTIGLIONI, José Lucas; DASSOLLER, Tiago Ferrarezi; LUBIAN, Matheus Sergio. Aplicação de bioestimulantes e *Bacillus subtilis* na germinação e desenvolvimento inicial da cultura do milho. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 6, n. 4, p. 69-74, out./dez. 2019.

CAMELO, Maurício. R.; VERA, Sulma Paola; BONILLA, Ruth Rebeca. Mecanismo de acción de las rizobactérias promotoras del crecimiento vegetal. **Revista Corpóica – Ciência e Tecnologia Agrícola**, v. 12, n. 2, p. 159-166, 2011.

CANTLIFFE, Daniel J.. Seed germination for transplants. **HortTechnology**, v. 8, n. 4, p. 499-503, 1998.

CAULIER, Simon; NANNAN, Catherine; GILLIS, Annika; LICCIARDI, Florent; BRAGARD, Claude; MAHILLON, J. Overview of the antimicrobial compounds produced by members of the *Bacillus subtilis* group. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. 302, p. 1-19, 2019.

CAVALCANTE, Alian Cássio Pereira; CAVALCANTE, Adailza Guilherme; DINIZ NETO, Manoel Alexandre; MATOS, Bruno Ferreira; DINIZ, Belísia Lúcia Moreira Toscano Diniz; BERTINO, Antonio Michael Pereira. Inoculação das cultivares locais de feijão-caupi com estirpes de rizóbio. **Revista de Ciências Agrárias - Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, Belém, v. 60, n. 1, p. 38-44, 2017.

CERQUEIRA, Wilza Fagundes; MORAIS, Jildemar Santos; MIRANDA, Jean Santana; MELLO, Izis Katarina Santana; SANTOS, Adailson Feitoza de Jesus. Influência de bactérias do gênero bacillus sobre o crescimento de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 11, n. 20, p. 82, 2015.

CHAGAS, Lillian França Borges; MARTINS, Albert Lennon Lima; CARVALHO FILHO, Magno Rodrigues; MILLER, Luciane de Oliveira; OLIVEIRA, José Cláudio; CHAGAS JUNIOR, Aloisio Freitas. *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* sp. no incremento da biomassa em plantas de soja, feijão-caupi, milho e arroz. **Revista Agri-Environmental Sciences**, Palmas, v. 3, n. 2, 2017.

CIAT. Etapas de desarrollo de la planta de frijol común. In: FERNÁNDEZ O., Fernando O.; GEPTS, Paul L.; LÓPEZ GENES, Marceliano; OSPINA O., Héctor Fabio; HIDALGO H., Rigoberto. **Etapas de desarrollo de la planta de frijol común**. Cali, Colombia: CIAT, 1983. 26 p.

COELHO, Luciana Freitas; FREITAS, Sueli dos Santos; MELO, Arlete Marchi Tavares; AMBROSANO, Gláucia Maria Bovi. Interação de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e de *Bacillus* spp. com a rizosfera de diferentes plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, n. 6, p. 1413-1420, 2007.

CORRÊA, Bianca Obes; MOURA, Andrea Bittencourt; DENARDIN, Norimar d'Ávila.; SOARES, Vanessa Nogueira; SCHÄFER, Jaqueline Tavares; LUDWIG, Juliane. Influência da microbiolização de sementes de feijão sobre a transmissão de *Colletrichum Lindemuthianum* (Saac e Magn). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 156-163. 2008.

CORRÊA, Bianca Obes; MOURA, Andrea Bittencourt; GOMES, C. B.; SOMAVILLA, L.; ROCHA, D. J. A.; ANTUNES, I. F.. Potencial da microbiolização de sementes de feijão com rizobactérias para o controle de nematoide das galhas. **Nematropica**, Jackson, v. 42, n. 2, 2012.

COSTA, Caroline Jácome; VILLELA, Francisco Amaral; BERTONCELLO, Mirela Rossetto; TILLMANN, Maria Ângela André; MENEZES, Nilson Lemos de. Pré-hidratação de sementes de ervilha e sua interferência na avaliação do potencial fisiológico. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, n. 30, v. 1, p. 198-207, 2008.

COSTA, Caroline Jácome. **Deterioração e armazenamento de sementes de hortaliças. Pelotas**: Embrapa Clima Temperado, 2012. 30p.

COSTA, Paula Nepomuceno; BUENO, Silvana Sales Catarina; FERREIRA, Gisela. Fases da germinação de sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 1, p. 253–260, 2011.

