



Site:
inicepg.univap.br
20 A 22 DE OUTUBRO

CIÊNCIA, SAÚDE E TECNOLOGIA:
AGENTES DE TRANSFORMAÇÃO E
CONSCIENTIZAÇÃO DA SOCIEDADE

***Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* COMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO EM PIMENTA-DO-REINO.**

Nádima Silva Costa¹, Bruna da Silva Arpini¹, Maiara Corrêa Teodoro¹, Etiene Antero Nunes de Matos², Inorbert de Melo Lima¹.

¹Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, CPDI Norte, BR 101 Norte KM 151, C.P. 62 CEP 29900-970 Linhares-ES, nadimacosta12@hotmail.com, brunarpini2014@gmail.com, mayara.teodoro3511@gmail.com, inorbert@incaper.es.gov.br

²Universidade Federal de Viçosa –Av. Peter Henry Rolfs, s/n - Campus Universitário - 36570-900 - Viçosa – MG, Brasil, etiene.matos@ufv.br

Resumo

As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs), são microrganismos que ocorrem naturalmente no solo, são conhecidas por atuar de diversas formas e proporcionar melhorias no desenvolvimento das plantas. *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* são RPCPs disponíveis para comercialização como bionemáticas para utilização de tratamento de sementes e região da rizosfera de diversas culturas. Essas rizobactérias destacam-se pela capacidade de reduzir a população de fitonematoides no solo atuando em ovos e juvenis infectivos do patógeno. Em condições controladas verificou-se a ação dessas bactérias na promoção do crescimento de mudas de pimenteira-do-reino (PDR). Para tanto utilizou-se o produto comercial Quartzo (200g do p.c./ha). A altura das mudas de PDR foi acompanhada por cerca de 189 dias com medições a cada 14 dias. Verificou-se que as mudas inoculadas com as RPCPs apresentaram maior crescimento até 65° dias após o início do tratamento e aos 189 dias essas plantas apresentaram maior matéria seca total e foliar. Esse maior vigor inicial das plantas inoculadas pode garantir maior taxa de pagamento após transplântio.

Palavras-chave: RPCP. Bionemática. *Bacillus*. Pimenta-do-reino. Bactérias

Área do Conhecimento: Engenharia agrônômica – Agronomia

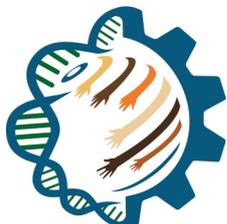
Introdução

Vários microrganismos são naturalmente benéficos para as plantas e ajudam a sustentar o crescimento e a produção dos cultivos agrícolas durante períodos de estresses abióticos e bióticos. Por exemplo, bactérias e fungos benéficos às plantas, que vivem no solo como organismos livres ou endófitos podem desencadear o crescimento das plantas e, ou, proteger essas plantas de doenças ou de fatores abióticos (TONELLI et al., 2010; RADHAKRISHNAN et al., 2014).

Algumas das bactérias pertencentes aos gêneros *Acetobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* e *Serratia* já foram registradas como bactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) (GLICK, 1995; JONES et al., 2007; SALA et al., 2007). Dentre várias espécies de RPCPs, as *Pseudomonas* e os *Bacillus* spp. foram identificadas como as comunidades predominantes (KANG et al., 2015), e alguns isolados de RPCPs são comercializados devido à sua sobrevivência em uma ampla gama de ambientes bióticos e abióticos.

Bacillus spp. são bactérias gram-positivas, onipresentes na natureza e recuperadas de todos os nichos do meio ambiente. Essas espécies também são utilizadas na preparação de produtos medicinais, industriais e agrícolas (LYNGWI; JOSHI, 2014). O gênero *Bacillus* associa-se com raízes ou rizosferas e desenvolve biofilmes para aumentar o crescimento das plantas (BEAUREGARD et al., 2013).

