

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

CAMPUS CERRO LARGO

CURSO DE AGRONOMIA

CINTIA GIORDANI DE MELO

**PRODUTOS BIOLÓGICOS, BIOREGULADOR DE CRESCIMENTO E *Bacillus* sp.
NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE ALFAFA INOCULADAS COM *Penicillium*
spp.**

CERRO LARGO

2023

CINTIA GIORDANI DE MELO

**PRODUTOS BIOLÓGICOS, BIOREGULADOR DE CRESCIMENTO E *Bacillus* sp.
NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE ALFAFA INOCULADAS COM *Penicillium*
spp.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Juliane Ludwig

CERRO LARGO

2023

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

, Cintia Giordani de Melo
PRODUTOS BIOLÓGICOS, BIOREGULADOR DE CRESCIMENTO E
Bacillus sp. NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE ALFAFA
INOCULADAS COM Penicillium spp. / Cintia Giordani de
Melo . -- 2023.
38 f.

Orientadora: Doutora Juliane Ludwig

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Agronomia, Cerro Largo,RS, 2023.

1. Alfafa. 2. Tratamento de sementes. 3. Promoção do
crescimento inicial. 4. Controle de patógeno. I. Ludwig,
Juliane, orient. II. Universidade Federal da Fronteira
Sul. III. Título.

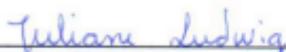
CINTIA GIORDANI DE MELO

**PRODUTOS BIOLÓGICOS, BIOREGULADOR DE CRESCIMENTO E *Bacillus* sp.
NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE ALFAFA INOCULADAS COM *Penicillium*
spp.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 08/02/2023.

BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dr.^a Juliane Ludwig – UFFS
Orientadora



Prof. Dr. Gilmar Roberto Meinert – UFFS
Avaliador



Prof. Dr. Tiago Silveira Ferrera – UFFS
Avaliador

Dedico este trabalho aos meus pais e irmã, que
não pouparam esforços para que eu pudesse
concluir meus estudos.

AGRADECIMENTOS

A minha mãe Odete Giordani por ter tornado possível minha matrícula em tempo hábil. Por toda ajuda e disponibilidade quando eu mais precisei, por ter acreditado e cobrado de mim, quando eu mesma não acreditava. Ao meu pai Milton Melo, por todo esforço em me manter e pelo dinheiro investido.

A minha irmã Kelly Giordani por toda confiança transmitida, por me fazer acreditar nos “nossos dias melhores”, por ser meu refúgio quando as várias tempestades chegaram. Aos sobrinhos Luiz Felipe e Gabriela Bolzan por todos os momentos de alegria e brincadeiras “titia médica das plantas”. Ao meu cunhado Zeca Bolzan pelas críticas construtivas.

A minha namorada Quezia Bialvo por todo acolhimento nos momentos de ansiedade com o tcc, pela ajuda com o experimento.

A minha Vó Sueli Carvalho por apontar o estudo como um caminho, “O estudo ninguém te tira”. Ao meu vô José Giordani (in memoria), por transmitir o apreço pela agricultura.

Aos tios Nezinho, Julho, Décio, Assis, João Luiz e Rui Alberto, as tias Helena, Serlei, Sinara, Ana Cláudia e prima Simone, pelo empoderamento e incentivo.

A Escola Técnica Estadual Cruzeiro do Sul, por despertar em mim a vontade de seguir estudando na área das agrárias.

A Emater, em especial as profissionais Carla Sausen e Tamires Scheis, por terem me alertado/incentivado ao curso de Agronomia.

A Universidade Federal da Fronteira Sul campus Cerro Largo, em especial ao SAE- Setor de Assuntos Estudantis. Pelo suporte, acolhimento psicológico, auxílio financeiro e crescimento pessoal.

A todos os servidores e os docentes que contribuíram para minha formação acadêmica, em especial a prof. Dr.^a Juliane Ludwig, que na quinta fase do curso, despertou em mim o gosto pela fitopatologia e conseqüentemente pelo curso de Agronomia.

A todos os colegas, em especial os que ajudaram no laboratório, Ana Paula, Jaine, José.

A mim mesma, por ter sonhado e vivido bons momentos, aproveitando essa dádiva chamada vida. Por ter tido coragem para enfrentar as adversidades, por não ter trancado, cancelado ou transferido o curso. A graduação é um processo longo, de muitas metamorfoses, descobertas e desafios. Mas de muito crescimento pessoal.

Gratidão!

RESUMO

A alfafa (*Medicago sativa*), é conhecida pela sua produtividade e qualidade, considerada uma das melhores forragem para gado de leite e equinos, além de caprinos e ovinos. Contudo, sua produtividade é limitada por fatores abióticos e bióticos, dentre os bióticos destaca-se a incidência das doenças, principalmente veiculadas pelas sementes. Diante desse cenário, foi objetivo do presente trabalho verificar o potencial de produtos biológicos, bioregulador de crescimento e *Bacillus* sp. (isolado RD 34), via microbiolização de sementes de alfafa inoculadas ou não com *Penicillium* spp., na promoção de crescimento de plântulas e no controle de patógenos em sementes. Para tanto, sementes da cultura, inoculadas ou não com *Penicillium* spp, foram submetidas aos seguintes tratamentos com produto StimuControl® “a base de *Trichoderma harzianum*”; produto Quality® “a base de *Trichoderma asperellum*”; produto Stimulate® a base de fitormônios; Isolado de *Bacillus* sp. RD 34; testemunha a base de água destilada. Foram avaliadas as seguintes variáveis: germinação (G); índice de velocidade de emergência (IVE); altura de parte aérea (APA); comprimento de parte radicular (CPR); peso parcialmente seco da parte aérea (PPSPA), peso parcialmente seco de parte radicular (PPSPR) e a qualidade sanitária. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de significância e as médias foram comparadas pelo teste de tukey, utilizando o programa SISVAR. Com os dados obtidos, conclui-se que o uso de produtos biológicos, teve efeito significativo na germinação, no IVE e no crescimento vegetal, assim como no controle da incidência do fungo *Aspergillus* spp. O bioregulador de crescimento teve efeito na altura da parte aérea, no comprimento de raiz e no peso parcialmente seco da parte aérea. O Isolado de *Bacillus* sp. RD 34 teve efeito no IVE e no peso parcialmente seco de parte aérea. O tratamento de sementes da alfafa proporciona efeitos na promoção de crescimento de plântulas e o controle de *Aspergillus* spp. nas sementes.

Palavras-chave: *Medicago sativa*; forrageira; germinação; emergência; qualidade sanitária

ABSTRACT

Alfalfa (*Medicago sativa*), is known for its productivity and quality, considered one of the best fodder for dairy cattle and horses, as well as goats and sheep. However, its productivity is limited by abiotic and biotic factors, among which the incidence of diseases stands out, mainly transmitted by seeds. Given this scenario, the objective of this study was to verify the potential of biological products, growth bioregulators and *Bacillus* sp. (isolated RD 34), via microbiolization of alfalfa seeds inoculated or not with *Penicillium* spp., in the promotion of seedling growth and in the control of pathogens in seeds. For this purpose, culture seeds, inoculated or not with *Penicillium* spp, were subjected to the following treatments with the StimuControl® product “based on *Trichoderma harzianum*”; Quality® product “based on *Trichoderma asperellum*”; product Stimulate® based on phytohormones; *Bacillus* sp. DR 34; witness the base of distilled water. The following variables were evaluated: germination (G); emergency speed index (IVE); aerial part height (APA); root part length (CPR); partially dry weight of the shoot (PPSPA), partially dry weight of the root part (PPSPR) and sanitary quality. The results obtained were submitted to analysis of variance (ANOVA) at 5% of significance and the averages were compared by Tukey's test, using the SISVAR program. With the data obtained, it is concluded that the use of biological products had a significant effect on germination, IVE and plant growth, as well as on controlling the incidence of the fungus *Aspergillus* spp. The growth bioregulator had an effect on shoot height, root length and shoot dry weight. The *Bacillus* sp. RD 34 had an effect on IVE and shoot dry weight. Alfalfa seed treatment provides effects on seedling growth promotion and control of *Aspergillus* spp. in the seeds.

Keywords: *Medicago sativa*; forage; germination; emergency; sanitary quality

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 A CULTURA DA ALFAFA	11
2.2 QUALIDADE DE SEMENTES	12
2.3 QUALIDADE SANITÁRIA DE SEMENTES	13
2.4 CONTROLE BIOLÓGICO EM ALFAFA	14
2.5 PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS	16
3 MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 OBTENÇÃO DE SEMENTES	18
3.2 INOCULAÇÃO DAS SEMENTE COM <i>Penicillium</i> spp.	18
3.3 TRATAMENTO DE SEMENTES	19
3.4 ENSAIOS DE LABORATÓRIO	20
3.4.1 Teste de germinação	20
3.4.2 Teste de emergência	21
3.4.3 Teste de sanidade	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1 GERMINAÇÃO	23
4.2 EMERGÊNCIA	24
4.3 CRESCIMENTO VEGETAL	25
4.4 QUALIDADE SANITÁRIA	29
REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

Segundo a ONU (2017), a população mundial em 2050 chegará a 9,8 bilhões de habitantes e o Brasil contará com 238 milhões de pessoas, tornando evidente a crescente demanda por proteína de origem animal. O Brasil possui recursos naturais como água e terras cultiváveis, possibilitando uma enorme produção agrícola, variando da subsistência ao agronegócio. Quanto ao alimento consumido, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas-IBGE, 70% dos alimentos consumidos vem da agricultura familiar (ASBRAER, 2017).