COSTA, Elaine Martins da; NÓBREGA, Rafaela Simão Abrahão; CARVALHO, Fernanda de; TROCHMANN, André; FERREIRA, Linnajara de Vasconcelos Martins; MOREIRA, Fatima Maria de Souza. Promoção do crescimento vegetal e diversidade genética de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 9, p. 1275-1284, 2013.

COSTA, Letícia Carolina; TAVANTI, Renan Francisco Rimoldi; TAVANTI, Tauan Rimoldi; PEREIRA, Cassiano Spaziani. Desenvolvimento de cultivares de soja após inoculação de estirpes de *Bacillus subtilis*. **Nativa**, Sinop, v. 7, n. 2, p. 126-132, mar/abr. 2019.

CRUZ, José Manoel Ferreira de Lima; MEDEIROS, Eliane Cecília; FARIAS, Otília Ricardo; SILVA, Edcarlos Camilo; NASCIMENTO, Luciana Cordeiro. Microbiolização de sementes de algodoeiro orgânico com *Trichoderma* sp. e *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 42, 2020.

CUSTODIO, Ceci Castilho; MACHADO NETO, Nelson Barbosa; ITO, Hélio Massaki; VIVAN, Márcia Regina. Efeito da submersão em água de sementes de feijão na germinação e no vigor. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 24, n. 2, p. 49-54, 2002.

DAMALAS, Christos. A.; KOUTOUBRAS, S. D.; FOTIADIS, S. Hydro-priming effects on seed germination and field performance of Faba bean in spring sowing. **Agriculture**, Basel, n. 9, v. 9, p. 201, 2019.

DALCHIAVON, Flávio Carlos; PASSOS e CARVALHO, Morel. Correlação linear e espacial dos componentes de produção e produtividade da soja. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 541-552, abr. 2012.

DALZOTTO, Laís; TORTELLI, Brenda; STEFANSKI, Francine Spitzza; SACON, Deivid; SILVA, Vanessa Neumann; MILANESI, Paola Mendes. Creole bean seeds microbiolization with doses of *Trichoderma harzianum*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 50, n. 5, 2020.

DINIZ, Kênia Almeida; OLIVEIRA, João Almir; GUIMARÃES, Renato Mendes; CARVALHO, Maria Laene Moreira de; MACHADO, José da Cruz. Incorporação de microrganismos, aminoácidos, micronutrientes e reguladores de crescimento em sementes de alface pela técnica de peliculização. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 3, p. 37-43, 2006.

FANAN, Sheila; NOVENBRE, Ana Dionisia da Luz Coelho. Condicionamento fisiológico de sementes de berinjela. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 4, p. 675-683, 2007.

FANTINEL, Vinícius Spolaor; OLIVEIRA, Luciana Magda; CASA, Ricardo Trezzi; ROCHA, Emerson Couto; SCHNEIDER, Priscilla Félix; VICENTE, Dalciana. Tratamentos de sementes de goiaba-serrana (*Acca sellowiana*): efeito na incidência de fungos e na germinação. **Revista Brasileira de Biociência**, Porto Alegre, v. 13, n. 2, p. 84-89, abr./jun. 2015.

FAVERO, Vinicius Oliosi; MICHEL, Daniele Cabral; SILVA JÚNIOR, Elson Barbosa; PAULO, Fernanda Santana; RUMJANEK, Norma Gouvêa; XAVIER, Gustavo Ribeiro. Pré-inoculação de *Bradyrhizobium yuanmingense* em sementes de feijão-caupi utilizando veículo polimérico e turfoso. **Cadernos de Agroecologia – Anais do VI CLAA, X CBA e V SEMDF – v. 13, n. 1, jul. 2018.**

FILGUEIRA, Fernando Antônio Reis. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2 ed. Viçosa, 2003.

UFV, 2003. FORTI, Victor Augusto; CICERO, Silvio Moure; PINTO, Tais Leite Ferreira. Efeitos de potenciais hídricos do substrato e teores de água das sementes na germinação de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 63-70, 2009.

FRANZIN, Simone Medianeira; MENEZES, Nilson Lemos; GAPCIA, Danton Camacho, TILLMANN, Maria Angela André. Pré-germinação de sementes de arroz de sequeiro. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 68-75, 2007.

FREITAS, Raquel Alves; NASCIMENTO, Warley Marcos. **XII Curso sobre Tecnologia de Produção de Sementes de Hortaliças - Beneficiamento de sementes de hortaliças (2012)**. Disponível em: <<https://core.ac.uk/download/pdf/15444686.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

FURLAN, Felipe Favoretto; FREIRIA, Gustavo Henrique; ALVES, Guilherme Cito Alves; GOMES, Guilherme Renato; ALMEIDA, Luiz Henrique Campos; FURLAN, Matheus Favoretto; TAKAHASHI, Lúcia Sadayo Assari. The use of various strains of *Rhizobium tropici* for inoculation of snap bean cultivars with a determinate growth pattern. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 6, p. 3965-3971, nov.-dez. 2016.

