



# DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE *Phalaenopsis* sp. 'Taisuco Swan' INOCULADAS COM MICRORGANISMOS PROMOTORES DO CRESCIMENTO DE PLANTAS

## DEVELOPMENT OF SEEDLINGS OF *Phalaenopsis* sp. 'Taisuco Swan' INOCULATED WITH PLANT GROWTH PROMOTING MICRORGANISMS

Lorena Bezerra de Medeiros<sup>1</sup>; Mariana Martins da Silveira<sup>2</sup>; Marina Moreira Santos<sup>1</sup>; André Caturelli Braga<sup>1</sup>; Antonio Maricélio Borges de Souza<sup>3</sup>; Thiago Souza Campos<sup>1</sup>; Everlon Cid Rigobelo<sup>1</sup>; Kathia Fernandes Lopes Pivetta<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> 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](mailto:lorena.b.medeiros@hotmail.com); [marina.moreira-santos@unesp.br](mailto:marina.moreira-santos@unesp.br); [ac.braga@unesp.br](mailto:ac.braga@unesp.br); [thiagocamposagr@gmail.com](mailto:thiagocamposagr@gmail.com); [everlon.cid@unesp.br](mailto:everlon.cid@unesp.br); [kathia.pivetta@unesp.br](mailto:kathia.pivetta@unesp.br); <sup>2</sup> Universidade Estadual Paulista - UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV, Rodovia Carlos Tonani, s/n, CEP: 14887-478, Jaboticabal, SP, Brasil. Email: [mariana.silveira@unesp.br](mailto:mariana.silveira@unesp.br); [Apresentadora do trabalho](#); <sup>3</sup> 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](mailto:maricelio@hotmail.com)

### INTRODUÇÃO

O gênero *Phalaenopsis* compreende cerca de 50 espécies sendo a maioria epífita, que vegetam por toda Ásia tropical e Austrália. Apresentam folhas largas e suculentas e o número de flores na inflorescência pode variar de poucas a dúzias. De crescimento monopodial, as hastes das inflorescências surgem entre as folhas. Os híbridos deste gênero estão entre as orquídeas mais produzidas e comercializadas para corte no mundo (PIVETTA et al., 2014).

Os microrganismos promotores do crescimento de plantas (MPCP) são uma inovação na produção de mudas de plantas ornamentais; além disso, estão entre as mais promissoras tecnologias para se alcançar a sustentabilidade dos sistemas agrícolas, por proporcionarem melhorias que vão desde características de promoção de crescimento da parte aérea e das raízes das plantas, até melhoria da proteção enzimática às condições de estresses bióticos e abióticos importantes à atividade agrícola, contribuindo para a agricultura sustentável (PORTO et al., 2022; PULIDO et al., 2022).

Espécies de *Trichoderma* sp., *Azospirillum* sp. e *Bacillus* sp. são consideradas estimulantes pelos seus mecanismos de síntese de fitohormônios, aumentam o volume do sistema radicular e consequentemente a exploração do solo e acesso aos nutrientes. São capazes de solubilizar, disponibilizar e melhorar os mecanismos ativos de absorção de nutrientes essenciais ao desenvolvimento vegetal e pela mitigação de estresse e controle biológico da microbiota patogênica (D'AGOSTINO e MORANDI, 2009; LUCON, 2009; QUADROS et al., 2014).

Baseado no exposto, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito de microrganismos promotores do crescimento em plantas, veiculados de diferentes formas, na produção de mudas da orquídea *Phalaenopsis* sp. 'Taisuco Swan',

### MATERIAL E METODOS



O experimento foi conduzido no Orquidário Mantovani, Itápolis, SP, no período de dezembro de 2019 a outubro de 2020. Os microrganismos fazem parte da coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Produção Vegetal da UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal.

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 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  $1 \times 10^7$  UFC mL<sup>-1</sup> com auxílio de espectrofotômetro (Micronal, modelo B382, Brasil) na absorvância de 695 nm.

No tratamento 2, à solução de *Trichoderma* sp. foi adicionada solução de alginato de sódio (NaC<sub>6</sub>H<sub>7</sub>O<sub>6</sub>) na concentração de 1% (m v<sup>-1</sup>). A solução de *Trichoderma* sp. acrescida de alginato de sódio foi gotejada com solução de cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) 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) de água destilada (adaptado de CARNEIRO e GOMES, 1997).

