



MICRORGANISMOS PROMOTORES DO CRESCIMENTO DE PLANTAS NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE *Cymbidium atropurpureo* (Lindl.) Rolfe

MICRORGANISMS PROMOTING PLANT GROWTH IN THE DEVELOPMENT OF *Cymbidium atropurpureo* SEEDLINGS

Lorena Bezerra de Medeiros¹; Marina Moreira Santos²; Mariana Martins da Silveira¹; André Caturelli Braga¹; Antonio Maricélio Borges de Souza³; Thiago Souza Campos¹; Everlon Cid Rigobelo¹; Kathia Fernandes Lopes Pivetta¹.

¹ Universidade Estadual Paulista - UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV, Rodovia Carlos Tonani, s/n, CEP: 14887-478, Jaboticabal, SP, Brasil. Email: lorena.b.medeiros@hotmail.com; mariana.silveira@unesp.br; ac.braga@unesp.br; thiagocamposagr@gmail.com; everlon.cid@unesp.br; kathia.pivetta@unesp.br; ² Universidade Estadual Paulista - UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV, Rodovia Carlos Tonani, s/n, CEP: 14887-478, Jaboticabal, SP, Brasil. Email: marina.moreira-santos@unesp.br; Apresentadora do trabalho.; ³ Universidade Federal de Viçosa - UFV, Departamento de Agronomia - DAA, Campus Universitário, Bela Vista, s/n, CEP: 36570-900, Viçosa, MG, Brasil. E-mail: maricelio_@hotmail.com

INTRODUÇÃO

Cymbidium atropurpureum (Lindl.) Rolfe é encontrado no sul da Tailândia, Malásia Central, Vietnã, Bornéu, Sumatra e Filipinas em terras baixas e florestas de baixa altitude em elevações do nível do mar até 1630 metros. Floresce no verão, produzindo muitas flores em hastes pendentes longas que podem chegar a 1 metro, com perfume que lembra o cheiro de coco. É classificada como rupícula, no entanto, em cultivo, se adapta muito bem ao substrato comum de orquídeas epífitas (*Cymbidium atropurpureum* (Lindl.) Rolfe, 2023; *Cymbidium atropurpureum*, 2023). Os híbridos do gênero *Cymbidium* estão entre as orquídeas mais produzidas e comercializadas para corte no mundo (PIVETTA et al., 2014).

A utilização de microrganismos promotores de crescimento, em razão da crescente busca por sustentabilidade, vem ganhando destaque como forma de reduzir ou até mesmo substituir a utilização de fertilizantes químicos, além de diminuir os custos de produção (RODRIGUES et al., 2014).

Dentre esses microrganismos, encontra-se o gênero *Trichoderma*, que são fungos de vida livre, comuns em solo e na rizosfera. A associação destes microrganismos com as raízes está relacionada ao aumento de crescimento e desenvolvimento da raiz, diminuição da atividade da microflora radicular deletéria, inativação de compostos tóxico na zona radicular, aumento da solubilização e absorção de nutrientes e, também, eficiência no uso de nitrogênio melhorando, dessa forma, a produtividade da cultura (HARMAN, 2004).

Dentre as bactérias, *Azospirillum brasilense* contribui para maior desenvolvimento das plantas através de diversos mecanismos como a síntese de substâncias promotoras de crescimento (FUKAMI; CEREZINI; HUNGRIA, 2018). Algumas bactérias do gênero *Bacillus* sp. são solubilizantes de fosfato, assim estimula o crescimento da planta por meio da nutrição aprimorada com P, aumenta a absorção de N, P, K e Fe (SIVASAKTHI; USHARANI; SARANRAJ, 2014).



Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de microrganismos promotores do crescimento de plantas na produção de mudas da orquídea *Cymbidium atropurpureo*, veiculados através de diferentes agentes encapsulantes e em meio líquido.

MATERIAL E METODOS

O experimento foi conduzido no Orquidário Mantovani, Itápolis, SP, no período de dezembro de 2019 a outubro de 2020.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado. Foram sete tratamentos (1. ausência de microrganismos - controle; 2. *Trichoderma* sp. via alginato de sódio; 3. *Trichoderma* sp. via argila; 4. *Trichoderma* sp. via alginato de sódio e argila; 5. *Trichoderma* sp. em meio líquido; 6. *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis*, em meio líquido; 7. *Bacillus pumilus*, em meio líquido), quatro repetições e três plantas por parcela.