GOLDFARB, Miriam; QUEIROGA, Vicente de Paula. Considerações sobre o

armazenamento de sementes. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 7, n. 3, p. 71-74, set. 2013.

GOMES, Guilherme Renato; MORITZ, Aline FREIRIA, Gustavo Henrique; FURLAN, Felipe Favoretto Furlan; TAKAHASHI, Lúcia Sadayo Assari. Desempenho produtivo de genótipos de feijão-vagem arbustivo em dois ambientes. **Scientia Agropecuaria**, Trujillo, v. 7, n. 2, p. 85-92, 2016.

GONÇALVES, Edilma Gonçalves; ARAÚJO, Egberto; ALVES, Edna Ursulino; COSTA, Nivânia Pereira. Tratamento químico e natural sobre a qualidade fisiológica e sanitária em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) armazenadas. **Revista Biociências**, Taubaté, v. 9, n.1, 2003.

GUIMARÃES, Marcelo de Almeida; TELLO, João Paulo de Jesus; DAMASCENO, Leandro Amorim; VIANA, Caris dos Santos; MONTEIRO, Leandro Ribeiro. Pré-embebição de sementes e seus efeitos no crescimento e desenvolvimento de plântulas de melancia. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 3, pp. 442-446, 2013.

HASHEM, Abeer; TABASSUM, Baby; ABD\_ALLAH, Elsayed Fathi. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 6, p. 1291-1297, 2019.

HAWERROTH, Fernando José; CRESTANI, Maraisa; SANTOS, Julio Cesar Pires. Desempenho de cultivares de feijoeiro sob inoculação com *Rhizobium* e relação entre os caracteres componentes do rendimento de grãos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 897-908, jul.-set., 2011.

HENNING, Fernando Augusto; MERTZ, Liliane Márcia; JACOB JUNIOR, Elias Abrahão.; MACHADO, Rodinei Dorneles; FISS, Guilherme; ZIMMER, Paulo Dejalma. Composição química e mobilização de reservas em sementes de soja de alto e baixo vigor. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 3, p. 727-734, 2010.

IBANHES NETO, Helio Fernandes; SILVA, Ananda Covre; SUMIDA, Ciro Hideki; GOUVEIA, Marjori dos Santos; PELLIZZARO, Verônica; TAKAHASHI, Lúcia Sadayo Assari. Potencial fisiológico de sementes de feijão-vagem tratadas com *Bacillus subtilis*. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 43, 2021.

ISHIMURA, Issao; FEITOSA, Celi Teixeira; LISBÃO, Rogério Sales; PASSOS, Francisco Antonio; FORNASIER, João Baptista; NODA, Massaharu. Diferentes combinações de NPK na produção do feijão-vagem em solo orgânico álico do Vale do Ribeira (SP). **Bragantia**, Campinas, v. 44, n. 1, p. 429-436, 1985.

JOSÉ, Solange Carvalho Barrios Roveri; SALOMÃO, Antonieta Nassif; COSTA, Tânia da Silveira Agostini Costa; SILVA, Janaína Tenório Trancoso Tavares; CURTI, Cássio Costa da Silva. Armazenamento de sementes de girassol em temperaturas subzero: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, vol. 32, n. 4, p. 29-38, 2010.

JOSHUA, Jacqueline; MMBAGA, Margaret T. Potential biological control agents for soilborne fungal pathogens in Tennessee snap bean farms. **American Society for Horticultural Science**, v. 55, n. 7, p. 988-994, 2020.

JUNGES, Emanuele; TOEBE, Marcos; SANTOS, Ricardo Feliciano; FINGER, Geísa; MUNIZ, Marlove Fátima Brião. Effect of priming and seed-coating when associated with *Bacillus subtilis* in maize seeds. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, p. 44, n. 3, p. 520-526, 2013.

JUNGES, Emanuele; MUNIZ, Marlove Fátima Brião; BASTOS, Bruna Oliveira; ORUOSKI, Pâmela; MICHELON, Cleudson José. Técnicas de microbiolização de sementes de nabo forrageiro com *Trichoderma spp.* e *Bacillus subtilis*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 12, n. 2, 2017.

JUNGES, Emanuele; MUNIZ, Marlove Fátima Brião; BASTOS, Bruna Oliveira; ORUOSKI, Pâmela; MICHELON, Cleudson José. Biopriming in black oat seeds. **Científica**, Jaboticabal, v. 47, n. 1, p. 104-113, 2019.