Em 2016, a Embrapa Território calculou a área cultivada do país em 65.913.738 hectares (7,8%) (MIRANDA, 2018). Somente com pastagens nativas a área chega a 68.022.447 hectares (8%) e pastagens plantadas a 112.237.038 hectares (13,2%) (CAMPINAS, 2020). Segundo Dias-Filho (2014), a degradação das pastagens é um fenômeno global, estimando-se que, em torno de 20% das pastagens estejam degradadas ou a caminho da degradação. Uma das principais causas é a ação antrópica direta, em particular o manejo inadequado como, a taxa de lotação excedente à capacidade do pasto, ausência de adubações periódicas, ataques de insetos-pragas, problemas bióticos e falhas no estabelecimento da pastagem.

Muitas espécies de plantas podem ser usadas como pastagem para animais domésticos, sendo classificadas de acordo com seu período de desenvolvimento, ciclo de vida e família botânica, dentre as quais, as mais utilizadas são as gramíneas e leguminosas. A alfafa (*Medicago sativa*) é uma leguminosa, conhecida como a “rainha das forrageiras”, por sua produtividade e qualidade (MITTELMANN, 2006). Considerada a melhor forragem para gado de leite e equinos, além de ser alimento para caprinos, ovinos, roedores, pets e humanos (FONSECA, 2020), devido às suas características nutricionais superiores às de outras fontes de alimentos habitualmente utilizadas.

As áreas cultivadas com essa forrageira apresentam solos profundos, com boa drenagem e fertilidade. O rendimento total médio é de 20-35 toneladas por hectares ano (WIKIFARMER,2022), mas, para cultivar Crioula, os registros encontram-se entre 20 e 25 toneladas por hectares ano (MITTELMANN, 2008).

Contudo, esta produtividade é limitada por diversos fatores, tanto de origem abiótica, quanto de origem biótica, dentre os quais destaca-se a incidência de doenças. As doenças da alfafa já detectadas no Brasil são: Antracnose *Colletotrichum trifolii*; Rizoctoniose

Rhizoctonia solani; Ferrugem *Uromyces striatus*; Mancha Negra das Folhas e Caules *Cercospora medicaginis*; Mancha Negra da Primavera *Phoma medicaginis*; Mancha Foliar Comum *Pseudopeziza medicaginis*; Mancha Foliar de Leptosphaerulina *Leptosphaerulina briosiana*; Mancha de Stemphylium *Stemphylium botryosum*; Míldio *Peronospora trifoliorum*; Mosaico da alfafa *Alfafa mosaic virus*- AIMV; Murcha de Fusarium *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis*; Murcha de verticillium *Verticillium albo-atrum*; Podridão da Haste e Coroa *Sclerotinia* spp. No país, o uso de variedades resistentes a doenças é limitado pois as principais variedades utilizadas, Crioula, CUF-101, Flórida-77 Pioneer e WL, não apresentam resistência satisfatória às principais doenças (IAMAUTI; MASSOLA JÚNIOR, 2016).

As sementes desempenham papel extremamente importante na disseminação de patógenos (RAMKRAPE; ZORZZI, 2017), como fungos, bactérias, vírus e nematóides (COSTA et al., 2021). A utilização de sementes com baixa qualidade sanitária ocasiona grande parte das doenças também em culturas forrageiras (RAMKRAPE; ZORZZI, 2017).

Dentre as possibilidades de controle, o biológico se apresenta viável por se tratar de uma tecnologia de baixo custo econômico e ambiental (LUDWIG; MOURA, 2007). O tratamento sanitário de sementes, por meio da microbiolização, consiste na aplicação de microrganismos vivos sobre as sementes (COSTA et al., 2021). Tais microrganismos antagonistas, inibem o desenvolvimento de fitopatógenos sem contribuir para a degradação do meio ambiente (ALVES et al., 2013). Resultados promissores com o uso de isolados do antagonistas do gênero *Trichoderma* spp. foram encontrados na soja (MILANESI et al., 2013) e com o uso dos bioprodutos formulados a partir de *Trichoderma harzianum* como o Stimucontrol® e *Trichoderma asperellum* como o Quality® (WERNER, 2020). A utilização de *Bacillus* sp. isolado C-21N2 mostrou potencial de promoção de crescimento de plantas de alfafa em ensaios a campo (SMIRNOVA et al., 2022)

Diante desse cenário, foi objetivo do presente trabalho verificar o potencial do uso de produtos biológicos, bioregulador de crescimento e de *Bacillus* sp. (isolado RD 34), via microbiolização de sementes de alfafa inoculadas ou não com *Penicillium* spp., na promoção de crescimento de plântulas e no controle de patógenos em sementes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A CULTURA DA ALFAFA

A alfafa (*Medicago sativa* L.) pertence à família Fabaceae. É uma forrageira importante devido às suas características de produtividade, palatabilidade, qualidade protéica e capacidade de fixação de nitrogênio, sendo muito utilizada na alimentação animal, principalmente na dieta de bovinos de leite, eqüinos e ovinos a qual é ofertada em forma de feno, silagem, verde ou peletizada. Os maiores produtores mundiais de alfafa são Estados Unidos e União Européia. Na América Latina, o maior produtor é a Argentina com 4 milhões de hectares, estando o Brasil em quinto lugar, plantando, aproximadamente, 40 mil hectares da leguminosa (FONSECA, 2020).

No Brasil, a alfafa foi introduzida no Rio Grande do Sul, a partir do Uruguai e da Argentina (CAMARGO; FERREIRA; RASSANI, 2008). No Rio Grande do Sul, seu cultivo iniciou nos vales dos rios Caí, Taquari, Jacuí e Uruguai e nas encostas da serra do nordeste do Estado, onde foram instaladas colônias de imigrantes alemães e italianos (SAIBRO, 1985 apud RODRÍGUEZ et al., 2020). A chamada “alfafa crioula” apresenta um germoplasma adaptado às condições do Rio Grande do Sul, sendo um produto da seleção natural e realizada pelo homem a partir da colheita de sementes de alfafais de quatro a cinco anos de idade, selecionando plantas persistentes (OLIVEIRA, 1991 apud PEREZ, 2003).

Na Região das Missões do Rio Grande do Sul, o cultivo da alfafa possui a maior concentração de áreas com a cultura do estado (MITTELMANN, 2008). A forrageira se destaca por ser um produto com rápido retorno financeiro, o que gera renda em um curto período e ao longo do ano todo, fatos que incentivam produtores a investirem em sua produção (BARROS; ANES; DALCIN, 2020).

A alfafa é uma espécie de fecundação majoritariamente alógama (VIANDS et al., 1988 apud RODRÍGUEZ et al., 2020), com polinização entomófila, feita pela ação de abelhas e besouros. Quando o inseto pousa na flor coletar néctar e pólen, com a pressão exercida, o deslanche floral faz com que a coluna estaminal impacte seu abdômen, o carregado de pólen pólen de diferentes plantas assegura a alogamia, cerca de 85% a 95% das flores fecundadas por esse mecanismo (DEL POZO IBAÑEZ, 1977 apud RODRÍGUEZ et al., 2020).

Por se tratar de uma cultura semi-perene, de ciclo de exploração potencial de até oito anos, o estabelecimento do alfafal deve ser conduzido com uma série de precauções e medidas para que sua exploração seja economicamente viável (MITTELMANN, 2008). Danos causados por pragas e doenças reduzem a produtividade, a qualidade e a persistência do cultivo da alfafa, além de predispor as plantas à ação de outros agentes de estresses bióticos e abióticos (BASIGALUP; ODORIZZI; FERREIRA, 2020).

2.2 QUALIDADE DE SEMENTES

Segundo Silva; Maia; Maia (2012), considera-se semente de alta qualidade aquela que germina rapidamente, originando uma plântula normal e sadia, livre de contaminações, com todas as estruturas essenciais desenvolvidas, ou seja, sistema radicular e parte aérea. A máxima qualidade de uma semente é atingida por ocasião de sua maturidade fisiológica e, a partir desse ponto, inicia-se a deterioração, que pode ser retardada por condições e manejo adequado de colheita, secagem, beneficiamento e armazenamento.

Portanto, a qualidade da semente é definida como o somatório dos atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que afetam a capacidade da mesma de originar plantas de alta produtividade (MARCOS FILHO, 2015) ou do lote originar um cultivo uniforme constituído de plantas vigorosas e representativas (SILVA; MAIA; MAIA, 2012).

A qualidade genética está diretamente relacionada com a pureza varietal (BORBA; ANDRADE, s.a), a qual será maior ou menor em função da contaminação genética e/ou varietal do lote. Durante o processo de produção de sementes, a contaminação genética ocorre quando há troca de grãos de pólen entre diferentes cultivares, enquanto a contaminação varietal ocorre quando sementes de diferentes variedades são misturadas. Geralmente a primeira acontece no campo de produção e a segunda na pós-colheita (SILVA; MAIA; MAIA, 2012).

A qualidade física refere-se ao grau de contaminação do lote com sementes silvestres, outras sementes e material inerte, as quais levarão a lavoura a uma infestação de plantas indesejáveis que competirão por nutrientes, água, luz e espaço, reduzindo a produtividade e a eficiência da colheita (BORBA; ANDRADE, s.a). Uniformidade de tamanho e integridade física (ausência de danos mecânicos) também relaciona-se a esse atributo de qualidade (KRZYZANOWSKI, et al., 2008).

A qualidade fisiológica compreende o metabolismo da semente necessário para que a mesma possa expressar seu potencial e, está relacionada à germinação e vigor. A germinação é definida como a emergência e desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, manifestando sua capacidade de dar origem a uma planta normal (CARAMBULA, 1981 apud SILVA; MAIA; MAIA, 2012). O vigor, por sua vez, relaciona-se taxas e uniformidades de germinação, de emergência e de crescimento de plântulas no campo, influenciando o rendimento da cultura (ROSSI; CAVARIANI; FRANÇA-NETO, 2017)

A qualidade sanitária se caracteriza pelo efeito danoso da ocorrência de microrganismos e insetos associados a sementes desde o campo até o armazenamento. Os insetos são potenciais causadores de danos às sementes, porém os microrganismos destacam-se, tendo em vista que a maioria dos patógenos que ocorrem no campo de produção, podem ser transmitidos pelas sementes. Os patógenos podem estar misturados, aderidos na superfície da semente ou no interior das sementes (SILVA; MAIA; MAIA, 2012). A utilização de sementes com deficiência sanitária ocasiona grande parte das doenças (RAMKRAPE; ZORZZI, 2017).