Os bionemáticos podem ser utilizados como alternativas aos nemáticos químicos, porém considerando: (i) o valor da muda de uma planta perene, (ii) que o plantio no campo é um momento mais crítico para estabelecimento e vigor do cultivo e que, (iii) apesar da ação nemática de certos *Bacillus* desconhece-se a ação dessas bactérias na promoção de crescimento de mudas de pimenta-do-reino. Portanto, esta pesquisa objetivou-se a determinar o potencial do uso das bactérias *Bacillus* oriundas de produtos comerciais na promoção de crescimento de pimenta-do-reino (PDR) recém transplântadas.



Metodologia

O experimento foi instalado em casa de vegetação do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural-Incaper, no município de Linhares, Espírito Santo. Foram utilizadas mudas de pimenteira-do-reino com padrão comercial, ou seja, com 20 cm de alturas e 6 pares de folhas definitivos e cultivadas em substrato isento de microrganismos. As mudas foram transplantadas para vasos de 8L contendo solo devidamente corrigido para os macro e micronutrientes, pH e saturação por bases de acordo com a recomendação para a cultura.

Vinte e quatro horas após o transplante das mudas de PDR nos vasos, foi aplicado no solo, ao redor do coleto da planta uma suspensão de 30 mL do produto comercial Quartzo®.

O produto comercial Quartzo® tem em sua formulação o mínimo de $1,0 \times 10^{11}$ unidades formadoras de colônias (UFC) de *B. subtilis*/g do p.c. e $1,0 \times 10^{11}$ UFC de *B. licheniformis*/g do p.c. Para efeito de cálculo, considerou-se a dose recomendada em bula de 200g p.c. Quartzo®/ha, volume de calda de 100 litros/ha e um stand de 3.333 plantas/ha. Nesse sentido cada planta recebeu uma calda de 30 mL o que equivale a 0,06 g do p.c.

Após a inoculação iniciou-se as medições de altura das plantas (cm), medidas com uma régua graduada em milímetros, essas medidas foram tomadas ao nono dia após-transplante e posteriormente a cada 14 dias durante 189 dias.

Aos 189 dias avaliou-se a massa fresca (g) e comprimento (cm) do sistema radicular e o número total de folhas/planta. A massa seca das plantas (g), em suas diversas frações (folhas e ramos) foram obtidas após o material vegetal permanecer em estufa de ventilação forçada na temperatura de $65^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, até atingir peso constante.

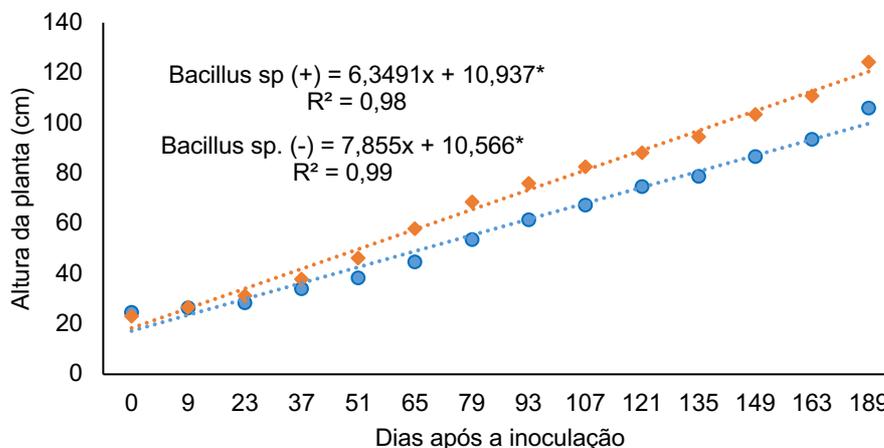
Com base nos dados coletados foi determinado os índices fisiológicos conforme a metodologia utilizada por PEIXOTO (1998). A Taxa de Crescimento Absoluto de Altura de Planta (TCAAP), foi obtida através da fórmula $TCAAP = (W2 - W1) / (T2 - T1) = \text{cm dia}^{-1}$, onde W1 e W2 é a variação da altura entre dois períodos e T1 e T2 a variação de tempo entre os períodos.

Para os dados obtidos foi realizada análise de variância considerando o delineamento inteiramente em casualizados com sete repetições. As médias foram comparadas pelo teste de t ($p \leq 0,05$). Para as médias dos tratamentos foram ajustadas por equações de regressão. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico Assistat versão 7.7 beta (SILVA; AZEVEDO, 2017).