Os microrganismos fazem parte da coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Produção Vegetal da UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal.

Os microrganismos cresceram, separadamente, em caldo nutritivo por sete dias em frascos mantidos em B.O.D. (Eletrolab, modelo 347 F, Brasil), à temperatura de 25 °C. Após o período de incubação, os microrganismos foram centrifugados separadamente a 10.000 rpm durante 10 min a 28 °C (Novatecnica, modelo MLW K24, Brasil). A concentração do inóculo foi padronizada conforme recomendação de Barry e Thornsberry (1991) e Sahm e Washington II (1991) em 1×10^7 UFC mL⁻¹ com auxílio de espectrofotômetro (Micronal, modelo B382, Brasil) na absorbância de 695 nm.

No tratamento 2, à solução de *Trichoderma* sp. foi adicionada solução de alginato de sódio (NaC₆H₇O₆) na concentração de 1% (m/v). A solução de *Trichoderma* sp. acrescida de alginato de sódio foi gotejada com solução de cloreto de cálcio (CaCl₂) 0,1 M, dando origem às esferas com o inóculo microbiano (SHEU e MARSHALL, 1993; SULTANA et al., 2000). Em seguida, as esferas foram lavadas com água destilada, com auxílio de uma peneira, submetidas ao processo de secagem em câmara de fluxo laminar por um período de seis horas e armazenadas em temperatura ambiente (17-28 °C).

Visando a inoculação dos microrganismos com a argila (tratamento 3), foi preparada uma suspensão que continha 1 mL de *Trichoderma* sp. para 1 mL de argila na diluição de 1:3 (m v⁻¹) de água destilada (adaptado de CARNEIRO e GOMES, 1997).

No tratamento 4, à solução de *Trichoderma* sp. foi adicionada solução de alginato de sódio (NaC₆H₇O₆) na concentração de 1% (m/v) e solução de argila na diluição de 1:3 (m/v) de água destilada. A solução de *Trichoderma* sp. acrescida de alginato de sódio e argila foi gotejada com solução de cloreto de cálcio (CaCl₂) 0,1 M, dando origem às esferas com o inóculo microbiano, que foram lavadas com água destilada, com auxílio de uma peneira, submetidas ao processo de secagem em câmara de fluxo laminar por um período de seis horas e armazenadas em temperatura ambiente (17-28 °C).

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação coberta com plástico transparente, revestida nas laterais, com tela de 50% de luminosidade. Inoculou-se os microrganismos, sendo 1 mL



(meio líquido) e 1 g (microrganismos liofilizados), aplicando próximo ao caule, em mudas padronizadas com $2,0 \text{ cm} \pm 0,5 \text{ cm}$, provenientes de cultivo *in vitro*, plantadas individualmente em vasos de plástico, com capacidade para 100 cm^3 . As mudas destinadas ao tratamento controle, não foram inoculadas. Foi realizada irrigação diária a fim de manter em 100% a capacidade de retenção de água no substrato, composto pela mistura de casca de pinus, carvão e musgo na proporção 2:1:1. Os vasos foram fertirrigados, quinzenalmente, com solução nutritiva de Sarruge (SARRUGE, 1975) a 50%.

A avaliação foi realizada 190 dias após a inoculação dos microrganismos, anotando-se: comprimento da parte aérea e da maior raiz; diâmetro do caule; número de folhas; área foliar; teor de clorofila; número de raízes; massa seca da parte aérea e de raízes, que foram obtidas após a secagem em estufa com circulação forçada de ar a $70 \text{ }^\circ\text{C}$ até atingir peso constante, sendo posteriormente pesadas em balança de precisão (0,001g); a partir da soma de massa seca da parte aérea e de raízes, obteve-se a massa seca total.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 1% de probabilidade, utilizando-se o Software AgroEstat (BARBOSA; MALDONADO JUNIOR, 2015).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fungo *Trichoderma* sp. fornecido via solução (T5) apresentou maiores médias para todas as características estudadas, seguido pelo tratamento com *Trichoderma* sp. fornecido via esferas de argila (T3). Porém, *Trichoderma* sp. veiculado somente via alginato de sódio (T2) ou alginato de sódio junto com argila (T4) não mostraram a mesma eficiência, indicando que o alginato de sódio interferiu negativamente no crescimento e desenvolvimento de mudas desta orquídea. Para comprimento da parte aérea, número e comprimento da maior raiz, não houve diferenças entre os tratamentos (Tabela 1).