2.3 QUALIDADE SANITÁRIA DE SEMENTES

Os fungos, especialmente os necrotróficos, englobam a maioria das espécies de microrganismos associadas às sementes, sendo que nos fungos denominados “de campo” predominam espécies fitopatogênicas como: *Fusarium* sp., *Cercospora* sp., *Rhizoctonia* sp., *Colletotrichum* sp., e nos denominados “de armazenamento”, os quais deterioram as sementes, encontram-se, principalmente, *Aspergillus* sp e *Penicillium* sp. (BRASIL, 2009).

Os fungos de armazenamento requerem para o seu desenvolvimento fatores ambientais favoráveis, como a umidade relativa do ar entre 80 e 90% e a temperatura ambiente superior a 20°C (NÓBREGA; SUASSUNA, 2004). A incidência do fungo *Penicillium* sp. tende a prejudicar a qualidade da semente, deteriorando, perdendo a viabilidade, ou seja, a capacidade da semente germinar (NASCIMENTO *et al.*, 2006). O dano da deterioração envolve mudanças citopatológicas, fisiológicas, bioquímicas e físicas que causam a morte das sementes (FRANÇA NETO; HENNING, 1984).

Sementes infectadas são fonte de inóculo primário, dando início ao desenvolvimento de doenças. O uso de sementes de boa qualidade sanitária é fundamental, uma vez que esta afeta negativamente a qualidade fisiológica da semente além da sanidade da lavoura

(KRZYZANOWSKI, et al., 2008). Diante disso, o tratamento de sementes vem a erradicar ou reduzir os patógenos presentes nas sementes; proporcionar a proteção das sementes e plântulas contra patógenos do solo; evitar o desenvolvimento de epidemias no campo; promover condições de uniformidade na germinação e emergência, possibilitando o estabelecimento inicial da cultura com uma população ideal de plantas (GOULART, 2018).

Os principais requisitos para um fungicida destinado ao tratamento das sementes são: não ser acumulativo no solo, ter alta persistência e aderência nas sementes, ser efetivo sob diferentes condições agroclimáticas, ser seguro para operadores durante o manuseio na semeadura, não deixar resíduos nocivos nas plantas e ser economicamente viável (PINTO, 2007). No tratamento de sementes com fungicidas biológicos, estão sendo amplamente utilizados produtos a base do fungo *Trichoderma* spp., o qual atua como antagonista de patógenos presentes nas sementes ou no solo e como estimulador do crescimento (MACHADO et al., 2012). O uso e eficiência destes produtos, na cultura da alfafa, são escassos, entretanto, podem se mostrar promissores para o biocontrole de patógenos bem como bioestimulantes do crescimento vegetal.

2.4 CONTROLE BIOLÓGICO EM ALFAFA

De acordo com Zambolim (2014), as doenças em plantas sempre foram motivos de grande preocupação desde o século XIX, devido às grandes perdas em termos econômicos e para o meio ambiente. Para que a doença ocorra em uma planta são necessários três eventos: quantidade de inóculo do patógeno, planta hospedeira suscetível e ambiente favorável, formando o triângulo da doença (patógeno-hospedeiro-ambiente).

Segundo Iamauti; Massola Júnior (2016), a cultura da alfafa é afetada por cerca de 45 doenças no mundo todo, dentre essas 13 já foram detectadas no Brasil. Os fungos constituem o principal grupo de fitopatógenos que atacam a cultura, responsáveis por dois terços das doenças conhecidas. As doenças que acometem as sementes e plântulas, causam morte ou tombamento, trazendo prejuízos no estande final, decaindo a produção. Quando atacam folhas e hastes, o principal dano é a desfolha da planta, reduzindo a produção e, a longo prazo, debilitando a planta. A porção perene da planta, como o colo, a coroa e as raízes, se injuriadas por patógenos, irão afetar, irremediavelmente, a longevidade e a produção do alfafal.

Vários desafios têm sido colocados para a agricultura moderna como a produção de um produto com qualidade, com redução do uso de defensivos, menor agressão ao meio

ambiente, buscando a sustentabilidade econômica, ambiental e social (ZAMBOLIM, 2014). Para o controle de doenças na alfafa, são recomendados o uso de semente de alta qualidade, com certificado de isenção de *Cuscuta* spp. e de AIMV no lote, uso de cultivares adaptadas, entre outros (IAMAUTI, MASSOLA JÚNIOR, 2016), no entanto, a que se destacar a carência de pesquisas nessa área na cultura para ambos os tipos de controle.

No que se refere ao controle, pressões exercidas pelo próprio mercado consumidor referentes a redução ou eliminação de resíduos de agrotóxicos nos alimentos, tem impulsionado o uso do controle biológico. Segundo Lopes (2009), o controle biológico de doenças constitui-se em um processo importante para atender a demanda cada vez maior de produtos e alimentos livres de resíduos de agrotóxicos.

Nos sistemas naturais, microrganismos antagonistas fazem o equilíbrio populacional de organismos patogênicos e o controle biológico busca explorar e manejar os antagonistas para obter resultados desejáveis no sistema agrícola (MATHERE et al., 1999 apud BEDENDO; MASSOLA JUNIOR; AMORIM, 2011). As principais interações antagonistas entre microrganismos presentes nos agentes de controles biológicos são a antibiose, a competição e o parasitismo.

A antibiose é definida pela interação entre os microrganismos, no qual uma população secreta metabólitos secundários, chamados antibióticos, capazes de inibir ou impedir o desenvolvimento de indivíduos de uma população de outra espécie. Microorganismos com esse mecanismo de ação, geralmente tem amplo espectro de ação, sendo a produção de substâncias tóxicas por um biocontrolador a forma mais efetiva do que qualquer outro mecanismo de ação envolvido (KUPPER et al., 2003). Um exemplo de antibiose entre microrganismos são do gênero *Trichoderma*, capazes de secretar mais de 100 antibióticos com capacidade de inibição de diferentes fungos patogênicos (BEDENDO; MASSOLA JUNIOR; AMORIM, 2011).

O mecanismo da competição refere-se a um comportamento desigual de dois ou mais organismos por um mesmo requerimento ou recurso (nutrientes, espaço físico, etc.), de maneira que a utilização deste por um deles reduz a quantidade disponível para os outros (MEYER et al., 2019). É possível pensar que todos os agentes de controle biológico que são capazes de produzir antibióticos, são também bons competidores (BEDENDO; MASSOLA JUNIOR; AMORIM, 2011).

O parasitismo consiste na situação em que um microrganismo vive sobre e alimenta-se de outro, podendo atacar hifas e estruturas de reprodução e de sobrevivência dos fitopatógenos (BETTIOL; GHINI, 1995). Microrganismos considerados parasitas são capazes

de controlar nematoides e fungos patógenos habitantes do solo, que causam podridões radiculares, damping-off e murchas (BEDENDO; MASSOLA JUNIOR; AMORIM, 2011).

A microbiolização de sementes de alfafa com *Trichoderma* spp., tem potencial de obtenção de resultados promissores, uma vez que os fungos do gênero *Trichoderma* spp. apresentam potencial para o controle de fitopatógenos e para a promoção do crescimento vegetal (MEYER et al., 2019). Eles são capazes de atuar como bioestimulantes do crescimento radicular, promovendo o desenvolvimento de raízes através de fitohormônios e assim, melhorando a assimilação de nutrientes, aumentando a resistência diante de fatores bióticos não favoráveis, além de degradar fontes de nutrientes que serão importantes para o desenvolvimento do vegetal (HARMAN, 2000; HARMAN et al., 2004b apud MACHADO et al., 2012).

A veiculação de microrganismos em alfafa também pode ocorrer com o uso de procariotos como *Bacillus* sp., que se destaca por formar endósporo e apresentar uma multiplicidade de mecanismos antagônicos, possibilitando a sua longa manutenção e sobrevivência, com versatilidade nos mecanismos de ação (LANNA FILHO et al., 2010). Atua na redução da incidência e severidade de vários patógenos em plantas, ainda atuam como indutores de resistência, provocando alterações citoquímicas durante o ataque do patógeno (KLOEPPER et al., 2004).

2.5 PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS

A promoção de crescimento está ligada a fatores como maior taxa germinativa das sementes, maior concentração de nutrientes nas plantas, aumento do acúmulo de fitomassa, altura de plantas e maior produção de grãos (RATZ, 2017). Os mecanismos pelos quais os microrganismos, promovem o crescimento das plantas podem ser indiretos como o biocontrole de pragas e fitopatógenos, e diretamente como pela produção de fitormônios (GONZÁLEZ et al., 2011; LIOTTI et al., 2018 apud REZENDE, 2021).

De acordo com Melo (2002), os hormônios ou substâncias de crescimento são compostos que ocorrem naturalmente nas plantas, ativos em concentrações baixas e que possuem a capacidade de promover, inibir ou modificar qualitativamente o crescimento das plantas. Cinco grupos são considerados como hormônios vegetais: as auxinas, as citocininas, as giberelinas, e etileno e o ácido abscísico (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Conforme Pascholati (2011) as auxinas estão envolvidas em processos de crescimento vegetal, ácido indolil-3-acético(AIA), sintetizado nas folhas e brotações jovens, sendo também produzido por inúmeros fitopatógenos fúngicos; as citocininas que estimulam o desenvolvimento de gemas laterais, inibem a senescência dos tecidos e promovem a germinação de sementes dormente, sua síntese é em células de raízes; as giberelinas que estão envolvidas no alongamento dos entrenós, na indução de floração, na manutenção da divisão celular e dominância apical; o etileno, que é um hormônio gasoso, e induz a germinação de sementes, a formação de raízes adventícias, a maturação de frutos, a floração de plantas e a senescência; o ácido abscísico que é o principal inibidor de crescimento de plantas, dormência de gemas, inibição de germinação de sementes, fechamento de estômatos e abscisão foliar e de frutos.