Resultados

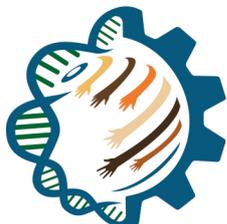
Considerando o crescimento pontual, observa-se que independente da presença de *B. subtilis* e *B. licheniformis* as plantas de pimenta-do-reino apresentaram um crescimento linear significativo (Figura 1).

Figura 1: Altura de planta de pimenta-do-reino inoculadas, ou não, com *B. subtilis* e *B. licheniformis* até os 189 dias de plantio.



Fonte: os Autores

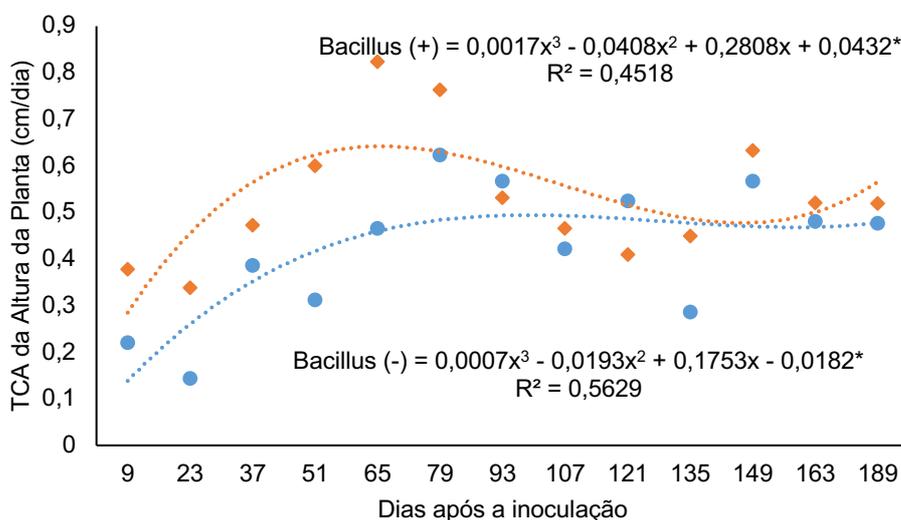
Considerando a TCAAP, observa-se que as plantas inoculadas, ou não, apresentaram comportamento similares com pico da TCAAP aos 65 DAI (Figura 2).



Site: inicepg.univap.br
 20 A 22 DE OUTUBRO

CIÊNCIA, SAÚDE E TECNOLOGIA:
 AGENTES DE TRANSFORMAÇÃO E
 CONSCIENTIZAÇÃO DA SOCIEDADE

Figura 2: Taxa de crescimento Absoluto da Altura da Planta (cm/dia) de mudas de pimenta-do-reino inoculada, ou não, com *B. subtilis* e *B. licheniformis* até os 189 dias de plantio. *valores da equação significativos ($p \leq 0,05$). Legenda: círculo = *Bacillus* (-) e losangos = *Bacillus* (+)



Fonte: os Autores

Aos 65 dias após inoculação (DAI) também foi o único que apresentou diferença significativas entre os tratamentos. Nesse sentido as plantas inoculadas com as duas cepas comerciais de *Bacillus* apresentaram entre o 51° e 65° um crescimento diário de 0,82 cm para plantas inoculadas e 0,47 cm para não inoculada (Tabela 1). Apesar de não apresentar diferenças significativas entre os tratamentos, essa tendência de maior TCAAP da altura já é observada desde 37° DAI (Tabela 1).

Constata-se a diferença estatística entre as TCAAP somente aos 65 DAI do solo com as bactérias (Tabela 1). Exatamente nesse período, observa-se o ponto de inflexão da reta que foi representado pela equação.