No tratamento 4, à solução de *Trichoderma* sp. foi adicionada solução de alginato de sódio (NaC<sub>6</sub>H<sub>7</sub>O<sub>6</sub>) na concentração de 1% (m v<sup>-1</sup>) e solução de argila na diluição de 1:3 (m v<sup>-1</sup>) de água destilada. A solução de *Trichoderma* sp. acrescida de alginato de sódio e argila foi gotejada com solução de cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) 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).

O experimento foi conduzido em casa de vegetação coberta com plástico transparente, revestida nas laterais, com tela de 50% de luminosidade. Inoculou-se os microrganismos 1 mL (meio líquido) e 1 g (microrganismos liofilizados), aplicando próximo ao caule, em mudas padronizadas com 2,0 cm ± 0,5 cm, provenientes de cultivo *in vitro*, plantadas individualmente em vasos de plástico, com capacidade para 100 cm<sup>3</sup>. 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%.

Avaliou-se, aos 190 dias após a inoculação dos microrganismos: número de folhas; diâmetro do caule; espessura e largura da maior folha; área foliar; teor de clorofila; número raízes; comprimento da maior raiz; massa seca da parte aérea e de raízes, que foram obtidas após a secagem em estufa com circulação forçada de ar a 70 °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 e MALDONADO JUNIOR, 2015).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos com *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis* (T6) e *Bacillus pumilus* (T7) foram superiores aos outros tratamentos para diâmetro de caule, largura foliar, área foliar, número de raízes e massa seca de parte aérea, evidenciando o potencial destes microrganismos em promover o desenvolvimento em plantas. *Bacillus pumilus* (T7) foi superior também para massa seca de raiz e total mostrando que essa bactéria foi ainda mais eficiente. *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis* (T6) e *Bacillus pumilus* (T7) também apresentaram maiores médias para clorofila, não diferenciando do tratamento controle (T1). Não houve diferenças entre os tratamentos para número e espessura da folha e, também, comprimento da raiz (Tabela 1).

As rizobactérias, portanto, se mostraram mais eficientes no crescimento das mudas de *Phalaenopsis*. As rizobactérias produzem hormônios vegetais, aumentam a absorção vegetal de macronutrientes (CANELLAS et al., 2015) e melhoram as características fisiológicas das plantas, especialmente a taxa fotossintética (NASCENTE et al., 2017) interferindo positivamente no crescimento e desenvolvimento das plantas.

As bactérias *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis* (T6) e *Bacillus pumilus* foram as que apresentaram resultados mais eficientes para *Phalaenopsis*. O efeito benéfico de *Azospirillum brasilense* no crescimento das plantas tem sido verificado também para outras espécies vegetais como soja (SILVA et al., 2020) e milho (DARTORA et al., 2013) e assim como neste estudo, *Bacillus subtilis* aplicado juntamente com *Azospirillum brasilense* também foi eficiente no crescimento de soja (COSTA et al., 2019). Maior eficiência de *Bacillus pumilus* no crescimento também foi observada em tomateiro (MASOOD; ZHAO; SHEN, 2020).



**TABELA 1** - Número de folhas (NF); diâmetro do caule (DC); espessura da maior folha (EF), largura da maior folha (LF) 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 *Phalaenopsis* sp. 'Taisuco Swan' tratadas ou não com microrganismos promotores do crescimento de plantas. Jaboticabal, SP, 2020.

Tratamentos	NF	DC (mm)	EF (mm)	LF (mm)	AF (cm <sup>2</sup> )	Clorofila
1.Controle	2,1250 a	4,7 b	1,5 a	2,8 b	12,3 b	27,2 a
2. <i>Trichoderma</i> (alg)	2,1250 a	4,3 b	1,5 a	2,6 b	10,8 b	22,8 b
3. <i>Trichoderma</i> (arg)	2,5000 a	4,6 b	1,5 a	2,7 b	11,8 b	20,2 c
4. <i>Trichoderma</i> (alg+arg)	2,1250 a	4,6 b	1,4 a	2,8 b	10,7 b	22,2 b
5. <i>Trichoderma</i> (líquido)	2,1250 a	4,1 b	1,6 a	2,6 b	9,8 b	23,9 b
6. <i>Azospirillum</i> + <i>Bacillus</i>	2,3750 a	5,2 a	1,7 a	3,2 a	16,8 a	26,8 a
7. <i>Bacillus pumilus</i>	2,2500 a	5,4 a	1,6 a	3,3 a	17,6 a	27,9 a
CV (%)	14,46	7,11	6,98	5,87	23,55	6,77
	NR	CR (cm)	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)	
1.Controle	7,4300 b	22,7 a	0,1440 b	0,5877 b	0,7316 b	
2. <i>Trichoderma</i> (alg)	6,6250 c	19,8 a	0,1055 b	0,4923 c	0,5977 c	
3. <i>Trichoderma</i> (arg)	7,7500 b	18,0 a	0,1278 b	0,5132 c	0,6410 c	
4. <i>Trichoderma</i> (alg+arg)	6,5000 c	18,2 a	0,1156 b	0,4511 c	0,5667 c	
5. <i>Trichoderma</i> (líquido)	7,6250 b	19,9 a	0,1335 b	0,4667 c	0,6002 c	
6. <i>Azospirillum</i> + <i>Bacillus</i>	8,8750 a	23,0 a	0,1637 a	0,6434 b	0,8070 b	
7. <i>Bacillus pumilus</i>	9,0000 a	22,7 a	0,1826 a	0,7404 a	0,9230 a	
CV (%)	10,10	19,25	18,24	13,25	10,16	

