

## MICROORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO NA ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS DA ORQUÍDEA *BRASSOCATTLEYA* PASTORAL ‘ROSA’

Ananda Covre da Silva<sup>1\*</sup>, Helio Fernandes Ibanhes Neto<sup>1</sup>, Amanda Lovisotto Batista Martins<sup>1</sup>, Marjori dos Santos Gouveia<sup>1</sup>, Gustavo Henrique Freiria<sup>2</sup>, Ricardo Tadeu de Faria, André Luiz Martinez de Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, Km 380, s/n - Campus Universitário, Londrina - PR, 86057-970. <sup>2</sup>Universidade do Estado de Minas Gerais, Rua Ver. Geraldo Moisés da Silva, s/n – Universitário, Ituiutaba – MG. \*e-mail:

[ananda\\_covre@hotmail.com](mailto:ananda_covre@hotmail.com)

### RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da inoculação com microrganismos promotores de crescimento no desenvolvimento de mudas da orquídea *Brassocattleya* pastoral ‘rosa’ (*Bc. pastoral* ‘rosa’) durante a fase de aclimatização. Mudas de *Bc. pastoral* ‘rosa’ oriundas da propagação *in vitro* receberam os seguintes tratamentos com microrganismos promotores de crescimento: T1: água (testemunha); T2: *Bacillus* sp. ZK, T3: *Streptomyces* sp. estirpe 102, T4: Adubação química+ *Bacillus* sp. ZK, T5: Adubação química+ *Streptomyces* sp. estirpe 102, T6: Adubação química. Utilizou-se para adubação química o produto Peters (NPK- 20 20 20, 1aplicação/ mês). Após quatro meses do início do experimento avaliou-se o número de folhas e de raízes, comprimento do sistema radicular e parte aérea (cm), massa fresca e massa seca de raiz e parte aérea e massa seca total. Houve incremento no número de raízes, comprimento de parte aérea, e massa fresca de parte aérea com a inoculação de *Streptomyces* sp. aliada a adubação química. Para as variáveis massa seca de raiz e parte aérea, e massa seca total as maiores médias foram dos tratamentos *Bacillus* sp. e *Streptomyces* sp. ambos aliados com a adubação química. O tratamento *Bacillus* sp. associado a adubação química se diferenciou dos demais apenas na variável massa fresca de raiz.

**Palavra-chave:** nutrição, Orchidaceae, fertilização, propagação *in vitro*.

## GROWTH-PROMOTING-MICROORGANISMS IN ACLIMATIZING SEEDLINGS OF THE ORCHID *BRASSOCATTLEYA* PASTORAL ‘ROSA’

### ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of inoculation with growth-promoting microorganisms on the development of seedlings of the *Brassocattleya pastoral* 'rosa' (*Bc. Pastoral* 'rosa') orchid during the acclimatization phase. *Bc. pastoral* ‘rosa’ seedlings from *in vitro* propagation received the following treatments with microorganisms that promote growth: T1: water (control); T2: *Bacillus* sp. ZK, T3: *Streptomyces* sp. strain 102, T4: Chemical fertilizer + *Bacillus* sp. ZK, T5: Chemical fertilization + *Streptomyces* sp. strain 102, T6: Chemical fertilization. Peters product (NPK-20 20 20, 1st application / month) was used for chemical fertilization. Four months after the beginning of the experiment, the number of leaves and roots, length of the root system and aerial part (cm), fresh weight and dry weight of root and aerial part and total dry weight were evaluated. There was an increase in the number of roots, length of aerial part, and fresh mass of aerial part with the inoculation of *Streptomyces* sp. combined with chemical fertilization. For the variables dry mass of root and aerial part, and total dry mass the highest averages were from the treatments *Bacillus* sp. and *Streptomyces* sp.

both combined with chemical fertilization. The *Bacillus* sp. associated with chemical fertilization differed from the others only in the variable fresh root mass.