Os bioestimulantes são definidos como a mistura de dois ou mais reguladores vegetais com outros compostos de natureza química diferentes, como minerais ou aminoácidos (CASTRO et al., 2008 apud RODRIGUES et al., 2015). O Stimulate[®], produto considerado promotor do crescimento das plantas, possui em sua composição fitormônios que atuam como mediadores de processos fisiológicos, promovendo o crescimento e o desenvolvimento das plantas, aumentando o potencial de absorção de água e nutrientes pelas mesmas (DÁRIO et al., 2004; GARCIA et al., 2009 apud RODRIGUES et al., 2015)

O tratamento de sementes de alfafa com o Stimulate[®], se mostra promissor.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal da Fronteira Sul, campus de Cerro Largo, no período de setembro a dezembro de 2022.

3.1 OBTENÇÃO DE SEMENTES

As sementes salvas de alfafa cultivar crioula são provenientes de um produtor da Região das Missões do Rio Grande do Sul. A propriedade localiza-se em Limoeiro, interior do município de São Luiz Gonzaga - RS. Quando as sementes foram colhidas, o alfafal estava implantado há 3 anos, e as mesmas serviram para a renovação do alfafal. Para a produção das sementes, o agricultor suspendeu os cortes da forrageira, possibilitando o desenvolvimento da planta até seu estágio reprodutivo. As sementes colhidas foram armazenadas em sacos de papel e mantidas em temperatura ambiente, no laboratório, até seu uso no experimento.

3.2 INOCULAÇÃO DAS SEMENTE COM *Penicillium* spp.

Para a realização do experimento, foram utilizadas sementes de alfafa inoculadas e não inoculadas com *Penicillium* spp. Para a inoculação, utilizou-se metodologia descrita por Garrido et al. (1996) apud Mendes et al. (2001), com modificações, conforme descrito a seguir. Para a obtenção da suspensão foi realizada a repicagem do fungo *Penicillium* spp. de um tubo de cultura pura para placas de Petri, com auxílio de uma alça, sendo estas levadas a BOD a temperatura de 25°C por 7 dias. Posteriormente, adicionou-se água sobre o crescimento fúngico na placa e, com o auxílio de um pincel de cerdas macias, os esporos foram raspados e vertidos em um Becker, formando a suspensão. Para a calibração, uma alíquota dessa suspensão foi depositada, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, nos canalículos da câmara de Neubauer e calibrada na concentração de 10^8 conídios. mL⁻¹.

As sementes de alfafa a serem inoculadas foram transferidas para o Becker contendo a suspensão devidamente calibrada, onde permaneceram imersas por 15 minutos. Durante este tempo, as sementes foram agitadas, com o auxílio de um bastão de vidro, de 3 em 3 min, para homogeneizar o processo de inoculação. Decorrido esse tempo, a suspensão contendo as

sementes foi filtrada em gaze e as sementes colocadas sobre duas folhas de papel de filtro, sobre a bancada, para secagem e aderência dos esporos nestas.

Após a inoculação e secagem das sementes, as mesmas foram utilizadas imediatamente.

3.3 TRATAMENTO DE SEMENTES

Tanto as sementes inoculadas com *Penicillium* spp. quanto às não inoculadas foram submetidas a diferentes tratamentos biológicos. O agente de biocontrole, bem como o nome dos produtos comerciais e a dose dos produtos estão descritos na Tabela 1. É relevante observar que, como não há recomendação desses produtos para uso em alfafa, a dose utilizada foi a recomendada para a soja.

Tabela 1. Tratamentos de sementes de alfafa, inoculadas ou não com *Penicillium* spp.. Cerro Largo, 2023.

Agente de biocontrole	Cultivar	Produto Comercial	Dose do pc.100 Kg ⁻¹ sementes
<i>T. harzianum</i>	Crioula	StimuControl ®	400 mL
<i>T. asperellum</i>	Crioula	Quality ®	200g
<i>Bacillus</i> sp. *	Crioula	-	-
Fitormônios	Crioula	Stimulate ®	750 mL
Testemunha	Crioula	-	-

*Isolado RD 34

Fonte: Elaborada pela autora.

Conforme visualizado na Tabela 1, o tratamento T3, à base de *Bacillus* sp., o agente de biocontrole não está formulado e encontrava-se armazenada em tubos de ensaio na geladeira. Para seu uso, o mesmo foi repicado para placas de Petri, contendo meio de cultura 523 de Kado e Heskett(1970) (PORTZ et al., 2006), 48 horas antes do tratamento das sementes e mantido em BOD em temperatura de 24°C. Para o preparo da solução, foi adicionada solução salina (NaCl 0,85%) às placas de Petri, e realizada a raspagem das colônias com auxílio de uma alça de Drigalski. A calibragem da suspensão foi realizada em

espectrofotômetro com ajuste de concentração $OD_{540}=0,5$, o que representa aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹.

Para o tratamento das sementes, estas foram pesadas e separadas em sacos plásticos e, posteriormente, colocado a dose correspondente de cada tratamento nos sacos. Estas foram vigorosamente agitadas, visando cobrir a superfície das sementes com a solução, e mantidas abertas para secagem e aderência do produto às sementes. As sementes correspondentes ao tratamento testemunha foram tratadas somente em água destilada.

O experimento foi realizado em esquema fatorial 2x5, onde o fator A correspondeu a inoculação ou não das sementes com *Penicillium* spp. e o fator B aos tratamentos de sementes (dois produtos biológicos à base de *Trichoderma*, uma suspensão de *Bacillus* sp. e bioregulador de crescimento a base de fitohormônios). Os mesmos foram realizados em blocos casualizados (DBC), com quatro repetições, totalizando 40 unidades experimentais.

3.4 ENSAIOS DE LABORATÓRIO

3.4.1 Teste de germinação

Antes da aplicação dos tratamentos, as sementes foram submetidas ao pré-esfriamento em geladeira a uma temperatura de 5°C. Após as sementes tratadas, foram separadas quatro amostras de 50 sementes de cada tratamento para realização do teste de germinação. Foi realizado de acordo com as Regras para Análise de Sementes (RAS), as 50 sementes de cada repetição foram dispostas em metodologia sobre papel (SP), utilizando caixas plásticas transparentes do tipo Gerbox, contendo duas folhas de papel umedecido. Posteriormente, as caixas foram incubadas em BOD a 18°C por 10 dias. A primeira contagem de germinação foi realizada no quarto dia após a incubação e, a contagem final, no décimo dia (BRASIL, 2009), no entanto, para fins de resultados, os dados da contagem final foram considerados para determinar a porcentagem de germinação (G%) em cada tratamento.

Para a realização da primeira contagem de germinação, foram contabilizadas sementes germinadas, ou seja, aquelas que emitiram protrusão de radícula igual ou superior a 2 mm de comprimento. Na realização da contagem final, foram consideradas sementes germinadas normais, sementes germinadas anormais e sementes não germinadas. Foram consideradas

normais as plântulas que apresentavam todas as suas estruturas bem desenvolvidas, completas, proporcionais e saudáveis, ou que, mesmo apresentando pequenos defeitos, apresentavam desenvolvimento considerado satisfatório (BRASIL, 2009).

3.4.2 Teste de emergência

Antes da aplicação dos tratamentos, as sementes foram submetidas ao pré-esfriamento em geladeira a uma temperatura de 5°C. Com as sementes tratadas, foram separadas quatro amostras de 50 sementes de cada tratamento para realização do teste de emergência. Os recipientes usados foram bandejas contendo solo como substrato. Vale destacar que foi realizado um teste piloto para determinar qual seria o melhor substrato, entre areia, vermiculita e solo, e como não foram encontradas diferenças no número de sementes germinadas entre os diferentes tipos de substrato, tendo em vista a facilidade de aquisição e de avaliação, optou-se pelo solo.

Após a semeadura das sementes nas bandejas, o substrato foi umedecido e estas mantidas sobre a bancada do laboratório de Fitossanidade, onde há grande incidência de luz indireta. As bandejas eram trocadas de lugar diariamente e realizado o molhamento substrato quando necessário.

Para a determinação do Índice de Velocidade de Emergência, foi contabilizado diariamente o número de plântulas emergidas e seguida a fórmula proposta por Eicholz *et al.* (2012) apud Maguire(1962) onde:

$$IVE = (E1/N1) + (E2/N2) + \dots + (En/Nn),$$

IVE = índice de velocidade de emergência;

E = número de plântulas emergidas computadas nas contagens;

N = número de dias da semeadura à 1^a, 2^a... 10^a

Ao final do décimo dia, ocorreu a medição das raízes e parte aérea de dez plântulas normais de cada repetição com auxílio de um paquímetro. Após a mensuração das partes aéreas e raízes, procedeu-se a separação destas e posterior acondicionamento em sacos de papel, os quais foram identificados e levados à estufa a 60°C onde ficarão por 72h até que as amostras atingissem peso constante. A partir disso, determinou-se o peso parcialmente seco de raízes e peso parcialmente seco da parte aérea, com auxílio de uma balança de precisão com 6 dígitos.

3.4.3 Teste de sanidade

Após as sementes tratadas, foram separadas quatro amostras de 50 sementes de cada tratamento para realização do teste de sanidade. O mesmo foi realizado de acordo com as normas do Manual de Análise Sanitária de Sementes (MASS) (BRASIL, 2009).

