



## I Encontro Regional de Estudos Agroambientais

Responsabilidade Socioambiental da Pesquisa Científica

03 a 05 de dezembro de 2018, Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Alagoas

### **Eficiência de bactérias endofíticas associadas a extrato indutor de enraizamento natural na cultura de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**

Vagner Soares de Oliveira<sup>1</sup>, Clayton dos Santos Silva<sup>1</sup>, Romário Guimarães Verçosa de Araújo<sup>1</sup>, Carlos Eduardo da Silva<sup>1</sup>, Matus da Silva Nascimento<sup>1</sup>, Yamina Coentro Montaldo<sup>1</sup>, Tania Marta Carvalho dos Santos<sup>1</sup>, João Manoel da Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Microbiologia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas, BR 104, Rio Largo, Alagoas. E-mail: vagner\_soares\_ifal@hotmail.com; clayton@live.com.pt; romariogva@hotmail.com; matus3174@gmail.com, yaminacm@hotmail.com; tmcs@ceca.ufal.br.

<sup>2</sup>Rede Nordeste de Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, Alagoas. E-mail: jm.agro@hotmail.com.

**Resumo:** A produção agrícola mundial vem buscando sempre alternativas para incrementar a produtividade em meio às adversidades ambientais. Especialmente para aqueles com menor poder aquisitivo, a adoção de tecnologias se torna um limitante, porém, alternativas são desenvolvidas para suprir as necessidades. Assim, o uso de micro-organismos e extratos de sementes germinadas são comumente adotados nas práticas agrícolas para prover o crescimento vegetal. Diante do exposto, objetivou-se por meio desse trabalho avaliar a eficiência de bactérias endofíticas do gênero *Bacillus* como também sua associação com extrato para enraizamento, no desenvolvimento inicial de plantas de feijoeiro. Foram utilizados dois isolados bacterianos (BC031 e BC033). O extrato foi obtido através da germinação de sementes de feijão seguida de sua trituração e filtragem. O plantio foi realizado em copos de volume 500 ml contendo solo autoclavado. No momento da semeadura, foi realizada a inoculação dos isolados, como também a adição do extrato. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e comparadas as médias pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Detectou-se que a associação entre bactérias endofíticas e extrato para enraizamento não possui alta eficiência no crescimento de feijão. Ademais, os caracteres que melhor descreveram os resultados foram biomassa e matéria seca.

**Palavras-chave:** crescimento vegetal, simbiose, *Bacillus*, BPCV

### **Efficiency of endophytic bacteria associated to natural extract root inductor in bean crop (*Phaseolus vulgaris* L.)**

**Abstract:** The world agricultural production has always been seeking alternatives to increase productivity amidst environmental adversities. Especially for those with lower purchasing power, the adoption of technologies becomes a limitation, however, alternatives are developed to meet the needs. Thus, the use of microorganisms and germinated seed extracts are commonly adopted in agricultural practices to provide plant growth. In view of the above, the objective of this work was to evaluate the efficiency of endophytic bacteria of the genus *Bacillus* as well as its association with extract for rooting in the initial development of common bean plants. Two bacterial isolates (BC031 and BC033) were used. The extract was obtained by bean seed germination followed by grinding and filtering. Planting was done in 500 ml volume cups containing autoclaved soil. At the time of sowing, the inoculation of the isolates was carried out, as well as the addition of the extract. The data were submitted to analysis of variance and the means were compared by the Tukey test ( $p \leq 0.05$ ). It was found that the association between endophytic bacteria and extract for rooting does not have high efficiency in bean growth. In addition, the characters that best described the results were biomass and dry matter.

**Keywords:** vegetal growth, symbiosis, *Bacillus*, PGPB



## I Encontro Regional de Estudos Agroambientais

Responsabilidade Socioambiental da Pesquisa Científica

03 a 05 de dezembro de 2018, Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Alagoas

### INTRODUÇÃO

O feijão é fabácea (leguminosa) de consumo generalizado pela população brasileira. Para os seguimentos de baixa renda se constitui na principal fonte de proteínas. Além disso, é o principal gerador de renda para representativo número de agricultores (YOKOYAMA; KOSSEL; KLUTHCOUSKI, 1996).

