



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018  
Marília - SP

## MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES DE FEIJÃO COM RIZOBACTÉRIAS COM POTENCIAL PARA O BIOCONTROLE: AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS GERMINATIVOS

Bruna Rohrig<sup>1</sup>, Renata Moccellini<sup>1</sup>, Ismail Teodoro Souza Júnior<sup>1</sup>, Maurício Sangiogo<sup>1</sup>, Julia Pelegrineli Fasolin<sup>1</sup>, Andréa Bittencourt Moura<sup>1</sup>, Rosana Serpa<sup>1</sup>, Juliane Ludwig<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas, UFPel, Departamento de Fitossanidade, Pelotas-RS. [rohrigbruna@hotmail.com](mailto:rohrigbruna@hotmail.com) [renata.mocellini@gmail.com](mailto:renata.mocellini@gmail.com) [ms\\_sangiogo@hotmail.com](mailto:ms_sangiogo@hotmail.com)  
[julia\\_pelegrineli@hotmail.com](mailto:julia_pelegrineli@hotmail.com) [agrojunior1@yahoo.com.br](mailto:agrojunior1@yahoo.com.br) [abmoura@ufpel.edu.br](mailto:abmoura@ufpel.edu.br)  
[rosanaserpa@gmail.com](mailto:rosanaserpa@gmail.com) <sup>2</sup>Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Cerro Largo, Cerro Largo- RS. [juliane.ludwig@uffs.edu.br](mailto:juliane.ludwig@uffs.edu.br)

**RESUMO** – A microbiolização de sementes vem sendo empregada como alternativa no tratamento de sementes, na promoção de crescimento de diversas culturas, promovendo a sanidade das mesmas frente a diferentes patógenos. Contudo, o efeito proporcionado por alguns microrganismos nas sementes são desconhecidos, variando de cultura para cultura. O objetivo desse estudo foi avaliar diferentes parâmetros germinativos de sementes de feijão microbiolizadas com rizobactérias não identificadas. Os parâmetros avaliados foram: primeira contagem (PC), crescimento radicular (CR), crescimento de parte aérea (CPA), plântulas anormais (PA), sementes não germinadas (SNG), sementes podres (SP), germinação (G), massa seca de raiz (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA). As medições foram realizadas com paquímetro digital. As sementes foram imersas nas suspensões bacterianas, durante 3 horas, a 27 °C e a testemunha foi imersa em solução salina. As sementes de cada tratamento foram colocadas em oito rolos de papel germitest, (50 sementes cada) e levadas a BOD sob temperatura de 27 °C e fotoperíodo de 12 h. As bactérias utilizadas, RD34, RD06 e RD10, promoveram a germinação das sementes de feijão e aumentaram o peso fresco de plântulas microbiolizadas. Em relação aos demais parâmetros avaliados, estes não apresentaram diferenças significativas entre si. Apesar dos resultados obtidos, maiores estudos são necessários para observar quais mecanismos de ação estão envolvidos nesse processo, assim como estudos *in vivo*.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris*, Promoção de crescimento, PGPR, Controle biológico de doenças.



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018  
Marília - SP

## INTRODUÇÃO

O feijão é um dos principais alimentos consumidos pelos brasileiros. A maioria da sua produção é obtida por pequenos agricultores familiares, que por muitas vezes armazenam parte da produção para fazer o plantio na próxima safra. Nesse momento o potencial germinativo da semente pode ser reduzido, prejudicando o *stand* de plantas na próxima safra e acarretando em perdas na produtividade.

Alguns trabalhos tem demonstrado que o uso de bactérias provenientes de solo rizósferico tem a capacidade de melhorar a taxa de germinação de sementes (AMORIM; MELO, 2002; ROJAHN, et al., 2016). Estas bactérias são conhecidas como rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPR), que podem atuar de maneira direta, promovendo o crescimento de plantas, melhorando o poder germinativo das sementes, bem como protegendo as mesmas do ataque de patógenos.

Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar diferentes parâmetros germinativos de sementes de feijão microbiolizadas com bactérias com potencial para o biocontrole de patógenos habitantes do solo.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Bacteriologia Vegetal, pertencente à Universidade Federal de Pelotas, Pelotas –Rio Grande do Sul. Para condução desse experimento, foram utilizados seis isolados bacterianos não identificados e protocolados como RD34, RD27, SD18, RD12, RD10 e RD06 isoladas de plantas de feijão sob plantio direto, , provenientes da coleção do Laboratório de Manejo Integrado de Doenças da Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Cerro Largo, isolados de rizosfera e rizoplano de plantas sadias de feijão. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com oito repetições, onde cada repetição foi composta por um rolo com 50 sementes (cultivar IAC Curió), totalizando 400 sementes por tratamento.

