

FORMAS DE INOCULAÇÃO DE *Bacillus* sp. E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE *Brachiaria brizantha*.

**Antonio Emilio Rodrigues Manrique⁽¹⁾; Fabio Fernando de Araujo⁽²⁾;
Rita de Cássia Lima Mazzuchelli⁽³⁾.**

(1) Engenheiro Agrônomo mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia UNOESTE E-mail: aer_manrique@hotmail.com (2) Professor Doutor, Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Área de Produção Vegetal/UNOESTE. E-mail: fabio@unoeste.br. Rodovia Raposo Tavares, Km 572, Campus II, CEP: 19067-175, Presidente Prudente. (3) Engenheira Agrônoma Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia UNOESTE.

RESUMO: A aplicação bem sucedida de microrganismos nas sementes de uma forma comercialmente viável é apenas o primeiro passo para a utilização de microrganismos benéficos para melhorar o desenvolvimento das plantas. É igualmente importante que os microrganismos permaneçam viáveis e capazes de colonizar as raízes e rizosfera, a fim de continuar a melhorar o crescimento das plantas. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da inoculação de *Bacillus subtilis* em sementes de braquiária, utilizando-se das técnicas de revestimento e “bio-priming”, no desenvolvimento das plantas em casa de vegetação. Foram avaliadas duas formas de revestimento de sementes com formulação de *Bacillus* sp.; buscando-se investigar acúmulo de biomassa das plantas em casa de vegetação. O experimento foi constituído de um esquema fatorial 5x2x3 (5 tipos de revestimento, 2 tratamentos biológicos (isolados bacterianos) e 3 períodos de cortes das plantas (40, 80 e 120 dias), em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Foram efetuados três cortes, a 10 cm de altura da superfície do solo, a cada 45 dias, para avaliar o número de perfilhos por vaso, e matéria seca da parte aérea. A inoculação da bactéria nas sementes utilizando-se a técnica do priming ou revestimento, mostrou-se como promissora para incrementar o crescimento de *Brachiaria brizantha* no último corte efetuado quando utilizou-se as sementes mais velhas.

Termos de indexação: Inoculação, Revestimento e Biomassa.

INTRODUÇÃO

A agregação de valor às sementes de *Brachiaria* spp., utilizando-se métodos e tecnologias de beneficiamento de sementes como a do revestimento, é uma exigência de um mercado cada vez mais competitivo. O revestimento de sementes consiste na deposição de um material

seco, inerte e um material cimentante (adesivo) à superfície da semente, permitindo a modificação ou não da forma e tamanho da semente (Silva et al., 2002).

A utilização de sementes revestidas possibilita a redução dos custos de produção de mudas, diminuindo o consumo de sementes, facilita a mecanização da semeadura, além de proporcionar melhorias na sanidade das sementes e no estabelecimento das plântulas através da incorporação de nutrientes, reguladores de crescimento e outros agroquímicos (Silva et al., 2002; Bonome, 2003). Como também existe a possibilidade de inoculação de microrganismos benéficos para as plantas. Nesse caso, podemos estudar as rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs), que são com frequências isoladas da rizosfera de diversas plantas cultivadas. Entre os gêneros mais estudados destacam-se: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum* e *Rhizobium*. Os efeitos desses microrganismos sobre o desenvolvimento das plantas são amplos, incluindo os efeitos benéficos na germinação de sementes, emergência de plântulas e crescimento das plantas (Figueiredo et al., 2010).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da inoculação de *Bacillus subtilis* em sementes de braquiária, utilizando-se das técnicas de revestimento e “bio-priming”, avaliando-se o armazenamento e germinação de sementes como também o desenvolvimento das plantas em laboratório e casa de vegetação.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Casa de Vegetação da Faculdade de Ciências Agrárias da UNOESTE. Foram utilizados dois lotes de sementes sem escarificação de *Brachiaria brizantha* (Hochst ex A. Rich.) Stapf. cultivar Marandu. O lote 1 era de sementes mais novas e o lote dois de sementes mais velhas. Foram utilizadas duas cepas de *Bacillus* sp. (5B e AP-3) pertencentes à coleção de

microrganismos do Laboratório de Microbiologia da UNOESTE. Sendo que uma cepa de *Bacillus* sp. denominada de 5B foi isolada de solo em áreas de pastagens e caracterizados como promotora de crescimento de *Brachiaria brizantha* (Araujo et al., 2012) e a outra cepa de *Bacillus subtilis* (AP-3) foi isolada de área de produção de grãos e está descrito em Araujo et al. (2005).

