

Artigos Originais (Original Articles)

Tratamento biológico sobre sementes  
de leucena (*Leucaena leucocephala*)

Biological treatment on leucena  
(*Leucaena leucocephala*) seeds

ANDREZZA KLYVIA ARAÚJO DE OLIVEIRA<sup>1</sup>

ANTÔNIO FERNANDO DA SILVA<sup>2</sup>

ANTÔNIO AUGUSTO MARQUES RODRIGUES<sup>2</sup>

ROMMEL DOS SANTOS SIQUEIRA GOMES<sup>2</sup>

HILDERLANDE FLORÊNCIO DA SILVA<sup>2</sup>

LUCIANA CORDEIRO DO NASCIMENTO<sup>3</sup>

1. Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, da Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró/RN, Brasil.  
andrezzaklyvia@hotmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7110-0066>

2. Programa de Pós-graduação em Agronomia, da Universidade Federal da Paraíba, Areia/PB, Brasil

3. Departamento de Fitotecnia e Ciências Ambientais, da Universidade Federal da Paraíba, Areia/PB, Brasil

O sistema de produção de mudas de espécies florestais apresenta uma série de restrições, principalmente de origem sanitária, devido ao grande número de patógenos associados às sementes e conseqüentemente às mudas resultantes (MUNIZ ET AL., 2007). Essa má qualidade sanitária tem influência na qualidade da semente, com reflexos negativos da cultura no campo, podendo ter efeito na germinação, no vigor e na produtividade, por causar morte da semente, redução do “stand” e doença das plantas (FREITAS, 2005).

*Leucaena leucocephala* (Lam.) Wit. é uma leguminosa pertencente à família Fabaceae, originária do sul do México e norte da América Cen-



tral (SKERMAN, 1977).

A leucena é empregada principalmente no reflorestamento de áreas degradadas, melhorando as características físico-químicas e biológicas do solo, além de ser fonte de proteína para alimentação animal, com restrições devido a presença de substâncias tóxicas nas folhas (EL-BEDAWY ET AL., 1999; VISHWAKARMA ET AL. 2012).

Para a obtenção de uma boa muda é necessário o controle da sanidade e da qualidade da semente utilizada, pois esta poderá servir como veículo de propagação e disseminação de patógenos (MENDES ET AL., 2005). Para isso, o tratamento com produtos químicos vem sendo utilizados indiscriminadamente, possibilitando que muitos organismos começassem a adquirir resistência a várias substâncias químicas, demandando quantidades cada vez maiores desses produtos (BARBOSA, 2004).

O controle biológico no Brasil é favorecido pelo clima e pela sua rica biodiversidade, resultando em uma enorme gama de antagonistas nativos de pragas, representados por seus parasitoides, predadores e patógenos. (ALVES ET AL., 2008). O uso de agentes biológicos tem demonstrado resultados eficientes também no controle de patógenos transmitidos por sementes (MISSIO ET AL., 2003).

A relação da antibiose como mecanismo de antagonismo de leveduras, foi relatada também no controle de doenças fúngicas que afetam tecidos vasculares de plantas (EL-MEHALAWY, 2004). Essa eficiência foi verificada com espécies de leveduras *Saccharomyces unispora* e *Candida steatolytica*, onde as mesmas reduziram a severidade da murcha em feijão roxo, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum*, em mais de 75% através do tratamento de sementes (EL-MEHALAWY, 2004).

A substituição tratamento químico de sementes pelo biológico traz benefícios econômicos, sociais e ambientais (POMELLA & RIBEIRO, 2009). Segundo trabalhos executados por POMELLA E RIBEIRO (2009) foi comprovado que *Trichoderma* spp. pode reduzir o número de aplicações de produtos químicos até mesmo eliminar esta prática.

O objetivo do trabalho é verificar a eficiência de agentes biológicos quanto à inibição de fungos. E verificar a qualidade fisiológica em sementes de leucena (*Leucaena leucocephala*) tratados com os agentes biológicos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia (LAFIT), pertencente ao Departamento de Fitotecnia e Ciências Ambientais, da

Universidade Federal da Paraíba. As sementes de leucena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) Wit.), foram coletadas em matrizes localizadas na proximidade do Campus II da UFPB, apresentando coordenadas geográficas de 6°58'12" de latitude Sul e 35° 42' 15" e longitude Oeste e altitude de 619 m.