Assim, as sementes de alfafa foram dispostas sobre duas folhas de papel mata-borrão, previamente umedecido e colocado em caixas transparentes do tipo Gerbox, mantendo-se uma distância de 1-2cm entre as sementes. As caixas com as sementes foram incubadas em BOD sob fotoperíodo de 12 horas em temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante sete dias

As avaliações foram realizadas examinando-se cada semente individualmente, com o auxílio de um estereomicroscópio a resolução de 40x, mediante a ocorrência de frutificações típicas dos fungos. Observações de lâminas ao microscópio óptico foram, algumas vezes, necessárias para confirmar a identidade dos fungos.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos no teste de germinação (G), índice de velocidade de emergência (IVE) e demais variáveis de crescimento vegetal foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, com o auxílio do software SISVAR, versão 5.6 (FERREIRA, 2019).

No experimento de sanidade de sementes, os dados foram organizados em gráficos conforme a incidência dos fungos, sem empregar a análise estatística para comparação dos dados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 GERMINAÇÃO

Observou-se que a inoculação de *Penicillium* spp. em sementes de alfafa não proporcionou efeitos negativos significativos na germinação de sementes de alfafa, pois no tratamento testemunha, sementes inoculadas e não inoculadas não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 2).

Tabela 2: Germinação (%) de sementes de alfafa, submetidas a inoculação de *Penicillium* spp. e tratadas com diferentes produtos biológicos, bioregulador de crescimento e *Bacillus* sp.. Cerro Largo, RS, 2023.

Inoculação	Stimucontrol®	Quality®	RD34*	Stimulate®	Testemunha
Sem	78,0 B b**	95,5Aa	82,0 B ab	90,5 B ab	77,5 B b
Com	88,5 B a	82,5 B a	85,0 B a	92,5 B a	87,0 B a
C.V. 8,59%					

*Isolado de *Bacillus* sp. RD 34

** Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas na coluna as letras e minúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

C.V. coeficiente de variação

Fonte: Elaborada pela autora.

Quando as sementes de alfafa foram inoculadas com o fungo *Penicillium* spp., os tratamentos não diferiram entre si, entretanto, ao usar sementes sem a inoculação, o tratamento Quality®, a base de *T. asperellum*, mostrou-se superior aos demais tratamentos, não diferindo significativamente dos tratamentos RD 34 e Stimulate®. Resultados semelhantes foram encontrados com feijão caupi onde o uso do produto Quality®, maximizou o desenvolvimento inicial das plântulas (CRUZ et al., 2022). Em lentilha, o tratamento de sementes com *Bacillus* sp. influenciou negativamente a germinação (MEDEIROS,2019).

Além disso, de forma geral, mesmo sem diferir estatisticamente, com o uso dos diferentes tratamentos se observaram aumentos na porcentagem de germinação quando as sementes estavam livres do patógeno em relação às sementes inoculadas. Em trabalho de Strahl et al. (2021), as melhores respostas ao uso do tratamento biológico, no que se refere a qualidade fisiológica de sementes de canola, se deu em sementes de qualidade inferior (baixo vigor) em relação às de qualidade fisiológica superior (alto vigor), ao contrário do que foi observado no presente trabalho.

4.2 EMERGÊNCIA

No que se refere a emergência, a inoculação de *Penicillium* spp. em sementes de alfafa proporcionou efeitos negativos significativos na emergência destas (testemunha), bem como na maioria dos tratamentos, com exceção do tratamento com *Bacillus* sp. (RD 34) (Tabela 3). Tanaka; Correa (1981), também observaram influência na emergência de sementes de feijão inoculadas com *Penicillium* spp. Da mesma forma, a menor velocidade na germinação/emergência predispõe a semente e a plântula a uma menor resistência às condições ambientais adversas e ao ataque de patógenos, além de restringir a absorção de nutrientes do solo (MAGALHÃES; DURÃES, 2005).

Tabela 3: Índice de Velocidade de Emergência (IVE) de plântulas de alfafa, anteriormente as sementes submetidas a inoculação de *Penicillium* spp. e tratadas com diferentes produtos biológicos, bioregulador de crescimento e *Bacillus* sp.. Cerro Largo, RS, 2023

Inoculação	Stimucontrol®	Quality®	RD 34*	Stimulate®	Testemunha
Sem	65,85 Aa**	64,48 Aab	56,36 Bb	62,12 Aab	61,52 Aab
Com	47,56 Bb	52,81 Bab	60,19 Ba	45,40 Bb	46,32 Bb
C.V 7, 17%					

*Isolado de *Bacillus* sp. RD 34

** Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas na coluna as letras e minúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

C.V. coeficiente de variação

Fonte: Elaborada pela autora.

Quando as sementes de alfafa foram inoculadas com o fungo *Penicillium* spp, os tratamentos não diferiram entre si, exceto o tratamento com RD 34, o qual mostrou-se superior aos demais, não diferindo significativamente do tratamento com Quality® (*T. asperellum*) (Tabela 3). Este resultado pode estar atrelado ao fato de que isolados de *Bacillus* sp. são eficientes biocontroladores, proporcionando um efeito indireto no crescimento das plantas devido ao fato da ausência ou menor incidência de patógenos, ou mesmo um efeito direto em consequência do aumento da fixação de nitrogênio, solubilização de nutrientes, síntese de fitormônios e melhoria das condições do solo (LANNA FILHO et al., 2010)

Quanto às sementes de alfafa sem inoculação do fungo *Penicillium* spp, os tratamentos diferiram entre si, mostrando que tratamento com Stimucontrol® (*T. harzianum*) se mostrou superior aos demais não diferindo significativamente dos tratamentos com Quality®, Stimulate® e testemunha (Tabela 3). O uso de *T. harzianum* associado a diferentes cepas de

rizóbio, proporcionou incrementos no desenvolvimento de plantas de aveia preta (*Avena strigosa*) e cornichão (*Lotus corniculatus*) pelo aumento do nitrogênio mineral absorvido e o acúmulo de N nas folhas (MACHADO et al., 2011).

4.3 CRESCIMENTO VEGETAL

Observou-se que a inoculação de *Penicillium* spp em sementes de alfafa não proporcionou efeitos negativos significativos na altura de plântulas (testemunha) (Tabela 4). Tal fato era esperado uma vez que o fungo, classificado como um fungo de armazenamento, é dependente das condições de armazenamento das sementes para causar maiores danos relacionados a deterioração destas (PARRELLA et al., 2012) e, no presente trabalho, as sementes não passaram por esse processo após a inoculação do fungo.

Tabela 4: Altura (mm) da parte aérea de plântulas de alfafa, anteriormente sementes submetidas a inoculação de *Penicillium* spp. e tratadas com diferentes produtos biológicos, bioregulador de crescimento e *Bacillus* sp.. Cerro Largo, RS, 2023.

Inoculação	Stimucontrol®	Quality®	RD 34*	Stimulate®	Testemunha
Sem	38,6975 Ab**	39,4925 Bb	37,5550 Bb	43,7925 Aa	38,4550 Bb
Com	35,2125 Bb	36,5525 Bb	34.8800 Bb	37.33000 Bb	35.9575 Bb
C.V 5,53%					

*Isolado de *Bacillus* sp. RD 34

** Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas na coluna as letras e minúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

C.V. coeficiente de variação

Fonte: Elaborada pela autora.

Quando as sementes de alfafa foram inoculadas com o fungo *Penicillium* spp, os tratamentos não diferiram entre si. Em canola, o uso de Stimucontrol® apresentou efeito positivo na altura de plântulas (STRAHL et al., 2021), fato que não se observou na alfafa.

Quando as sementes de alfafa não foram inoculadas com o fungo *Penicillium* spp, os tratamentos diferiram entre si, mostrando que o tratamento com Stimulate® foi superior aos demais. Resultado semelhante foi encontrado em feijão, cujas sementes foram tratadas com esse mesmo produto e foi observado incremento na altura das plântulas (RAMOS et al., 2015). O tratamento das sementes com esse produto pode ter favorecido a expressão favorável dos resultados uma vez que Oliveira et al. (1994) citam que as plantas aproveitam de forma mais eficiente os reguladores de crescimento (fitohormônios) quando os níveis endógenos estão baixos, e isto geralmente ocorre no estágio de plântula ou planta jovem.

Quanto ao comprimento de plantas, observou-se que a inoculação de *Penicillium* spp. em sementes de alfafa não proporcionou efeitos negativos significativos nesta variável (Tabela 5). No entanto, quando as sementes de alfafa foram inoculadas com o fungo, os tratamentos Quality® e Stimulate® foram superiores, mas sem diferir significativamente dos tratamentos com Stimucontrol® e RD 34 (Tabela 5) e sem inoculação, se destacou apenas o tratamento com o uso de Stimulate®.

A aplicação de reguladores de crescimento, como é o caso do Stimulate®, durante as fases iniciais de desenvolvimento da planta promove o crescimento das raízes; permite rápida recuperação após estresse hídrico; aumenta a resistência a insetos, pragas, doenças e nematóides, e promove o estabelecimento rápido e uniforme da planta, o que melhora a absorção de nutrientes e o rendimento (DANTAS et al., 2012). Isolados de *Trichoderma* também teriam essa capacidade (MEYER et al., 2012).

Tabela 5: Comprimento (mm) da parte radicular de plântulas de alfafa, anteriormente as sementes submetidas a inoculação de *Penicillium* spp. e tratadas com diferentes produtos biológicos, bioregulador de crescimento e *Bacillus* sp.. Cerro Largo, RS, 2023.

Inoculação	Stimucontrol®	Quality®	RD 34*	Stimulate®	Testemunha
Sem	38,7350 Bb**	42,8750 Bab	38,1750 Bb	46,1450 Aa	37,3300 Bb
Com	36,5875 Bab	39,9625 Ba	37,2175 Bab	40,87250 Ba	33,5850Bb
C.V 7, 24%					

*Isolado de *Bacillus* sp. RD 34

** Médias seguidas de mesmas letras, maiúsculas na coluna as letras e minúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

C.V. coeficiente de variação

Fonte: Elaborada pela autora.