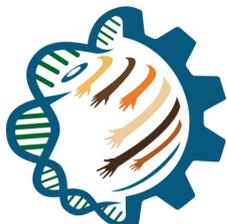
Tabela 1: Taxas de crescimento absoluto da altura de plantas (mm) de pimenteira-do-reino inoculadas (*Bacillus* (+)), ou não (*Bacillus* (-)), com bactérias promotoras de crescimento em cada época de avaliação

	Dias após a infestação do solo com RPCP												
	9	23	37	51	65	79	93	107	121	135	149	163	189
<i>Bacillus</i> (-)	0,20	0,14	0,39	0,31	0,47 b	0,62	0,57	0,42	0,53	0,29	0,57	0,48	0,48
<i>Bacillus</i> (+)	0,38	0,34	0,47	0,60	0,82 a	0,76	0,53	0,47	0,41	0,45	0,63	0,52	0,52

As médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de t ao nível de 5% de probabilidade

Fonte: os Autores

Apesar de *B. subtilis* e *B. licheniformis* serem consideradas rizobactérias, aos 189 DAI não foram detectadas diferenças significativas no sistema radicular das plantas experimentadas (Tabela 2). Diferenças estatísticas significativas ($p \leq 0,05$) foram observadas na matéria seca total da parte aérea e das folhas, sendo que o tratamento inoculado apresentou as maiores médias quando comparado ao controle (Tabela 2).



Site:
inicepg.univap.br
20 A 22 DE OUTUBRO

CIÊNCIA, SAÚDE E TECNOLOGIA:
AGENTES DE TRANSFORMAÇÃO E
CONSCIENTIZAÇÃO DA SOCIEDADE

Tabela 2 : Matéria fresca do sistema radicular (MFSR), Comprimento do Sistema Radicular (CSR), Número de folhas (NF), Matéria seca (MS) do caule, folha e parte aérea de plantas de pimenta-do-reino inoculadas (*Bacillus* (+)), ou não (*Bacillus* (-)), com bactérias promotoras de crescimento de plantas e avaliadas aos 189 dias após a inoculação.

	MFSR (g)	CSR (cm)	NF	MS (g)		
				Caule	Folha	Parte aérea
<i>Bacillus</i> (-)	33,8 ^{ns}	39,5 ^{ns}	70,3 ^{ns}	21,7 ^{ns}	21,3 b	43,1 b
<i>Bacillus</i> (+)	44,5	44,1	59,6	27,1	27,4 a	54,4 a

As médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de t ao nível de 5% de probabilidade

Fonte: os Autores

Discussão

Os dados desse experimento mostraram que a aplicação de isolados de *B. subtilis* e *B. licheniformis* com ação bionemáticas tem efetivamente a capacidade promover o crescimento de mudas de pimenta-do-reino, portanto um efeito que pode ser explorado pelos produtores.

No campo, até os 90 dias pós plantio, ocorrem entre 5 a 10% de replantio de mudas de pimenta-do-reino. Esse replantio é decorrente de morte de planta por fatores bióticos e abióticos. Com a aplicação dos *Bacillus*, pode ser possível reduzir essa mortalidade de planta, uma vez que nesse experimento as bactérias proporcionaram maior vigor as mudas até os 65° dia.

Essa diferença significativa e benéfica do *Bacillus* spp. observados até os 65° dia na TCAAP e na MSPA e foliar aos 189 dias, pode ser explicada pela capacidade de *Bacillus* spp. em converter formas complexas de nutrientes essenciais, como P e N, em formas simples e disponível que é usada durante a absorção pelas raízes das plantas (KANG et al., 2015; KUAN et al., 2016).

Segundo MARULANDA et al., (2009) plantas colonizadas por *Bacillus* spp. absorvem mais água, e esse processo é um mecanismo importante para a proteção das plantas contra os danos induzidos pela seca e essencial ao crescimento e estabelecimento das mudas no campo.

Outras pesquisas devem ser feitas visando o potencial dos bionemáticas e biofungicidas comerciais no crescimento de plantas. Considerando a pimenta-do-reino, esse resultado é de suma importância uma vez que é uma cultura de ampla expansão no estado do Espírito Santo.

Conclusão

As bactérias *B. subtilis* e *B. licheniformis* selecionadas para o controle de fitonematoides tem a capacidade de promover crescimento vegetativo em mudas de pimenta-do-reino pós-plantio.