KIKUTI, Ana Lúcia Pereira; KIKUTI, Hamilton; MINAMI, Keigo. Condicionamento fisiológico em sementes de pimentão. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 2, p. 243-248, mai./ago. 2005.

KOVÁCS, Ákos T.. *Bacillus subtilis*. **Trends in Microbiology**, v. 27, n. 8, p. 724-725, 2019.

KUMARI, Punam; MEENA, Mukesh; GUPTA, Pooja; DUBEY, Manish Kumar; Nath, Gopal; UPADHYAY, S. D.. Plant growth promoting rhizobacteria and their biopriming for growth promotion in mung bean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek). **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, Amsterdã, v. 16, p. 163-171, out. 2018.

LAZZARETTI, E.; BETTIOL, W. Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado à base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. *Scientia Agrícola*, Piracicaba, v. 54, n. 1-2, p. 89-96, 1997.

LEITE, Uberlando Tiburtino; ARAÚJO, Geraldo Antônio Andrade; MIRANDA, Glauco Vieira; VIEIRA, Rogério Faria; CARNEIRO, José Eustáquio de Souza; PIRES, André Assis. Rendimento de grãos e componentes de rendimento do feijoeiro em função da aplicação foliar de doses crescentes de molibdênio. **Acta Scientiarum: Agronomy**, Maringá, v. 29, n. 1, p. 113-120, 2007.

LIMA, Liana Baptista; SILVA, Priscila Alves; GUIMARÃES, Renato Mendes; OLIVEIRA, João Almir. Peliculização e tratamento químico de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1091-1098, 2006.

LIMA, Liana Baptista; MARCOS FILHO, Júlio. Condicionamento fisiológico de sementes de pepino e relação com desempenho das plantas em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 3., 2009.

LIMA, Liana Baptista; MARCOS FILHO, Júlio. Condicionamento fisiológico de sementes de pepino e germinação sob diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 138-147, 2010.

LIU, Bing; LIU, Xiao-bing; WANG, Cheng; JIN, Jian; HERBERT, S. J.; HASHEMI, M.. Responses of soybean yield and yield components to light enrichment and planting density. **International Journal of Plant Production**, v. 4, n. 1, p. 1-10, jan. 2010.

LOPES, Higino Marcos; BENNETT, Mark Alan; BRANDÃO, Antônio Amorim. Drum priming in snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences/Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.13, n. 2, 2018.

MACIEL, Caciara Gonzatto; MUNIZ, Marlove Fátima Brião; ROLIM, Jéssica Mengue; MICHELON, Rosa Maria Dalla Nora; POLETTO, Tales; RABUSKE, Jéssica Emília. E.. Uso da microbiolização contra *Lasiodiplodia theobromae* em sementes de *Pinus spp.*. **Floresta**, Curitiba, PR, v. 47, n. 1, p. 121-128, jan./mar. 2017.

MAGALHÃES, Antônio Celso; CARELLI, Maria Luiza. Germinação de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) sob condições variadas de pressão osmótica. **Bragantia**, Campinas, v. 31, n. 5, 1972.

MAGUIRE, James D.. Speed of germination-aid in relation evaluation for seedling emergence vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176–177, 1962.

MAHMOOD, Ahmad; TURGAY, Oguz Can; FAROOQ, Muhammad; HAYAT, Rifat. Seed bioprimering with plant growth promoting rhizobacteria: a review. **FEMS microbiology ecology**, Delft, v. 92, n. 8, 2016.

MANRIQUE, Antônio Emilio Rodrigues; ARAUJO, Fabio Fernando; MAZZUCHELLI, Rita de Cássia Lima. **Formas de inoculação de *Bacillus sp.* e promoção de crescimento de *Brachiaria brizantha***. Congresso Brasileiro de Ciência de Solo, Florianópolis, 2013.

MANRIQUE, Antônio Emilio Rodrigues; MAZZUCHELLI, Rita de Cássia Lima; ARAUJO, Ademir Sérgio Ferreira; ARAUJO, Fabio Fernando. Conditioning and coating of *Urochloa brizantha* seeds associated with inoculation of *Bacillus subtilis*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 49, 2019.

MARCOS FILHO, Júlio. Testes de vigor: importância e utilização. In.: **Vigor de sementes, conceitos e testes**. KRZYŻANOWSKI, Francisco Carlos; VIEIRA, Roberval Daiton; FRANÇA NETO, José de Barros. Editora ABRATES. 1999.

MARCOS FILHO, Júlio; KIKUTI, Ana Lúcia Pereira; LIMA, Liana Baptista. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo a análise computadorizada de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 102–112, 2009.