**Keyword:** nutrition, Orchidaceae, fertilization, in vitro propagation.

## INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae possui mais de 20 mil espécies de orquídeas distribuídas pelo mundo, o que a torna uma das maiores do reino vegetal (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2019). As *Cattleyas* sp, originárias de zonas tropicais do continente americano, (PRODIGEON, 2006) apresentam grande valor ornamental, e no Brasil são as orquídeas mais comercializadas (PRIZÃO et al., 2012). Devido sua diversidade de forma e cores são amplamente utilizadas para o desenvolvimento de variedades híbridas (VAN DEN BERGL, 2008) como as *Brassocattleyas* sp. A propagação e a produção de híbridos dessas orquídeas são feitas principalmente por técnicas de cultivo *in vitro* (ARDITTI, 2008).

A produção *in vitro* de mudas de orquídeas realizada em nível laboratorial é uma forma de se obter mudas saudáveis e de qualidade. O cultivo *in vitro* pode ser feito através da clonagem de uma planta matriz (FARIA et al., 2012) ou a partir de sementes, ambos em meio de cultura (STANCATO, 1996).

Uma fase crítica deste método de propagação é a aclimatização, que consiste na retirada das mudas do ambiente laboratorial *in vitro* para o ambiente *ex vitro*. Nessa fase a muda está suscetível a estresse hídrico e ao aumento da taxa respiratória, aspectos estes que podem comprometer sua sobrevivência (FARIA et al., 2012) Por isso estratégias que auxiliem no desenvolvimento das mudas nesta fase são importantes.

Sabe-se que a associação de microrganismos a espécies vegetais pode ser benéfica quando este colabora com o desenvolvimento da planta hospedeira (MENDES et al., 2013).

Devido a importância de estudos relacionados a utilização de microrganismos promotores de crescimento principalmente nas espécies de maior valor comercial, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da inoculação com microrganismos promotores de crescimento no desenvolvimento de mudas da orquídea *Brassocattleya* pastoral 'rosa' (*Bc. pastoral* 'rosa') durante a fase de aclimatização.

## MATERIAL E MÉTODOS

Mudas da orquídea *Bc. pastoral* 'rosa' oriundas da semeadura *in vitro* em meio Murashige & Skoog (1962), modificado com a metade da concentração dos macronutrientes, foram transplantadas em bandejas plásticas previamente sanitizadas com água sanitária. Utilizou-se como substrato esfagno autoclavado a 121 °C por 15 minutos. Após o transplante as bandejas foram mantidas em casa de vegetação modelo Van der Hoeven.

Os tratamentos foram compostos pela inoculação dos microrganismos *Bacillus* sp. ZK e *Streptomyces* sp. estirpe 102, ambos componentes da coleção de microrganismos promotores de crescimento da Universidade Estadual de Londrina, através da rega de 10 ml de inoculante na concentração de  $1 \times 10^8$  células por ml, sendo T1: água (testemunha); T2: *Bacillus* sp. ZK, T3: *Streptomyces* sp. estirpe 102, T4: Adubação química+ *Bacillus* sp. ZK, T5: Adubação química+ *Streptomyces* sp. estirpe 102, T6: Adubação química. Para a adubação química utilizou-se o produto comercial Peters 20-20-20 1g/l de água uma vez ao mês.

Após quatro meses do início do experimento avaliou-se: o número de folhas e de raízes, comprimento do sistema radicular e parte aérea (cm), massa fresca e massa seca de raiz e parte aérea e massa seca total. Para a contagem de número de folhas e raízes, e comprimento de parte aérea e radicular utilizou-se 10 repetições por tratamento, e para avaliação de massa fresca, seca

e total 5 repetições. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e comparação das médias através do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados nas Tabelas 1 e 2 mostram que não houveram diferenças significativas entre os tratamentos avaliados para as variáveis número de folhas e comprimento de raiz. Houve incremento para as características número de raízes, comprimento de parte aérea, e massa fresca de parte aérea com a inoculação de *Streptomyces* sp. aliada a adubação química.