Os melhores resultados foram obtidos nos tratamentos com o fungo *Trichoderma* sp., em detrimento das rizobactérias. O desempenho deste fungo em mudas de *C. atropurpureo* tem o respaldo de Lee et al. (2016) e Nieto-Jacobo (2017) que afirmam que muitas espécies do gênero *Trichoderma* têm possibilidade de promover o crescimento das plantas e também de Almança et al. (2019) que reforçam que a presença de *Trichoderma* spp. afeta positivamente o crescimento inicial das plântulas, tornando-as mais vigorosas e, conseqüentemente, mais resistentes ao ataque de patógenos. Os resultados obtidos neste estudo ainda corroboram com outras pesquisas, como a realizada por Adebayo et al. (2020) que observaram que *Trichoderma longibrachiatum*, veiculado em composto orgânico, proporcionou efeito significativo no crescimento e desenvolvimento inicial das mudas de *Bougainvillea spectabilis*.

Maior crescimento e desenvolvimento do sistema radicular, esperado em tratamentos com microrganismos promotores de crescimento em plantas (HARMAN et al., 2004) não foi observado com relação ao número e ao comprimento da maior raiz, porém, maior massa seca de raiz foi evidenciado para o fungo *Trichoderma* sp., fornecido via solução, *Trichoderma* sp., fornecido via esferas de argila e para o tratamento contendo as rizobactérias *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis* (Tabela 1).



TABELA 1 - Comprimento da parte aérea (CPA), diâmetro do caule (DC); número de folhas (NF); área foliar (AF); clorofila; número raízes (NR); comprimento da maior raiz (CR), massa seca da parte aérea (MSPA); massa seca de raízes (MSR) e massa seca total (MST) de mudas de *Cymbidium atropurpureo* tratadas ou não com microrganismos promotores do crescimento de plantas. Jaboticabal, SP, 2020.

Tratamentos	CPA (cm)	DC (mm)	NF -	AF (cm ²)	Clorofila -
1. Controle	23,1 a	12,9 b	10,5 b	62,6 b	37,9 b
2. <i>Trichoderma</i> (alg)	21,9 a	13,5 b	10,5 b	57,5 b	36,6 b
3. <i>Trichoderma</i> (arg)	23,1 a	15,1 a	11,1 b	61,6 b	40,0 b
4. <i>Trichoderma</i> (alg+arg)	18,3 b	10,8 c	10,5 b	44,1 c	38,1 b
5. <i>Trichoderma</i> (líquido)	25,9 a	15,0 a	13,0 a	74,9 a	47,2 a
6. <i>Azospirillum</i> + <i>Bacillus</i>	24,2 a	12,9 b	11,1 b	56,0 b	35,2 b
7. <i>Bacillus pumilus</i>	22,0 a	13,1 b	11,6 b	57,3 b	34,8 b
CV (%)	10,14	10,50	8,28	8,84	8,53
	NR -	CR (cm)	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)
1. Controle	9,4 a	16,0 a	0,7647 b	0,2804 b	1,0616 b
2. <i>Trichoderma</i> (alg)	12,1 a	15,6 a	0,7216 b	0,2697 b	0,9957 b
3. <i>Trichoderma</i> (arg)	11,6 a	18,8 a	0,8877 a	0,4074 a	1,4091 a
4. <i>Trichoderma</i> (alg+arg)	10,5 a	18,1 a	0,5565 c	0,2935 b	0,8954 b
5. <i>Trichoderma</i> (líquido)	12,9 a	20,3 a	0,8682 a	0,4159 a	1,2742 a
6. <i>Azospirillum</i> + <i>Bacillus</i>	11,5 a	20,2 a	0,7188 b	0,3568 a	1,0736 b
7. <i>Bacillus pumilus</i>	11,3 a	16,0 a	0,5800 c	0,2530 b	0,8783 b
CV (%)	12,93	18,79	12,98	24,33	12,32

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 1% de probabilidade. Tratamentos: 1. Controle; 2. *Trichoderma* sp. (alginato); 3. *Trichoderma* sp. (argila); 4. *Trichoderma* sp. (alginato +argila); 5. *Trichoderma* sp. (meio líquido); 6. *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis*; 7. *Bacillus pumilus*.

CONCLUSÃO

A aplicação do fungo *Trichoderma* sp. em meio líquido, proporcionou resultados mais efetivos no incremento do crescimento e do desenvolvimento das mudas da orquídea *Cymbidium atropurpureo*.