MARCOS FILHO, Júlio. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2ª ed. Piracicaba: FEALQ, 2015. 495p.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L.. **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998.

MENEZES JÚNIOR, J. B. Ferraz. **Feijão comum. Taxonomia, morfologia, histologia, parasitologia, microbiologia, composição química e usos**. Revista do Instituto Adolfo Lutz, p. 83-104, 1960.

MERTZ, Liliane; HENNING, Fernando Augusto; MAIA, Manoel de Souza; MENEGHELLO, Geri Eduardo; HENRIQUES, Ariadne, MADAIL, Rafael. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de Feijão-miúdo beneficiadas em mesa gravitacional. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 3, p. 1-7, 2007.

MIGLIORINI, Patrícia; DORNELES, Keilor da Rosa; RODRIGUES, Gustavo Fonseca; PAULA, Gabriele; TUNES, Lilian Vanussa Madruga. Métodos de inoculação de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijão e danos em plântulas. **Biotemas**, Florianópolis, v. 30, n. 1, p. 37-43, 2017.

MITRA, Debasis; MONDAL, Rittick; KHOSHRU, Bahman; SHADANGI, Smriti; MOHAPATRA, Pradeep K. Das; PANNEERSELVAM, Periyasamy. Rhizobacteria mediated seed bio-priming triggers the resistance and plant growth for sustainable crop production. **Current Research in Microbial Sciences**, Amsterdã, v. 2, dez. 2021.

MONALISA, S. P.; BEURA, J. K.; TARAI, R. K.; NAIK, M.. Seed quality enhancement through biopriming in common bean (*Phaseolus vulgaris*.L). **Journal of Applied and Natural Science**, Haridwar, v. 9, n. 3, p. 1740 -1743, 2017.

MOREIRA, Rosângela Maria Pinto Moreira; FERREIRA, Josué Maldonado; TAKAHASHI, Lúcia Sadayo Assari; VASCONCELOS, Maria Elizabeth Costa; GEUS, Leonardo Cornélio; BOTTI, Leandro. Potencial agrônômico e divergência genética entre genótipos de feijão-vagem de crescimento determinado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 1051-1060, 2009.

NAKAGAWA, João. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, Francisco Carlos; VIEIRA, Roberval Daiton; FRANÇA NETO, José de Barros (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina, PR: ABRATES, 1999. p.2.1-2.24.

NAKAGAWA, João; MARTINS, Dagoberto; MARTINS, Cibele Chalita; MACHADO, Carla Gomes; MADALENA, José Antônio da Silva. Consorciação e plantas daninhas afetando a produtividade e a qualidade de sementes de sorgo. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 22, n. 2, p. 52-56, 2009.

NASCIMENTO, Warley Marcos. Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças visando a germinação em condições de temperaturas baixas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 211-214, abr-jun. 2005.

NASCIMENTO, Warley Marcos; CRODA, Mariana Dierings; LOPES, Andrielle. C. Amaral. Produção de sementes, qualidade fisiológica e identificação de genótipos de alface termotolerantes. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 510-517, 2012.

NOVEMBRE, Ana Dionisia da Luz Coelho; MARCOS FILHO, Júlio. Tratamento fungicida e conservação de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 13, n. 2, p. 105-113, 1991.

NUNES, Luma Rayane de Lima; PINHEIRO, Paloma Rayane; DUTRA, Alek Sandro. Potencial fisiológico de sementes de feijão-caupi submetidas à pré-hidratação. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 6, n. 1, p. 54-59, jan./mar. 2019.

OGAWA, Nathalia; SENEME, Adriana Martinelli; MENDONÇA, Cristina Gonçalves; FERRIANI, Aurea Portes. Submersão de sementes de feijão do grupo preto e desenvolvimento inicial de plântulas. **Nucleus**, Ituverava, v. 13, n. 2, p. 283-290, jul. 2016.

OHSE, Silvana; GODOI, Luana Barzotto; REZENDE, Bráulio Luciano Alves; OTTO, Rosana Fernandes; GODOY, Amanda Regina. Germinação e vigor de sementes de feijão-vagem tratadas com micronutrientes. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.15, n.1, jan./mar. 2014.

OLIVEIRA, Denise Maria Trombert. Morfologia de plântulas e plantas jovens de 30 espécies arbóreas de *Leguminosae*. **Acta Botanica Brasilica**, Brasília, v. 13, n. 3, p. 263-269, 1999.