Os tratamentos foram constituídos de *Saccharomyces cerevisiae* e *Trichoderma harzianum*. As concentrações utilizadas foram, 0; 0,5; 1; 1,5 e 2 µg L<sup>-1</sup> de água destilada e esterilizada (ADE) e o fungicida Captan®, como controle, com a dosagem de 24 g. kg<sup>-1</sup> de sementes.

O teor de água das sementes foi determinado com base na utilização de uma amostra de 100 sementes, divididas em quatro repetições de 25 sementes cada. Estas foram colocadas em estufa sob temperatura de 105 ±3 °C, por 24 h. Os resultados foram expressos em porcentagem, tomando como base no peso úmido das sementes (BRASIL, 2009).

A qualidade sanitária das sementes foi avaliada com base na utilização de uma amostra de 100 sementes, divididas em quatro repetições de 25 sementes, sendo as mesmas, tratadas com os respectivos tratamentos mencionados. As sementes foram previamente desinfestadas com hipoclorito de sódio a 1% por 2 minutos e posteriormente, enxaguados em ADE em seguida imersas nas concentrações supracitadas de acordo com os tratamentos correspondentes por um período de 5 min, a testemunha foi imersa apenas em água destilada. Em seguida as sementes foram retiradas e dispostas sobre duas camadas de papel de filtro previamente esterilizadas e umedecidas com água destilada e esterilizada e acondicionadas em placa de Petri, por sete dias, para posterior identificação morfológica dos fungos, com auxílio de microscópio óptico, sendo comparadas com as descrições constantes na literatura, o mesmo ocorreu em laboratório com temperatura ambiente (25 + 2°C) e luminosidade de 12h (MARTHUR & KONGSDAL, 2003).

Para avaliar a viabilidade e vigor das sementes de leucena, sob o efeito dos tratamentos os testes foram conduzidos em germinadores tipo Biochemical Oxygen Demand (B.O.D.) sob temperatura constante de 25±2 °C e fotoperíodo de 12 horas, utilizando lâmpadas fluorescentes tipo luz do dia (4 x 20W). Os tratamentos foram os mesmos anteriormente descritos na avaliação da qualidade sanitária, cada ensaio onde o tratamento foi composto de 100 sementes, divididas em quatro repetições de 25, as quais foram distribuídas sobre duas folhas de papel germitest, cobertas com uma terceira e organizadas em forma de rolo. O papel germitest foi previamente umedecido com água destilada em uma

quantidade equivalente a 2,5 vezes o seu peso seco, sem adição posterior. Os rolos foram acondicionados em sacos plásticos transparentes para evitar a perda de água por evaporação, segundo metodologia de BRASIL (1992).

Para determinar a porcentagem de germinação das sementes às avaliações foram realizadas diariamente, sendo a primeira leitura feita no segundo dia e a última no sétimo dia após a instalação do teste. Foram consideradas como sementes germinadas aquelas que apresentaram emissão da raiz primária normal e do hipocótilo.

A primeira contagem de germinação foi determinada juntamente com o teste de germinação. Ambas as variáveis foram realizadas pelo número de plântulas normais oriundas de sementes germinadas no segundo dia após a instalação do teste. Os dados expressos em porcentagem.

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi determinado através de contagens diárias das sementes germinadas, durante 7 dias, sendo o índice de velocidade de germinação calculado pela fórmula proposta por Maguire (1962), onde

$$IVG = \frac{G_1 + G_2 + \dots + G_3 + G_n}{N_1 + N_2 + \dots + N_n}$$

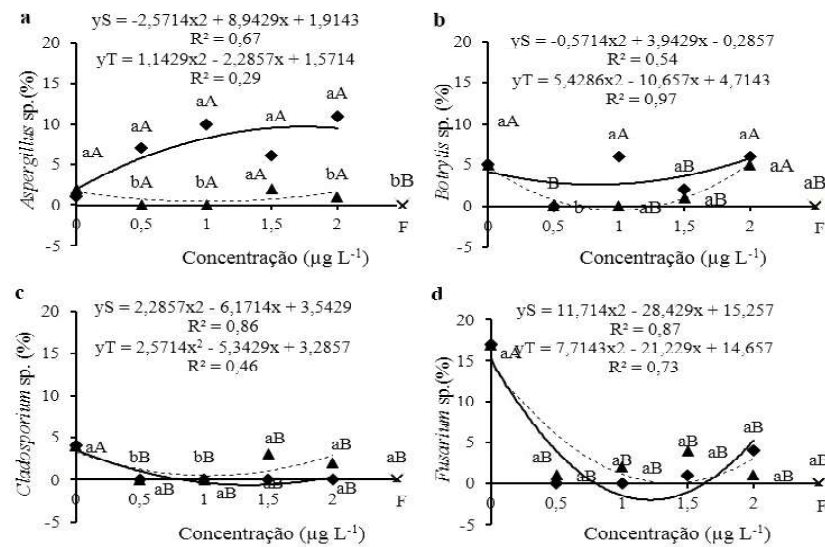
em que IVG = índice de velocidade de germinação; G1, G2 e Gn = número de plântulas normais germinadas a cada dia; N1, N2 e Nn = número de dias decorridos da semeadura a primeira, segunda e última contagem.