**Tabela 1.** Número de raízes (NR), número de folhas (NF), comprimento do sistema radicular (CR) e comprimento da parte aérea (CPA) de mudas de *Bc. pastoral* ‘rosa’ inoculadas com microrganismos promotores de crescimento durante a fase de aclimatização, após quatro meses do início do experimento. Londrina/PR, 2019.

| Tratamentos                               | NR     | NF     | CR (cm) | CPA (cm) |
|-------------------------------------------|--------|--------|---------|----------|
| Água (testemunha)                         | 3,2 b  | 2,7 a  | 4,91 a  | 4,62 ab  |
| <i>Streptomyces</i> sp.                   | 3,5 b  | 3,2 a  | 4,71 a  | 3,5 b    |
| <i>Bacillus</i> sp.+ Adubação química**   | 4,6 b  | 3,7 a  | 5,62 a  | 4,54 ab  |
| <i>Streptomyces</i> sp.+ Adubação química | 6,2 a  | 3,1 a  | 5,38 a  | 5,74 a   |
| Adubação química                          | 3,8 b  | 3,3 a  | 4,18 a  | 4,69 ab  |
| Qmres                                     | 1,4315 | 1,3500 | 2,1625  | 1,1383   |
| CV (%)                                    | 28,15  | 36,12  | 29,5    | 23,39    |

\*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

\*\* Adubação química- produto comercial Peters 20-20-20, 1g/l de água uma vez por mês.

Para as variáveis massa seca de raiz e parte aérea, e massa seca total as maiores medias foram dos tratamentos *Bacillus* sp. e *Streptomyces* sp. ambos aliados com a adubação química. O tratamento *Bacillus* sp. associado a adubação química se diferenciou dos demais para a variável massa fresca de raiz (Tabela 2).

**Tabela 2.** Massa fresca de raiz (MFR), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa seca de raiz (MSR), massa seca de parte aérea (MSPA), e massa seca total (MST) de mudas de *Bc. pastoral* ‘rosa’ inoculadas com microrganismos promotores de crescimento durante a fase de aclimatização, após quatro meses do início do experimento. Londrina/PR, 2019.

| Tratamentos                               | MFR (g)        | MFPA (g)       | MSR (g)        | MSPA (g)        | MST (g)        |
|-------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|
| Água (testemunha)                         | 0,140 c        | 0,141 e        | 0,028 b        | 0,025 b         | 0,054 b        |
| <i>Streptomyces</i> sp.                   | 0,186 bc       | 0,147 e        | 0,033 ab       | 0,026 b         | 0,059 b        |
| <i>Bacillus</i> sp.+ Adubação química     | 0,239 a        | 0,328 b        | 0,046 a        | 0,050 a         | 0,096 a        |
| <i>Streptomyces</i> sp.+ Adubação química | 0,208 ab       | 0,378 a        | 0,044 a        | 0,060 a         | 0,105 a        |
| <u>Adubação química</u>                   | <u>0,149 c</u> | <u>0,263 c</u> | <u>0,027 b</u> | <u>0,041 ab</u> | <u>0,069 b</u> |
| Qmres                                     | 0,00063        | 0,00004        | 0,00004        | 0,0001          | 0,00018        |
| CV (%)                                    | 13,65          | 2,68           | 19,48          | 28,09           | 18,35          |

\*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

\*\* Adubação química- produto comercial Peters 20-20-20, 1g/l de água uma vez por mês.

A promoção do crescimento vegetal ocorre devido a capacidade desses microrganismos, como o *Bacillus* sp. e *Streptomyces* sp., produzirem hormônios vegetais, atuarem na fixação do nitrogênio, solubilização do fosfato, síntese de sideróforos (PERSELLO- CARTIAUX, NUSSAUME, ROBAGLIA, 2003), e na indução da resistência a doenças e estresses abióticos (DE OLIVEIRA et al., 2003).