Após a multiplicação das bactérias em meio de cultura, as células foram separadas por centrifugação (5000 g) e ressuscitadas em meio de acordo com os tratamentos a serem efetuados nas sementes. Todas as suspensões foram ajustadas para $1,0 \times 10^8$ unidades formadoras de colônia (ufc) por mL. Foi realizado o revestimento de 2,0 g de sementes de braquiária utilizando-se 500 uL de suspensão de células em solução de 1,5% de methylcelulose, que foram misturadas em tambor rotativo. Para secagem do líquido remanescente 2,0 g de talco foi adicionado até uniformidade do revestimento na semente. Para efetivação do “bio-priming”, 2,0 g de sementes foram incubadas em erlenmeyers com suspensão de células contendo 0,85% de cloreto de sódio por 12 horas a 20° C. Os recipientes foram mantidos em agitação (120 rpm) durante a incubação. Paralelamente foram conduzidos tratamentos apenas com o cloreto de sódio (“priming”) e talco (revestimento) como controles. Por último, as sementes foram secas por 24 horas a 30° C até umidade de aproximadamente 5%. Com esses procedimentos ficarão estabelecidos cinco tratamentos: dois com revestimentos e bactérias, dois com apenas revestimentos e um controle sem revestimento.

Experimento de casa de vegetação: O experimento foi conduzido durante 120 dias objetivando-se avaliar o crescimento de *Brachiaria brizantha* cv. Marandú. Foi utilizado um argissolo vermelho distroférico oriundo de área de pastagens no município de Presidente Prudente, coletado na camada 0-20 cm de profundidade, seco ao ar e passado em peneira (2 mm). O solo foi utilizado para preenchimento de vasos de 4 dm³. Os vasos foram irrigados diariamente para manter a umidade do solo próximo à capacidade de campo.

Para semeadura foi utilizado dez sementes por vaso. Após a emergência das plantas foi realizado o desbaste deixando-se duas plantas por vaso. O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado utilizando o esquema de parcelas subdivididas no tempo (“Split plot in time”) com onze tratamentos (2 isolados x 5 revestimentos + controle), três cortes e quatro repetições.

O período experimental iniciou-se com o corte de uniformização, aos 40 dias após a semeadura, deixando-se as plantas com altura aproximada de 5 cm. Após isto foram efetuados três cortes, a 10 cm de altura da superfície do solo, a cada 45 dias, para avaliar o número de perfilhos por vaso, e matéria seca da parte aérea (por secagem em estufa à 65°C) com circulação de ar até obtenção de massa constante.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, onde a causa de variação época do corte foi considerada como tratamento secundário, não sendo considerado como uma variável independente na análise estatística (Banzatto & Kronka, 1992) e quando houve diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste F, será aplicado o teste Scott-Knott para comparação das médias dos tratamentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação da massa seca da parte aérea do primeiro lote de sementes (Tabela 1), mostrou que no primeiro corte das plantas, todos os tratamentos realizados diferiram significativamente do controle. Os tratamentos com priming, biopriming com *Bacillus subtilis* AP-3 e *Bacillus* sp 5B, se mostraram mais eficientes no desenvolvimento da parte aérea de *Brachiaria brizantha*. No segundo corte realizado houve um menor desenvolvimento das plantas com os tratamentos com o *Bacillus subtilis* AP-3, em revestimento e biopriming.

Na ocasião do terceiro corte podemos observar um melhor desenvolvimento das plantas submetidas aos tratamentos revestimento, priming, revestimento com *Bacillus subtilis* 5B e controle.

Tabela 1 – Desenvolvimento da biomassa da parte aérea de plantas de *Brachiaria brizantha* do lote 1 após diferentes tratamentos na semente.

Tratamentos	1º corte g planta ⁻¹	2º corte g planta ⁻¹	3º corte g planta ⁻¹
Controle	4,10 c	11,44 a	7,20 a
Revestimento	5,75 b	11,22 a	8,40 a
Priming	7,81 a	10,87 a	8,00 a
Revestimento com <i>Bacillus</i> (AP-3)	5,32 b	7,60 b	4,93 b
Revestimento com <i>Bacillus</i> (5B)	5,58 b	12,74 a	8,42 a
Biopriming com <i>Bacillus</i> (AP-3)	7,27 a	9,05 b	5,35 b
Biopriming com <i>Bacillus</i> (5B)	7,84 a	11,09 a	6,40 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott (5%).