O delineamento utilizado nos testes foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x5+1 (agentes biológicos x concentrações + fungicida) com quatro repetições. As médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância, usando-se o software estatístico ASSISTAT® e realizada a análise de regressão (SILVA, 2012).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em sementes coletadas no município de Areia, PB, foi observado uma micoflora constituída pelos seguintes fungos: *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp, *Fusarium* sp, *Botrytis* sp. Conforme apresentado na Figura 1, analisando a incidência de fungos em sementes de *Leucaena leucocephala* nas concentrações de 0,5; 1; 1,5 µg; para *Saccharomy-*

*ces cerevisiae*, foram encontrados os seguintes fungos, *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., observando-se leve diminuição na incidência quando se encontrava nas dosagens de 0,5 até 1 µg, posteriormente ocorreu uma elevação na incidência, conforme foi aumentando as concentrações de 1 até 1,5 µg mostradas na Figura 1a, 1b, e 1c.



**Figura 1.** Percentagem (%) de fungos *Aspergillus* sp (a), *Botrytis* sp (b), *Cladosporium* sp (c) e *Fusarium* sp (d) em sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) Wit., submetidas a diferentes concentrações de *Saccharomyces cerevisiae* (S), *Trichoderma harzianum* (T) e fungicida Captan® (F). Médias seguidas de mesma letra não se diferenciam estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Segundo CAMPACCI E PESSANHA (1970) os fitopatógenos podem estar associados às sementes na sua superfície, no seu interior ou em mistura. Eles se apresentam nas mais variadas formas de propagação, desde o esporo até estruturas de resistência, micélios e outras estruturas específicas em diversos grupos de fungos, bactérias, nematoides e vírus.

Entre os patógenos fúngicos que atacam sementes, predominam os deuteromicetos, principalmente as espécies pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Diplodia* e *Cladosporium*. Esses fungos são favorecidos quando o teor de umidade da semente está em torno de 25% (BEDENDO, 1995).

Podemos observar na Figura 1, a eficiência de *T. harzianum* na diminuição da incidência dos fungos *Aspergillus niger* e *Botrytis* sp em sementes de *L. leucocephala*, para as concentrações 1 e 1,5 µg, onde podemos concluir que este tratamento, na sua maior concentração, é promissor para redução da incidência no respectivo patossistema.

Segundo LARANJEIRA (2001), entre os principais microrganismos que tem revelado potencial antagonista de fitopatogênicos estão *Trichoderma* spp., *Gliocadium* spp., *Penicillium* spp., *Verticillium lecani* e *Aspergillus niger*.

O fungo *Trichoderma* spp. é um promissor agente antagonista. É um microparasita necrotrófico eficaz no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos, principalmente aqueles com estruturas de resistência consideradas difíceis de serem atacadas por microrganismos, como esporos, escleródios, clamidósporos e microescleródios (MELO, 1996).

Já para o fungo *Cladosporium* sp., da Figura 1C não ocorreu variação em relação a incidência para as concentrações utilizadas, o que não corroborou com BARBOSA ET AL. (2001) onde verificou-se que as colônias de espécies de *Trichoderma* spp. crescem mais rápido que colônias de *Cladosporium herbarum* em meio de cultura, o que dá a *Trichoderma* vantagem na disputa por nutrientes e espaço com outros patógenos. Além disso, as espécies de *Trichoderma* produzem uma série de antibióticos responsáveis pela inibição de *C. herbarum*.

Para a germinação das sementes de *L. leucocephala*, constatou-se que não houve diferença estatística para porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação entre todos os tratamentos, incluindo o controle.