O uso de bactérias promotoras de crescimento na cultura do feijoeiro é uma tecnologia bem conhecida dos produtores, que realizam, por exemplo, inoculações com bactérias fixadoras de nitrogênio (N) conhecidas como rizóbios nas sementes de feijão (MAGALHÃES, 2017). Essa pratica visa auxiliar na produção de hormônios que atuam no desenvolvimento das raízes do feijoeiro e logo acarretar uma melhor produtividade.

Dentre os micro-organismos de interesse para uso agrícola estão os endofíticos, os quais são principalmente fungos e bactérias que vivem no interior das plantas, habitando, de modo geral, suas partes aéreas, como folhas e caules, sem causar aparentemente nenhum dano a seus hospedeiros (AZEVEDO; ARAÚJO, 2007).

Segundo Oliveira et al. (2003) bactérias endofíticas promovem o crescimento de plantas através de mecanismos diretos e indiretos. Sendo os principais de ação direta a fixação biológica de nitrogênio (KUSS et al., 2004), produção de fitormônios (SILVA et al., 2015), solubilização de fósforo (SILVA et al., 2018) e aceleração dos processos de mineralização. Os mecanismos de ação indireta incluem a indução de resistência sistêmica nos vegetais, diminuição de fatores de estresse como o etileno endógeno, produção de antibióticos e antagonismo a fitopatógenos (SILVA et al., 2015), entre outros fatores.

Segundo Sturtz (1995), aproximadamente 10% das bactérias endofíticas isoladas de tubérculos de batata promoveram o crescimento das plantas.

Um dos aspectos fundamentais para o desenvolvimento das plantas é o sistema radicular bem desenvolvido, o qual fará a absorção de água e nutrientes. Nesse sentido o uso de enraizadores naturais se mostra como uma boa proposta de baixo custo para a obtenção de um sistema radicular satisfatório e vigoroso.

O extrato de sementes germinadas de feijão pode ser usado na indução crescimento radicular devido à presença hormônios vegetais conhecidos, por exemplo as giberelinas, citocininas, retardadores, inibidores, etileno e ácido indolacético (AIA), principal hormônio formador de raízes, ou seja, tais substâncias atuam como sinergistas, isto é, estimular o efeito do AIA, quando aplicados em concentrações ótimas (QUAYYUM et al., 2000).

Diante disso, neste estudo objetivou-se avaliar o potencial de bactérias endofíticas do gênero *Bacillus* para promoção de crescimento vegetativo, bem como testar a ação desses micro-organismos com e sem adição de extrato de sementes germinadas em feijoeiro.

### MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente foi realizado o teste de germinação das sementes de feijão, utilizando-se do método de rolo com sementes, que consiste em dispor 100 sementes em uma folha de papel germitest esterilizada e enrola-lo para propiciar condições ideais a germinação, sendo levemente molhado com 50 ml de água diariamente. O levantamento do percentual de germinação foi feito após o quinto dia.

O solo utilizado foi coletado em uma área livre de contaminação com



## **I Encontro Regional de Estudos Agroambientais**

### **Responsabilidade Socioambiental da Pesquisa Científica**

03 a 05 de dezembro de 2018, Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Alagoas

agroquímicos no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, o mesmo foi autoclavado a 1 atm por uma hora, para esterilização e proporcionar apenas a ação dos isolados que foram selecionados para compor o experimento.

Para produção do extrato foram utilizadas 300 sementes de feijão, as quais foram esterilizadas utilizando imersão em hipoclorito de sódio diluído na proporção de 1:100 (v/v) por 30 segundos, em álcool por 70% (v/v) por 30 segundo e por fim em água destilada estéril por 60 segundos. As sementes foram dispostas em 10 Gerbox escura contendo papel germitest para induzir a germinação.