Para avaliar os efeitos dos isolados bacterianos sobre a germinação, as sementes de feijão foram microbiolizadas. Para isso, primeiramente os isolados bacterianos foram repicados em placas de Petri contendo meio 523 (KADO; HESKETT, 1970) e incubados a 28°C por 48 horas.



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018  
Marília - SP

Após o crescimento, foi adicionada solução salina (NaCl 0,85%) para obtenção das suspensões, posteriormente ajustadas em espectrofotômetro para  $A_{540}=0,5$  (correspondendo a  $10^8$  unidades formadoras de colônias).

As sementes de feijão foram imersas nas suspensões bacterianas, sob agitação, durante 3 horas, a 27 °C. Como testemunha, utilizaram-se sementes imersas somente em solução salina. Posteriormente, sementes de cada tratamento foram divididas em oito rolos de papel germitest, contendo 50 sementes cada. Os rolos foram levados a BOD sob temperatura de 27 °C e fotoperíodo de 12 h.

Após cinco dias de inoculação, foi realizada a primeira contagem (PC) apenas das sementes germinadas. Aos oito dias, foram realizadas avaliações de crescimento radicular (CR), crescimento de parte aérea (CPA), plântulas anormais (PA), sementes não germinadas (SNG), sementes podres (SP), e germinação (G). As medições foram realizadas com auxílio de um paquímetro digital. Após as medições e avaliações, as plântulas foram separadas em parte aérea (PA) e radicular (R) e acondicionadas em sacos de papel devidamente identificados. Os sacos foram levados à estufa, sob temperatura de 65 °C durante 72 h, para então realizar a pesagem de massa seca de raiz (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ), e quando significativos, foi realizada a comparação de médias dos tratamentos ao nível de 5% de probabilidade ( $p \leq 0,05$ ), pelo teste Tukey, utilizando o programa estatístico R.

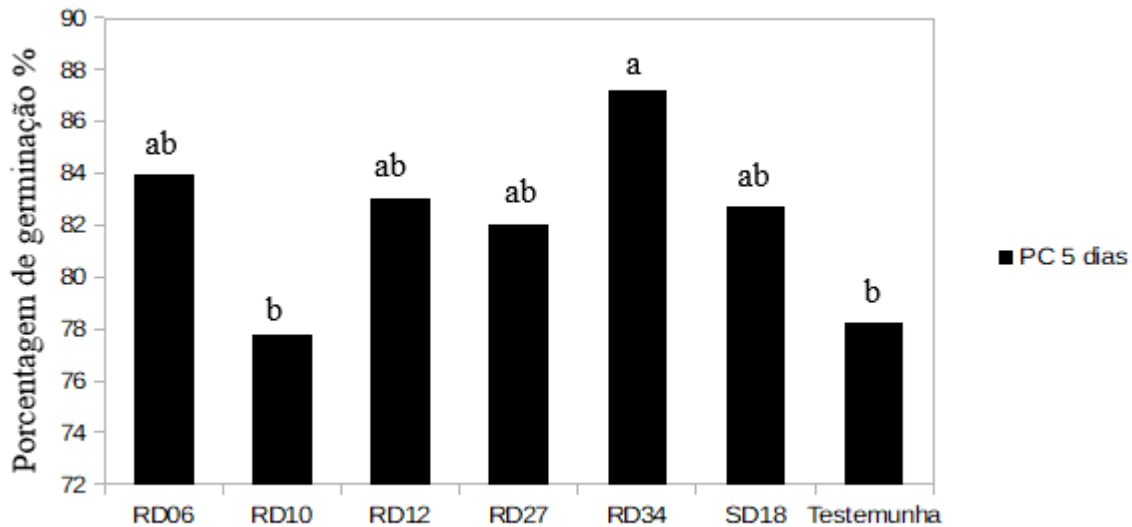
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da análise dos dados obtidos, observou-se diferenças significativas no potencial de germinação das sementes de feijão, microbiolizadas com os diferentes isolados bacterianos, no parâmetro primeira contagem (PC), após cinco dias de inoculação (Figura 1). O isolado RD34 apresentou o maior valor de média na avaliação do percentual de germinação (88%), no entanto não diferenciou significativamente dos tratamentos com os isolados RD06, RD12, RD27 e SD18. Em relação a testemunha, teve um incremento de 10% da germinação das sementes de feijão (Figura 1).