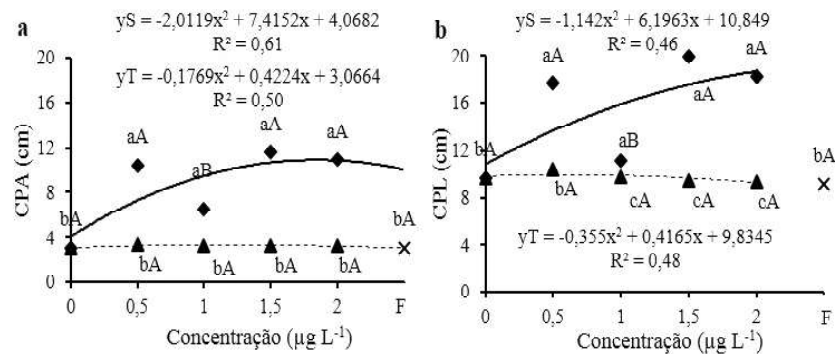
No entanto ocorreu aumentando significativo no crescimento da parte aérea e plântula nas concentrações de 1,5 e 2 µg de *S. cerevisiae* (Figura 2a).

Logo, os agentes de biocontrole de patógenos podem promover o crescimento das plantas, prover nutrientes e ajudar a superar estresses ambientais (HALLMANN ET AL., 1997; MASTRETTA ET AL., 2009).

Esta atuação pode ser explicada, devido a produção de compostos bioativos importantes (fitohormônios, aminoácidos, enzimas, vitaminas) realizados pelas leveduras (MUKHERJEE & SEN, 2015).

O tratamento com *T. harzianum* na concentração de 0,5 µg embora não tenha proporcionado incremento nos parâmetros de comprimento da parte aérea e comprimento de plântula (Figura 2b) não diferiu estatisticamente da testemunha e fungicida. Corroborando com BETTIOL

ET AL. (2009), onde ressaltou que o *Trichoderma* se ao promover o crescimento de plantas e aumento de produtividade. Porém apesar dos vários trabalhos presentes na literatura destacando os efeitos positivos proporcionados pelo *T. harzianum* quando utilizado concentrações acima de 0,5 µg, os resultados obtidos não mostram efeito satisfatório para comprimento de parte aérea e plântula (Figuras 2a e 2b).



**Figura 2.** Comprimento de parte aérea – CPA (a) e comprimento de plântulas – CPL (b) de *Leucaena leucocephala*, submetidas a diferentes doses de *Saccharomyces cerevisiae* - S, *Trichoderma harzianum* – T e fungicida Captan® - F. Médias seguidas de mesma letra não se diferenciam estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

## CONCLUSÕES

O tratamento *Saccharomyces cerevisiae* nas concentrações 0,5 e 1,0 µg teve eficiência na diminuição de patógenos encontrados em sementes de *Leucaena leucocephala*. Para o tratamento *Trichoderma harzianum* as concentrações de 1,0 e 1,5 µg diminuíram a incidência dos fungos *Aspergillus niger* e *Botrytis* sp

Nas variáveis comprimento de parte aérea e plântula o tratamento *T. harzianum* não diferenciou da testemunha nem do fungicida empregado, diferente dos resultados encontrados pelo tratamento *S. cerevisiae* onde ocorreu um aumento nestas variáveis, para as sementes de *L. leucocephala*.

Podendo assim os tratamentos *S. cerevisiae* e *T. harzianum*, nas dosagens adequadas, serem um controle eficaz para inibir de patógenos de sementes e consequentemente melhorar o comprimento de parte aérea e plântula.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil), pela concessão de bolsa.

The author declares no conflicts of interest.