Após a germinação, o material foi triturado com auxílio de um liquidificador previamente asséptico, foram adicionados 500 ml de água destilada, para se obter a uma pasta a qual foi devidamente coada para se obter o extrato.

Em seguida foi realizada a semeadura em copos de polipropileno descartáveis de 500 ml e inoculação de dois isolados bacterianos BC031 e BC033, os quais estão depositados na coleção de micro-organismos do Laboratório de Microbiologia CECA-UFAL, bem como a aplicação do extrato de feijão sozinho e em combinação com os isolados bacterianos.

Os tratamentos foram: Feijão + extrato; BC031; BC033; extrato + BC031; extrato + BC033; Controle.

As variáveis analisadas foram altura de planta AP, número de folhas (NF), área foliar (AF) (determinada por meio do LI-300 Area Meter (LI-COR, inc., Lincon, Nebraska, USA), comprimento radicular (CR), Biomassa da parte aérea (Biomassa PA), biomassa da raiz e matéria seca (MS) (parte aérea e raiz). A determinação da matéria seca foi realizada por meio da secagem em estufa de ventilação forçada (65 °C) até atingir peso constante.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com cinco repetições e seis tratamentos, totalizando 30 parcelas experimentais. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e os tratamentos comparados entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) por meio do software Sisvar (FERREIRA, 2014).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Por meio dos dados obtidos foi possível verificar que a associação entre bactérias endofíticas e extrato natural para enraizamento não possui efeitos significativos para todas as variáveis em estudo. Assim, verificou-se que para as variáveis NF, AP, AF e CR, não houveram diferenças significativas quando se comparado às demais variáveis.

Os parâmetros mais de 200 críticos da eficiência da inoculação das bactérias endofíticas em associação com extrato natural para enraizamento foram verificados para Biomassas (PA e raiz) e matéria seca (PA e raiz), os quais apresentaram comportamentos distintos em função das combinações (Tabela 1). Embora detectada tal diferença, constata-se que extrato + BC033 foi o mais representativo, mesmo agrupando-se estatisticamente junto ao tratamento controle.

Nesse sentido, pode-se considerar que o uso de extratos para enraizamento não apresenta eficácia para a cultura do feijão, podendo até atuar como inibidor de crescimento tanto das plantas quanto para os isolados bacterianos em estudo.

Os enraizadores naturais obtidos por meio da maceração de sementes germinadas é uma alternativa comumente utilizada para enraizamento de estacas, principalmente frutíferas e espécies florestais, podendo assim não ser eficiente para a aplicação em pré germinação e sementes.



## I Encontro Regional de Estudos Agroambientais

Responsabilidade Socioambiental da Pesquisa Científica

03 a 05 de dezembro de 2018, Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Alagoas

Ademais, Giraldo, Ríos e espécies, substratos e condições ambientais propícias. Polanco (2009) afirmam que a utilização desses enraizadores carece de maiores investigações, tendo em finalidade caracterizar a afinidade entre

**Tabela 1** – Mensurações biométricas de plantas de feijão submetidas a inoculação de bactérias endofíticas e combinação destas com extrato natural para enraizamento.

Tratamento	NF (u)	AP (cm)	AF (cm <sup>2</sup> )	CR (cm)
Extrato	2,4 a*	14,88 a	123,00 a	16,88 a
BC031	1,6 a	11,26 a	88,20 a	12,34 a
BC033	2,8 a	17,06 a	146,8 a	19,50 a
Extrato + BC031	2,8 a	15,70 a	138,00 a	19,86 a
Extrato + BC033	3,6 b	20,58 b	193,00 a	20,18 a
Controle	3,6 b	18,76 ab	187,00 a	20,96 a

  

	Biomassa PA	Biomassa Raiz	MS PA	MS Raiz
Extrato	223,8 a	61,63 a	0,351 a	0,183 a
BC031	243,5 a	114,01 ab	0,359 a	0,178 a
BC033	318,8 a	211,62 b	0,468 a	0,364 ab
Extrato + BC031	305,1 a	204,52 b	0,369 a	0,361 ab
Extrato + BC033	453,7 ab	197,80 b	0,613 ab	0,405 ab
Controle	431,4 ab	359,22 bc	0,556 ab	0,655 b

\*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey  $p \leq 0,05$ ).