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018  
Marília - SP



**Figura 1-** Porcentagem de germinação na primeira contagem (5 dias) de sementes de feijão microbiolizadas com rizobactérias.

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

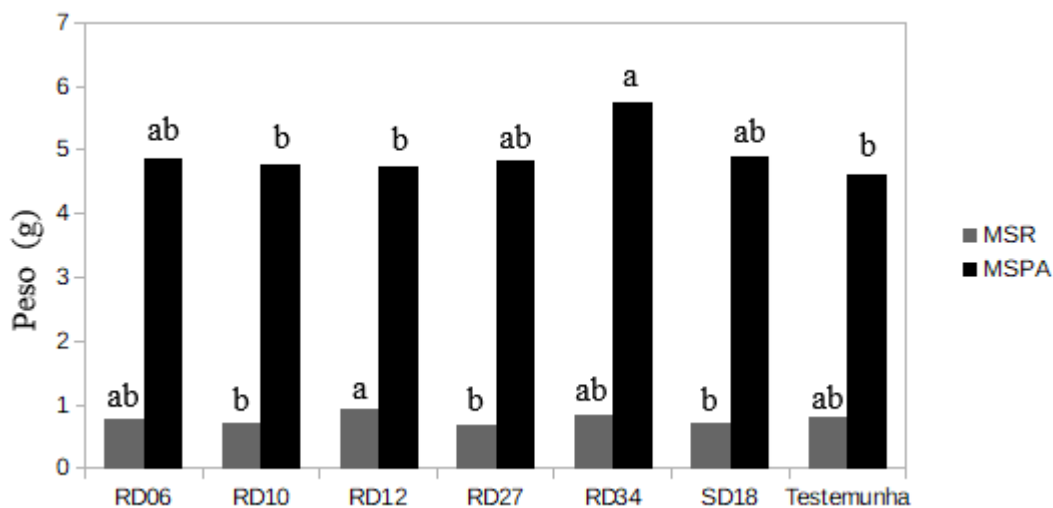
A massa seca de parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, onde o isolado RD34 obteve maior MSPA e RD12 apresentou a maior média de MSR, porém não diferiu estatisticamente da testemunha (Figura 2). Esse dado corrobora com os encontrados por Oliveira et al (2016), que observaram um aumento na massa seca de plântula e de raiz de feijão quando estes foram microbiolizados com *Bacillus subtilis*.

Esse aumento no potencial de germinação das sementes de feijão pode estar relacionado com a capacidade que estes microrganismos têm em colonizar as raízes das plântulas e atuar por meio de diferentes mecanismos de ação que podem estimular o crescimento, como produção de hormônios, fixação de nitrogênio, produção de siderofóros e a solubilização do fósforo (GLICK, 2005).



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

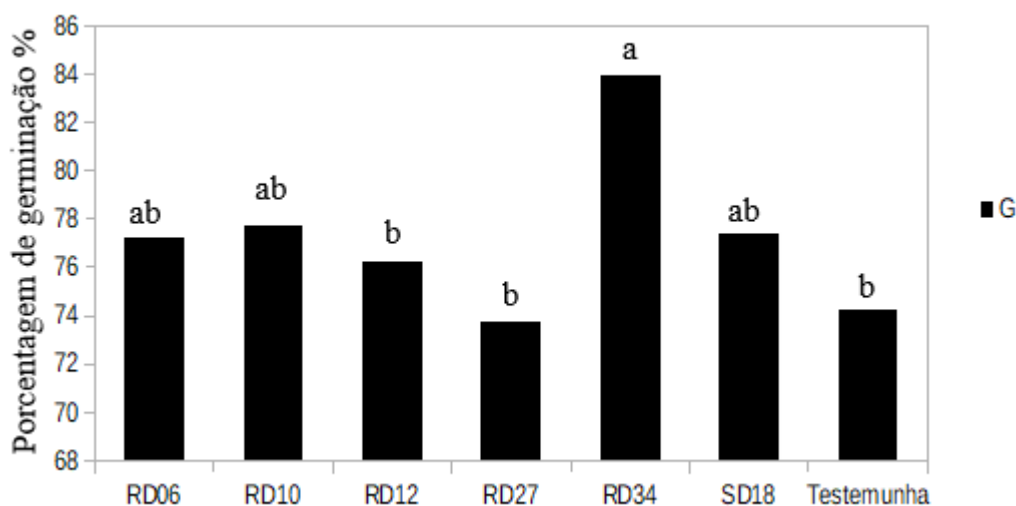
20 a 22 de fevereiro de 2018  
Marília - SP



**Figura 2-** Massa seca de parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) de plântulas de feijão microbiolizadas com rizobactérias.