Para o peso seco de parte aérea (Tabela 6), a inoculação de *Penicillium* spp. em sementes de alfafa proporcionou efeitos negativos significativos nesta variável, reduzindo significativamente o peso em relação às plantas que não foram inoculadas em todos os tratamentos. Quando as sementes de alfafa foram inoculadas, o tratamento com RD 34 apresentou média superior às demais, não diferindo significativamente do tratamento com Stimucontrol®. Por outro lado, quando as sementes de alfafa não foram inoculadas, os tratamentos Quality® e Stimulate® se mostraram superiores, não diferindo significativamente dos tratamentos com Stimucontrol® e RD 34.

Tabela 6: Peso parcialmente seco (mg) da parte aérea de plântulas de alfafa, anteriormente as sementes submetidas a inoculação de *Penicillium* spp. e tratadas com diferentes produtos biológicos, bio regulador de crescimento e *Bacillus* sp.. Cerro Largo, RS, 2023.

Inoculação	Stimucontrol®	Quality®	RD 34*	Stimulate®	Testemunha
Sem	0,0123 Aab**	0,0129 Aa	0,0122 Aab	0,0127 Aa	0,0111Ab
Com	0,0098 Bab	0,0095 Bb	0,0110 Ba	0,0090 Bbc	0,0079 Bc
C.V	6,09 %				

*Isolado de *Bacillus* sp. RD 34

** Médias seguidas de mesmas letras, na coluna as letras maiúsculas e nas linhas as letras minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Elaborada pela autora

No que se refere ao peso seco das raízes (Tabela 7) a inoculação de *Penicillium* spp. não proporcionou diferenças significativas em relação às plantas não inoculadas. A maioria dos tratamentos tiveram comportamento semelhante à testemunha, no entanto o uso de Stimucontrol® diferiu significativamente desta. tanto, essa diferença não foi observada no peso seco de parte radicular, pois a inoculação não teve diferença significativa, exceto com o tratamento Stimucontrol ® (Tabela 7). Os fungos pertencentes ao gênero *Trichoderma* além serem reconhecidamente biofungicidas, também podem ser classificados como biofertilizantes e bioestimulantes (MEYER et al., 2012), maximizando o crescimento de plantas direta ou indiretamente.

Tabela 7: Peso parcialmente seco (mg) da parte radicular de plântulas de alfafa, anteriormente sementes submetidas a inoculação de *Penicillium* spp. e tratadas com diferentes produtos biológicos, bio regulador de crescimento e *Bacillus* sp.. Cerro Largo, RS, 2023.

Inoculação	Stimucontrol®	Quality®	RD 34*	Stimulate®	Testemunha
Sem	0,0032 Ba**	0,0036 Aa	0,0028 Aa	0,0035 Aa	0,0024 Aa
Com	0,0052 Aa	0,0023 Ab	0,0042 Aab	0,0035 Aab	0,0022 Ab
C.V	31,88%				

*Isolado de *Bacillus* sp. LABMID UFFS RD 34

** Médias seguidas de mesmas letras, na coluna as letras maiúsculas e nas linhas as letras minúsculas, não diferem entre si pelo teste de tukey, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Elaborada pela autora.

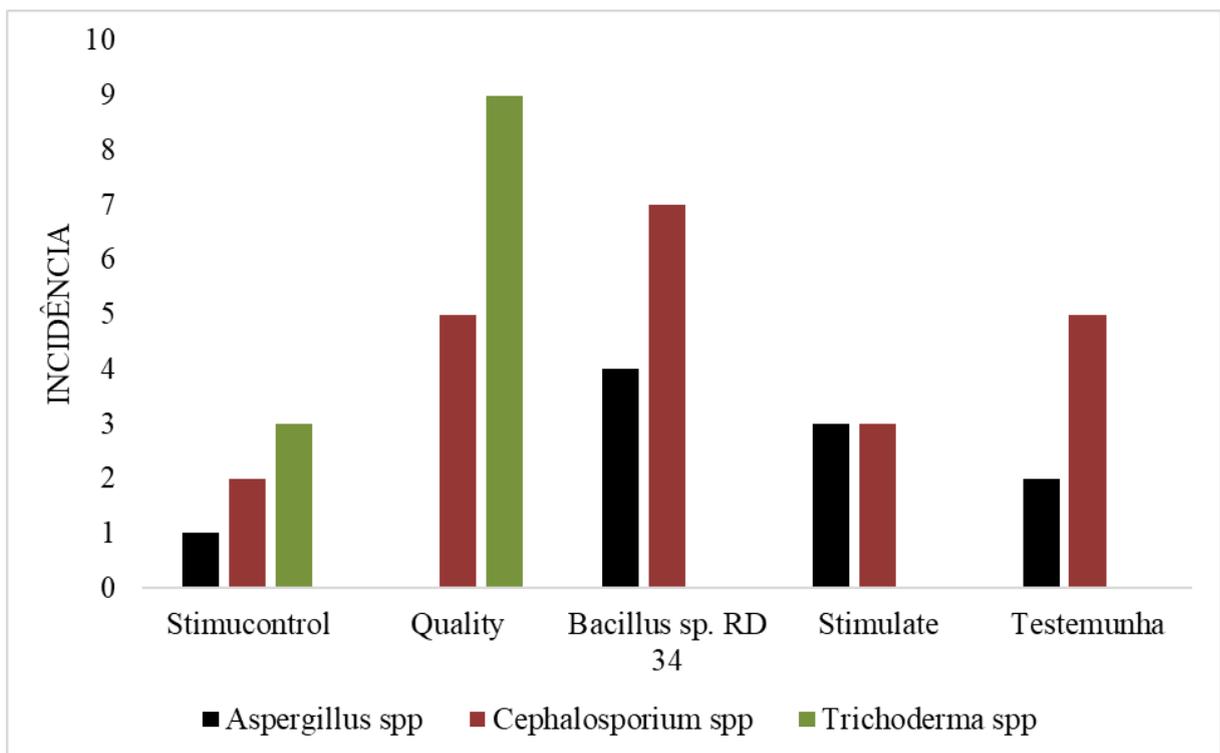
Diante disso, torna-se interessante que se ofereçam condições, no caso o tratamento de sementes com produtos biológicos à base de *Trichoderma* ou *Bacillus*, condicionando as sementes/plântulas a alcançar mais rapidamente o estágio adulto, o que favorece o escape contra patógenos presentes no solo e no ambiente externo. Além disso, promove maior resistência da planta a condições abióticas adversas por apresentar-se nutricionalmente

balanceada (LANNA FILHO et al., 2010), resultando em plantas mais vigorosas, com maior desenvolvimento de parte aérea e de raízes.

4.4 QUALIDADE SANITÁRIA

Verificou-se que as sementes apresentaram uma baixa incidência de microrganismos associados a elas. Os microrganismos encontrados em sementes inoculadas e não inoculadas com *Penicillium* spp. estão representados no gráfico 1 e 2.

Gráfico 1: Microrganismos associados às sementes de alfafa, sem a inoculação de *Penicillium* spp. e tratadas com diferentes produtos biológicos, bioregulador de crescimento e *Bacillus* sp.. Cerro Largo, RS, 2023.

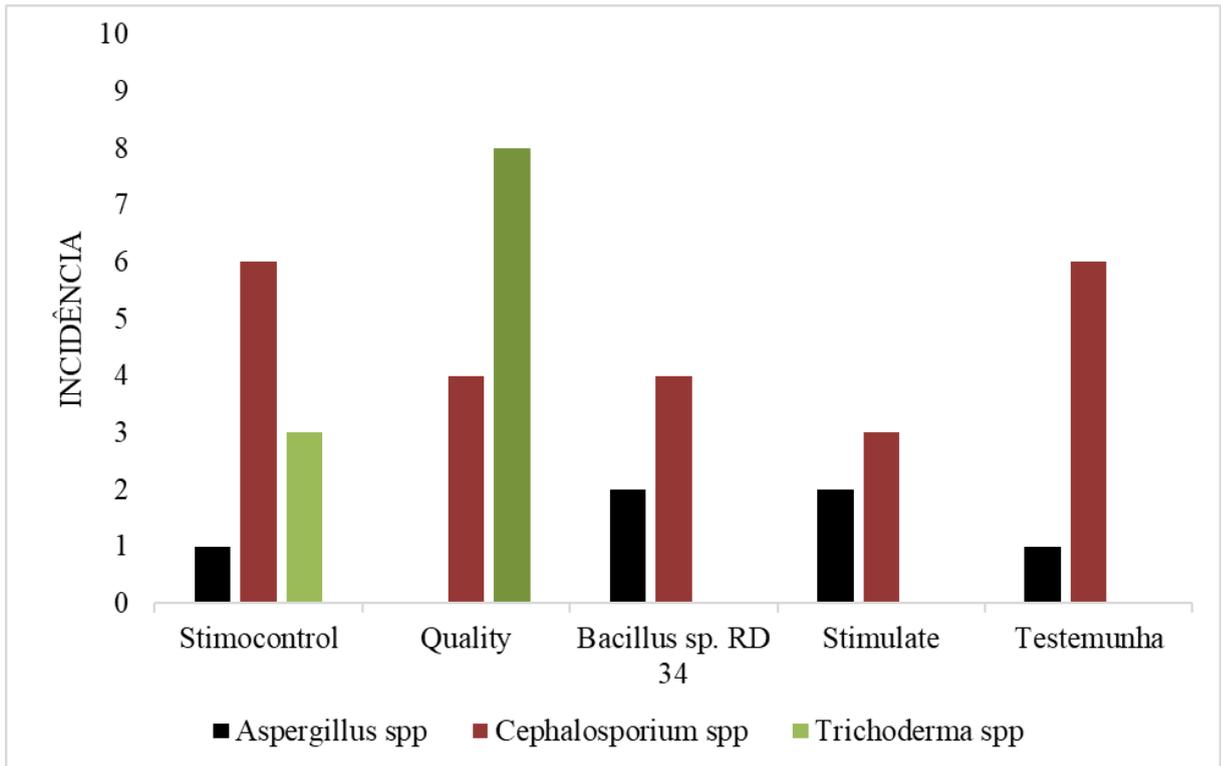


Fonte: Elaborada pela autora

Dos fungos encontrados, o *Trichoderma* spp., base dos tratamentos Stimucontrol® e Quality®, foi encontrado somente nesses tratamentos (Gráfico 1 e 2). Com relação ao *Aspergillus* spp., sua presença não foi observada apenas no tratamento usando Quality® (Gráfico 1 e 2). Esse mesmo resultado foi observado na goiaba-serrana com tratamento de sementes a base *Trichoderma asperellum* (FANTINEL et al., 2014). Já em feijão caupi o

produto Quality® não foi eficiente no controle de *Aspergillus* spp. (SANTOS, 2018). O *Aspergillus* spp é considerado um fungo de armazenamento, que deteriora as sementes (BRASIL, 2009).