A avaliação do segundo lote de sementes (Tabela 2), os tratamentos realizados não proporcionaram diferenças na biomassa da parte aérea das plantas de *Brachiaria brizantha* no primeiro, segundo e terceiro corte. Na avaliação na ocasião do quarto corte da parte aérea, os tratamentos com revestimento com *Bacillus* (AP-3) e biopriming com *Bacillus* (5B), apresentaram um melhor desenvolvimento da biomassa da parte aérea das plantas de *Brachiaria brizantha*.

A aplicação bem sucedida de microrganismos nas sementes de uma forma comercialmente viável é apenas o primeiro passo para a utilização de microrganismos benéficos visando melhoria ao desenvolvimento das plantas. É igualmente importante que os microrganismos permaneçam viáveis e capazes de colonizar as raízes e rizosfera, a fim de continuar a melhorar o crescimento das plantas.

Tabela 2 – Desenvolvimento da biomassa da parte aérea de plantas de *Brachiaria brizantha* do lote 2 após diferentes tratamentos na semente.

Tratamentos	1º corte g planta ⁻¹	2º corte g planta ⁻¹	3º corte g planta ⁻¹	4º corte g planta ⁻¹
Controle	1,77 a	7,61 a	10,69 a	7,01 b
Revestimento	2,01 a	9,87 a	10,98 a	7,92 b
Priming	2,19 a	8,41 a	9,02 a	6,29 b
Revestim. com <i>Bacillus</i> (AP-3)	1,78 a	8,33 a	11,61 a	9,39 a
Revestim. com <i>Bacillus</i> (5B)	1,76 a	9,25 a	11,02 a	7,53 b
Biopriming com <i>Bacillus</i> (AP-3)	2,10 a	9,52 a	10,96 a	7,62 b
Biopriming com <i>Bacillus</i> (5B)	1,86 a	8,19 a	11,05 a	8,30 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott (5%).

Os efeitos desses microrganismos sobre o desenvolvimento das plantas são amplos, incluindo os efeitos benéficos na germinação de sementes, emergência de plântulas e crescimento das plantas (Figueiredo et al., 2010).

A influência das rizobactérias no crescimento das plantas tem sido atribuída a efeitos indiretos associados ao controle biológico de patógenos secundários (Araujo et al., 2005). No entanto, em alguns trabalhos, observou-se que a promoção de crescimento de plantas, por rizobactérias, também tem sido relacionada à produção de fitohormônios (auxinas) e enzimas líticas (Vassilev et al., 2006).

CONCLUSÕES

A inoculação da bactéria nas sementes utilizando-se a técnica do *priming* ou revestimento, mostrou-se como promissora para incrementar o crescimento da Braquiária no último corte efetuado quando utilizou-se as sementes mais velhas.

REFERÊNCIAS

ARAUJO, F.F.; GUABERTO, L.M.; SILVA, I.F.D. Bioprospection of plant growth promoter rhizobacteria in *Brachiaria brizantha*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 41(3): 521-527, 2012.

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

BANZATO, D.A; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. 2 ed. Jaboticabal, Funep, 1992. 247p.

BONOME, L.T.S. **Condicionamento fisiológico e revestimento de sementes de *Brachiaria brizantha* cultivar Marandu**. 2003. 99p. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

FIGUEIREDO, M.V.B.; SELDIN, L.; ARAUJO, F. F. Plant growth promoting rhizobacteria: Fundamentals and Applications In: Maheshwari, D.K.(ed.) **Plant growth and health promoting bacteria**. 1 ed. Berlin: Springer-Verlag, 18:45-68, 2010.

SILVA, J.B.C.; SANTOS, P.E.C.; NASCIMENTO, W.M. Desempenho de sementes peletizadas de alface em função do material cimentante e da temperatura de secagem dos péletes. **Horticultura Brasileira**, 20:67-70, 2002.

VASSILEV, N., VASSILEVA, M., NIKOLAEVA, I. Simultaneous P-solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: potentials and future trends. **Applied Microbiology and Biotechnology** 71:137-144, 2006.



XXXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO

28 de julho a 2 de agosto de 2013 | Costão do Santinho Resort | Florianópolis | SC