OLIVEIRA, Márcia Gonzaga Castro; SANTOS, Hugo Vinicius Neiva; SILVA, Reginaldo Pedro; TEIXEIRA, Itamar Rosa; BASSINELLO, Priscila Zaczuk. Influência de plantas daninhas na qualidade fisiológica de sementes de genótipos de feijão. In: **Embrapa Arroz e Feijão-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 9., 2008, Campinas. Ciência e tecnologia na cadeia produtiva do feijão. Campinas: Instituto Agrônomo, 2008.

OLIVEIRA, Gustavo R. F.; SILVA, Marcio 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**, Tupã, v. 10, n. 4, p. 439-448, 2016.

OLIVEIRA, Luciene Fróes Camarano de; OLIVEIRA, Márcia Gonzaga de Castro; WENDLAND, Adriane; HEINEMANN, Alexandre Bryan; GUIMARÃES, Cléber Moraes; FERREIRA, Enderson Petrônio de Brito; QUINTELA, Eliane Dias; BARBOSA, Flávia Rabelo; CARVALHO, Maria da Conceição Santana; LOBO JUNIOR, Murillo; SILVEIRA, Pedro Marques da; SILVA, Silvando Carlos da. **Conhecendo a fenologia do feijoeiro e seus aspectos fitotécnicos**/Luciene Fróes Camarano de Oliveira ... [et al.]. – 2. ed. rev. e ampl. – Brasília, DF: Embrapa, 2018.

OLIVO, Franciéle; TUNES, Lilian Madruga; OLIVO, Mateus; BERTAN, Ivandro; PESKE, Silmar. Espessura do tegumento e qualidade física e fisiológica de sementes de feijão. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 6, n. 1, p. 22, 2011.

PAIVA, Cleyton Teles Contreiras; SILVA, Josué Bispo; DAPONT, Eleandro Candido; ALVES, Charline Zaratin; CARVALHO, Marcos Antônio Camillo. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes comerciais de alface e repolho. **Revista de Ciências Agroambientais**, Cáceres, v. 14, n. 1, 2016.

PARISI, João José Dias; MEDINA, Priscila Fantin. **Tratamento de sementes**. Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 2013. 7 p.

PEDRINI, Simone.; MERRITT, David J.; STEVENS, Jason; DIXON, Kingsley. Seed Coating: Science or Marketing Spin?. **Trends Plant Science**, Cambridge, v. 22, n. 2, p. 106-116, 2017.

PEIXOTO, Nei; BRAZ, Leila T.; BANZATTO, David Ariovaldo; MORAES, Ednan A.; MOREIRA, Francisco M.. Resposta de feijão-vagem a diferentes níveis de fertilidade. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 4, p. 593-596. 2002a.

PEIXOTO, Nei; BRAZ, Leila T.; BANZATTO, David Ariovaldo; MORAES, Ednan A.; MOREIRA, Francisco M.. Características agrônômicas, produtividade, qualidade de

vagens e divergência genética em feijão-vagem de crescimento indeterminado. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 3, set. 2002b.

PEIXOTO, Nei; CARDOSO, Antônio Ismael Inácio. Feijão-vagem. In: NASCIMENTO, Warley Marcos. **Hortaliças Leguminosas**. Brasília - DF: Embrapa, 2016. v. 1, cap. 2, p. 61-86.

PEREIRA, Carlos Eduardo; OLIVEIRA, João Almir; OLIVEIRA, Gustavo Evangelista; ROSA, Michele Cristina Marques; COSTA NETO, Jaime. Tratamento fungicida via peliculização e inoculação de *Bradyrhizobium* em sementes de soja. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 40, n. 3, p. 433-440, 2009.

PERES, José Eduardo; ARRUDA, Maria Cecília; FILETI, Mirian Souza; FISCHER, Ivan Herman; SIMIONATO, Eliane Maria Ravasi Stéfano; VOLTAN, Diego Scacalossi. Qualidade de feijão-vagem minimamente processado em função das operações de enxague e sanificação. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 173-180, jan./mar. 2011.

PINTO, Cleide M. F.; VIEIRA, Rogério F.; VIEIRA, Clibas, CALDAS, Marília. T.. Idade de colheita do feijão-vagem anão cultivar Novirex. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n.1, p. 163-167, jul. 2001.

PIRES, Larissa Leandro; BRAGANTINI, Cláudio; COSTA, Jefferson Luís da Silva. Armazenamento de sementes de feijão revestidas com polímeros e tratadas com fungicidas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 7, p. 709-715, jul. 2004.

PRATHIBHA, K. S.; SIDDALINGESHWARA, K. G.. Effect of plant growth promoting *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescense* as rhizobacteria on seed quality of sorghum. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, Tamil Nadu, v. 2, n. 3, p. 11-18, 2013.