Gráfico 2: Microrganismos associados às sementes de alfafa crioula, com a inoculação de *Penicillium* spp. e tratadas com diferentes produtos biológicos, bio regulador de crescimento e *Bacillus* sp.. Cerro Largo, RS, 2023.



Fonte: Elaborada pela autora.

CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que, o tratamento de sementes de alfafa com os produtos biológicos Stimucontrol® e Quality®, bioregulador de crescimento Stimulate® e de *Bacillus* sp. (isolado RD 34), via microbiolização de sementes previamente inoculadas ou não com *Penicillium* spp., proporcionou efeitos na promoção de crescimento de plântulas e no controle de alguns patógenos nas sementes.

REFERÊNCIAS

- ALVES, E. N. T. D *et al.* **Seleção de microrganismos antagonistas para biocontrole de *Fusarium verticillioides* na cultura do milho (*Zea mays* L.)**. Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2013. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/94390/1/bol-75.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2022.
- ALLEONI, B.; BOSQUEIRO, M.; ROSSI, M. Efeito dos reguladores vegetais Stimulate® No desenvolvimento e produtividade do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Publicatio UEPG**. Ponta Grossa. 2009. Disponível em: <https://revistas.uepg.br/index.php/exatas/article/view/744>. Acesso em: 27 jan. 2023.
- ASBRAER. **Quem produz os alimentos que chegam à mesa do brasileiro?** 2017. Disponível em: <http://www.asbraer.org.br/index.php/rede-de-noticias/item/3510-quem-produz-os-alimentos-que-chegam-a-mesa-do-brasileiro#:~:text=Quando%20se%20consideram%20alimentos%20consumidos,%2C%20milho%2C%20leite%2C%20batata..> Acesso em: 02 jun. 2022.
- ARAÚJO, E. A de. *et al.* **Qualidade do solo: conceitos, indicadores e avaliação**. Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias, Guarapuava-PR, v.5, n.1, p.187-206, 2012. Disponível em: <https://revistas.unicentro.br/index.php/repaa/article/view/1658/1686>. Acesso em: 30 jun. 2022.
- BARROS, T. F.; ANES, C. E. R; DALCIN, D. **Os Produtores de alfafa e suas unidades de produção familiar: um estudo em Dezesesseis de Novembro/RS**. 2020. Disponível em: <https://online.unisc.br/seer/index.php/agora/article/download/15354/9311>. Acesso em: 30 jun. 2022.
- BASIGALUP, D. H.; ODORIZZI, A. S; FERREIRA, R de P. **CULTIVARES NA AMÉRICA LATINA**. Cap. 3. p. 42-59. In: BRASIL. **Alfafa: dos cultivos aos múltiplos usos**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília, Mapa, 2020. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1125247/1/Silva-et-al-Identificacao-e-controle-de-pragas.pdf>. Acesso em: 30 jun. 2022.
- BRASIL. **Manual para análise sanitária de sementes** . Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília, Mapa/ACS, 2009.
- BORBA, C. S.; ANDRADE, R. V. **Qualidade de sementes**. s.a. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/57372/1/Circ-19-Qualidade-sementes.pdf>. Acesso em: 26 jan. 2023.
- BEDENDO, I. P; MASSOLA JUNIOR, N. S; AMORIM, L. Controles cultural, físico e biológico de doenças de plantas. Cap. 17.p. 367-388. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (ed.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres Ltda, 2011. p. 704

BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle Biológico. In: **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos**. 3ª ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 1, p. 717-728, 1995.

CAMARGO, C. A; FERREIRA, R. P; RASSINI, B. J. Cultivo e estabelecimento da alfafa. Cap.2. p.25-37. In: FERREIRA, R. de P. et al. (Ed). **Cultivo e utilização da alfafa nos trópicos**. São Carlos-São Paulo. Embrapa Pecuária Sudeste, 2008.

CAMPINAS. **Agricultura e preservação ambiental: uma análise do cadastro ambiental rural**. Embrapa Territorial. Campinas, 2020. Disponível em: www.embrapa.br/car. Acesso em: 6 jun. 2022

COSTA, N. J. F. *et al.* Microbiolização de sementes de alface com *Bacillus* spp. para controle de fungos fitopatogênicos. **Anais Da Academia Pernambucana De Ciência Agronômica**. 2021. Disponível em: <http://www.journals.ufrpe.br/index.php/apca/article/view/4218>. Acesso em: 10 jul. 2022.

CRUZ, J. M. F. L. *et al.* Microbiolization of cowpea seeds with commercial strains of *Trichoderma asperellum* and *T. harzianum*. **Revista Ceres**. 2022. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rceres/a/qrp9SBrzsYZ3k4Gdhj7NDDy/?format=html&lang=en#>. Acesso em: 27 jan. 2023.

DANTAS, A. C. V. L. *et al.* Effect of gibberellic acid and the bioestimulant Stimulate® on the initial growth of tamarind. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 1, p. 008-014, 2012.

DIAS-FILHO, M. B. **Diagnóstico das Pastagens no Brasil**. 2014. Embrapa Amazônia Oriental. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/986147/1/DOC402.pdf>. Acesso em: 06 jun. 2022.

EICHOLZ, M. D. *et al.* **Qualidade física e fisiológica de sementes de tungue (*Aleurites Fordii* Hemsl.)**. 2012. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/77446/1/QUALIDADE-FISICA-E-FISIOLOGICA-DE-SEMENTES-DE-TUNGUE-Aleurites-Fordii-Hemsl.pdf>. Acesso em: 26 jan. 2023

FANTINEL, V. S. *et al.* Tratamentos de sementes de goiaba-serrana (*Acca sellowiana*): efeito na incidência de fungos e na germinação. **Revista Brasileira de Biociências**. 2014. Disponível em: <https://www.seer.ufrgs.br/index.php/rbrasbioci/article/view/114800/62086>. Acesso em: 29 jan. 2023.

FONSECA, B. G. **Alfafa tem demanda no mercado internacional**. ANBA-Agência de Notícias Brasil-Arabe. 2020. Disponível em: <https://anba.com.br/alfafa-tem-demanda-no-mercado-internacional/>. Acesso em: 22 jun. 2022.

FRANÇA NETO, J. B; HENNING, A. A. **Qualidades fisiológica e sanitária de sementes de soja**. 1984. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/444358#:~:text=Qualidade%20fisiologica%20da%20semente%3B%20Deterioracao,boa%20qualidade%3B%20Danos%20mecanicos%3B%20Danos>. Acesso em: 30 jan. 2023.

FERREIRA, D. F. SISVAR: A Computer Analysis System To Fixed Effects Split Plot Type Designs. **Revista Brasileira De Biometria**, [S.l.], v. 37, n. 4, p. 529-535. 2019. ISSN 1983-0823. Disponível em : <<http://www.biometria.ufla.br/index.php/BBJ/article/view/450>>. Acesso em: 01 fev. 2023.

GOULART, A. C. P. **Fungos em sementes de soja, detecção, importância e controle**. Brasília. Embrapa Agropecuária Oeste. 2.. ed. rev. e ampl. 2018. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/184748/1/LIVRO-DOENCAS-FINAL.pdf>. Acesso em: 07 jul. 2022.

IAMAUTI, M. T; MASSOLA JUNIOR, N. S. Doenças da alfafa. Cap. 7. p. 41-45. In: AMORIM, L. *et al* (ed.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino - MG. Agronômica Ceres Ltda, 2016. p. 772.

KLOEPPER, J. W.. Resistência sistêmica induzida e promoção do crescimento vegetal por *Bacillus* spp. **Phytopathology** 2007. Disponível em: https://apsjournals-apsnet-org.translate.google.com/doi/10.1094/PHTO.2004.94.11.1259?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=pt&_x_tr_hl=pt-BR&_x_tr_pto=sc. Acesso em: 30 jan. 2023.

KUPPER, K. C. et al. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p. 251-257, 2003.

KRZYZANOWSKI, F. C. *et al*. **A semente de soja como tecnologia e base para altas produtividades**. Embrapa Soja, 2008. 8 p. (Circular técnica, 55).

LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; DE PINHO, R. S. C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 2, p. 12–20, 2010.

LOPES, R.B. A indústria no controle biológico: produção e comercialização de microrganismos no Brasil. Cap. 2. p.15-29. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. .A. B. (ed.). **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa, 2009. p. 341

LUDWIG, J; MOURA, A. B. Controle biológico da queima-das-bainhas em arroz pela microbiolização de sementes com bactérias antagonistas. **Revista Ceres**. 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/fb/a/XwhRXNDQMFMmpjS79gM5w5C/?lang=pt>. Acesso em: 10 jul. 2022.