REFERÊNCIAS

ADEBAYO, A. G.; KAREEM, K. T.; OLATUNJI, M. T.; SHOKALU, A. O.; AKINTOYE, H. A.; JAMES, I. E. Effects of *Trichoderma longibrachiatum* (NGJ167) and compost on early growth of *Bougainvillea spectabilis*. **Ornamental Horticulture**, v. 26, p. 614-620, 2020.

ALMANÇA, M. A. K.; TONELLO, J.C.; RUSIN, C.; BOTELHO, R.V. Uso do *Trichoderma* na cultura da uva. In: MEYER, M. C., MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. **Trichoderma, uso na agricultura**, 2019. p. 507-520.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JUNIOR, W. **AgroEstat**: sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos. Jaboticabal, FCAV/UNESP: Funep, 396 p., 2015.

BARRY, A. L.; THORNSBERRY, C. Susceptibility tests: diffusion test procedures. In: BALOWS, A.; HAUSER, W. J.; HERMANN, K. L.; ISENBERG, H. D.; SHAMODY, H. J. **Manual of clinical microbiology**. 5 th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1991.

CARNEIRO, R. M. D. G.; GOMES, C. B. Encapsulação do fungo *Paecilomyces lilacinus* em matrizes de alginato-argila e avaliação da viabilidade dos conídios em duas temperaturas. **Nematologia Brasileira**, v. 21, n. 2, p. 85-91, 1997.



Cymbidium atropurpureum. Disponível em: <<https://www.mertenorquideas.com.br/cymbidium-atropurpureum>>. Acesso em: 21 jun. 2023.

Cymbidium atropurpureum (Lindl.) Rolfe. Disponível em: <<http://www.orchidspecies.com/cymatropurpureum.htm>>. Acesso em: 21 jun. 2023.

FUKAMI, J.; CERZINI, P.; HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**. v. 8, n. 1, p.73, 2018.

HARMAN, G. E.; HOWELL, CHARLES, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. Trichoderma species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.

LEE, S.; YAP, M.; BEHRINGER, G.; HUNG, R.; BENNETT, J. W. Volatile organic compounds emitted by *Trichoderma* species mediate plant growth. **Fungal Biology and Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 1-14, 2016.

NIETO-JACOBO, M.F.; STEYAERT, J.M.; SALAZARBADILLO, F.B.; NGUYEN, D.V.; ROSTÁS, M.; BRAITHWAITE, M.; SOUZA, J.T.; JIMENEZ-BREMONT, J.F.; OHKURA, M.; STEWART, A.; MENDOZAMENDOZA, A. Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. **Frontiers in Plant Science**, v.8, e-102, p. 1-18, 2017.

PIVETTA, K. F. L.; YANAGISAWA, S. S.; FARIA, R. T.; MATTIUZ, C. B. M.; TAKANE, R. J.; BATISTA, G. S. Orquídeas. In: PAIVA, P. D. O.; ALMEIDA, E. F. A. (Org.). **Produção de flores de corte**. Ied. Lavras: UFLA, v. 2, 2014, p. 454-510.

RODRIGUES, L. F. O. S.; GUIMARÃES, V. F.; SILVA, M. B.; PINTO JUNIOR, A. S.; KLEIN, J.; COSTA, A. C. P. R. Características agronômicas do trigo em função de *Azospirillum brasilense*, ácidos húmicos e nitrogênio em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, p. 31-37, 2014.

SAHM, D. F.; WASHINGTON, J. A. Antibacterial susceptibility tests: dilution methods. In: BALOWS, A. et al. **Manual of clinical microbiology**. 5th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1991.

SARRUGE, J. R. Soluções nutritivas. **Summa Phytopathologica**, v. 1, n. 3, p. 231-233, 1975.

SHEU, T.; MARSHAL, R. Microencapsulation of lactobacilli in calcium alginates gels. **J. Food Science**, v. 54, p. 73-77, 1993.

SIVASAKTHI, S.; USHARANI, G.; SARANRAJ, P. Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) - *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: a review. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 16, p. 1265-1277, 2014.

SULTANA, K.; GODWARD, G.; REYNOLDS, N.; ARUMUGASWAMY, R.; PEIRIS, P.; KAILASAPATHY, K. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. **International Journal of Food Microbiology**. v. 62, n. 1-2, p. 47-55, 2000,