QUEIROGA, Joel L.; ROMANO, Euclides D. U.; SOUZA, José R. P.; MIGLIORANZA, Édison. Estimativa da área foliar do feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) por meio da largura máxima do folíolo central. **Horticultura Brasileira**, Brasília, vol. 21, n. 1 p. 64-68, 2003.

R Development Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. 2012.

RAMOS, Andreia Rodrigues; BINOTTI, Flávio Ferreira da Silva; SILVA, Tiago Rodrigues; SILVA, Uadson Ramos. Bioestimulante no condicionamento fisiológico e tratamento de sementes de feijão. **Revista Biociências**, Taubaté, v. 21, n. 1, p. 76-88, 2015.

RAMOS JUNIOR, Edison Ulisses; LEMOS, Leandro Borges; SILVA, Tiago Roque Benetoli. Componentes da produção, produtividade de grãos e características tecnológicas de cultivares de feijão. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 1, p. 75-82, 2005.

REYES, Isbelia; ALVAREZ, Luimar; EL-AYOUBI, Hind; VALERY, Alexis. Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento em pimentón y maíz. **Bioagro**, Barquisimeto, v. 20, n. 1, p. 37-48, 2008.

RIOS, Alessandro de Oliveira; ABREU, Celeste Maria Patto; CORRÊA, Angelita Duarte. Efeito da época de colheita e do tempo de armazenamento no escurecimento do tegumento do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.3, p.550-558, mai./jun. 2002.

ROCHA, Weslany Silva; SAKAI, Tânia Rodrigues; SOUZA, Dayara Lorrane Alves; CHAGAS JÚNIOR, Aloísio Freitas; SANTOS, Manoel Mota. Efeito da microbiolização na germinação e crescimento inicial de feijão caupi no Estado do Tocantins. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 11, n. 6, p. 41-47, dez. 2017.

ROSSETTO, Cláudia A. V.; NOVENBRE, Ana Dionísia da Luz Coelho; MARCOS FILHO, Júlio; SILVA, Walter Rodrigues; NAKAGAWA, João. Comportamento das sementes de soja durante a fase inicial do processo de germinação. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 54, n. 1-2, p. 106-115, jan., 1997.

SÁ, Mylenna Nadjá Ferreira; LIMA, Jéssica Souza; JESUS, Fábio Nascimento; PEREZ, Jane Oliveira. Microbiolização na qualidade de sementes e crescimento inicial de plantas de *Vigna unguiculata* L. Walp. **Acta Brasiliensis**, Campina Grande, v. 3, n. 3, p. 111-115, 2019.

SANTOS, Candice Mello Romero; MENEZES, Nilson Lemos; VILLELA, Francisco Amaral. Teste de deterioração controlada para avaliação do vigor de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 25, n. 2, p. 28-35, dez. 2003.

SANTOS, Candice Mello Romero; MENEZES, Nilson Lemos; VILLELA. Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, n. 1, p. 104-114, jun., 2005.

SANTOS, Daniel; HAESBAERT, Fernando Machado; LÚCIO, Alessandro Dal'Col; STOPCK, Lindolfo; CARGNELUTTI FILHO, Alberto. Tamanho ótimo de parcela para a cultura do feijão-vagem. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 1, p. 119-128, jan./mar. 2012.

SILVA, Heloisa Torres. Descritores mínimos indicados para caracterizar cultivares/variedades de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Embrapa Arroz e Feijão-Documentos (INFOTECA-E)**, 2005.

SILVA, Eliane Gonçalves; MOURA, Andréa Bittencourt; BACARIN, Marcos Antônio; DEUNER, Carolina Cardoso. Alterações metabólicas em plantas de feijão originadas de sementes microbiolizadas por *Pseudomonas* sp. e inoculadas com *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. **Summa phytopathologica**, Botucatu, vol. 35, n. 2, 2009.

SILVA, Fabricio Schwanz; PORTO, Alexandre Gonçalves; PASCUALI, Luiz Carlos; SILVA, Flávio Teles Carvalho. Viabilidade do armazenamento de sementes em diferentes embalagens para pequenas propriedades rurais. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta, v.8, n.1, p.45- 56, 2010.

SILVA, Katiane da Rosa Gomes; VILLELA, Francisco Amaral. Pré-hidratação e avaliação do potencial fisiológico de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 331-345, 2011.

SILVA, Patrícia P.; NASCIMENTO, Warley Marcos. **XI Curso sobre Tecnologia de**

**Produção de Sementes de Hortaliças** Porto Alegre/RS -16 a 18 de novembro de 2011. Aplicação de técnicas moleculares na avaliação da qualidade de sementes de hortaliças. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/908922/1/Aplicacaodetecnicasmolecularesnaavaliacaodaqualidadedesementesdehortalicas.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2020.