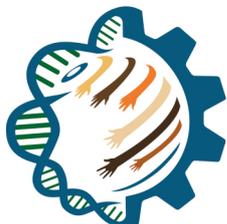
A dose de 200g de Quartzo®/ha é capaz de proporcionar maior vigor em plantas de pimenta-do-reino na ausência de nematoides.

Agradecimentos

A Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo - Fapes, pelo aporte de recurso a essa pesquisa.

Referências

BEAUREGARD, P. B.; CHAI, Y.; VLAMAKIS, H.; LOSICK, R.; KOLTER, R. *Bacillus subtilis* biofilm induction by plant polysaccharides. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 110, n. 17, p. 1621-1630, 8 abr. 2013. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1218984110>.



Site:
inicepg.univap.br
20 A 22 DE OUTUBRO

CIÊNCIA, SAÚDE E TECNOLOGIA:
AGENTES DE TRANSFORMAÇÃO E
CONSCIENTIZAÇÃO DA SOCIEDADE

GLICK, B. R. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. **Canadian Journal Of Microbiology**, [S.L.], v. 41, n. 2, p. 109-117, 1 fev. 1995. Canadian Science Publishing. <http://dx.doi.org/10.1139/m95-015>.

JONES, K. M.; KOBAYASHI, H.; DAVIES, B. W.; TAGA, M. E.; WALKER, G. C. How rhizobial symbionts invade plants: the sinorhizobium*:medicago model. **Nature Reviews Microbiology**, [S.L.], v. 5, n. 8, p. 619-633, ago. 2007. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro1705>.

KANG, S. M.; RADHAKRISHNAN, R.; LEE, K. E.; YOU, Y. H.; KO, J. H.; KIM, J.H.; LEE, I.J. Mechanism of plant growth promotion elicited by *Bacillus* sp. LKE15 in oriental melon. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science**, [S.L.], v. 65, n. 7, p. 637-647, 11 jun. 2015. <http://dx.doi.org/10.1080/09064710.2015.1040830>.

KUAN, K. B.; OTHMAN, R.; RAHIM, K. A.; SHAMSUDDIN, Z. H. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Inoculation to Enhance Vegetative Growth, Nitrogen Fixation and Nitrogen Remobilisation of Maize under Greenhouse Conditions. **Plos One**, [S.L.], v. 11, n. 3, 24 mar. 2016. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0152478>.

Lyngwi, N.A.; Joshi, S. **Economically important Bacillus and related genera: a mini review**. In *Biology of Useful Plants and Microbes* ed. Sen, A. New Delhi: Narosa Publishing House, p. 33–43., 2014.

MARULANDA, A.; BAREA, J. M; AZCÓN, R. Stimulation of Plant Growth and Drought Tolerance by Native Microorganisms (AM Fungi and Bacteria) from Dry Environments: mechanisms related to bacterial effectiveness. **Journal Of Plant Growth Regulation**, [S.L.], v. 28, n. 2, p. 115-124, 24 fev. 2009. <http://dx.doi.org/10.1007/s00344-009-9079-6>.

PEIXOTO, C. P. **Análise de crescimento e rendimento de três cultivares de soja em três épocas de semeadura e três densidades de plantas**. 1998. 151f. Tese (Doutorado em Fitotecnia), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 1998.

RADHAKRISHNAN, R.; LEE, I. J. Effect of low dose of spermidine on physiological changes in salt-stressed cucumber plants. **Russian Journal Of Plant Physiology**, [S.L.], v. 61, n. 1, p. 90-96, 28 dez. 2013. <http://dx.doi.org/10.1134/s1021443714010129>.

SALA, V.M.R. et al. **Resposta de genótipos de trigo à inoculação de bactérias diazotróficas em condições de campo**. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 42, n. 6, p. 833-842, 2007.

SILVA, F. A. S. ASSISTAT: Versão 7.7 beta. DEAG-CTRN-UFCG, 2017.

TONELLI, M. L., TAURIAN, T., IBANEZ, F., ANGELINI, J., AND FABRA, A. Selection and in vitro characterization of biocontrol agents with potential to protect peanut plants against fungal pathogens. **Journal Plant Pathology**. v. 92, p. 73–82, mar. 2010.