MACHADO, D. F. M. *et al*. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**. 2012. Disponível em: <https://revistas.rcaap.pt/index.php/rca/article/view/16182>. Acesso em: 06 jul. 2022

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. **Cultivo do Milho – ecofisiologia**. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/> Acesso em: 30 jan. 2005.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2ª edição. Londrina: ABRATES, 2015. 659p

MEDEIROS, L. B. **Bioprodutos com *Bacillus* spp. e *Trichoderma* sp. no desenvolvimento inicial de lentilha.** Dissertação(Mestre em Agrobiologia) Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria- RS. 2019. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/20852/DI_PPGAGROBIOLOGIA_2019_MED EIROS_LETICIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 27 jan. 2023.

MELO, N. F de **Introdução aos Hormônios e Reguladores de Crescimento Vegetal.** In: SEMINÁRIO CODA DE NUTRIÇÃO VEGETAL, 1. Petrolina-PE. Embrapa Semi- Árido. 2002. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/135451/1/HormonioseReguladoresdeCrescimentoVegetal.pdf>. Acesso em 31 jan. 2023.

MENDES, M. *et al.* Erradicação de *Fusarium oxysporum* em sementes de alfafa utilizando termo e quimioterapia. **Revista Ceres.** 2001. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/fb/a/z5NYZKGD7cMbkvtWr7FfPpg/?lang=pt#:~:text=O%20tratamento%20t%C3%A9rmico%20seco%20a,germina%C3%A7%C3%A3o%20das%20sementes%20de%20alfafa..> Acesso em: 26 jan. 2023.

MEYER, M. C. *et al.* **Trichoderma:** uso na agricultura. Brasília, DF: Embrapa, 2019. 538 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1117296/trichoderma-uso-na-agricultura>. Acesso em: 26 jan. 2023

MILANESI, P. M. *et al.* Biocontrole de *Fusarium* spp. com *Trichoderma* spp. e promoção de crescimento em plântulas de soja. **Revista de Ciências Agrárias.** 2013. Disponível em: <https://revistas.rcaap.pt/rca/article/view/16319/13284>. Acesso em: 10 jul. 2022.

MIRANDA, E. **Áreas cultivadas no Brasil e no mundo.** 2018. Brasil. Embrapa Territorial, 2018. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/174066/1/4942.pdf>. Acesso em: 02 jun. 2022.

MITTELMANN, A. **Principais espécies forrageiras.** In: PEGORARO, L. M. C. (Ed.). Noções sobre produção de leite. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006. 153 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/clima-temperado/forrageiras>. Acesso em : 22 jun. 2022.

MITTELMANN, A (ed.). **Tecnologias para a produção de alfafa no Rio Grande do Sul.** 1. ed. Pelotas. Embrapa Clima Temperado; Juiz de Fora. Embrapa Gado de Leite, 2008. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/746530/tecnologias-para-a-producao-de-alfafa-no-rio-grande-do-sul>. Acesso em: 29 jun. 2022.

MOREIRA, A. *et al.* **Fertilidade do solo e estado nutricional da alfafa cultivada nos trópicos.** São Carlos. Embrapa Pecuária Sudeste. 2007. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/48032/4/Documentos67.pdf>. Acesso em: 30 jun. 2022.

NASCIMENTO, W. M. O. *et al.* Qualidade sanitária e germinação de sementes de *Pterogyne nitens* Tull. (Leguminosae – Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Sementes.** 2006.

Disponível em:
<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/577065/1/a21v28n1.pdf>. Acesso em:
 30 jan. 2023.

NÓBREGA, F. V. A; SUASSUNA, N. D. Análise sanitária de sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) armazenadas em algumas áreas do estado da Paraíba. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. 2004. Disponível em:
<http://joaootavio.com.br/bioterra/workspace/uploads/artigos/amendoim-5156493f20625.pdf>.
 Acesso em: 30 jan. 2023.

ONU – Organização das Nações Unidas diz que população mundial chegará a 8,6 bilhões de pessoas em 2030. Internacional. Agência Brasil. 2017. Disponível em:

<http://agenciabrasil.ebc.com.br/internacional/noticia/2017-06/onu-diz-que-populacao-mundial-chegara-86-bilhoes-de-pessoas-em-203>.

PARRELLA, N. N. L. D. *et al.* **Qualidade fitossanitária de sementes**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2012. 6 p. (Circular Técnica, 156).

PASCHOLATI, S. F. Fisiologia do parasitismo: como os patógenos atacam as plantas. Cap.34. p. 543-592. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M; BERGAMIN FILHO, A (ed.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres Ltda, 2011. p. 704

PEREZ, N. B. **Melhoramento genético de leguminosas de clima temperado - alfafa (*Medicago sativa* L) e cornichão (*Lotus corniculatus* L) para aptidão ao pastejo**. 2003. 187 f. Tese (Doutorado em Zootecnia).Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul. Porto Alegre. 2003. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/4303>. Acesso em: 01 jul. 2022.

PINTO, N. F. J. A. Tratamento de sementes, uso de fungicidas e qualidade sanitária de grãos .p. 150-161. In: Ceccon, G; Staut, L. A.(org). **9º Seminário Nacional de Milho Safrinha, Rumo à estabilidade: anais**. Embrapa Agropecuária Oeste. 2007.p.484. Disponível em:
<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/53830/1/Tratamento-sementes.pdf>.
 Acesso em: 07 jul. 2022.

PORTZ, R. L *et al.* **Caracterização de isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis***. 2006. Disponível em: <https://periodicos.uem.br>. Acesso em: 26 jan. 2023.

RAMOS, A. R. *et al.* Bioestimulante no condicionamento fisiológico e tratamento de sementes de feijão. **Revista Biociências**. 2015. Disponível em:
<http://periodicos.unitau.br/ojs/index.php/biociencias/article/view/1981>. Acesso em: 27 jan. 2023.

RAMKRAPE, F; ZORZZI, I.C. Manejo Agroecológico de Doenças em Pastagens. p. 94-100. In: MAZARO, S.M. (org.). **Manejo Agroecológico de Doenças: uma visão tecnológica**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2017. 152 p.

RASSINI, J.B; FERREIRA, R de P; MOREIRA, A. **Recomendações para o cultivo de alfafa na região sudeste do Brasil**. São Carlos-SP. Embrapa Pecuária Sudeste. 2006. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/47859/recomendacoes-para-o-cultivo-de-alfafa-na-regiao-sudeste-do-brasil>. Acesso em: 05 jul. 2022.

Ratz, R. J. *et al.* Potencial biotecnológico de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas no cultivo de milho e soja. **Engevista**, v. 19, n. 4, 2017.

REZENDE, Cássia Cristina *et al.* **Microrganismos multifuncionais: utilização na agricultura**. 2021. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1136809/1/rsd-2021.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2023.

RODRIGUES, L. A *et al.* Avaliação fisiológica de sementes de arroz submetidas a doses de bioestimulante. **Revista Científica da Fundação Educacional de Ituverava**. 2015. Disponível em: <http://www.nucleus.feituverava.com.br/index.php/nucleus/article/view/1376>. Acesso em: 07 jul. 2022.

RODRÍGUEZ, N. E *et al.* Origem, disseminação, morfologia e fenologia. Cap.2. p. 21-41. In: BRASIL. **Alfafa: dos cultivos aos múltiplos usos**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília, Mapa, 2020. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1125247/1/Silva-et-al-Identificacao-e-controle-de-pragas.pdf>. Acesso em: 29 jun. 2022.

ROSSI, R.F.; CAVARIANI, C. FRANÇA-NETO, J.B. Vigor de sementes, população de plantas e desempenho agrônômico de soja. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 60, n. 3, p. 215-222, 2017.

SANTOS, I. S. **Antagonismo de isolados de *Trichoderma* frente a fungos associados a sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)**. Monografia (Bacharel em Agronomia). Universidade Federal Rural Do Semiárido. Mossoró. 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufersa.edu.br/bitstream/prefix/3263/2/Isabela%20SS-%20MONO.pdf>. Acesso em: 29 jan. 2023.

SILVA, T. R. G da *et al.* Fatores abióticos no crescimento e florescimento das plantas. **Research, Society and Development**. 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/13817/12583>. Acesso em: 07 jul. 2022.

SILVA, G. M.; MAIA, M. B; MAIA, M. S. **Qualidade de Sementes Forrageiras de Clima Temperado**. Bagé. Embrapa Pecuária Sul. 2011. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/927282/qualidade-de-sementes-s-forrageiras-de-clima-temperado>. Acesso em: 30 jun. 2022.

STRAHL, M. A. *et al.* Qualidade fisiológica de sementes de canola (*Brassica napus* L.) submetidas a microbiolização com *Trichoderma* spp. **Científica**. 2021. Disponível em: <https://cientifica.dracena.unesp.br/index.php/cientifica/article/view/1347/852>. Acesso em: 27 jan. 2023.

TANAKA, M. A. S; CORRÊA, M. U. Influência de *Aspergillus* e *Penicillium* no armazenamento de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, n. 3, p. 451-456, 1981.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848 p

WERNER, C. J. **Tratamentos químicos e biológicos de sementes de soja para o controle de *Phytophthora sojae***. 2020. 87 f. Dissertação (Mestre em Agronomia). Universidade Federal de Santa Maria. Frederico Westphalen. 2020. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/21095/DIS_PPGAGRONOMIA_2020_WERNER_CARLA.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 10 jul. 2022

WIKIFARMER. **Colheita de alfafa e o rendimento por hectare**. 2022. Disponível em: <https://wikifarmer.com/pt-br/colheita-de-alfafa-e-o-rendimento-por-hectare/#:~:text=O%20rendimento%20total%20m%C3%A9dio%20%C3%A9,toneladas%20por%20acre%20por%20ano..> Acesso em: 22 jun. 2022.

ZAMBOLIM, L. Tomada de decisão visando o controle químico de doenças de plantas. Cap.12. p.437-494. In: ZAMBOLIM, Laercio; SILVA, Antônio Alberto da; PICANÇO, Marcelo Coutinho (ed.). **O que engenheiros agrônomos devem saber para orientar o uso de produtos fitossanitários**. 4. ed. rev. e ampl. Viçosa: Suprema, 2014.