## SUMÁRIO

A associação de sementes com microrganismos constitui-se numa preocupação cada vez maior, principalmente nos países tropicais, onde condições climáticas mais diversificadas proporcionam maior número de problemas provocados por patógenos. O objetivo do trabalho foi verificar a eficiência de agentes biológicos quanto à inibição de fungos e a qualidade fisiológica em sementes de *Leucaena leucocephala*. Os tratamentos foram constituídos de *Saccharomyces cerevisiae* e *Trichoderma harzianum* nas concentrações de 0; 0,5; 1; 1,5 e 2  $\mu\text{g L}^{-1}$  de água destilada e esterilizada (ADE) e o fungicida Captan® (24 g  $\text{kg}^{-1}$  de sementes). Para avaliar a qualidade sanitária das sementes foi empregado o método de incubação em placa de Petri, utilizando-se dupla camada de papel filtro umedecidas com ADE, durante sete dias de incubação. Para a qualidade fisiológica das sementes foram utilizadas folhas de papel germitest, sendo acondicionadas em câmara do tipo B.O.D à temperatura de  $25 \pm 2$  °C, sob fotoperíodo de 12 h, durante dez dias. Foram utilizados os parâmetros de percentual de ocorrência de fungos, germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento da parte aérea, raiz e plântula, para determinar a qualidade sanitária e fisiológica das sementes. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizados em esquema fatorial  $2 \times 5 + 1$  (agentes biológicos x concentrações + fungicida), com quatro repetições. *S. cerevisiae* em diferentes concentrações reduziram a incidência dos fungos *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp, *Fusarium* sp, em sementes de *L. leucocephala*. O tratamento com *T. harzianum* na concentração de 1,0  $\mu\text{g}$ , foi eficiente no controle dos fungos *Aspergillus niger*, *Botrytis* sp. sobre as sementes de *L. leucocephala*. *S. cerevisiae* nas concentrações elevadas proporcionaram um aumento no comprimento de parte aérea e plântula, para as sementes de *L. leucocephala*. Podendo assim os tratamentos *S. cerevisiae* e *T. harzianum*, nas dosagens adequadas, serem um controle eficaz para inibir de patógenos de sementes e consequentemente melhorar o comprimento de parte aérea e plântula.

PALAVRAS-CHAVE: *Leucaena leucocephala*; *Saccharomyces cerevisiae*; sementes;



*Trichoderma harzianum*.

#### SUMMARY

The association of seeds with microorganisms is a growing concern, especially in tropical countries, where more diversified climatic conditions provide a greater number of problems caused by pathogens. The objective of this work was to verify the efficiency of biological agents in terms of fungal inhibition and physiological quality in *Leucaena leucocephala* seeds. The treatments consisted of *Saccharomyces cerevisiae* and *Trichoderma harzianum* at concentrations of 0; 0.5; 1; 1.5 and 2  $\mu\text{g L}^{-1}$  of distilled and sterilized water (ADE) and the fungicide Captan® (24 g  $\text{kg}^{-1}$  of seeds). To assess the sanitary quality of the seeds, the method of incubation in a Petri dish was used, using a double layer of filter paper moistened with ADE, during seven days of incubation. For the physiological quality of the seeds, sheets of germitest paper were used and placed in a B.O.D chamber at a temperature of  $25 \pm 2$  °C, under a photoperiod of 12 h, for ten days. The parameters of percentage of occurrence of fungi, germination, germination speed index, shoot, root and seedling length were used to determine the sanitary and physiological quality of the seeds. The design used was completely randomized in a  $2 \times 5 + 1$  factorial scheme (biological agents x concentrations + fungicide), with four replications. *S. cerevisiae* at different concentrations reduced the incidence of the fungi *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp, *Fusarium* sp, in *L. leucocephala* seeds. Treatment with *T. harzianum* at a concentration of 1.0  $\mu\text{g}$  was effective in controlling the fungi *Aspergillus niger*, *Botrytis* sp. on *L. leucocephala* seeds. *S. cerevisiae* at high concentrations provided an increase in shoot and seedling length for *L. leucocephala* seeds. Thus, the treatments *S. cerevisiae* and *T. harzianum*, at adequate dosages, can be an affective control to inhibit seed pathogens and consequently improve shoot and seedling length.

KEYWORDS: *Leucaena leucocephala*; *Saccharomices cerevisiae*; sementes; *Trichoderma harzianum*.

#### BIBLIOGRAFIA

- ALVES, S. B.; LOPES, R. B. 2008. *Controle Microbiano de Pragas na América Latina: Avanços e Desafios*. Piracicaba: FAELQ. 414 p.
- BARBOSA, L. C. A. 2004. *Os pesticidas, o homem e o meio ambiente*. Viçosa: UFV, 171p
- BARBOSA, M. A.; REHN, K. G.; MENEZES, M.; MARIANO, R. L. R. 2001. Antagonism of *Trichoderma* species on *Cladosporium herbarum* and their enzymatic characterization. *Brazilian Journal of Microbiology*. São Paulo, v.32, n.2, 98-104.