Ressalta-se que as bactérias inoculadas sozinhas apresentaram resultados inferiores ao tratamento controle, bem como o uso apenas do extrato.

### CONCLUSÕES

Bactérias endofíticas em associação com extrato natural para enraizamento apresenta baixa eficiência ao se comparar com os tratamentos isentos de inoculação.

### REFERÊNCIAS

AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. **Diversity and applications of endophytic fungi isolated from tropical plants**. In: GANGULI, B. N.; DESMAMUKH, S. K. (Org.). Fungi: multifaceted microbes. Boca Raton: CRC Press, p. 189-207, 2007.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

GIRALDO, L. A.; RÍOS, H. F.; POLANCO, M. F. Efecto de dos enraizadores en tres especies forestales promisorias para la recuperación de suelos. **Revista de Investigación Agraria y Ambiental**, v. 1, n. 1, p. 41-47, 2009.

KUSS, A. V.; KUSS, V. V.; LOVATO, T.; FLÔRES, M. L. Fixação de nitrogênio e produção de ácido indolacético *in vitro* por bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 10, p. 1459-1465, 2007.

MAGALHÃES, H. **Benefícios da coinoculação na cultura do feijoeiro**. Disponível em: <[https://www.embrapa.br/busca-de-](https://www.embrapa.br/busca-de)



## I Encontro Regional de Estudos Agroambientais

Responsabilidade Socioambiental da Pesquisa Científica

03 a 05 de dezembro de 2018, Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Alagoas

Cultura do feijoeiro comum no Brasil.  
Piracicaba, POTAFOS, p.1-21, 1996.

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA S.,  
BALDANI, J. I. **Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, ago. 2003. 40 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 161).

QUAYYUM, H. A.; MALLIK, A. U.;  
LEACH, D. M.; GOTTARDO, C. Growth inhibitory effects of nutgrass (*Cyperus rotundus* L.) on rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n. 9, p 2221-2231, 2000.

SILVA, C. S.; TENÓRIO, F. A.; SILVA,  
J. M.; GUEDES-CELESTINO, E. L.;  
ARAÚJO, R. G. V.; LIMA, J. R. B.;  
MONTALDO, Y. C.; SANTOS, T. M. C.  
Solubilização de fosfatos inorgânicos por bactérias endofíticas isoladas de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. flavicarpa). **Encontro Regional de Agroecologia do Nordeste**, v.1, n.1, p.1-5, 2018.

SILVA, J. M.; SANTOS, T. M. C.;  
ALBUQUERQUE, L. S.; MONTALDO,  
Y. C.; OLIVEIRA, J. U. L.; SILVA, S. G.  
M.; NASCIMENTO, M. S.; TEIXEIRA, R.  
A. O. Potential of the endophytic  
bacteria (*Herbaspirillum* spp. and  
*Bacillus* spp.) to promote sugarcane  
growth. **Australian Journal of Crop  
Science**, v.9, n.8, p.754-760, 2015.

STURTZ, A. V. The role of endophytic  
bacteria during seed piece decay and  
potato tuberization. **Plant and Soil**,  
Dordrecht, v. 175, p. 257-263, 1995.

YOKOYAMA, L. P.; KOSSEL, B.;  
KLUTHCOUSKI, J. **Aspectos sócio  
econômicos da cultura.** In: ARAÚJO,  
R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.;  
ZIMMERMANN, M. J. O. (Coord.)