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Observa-se também que no parâmetro germinação (G) final o isolado RD34 diferiu estatisticamente da testemunha com 84% das sementes germinadas, em relação a testemunha (74%), apresentando 10% de incremento no potencial germinativo das sementes de feijão. Os isolados RD06 e RD010 foram significativamente iguais a testemunha e semelhantes ao isolado RD34, conforme tabela 3.



**Figura 3-** Porcentagem de germinação final de sementes de feijão microbiolizadas com rizobactérias.



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018  
Marília - SP

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Observa-se que o isolado RD34, RD06 e RD10 estimularam a germinação das sementes, corroborando com trabalhos realizados onde o uso algumas espécies bacterianas como *Bacillus* sp. e *Enterobacter* sp, diminuíram o tempo de germinação de sementes de eucalipto, reduzindo o período que as sementes ficaram sob maior influência de fatores adversos, como ao ataque de fitopatógenos (MARQUES et al., 2014).

Para os demais parâmetros avaliados crescimento radicular (CR), crescimento de parte aérea (CPA), plântulas anormais (PA), sementes não germinadas (SNG) e sementes podres (SP) não foram observadas diferenças estatísticas conforme tabela 1.

**Tabela 1.** Primeira contagem (PC), sementes podres (SP), crescimento radicular (CR), crescimento de parte aérea (CPA), sementes não germinadas (SNG) e plântulas anormais (PA) de feijão microbiolizadas.

Tratamentos	PC	SP	CR	CPA	SNG	PA
RD06	84,00 a	8,13 a	7,60 a	8,13 a	0,50 a	2,75 a
RD10	77,75 a	9,25 a	8,21 a	9,25 a	0,88 a	2,63 a
RD12	83,00 a	8,25 a	8,85a	8,25 a	0,88 a	2,75 a
RD27	82,00 a	9,75 a	8,20 a	9,75 a	0,25 a	3,13 a
RD34	87,25 a	4,75 a	9,18 a	4,75 a	1,38 a	1,88 a
SD18	82,75 a	8,00 a	7,09 a	8,00 a	1,13 a	3,63 a
Testemunha	78,25 a	8,63 a	8,19 a	8,63 a	0,50 a	3,75 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Apesar dos resultados satisfatórios obtidos há necessidade de maiores estudos para observar quais os mecanismos de ação que estão envolvidos nesse processo de promoção de crescimento, assim como estudos *in vivo*, avaliando o efeito direto das rizobactérias em plantas.



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018

Marília - SP

## CONCLUSÃO

As bactérias RD34, RD06 e RD10 possuem a capacidade de promover a germinação das sementes de feijão, assim como incrementar no peso fresco de plântulas quando estas são microbiolizadas por estes isolados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, E.P. da R.; MELO, I.S. de. Ação antagônica de rizobactérias contra *Phytophthora parasitica* e *P. citrophthora* e seu efeito no desenvolvimento de plântulas de citros. Revista Brasileira de Fruticultura, p.565-568, 2002.

GLICK, B. R. 2005. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. FEMS Microbiol. Lett, 2005.

KADO, C.J. & HESKETT, M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. Phytopathology: p. 969-976. 1970.

MARQUES, E.; AQUILES, K.R.; BLUM, L.E.; UESUGI, C.H. Bactérias extremófilas facultativas melhorando a germinabilidade de sementes de *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake. Rev. Árvore, v.38 n.3, p.489- 494, 2014.

OLIVEIRA, G.R.F.; SILVA, M.S.; MARCIANO, T.Y.F.; PROENÇA, S.L.; SÁ, M.E. Crescimento inicial do feijoeiro em função do vigor de sementes e inoculação com *Bacillus subtilis*. Brazilian Journal of Biosystems Engineering, v. 10, n.4, p.439-448, 2016.

ROJAHN, F. D.; COSTA, C. J.; SCHAFER, J. T.; BAUER, C. G. Efeito da microbiolização com rizobactérias sobre a germinação de sementes de azevém. Anais VI Encontro de Iniciação Científica e Pós-Graduação da Embrapa Clima Temperado, 2016.