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

As rizobactérias *Bacillus pumilus* e *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis*, veiculados em meio líquido proporcionaram maior incremento no crescimento e desenvolvimento das mudas de *Phalaenopsis* sp. 'Taisuco Swan',

## REFERÊNCIAS

- 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.
- CANELLAS, L. P.; SILVA, S. F.; OLK, D. C.; OLIVARES, F. L. Foliar application of plant growth-promoting bacteria and humic acid increase maize yields. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 13, n. 1, p. 131-138, 2015.
- 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.



COSTA, L. C.; TAVANTI, R. F. R.; TAVANTI, T. R.; PEREIRA, C. S. Desenvolvimento de cultivares de soja após inoculação de estirpes de *Bacillus subtilis*. **Nativa**. v. 7, n. 2, p. 126-132, 2019.

D'AGOSTINO, F.; MORANDI, M. A. B., Análise da viabilidade comercial de produtos à base de *Bacillus subtilis* e *Bacillus pumilus* para o controle de fitopatógenos no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B., eds. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**, Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 299-316, 2009.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v. 17, n. 10, p. 1023–1029, 2013.

LUCON, C.M.M. **Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp.** 2009.

Artigo em Hypertexto. Disponível em:

[http://www.infobibos.com/Artigos/2009\\_1/trichoderma/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/trichoderma/index.htm)>. Acesso em: 20/5/2023

MASOOD, S.; ZHAO, X. Q.; SHEN, R. F. *Baccillus pumilus* promotes the growth and nitrogen uptake of tomato plants under nitrogen fertilization. **Scientia Horticulturae**. v. 272, e109581, 2020.

NASCENTE, A. S.; FILIPPI, M. C. C.; LANNA, A. C.; SOUZA, A. C. A.; LOBO, V. L. S.; SILVA, G. B. Biomass, gas exchange, and nutrient contents in upland rice plants affected by application forms of microorganism growth promoters. **Environmental Science and Pollution Research**. v. 24, p. 2956-2965, 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**. 1ed. Lavras: UFLA, v. 2, 2014, p. 454-510.

PORTO, E. M. V.; TEIXEIRA, F. A.; FRIES, D. D.; JARDIM, R. R.; AMARO, H. T. R.; SANTOS FILHO, J. R.; SANTOS, J. P.; JESUS, F.M.; SILVA, H. S.; VIEIRA, T.M. Microrganismos promotores de crescimento de plantas como mitigadores do estresse hídrico em pastagens: uma revisão narrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 11, e514111134029, 2022.

PULIDO, S. A. A.; MÚÑOZ, S. A. G.; SÁNCHEZ, M. L. H.; BETANCOURT, A. R.; GARCÍA, F. E. El cultivo de orquídeas *Phalaenopsis*. **Biológico Agropecuaria Tuxpan**, v. 10, n. 2, p. 115-122, 2022.

QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F.; VIEIRA, V. M.; ROEHRS, D. D.; CAMARGO, F. A. O. Desempenho agrônomo a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, v. 61, n.2, p. 209-218, 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.

SILVA, M. A.; NASCENTE, A. S.; FILIPPI, M. C. C.; LANNA, A. C.; SILVA, G. B.; SILVA, J. F. A. Individual and combined growth-promoting microorganisms affect biomass production, gas exchange and nutrient content in soybean plants. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 3, p. 619-632, 2020.

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,