SILVA, Vanessa N.; ZAMBIASI, Clarissa Ana; TILLMANN, Maria Angêla A.; MENEZES, Nilson L.; VILLELA, Francisco A.. Condução do teste de condutividade elétrica utilizando partes de sementes de feijão. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 37, n. 2, p. 206-213, 2014.

SINGH, Akanksha; GUPTA, Rupali; PANDEY, Rakesh. Rice seed priming with picomolar rutin enhances rhizospheric *Bacillus subtilis* CIM colonization and plant growth. **PLoS One**, San Francisco, v. 11, n. 1, 2016.

SINGH, Shree P. Production and utilization. In: **Common bean improvement in the twenty-first century**. Springer, Dordrecht, 1999. p. 1-24.

SOUZA, José Leonardo; Di PACE, Elenice Lucas. Relação hídrica e fenologia de cultura em Rio Largo-AL. **Revista Ciência Agrícola**, Rio Largo, v. 1, n. 1, p. 1-6, 1991.

TAYLOR, A. G.; PRUSINSKI, J.; HILL, H. J.; DICKSON, M. D.. Influence of seed hydration on seedling performance. **HortTechnology**, v. 2, n. 3, p. 336-344, 1992.

TESSARIOLI NETO, João; GROppo, Gerson Antônio. A cultura do feijão-vagem. **Boletim técnico**. CATI. Campinas, n. 212, p.1-12, 1992.

TU, Liang; HE, Yanhui.; SHAN, Chunhui.; WU, Zhansheng.. Preparation of microencapsulated *Bacillus subtilis* sl-13 seed coating agents and their effects on the growth of cotton seedlings. **Biomed Research International**, London, v. 2016, p. 1-7, 2016.

TOLEDO, Mariana Zampar; FONSECA, Nara Rosseti, CÉSAR, Mônica Lúcia; SORATTO, Rogério Peres; CAVARIANI, Cláudio; CRUSCIOL, Carlos Alexandre Costa. Qualidade fisiológica e armazenamento de sementes de feijão em função da aplicação tardia de nitrogênio em cobertura. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 39, n. 2, p. 124-133, abr./jun. 2009.

VECHIATO, M. H.; LASCA, C. C.; KOHARA, E. Y.; CHIBA, S. Antracnose do feijoeiro: tratamento de sementes e correlação entre incidência em plantas e infecção de sementes. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, n. 1, p. 83-87, jan./jun. 2001.

VIDAL, Valdivina Lúcia; JUNQUEIRA, Ana Maria Resende; PEIXOTO, Nei; MORAES, Ednan Araujo. Desempenho de feijão-vagem arbustivo, sob cultivo orgânico em duas épocas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 10-14, 2007.

VIEIRA, Ana Rita Rodrigues; SCHNEIDER, Lineu; MARQUES JÚNIOR, Sérgio; JUSTINO, Roque Gonzalez Bohora; VON ZUCCALMAGLIO, Geraldo; SILVA, José Gabriel. Caracterização térmica e hídrica da cultura do feijão-de-vagem na região da Grande Florianópolis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 6, p. 929-

936, 1998.

VIEIRA, Roberto Deiton; KRZYZANOWSKI, Francisco Carlos. Teste de condutividade elétrica. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, v. 1, p. 1-26, 1999.

ZABOT, Lucio; DUTRA, Luiz Marcelo Costa; MENEZES, Nilson Lemos; GAPCIA, Danton Camacho; LUDWIG, Marcos Paulo; SANTOS, Valdecir José. Uso de imagens digitais para avaliação de plântulas de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 184-192, 2008.

ZILIO, Marcio; COELHO, Cileide Maria Medeiros; SOUZA, Clóvis Arruda; SANTOS, Julio Cesar Pires; MIQUELLUTI, David José. Contribuição dos componentes de rendimento na produtividade de genótipos crioulos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 2, p. 429-438, 2011.

ZINK, Eduardo; ALMEIDA, Luiz D'Artagnan; LAGO, Antônio Augusto. Observações sobre o comportamento de sementes de feijão sob diferentes condições de armazenamento. **Bragantia**, Campinas, v. 35, n. 38, 1976.

ZUCARELI, Claudemir; BRZEZINSKI, Cristian. R.; ABATI, Julia; WERNER, Flávia; RAMOS JÚNIOR, Edson Ulisses; NAKAGAWA, João. Qualidade fisiológica de sementes de feijão carioca armazenadas em diferentes ambientes. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 19, n. 8, p. 803–809, 2015.