- BEDENDO, I. P. 1995. Podridão de órgãos de reserva. Cap. 41. In: *Bergamim Fuihlo, A., Kimati, H., Aamorin, L. Manual de fitopatologia*. 3. Ed. São Paulo, SP: Agronômica Ceres, p. 810-819.
- BETTIOL, W., MORANDI, M. A. B. 2009. *Trichoderma* in Brazil: history, research, commercialization and perspectives. *Biological control o fungal and bacterial plant pathogens. IOBC/wprs Bulletin*. v. 43, n.1, p. 235–237.
- BRASIL. 1992. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. *Regras para análise de sementes*. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 365p.
- BRASIL. 2009. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 399 p.
- CAMPACCI, C. A.; PASSANHA, B. M. R. Exame fitopatológico das sementes. In: *Seminário Brasileiro de Sementes, 2, 1968, Pelotas, RS. Anais...* Guanabara: MA, 1970. p. 113–118.
- EL-BEDAWY, T. M.; ABD-EL-SAMMAD, A. M.; SAADA, M. Y, ABDEL- FATTAH, S. M. 1999. Effect of sodium acetate treatment on metabolism of mimosine and dihydroxy pyridine of *Leucaena* leaves fed to goats. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, v. 2, p. 67–77.
- EL-MEHALAWY, A. A. 2004. The rhizosphere yeast fungi as biocontrol agents for wilt disease of kidney bean caused for *Fusarium oxysporum*. *International Journal of Agriculture and Biology*, v. 6, n. 2, p. 310–316.
- FREITAS, R. A. (Ed.). *Patologia de semente de feijão*. Lavras: UFLA , 26 p.
- HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W. F.; KLOEPPER, J. W. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*. p. 895–914, 1997.
- LARANJEIRA, D. 2001. Situação atual do controle biológico de *Fusarium* spp. In: *VII Reunião de Controle Biológico de Fitopatógenos*. Bento Gonçalves. Anais... Bento Gonçalves: UFSM e EMBRAPA Uva e Vinho, 27 e 28 de novembro de 2001.
- MAGUIRE, J. D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence vigor. *Crop Science*, v. 2, n. 2, p. 176–177.
- MARTHUR, S. B.; KONGSDAL, O. 2003. *Common laboratory seed health testing methods for detectine fungi*. Basserdorf: International Seed Testing Association, 425 p.
- MASTRETTA, C.; TAGHAVI, S.; LELIE, D. VAN DER.; MENGONI, A.; GALARDI, F.; GONNELLI, C.; BARAC, T.; BOULET, J.; WEYENS, N.; VANGRONSVELD, J. 2009. Endophytic bacteria from seeds of *Nicotiana tabacum* can reduce cadmium phytotoxicity. *International Journal of*

*Phytoremediation*. p. 251–267.

- MELO, I. S. 1996. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetor de plantas. *Revista Anual de Patologia de Plantas*, v. 4, p. 261–295.
- MENDES, S. S.; SANTOS, P. R.; CRUZ SANTANA, G.; RIBEIRO, G. T.; MESQUITA, J. B. 2005. Levantamento, patogenicidade e transmissão de fungos associados às sementes de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth). *Revista Ciência Agronômica*, v. 36, n. 1, p. 118–122.
- MISSIO, V. C. 2003. Avaliação do potencial fungitóxico do extrato bruto da planta medicinal citronela (*Cymbopogum nordus*) no tratamento de sementes de feijoeiro. *Informativo Abrates*. v. 13, n. 3, p. 72–76.
- MUKHERJEE, S.; SEN, S. K. 2015. Exploration of novel rhizospheric yeast isolate as fertilizing soil inoculant for improvement of maize cultivation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. v. 95, n. 7, p. 1491–1499.
- MUNIZ, M. F. B.; SILVA L. M.; BLUME, E. 2007. Influência da assepsia e do substrato na qualidade de sementes e mudas de espécies florestais. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 29, n. 1, p. 140–146.
- POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. 2009. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas - uma visão empresarial. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). *Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. p. 239–244.
- SILVA, F. A. S. 2012. *Assistat-Programa de análises estatísticas*, Versão 7.7 beta. Campina Grande, PB: UAEG-CTRN\_UFCG. Disponível em: <https://assistat.software.informer.com/> Acesso em: 21 Nov. 2021.
- SKERMAN, P. J. 1977. *Tropical forage legumes*. Rome: FAO, 609p.
- VISHWAKARMA, R. K.; SRIVASTAVA, S.; SINGH, S.; KHAN, B. M. 2012. Molecular cloning and characterization of two differentially expressed cellulose synthase gene isoforms in *Leucaena leucocephala*: A pulp yielding tree species. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, v. 3, p. 92–100.

---

Received 30 August 2021

Accepted 06 December 2021

Available Online 09 December 2021

Edited by Rodrigo B. Gonçalves