Segundo Melo (1998) o efeito da promoção de crescimento por meio de microrganismos depende de alguns fatores, entre eles, a disponibilidade de nutrientes e a interferência de outros microrganismos.

A presença de nutrientes no substrato garante a colonização e a manutenção dos organismos benéficos naquele ambiente, uma vez que estes competem com os organismos indesejáveis e auxiliam no controle de sua população (GRAÇA, 2015). Além disso, o teor de nutrientes é um fator limitante para que a microbiota esteja em estado ativo no solo (DA SILVEIRA, 2007).

Freitas et al, (2003) concluiu que havia relação entre fertilidade do substrato e promoção de crescimento ao observar que isolados de *Pseudomonas* sp. promoveram maior matéria seca de plantas de alface quando na presença de solução nutritiva. Tais aspectos justificam os resultados positivos encontrados neste trabalho com relação aos tratamentos que aliaram microrganismo a adubação química.

*Bacillus* sp. e *Streptomyces* sp. são rizobactérias que tem capacidade de produzir auxinas, como o ácido indolacético (AIA), um hormônio vegetal capaz de aumentar a quantidade e promover o alongamento das raízes através da multiplicação celular. Com isso, plantas com um sistema radicular bem desenvolvido absorvem água e nutrientes mais facilmente (TAIZ, ZEIGER, 2009) proporcionando o melhor desenvolvimento vegetal.

Gomes et al., (2003) observou o aumento da massa seca radicular em mudas de alface tratadas com *Bacillus pumilus* e *Bacillus thuringiensis*. Rocha et al., (2017) ao analisar o efeito da inoculação de sementes e o crescimento inicial de plântulas de feijão Caupí, cultivares BRS Vinagre e Sempre verde, observou que *Streptomyces* sp. aumentou o crescimento da raiz nos dois cultivares testados. Além disso, o autor concluiu que este isolado tem capacidade de aumentar o desenvolvimento da parte aérea de feijão Caupí quando germinado em areia, resultado estes que corroboram com os encontrados neste trabalho.

O aumento da parte aérea vegetal pode ocorrer devido a capacidade de rizobactérias fixarem nitrogênio (SADEGUI et al., 2012) e disponibilizarem nutrientes.

## CONCLUSÃO

O tratamento *Streptomyces* sp. aliado a adubação química apresentou os melhores resultados para as variáveis avaliadas, sendo, portanto, o mais indicado para a nutrição de *Bc* pastoral ‘rosa’ durante a fase de aclimatização.

## 1. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARDITTI, J. Micropropagation of Orchids. 2 ed. **Cambridge: Blackwell**, 2008.  
DA SILVEIRA, Adriana Parada Dias; DOS SANTOS FREITAS, Sueli. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Instituto Agrônomo, 2007.

- DE OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J. I. Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal. **Embrapa Agrobiologia-Documentos (INFOTECA-E)**, 2003.
- FARIA, R. T.; DE ASSIS, A. M.; UNEMOTO, L. K.; DE CARVALHO, J. F. R. P. Polinização e obtenção de sementes. In: FARIA, R. T. et al. **Produção de Orquídeas em Laboratório**. Londrina: Mecenas, p. 50, 2012.
- FREITAS, S. S.; MELO, A. M. T. & DONZELI, V. P. Promoção do crescimento de alface por rizobactérias. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 61-70, 2003.
- GOMES, Andréa et al. Isolamento, seleção de bactérias e efeito de *Bacillus* spp. na produção de mudas orgânicas de alface. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 4, p. 699-703, 2003.
- GRAÇAS, J. P. Microrganismos estimulantes na agricultura. **Série Produtor Rural**, v. 59, 2015.
- MELO, IS de. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. **Controle biológico**, v. 1, p. 17-30, 1998.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised médium for rapid growth and biossays with tobacco tissues culture. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473- 497, 1962.
- PERSELLO-CARTIEAUX, F.; NUSSAUME, L.; ROBAGLIA, C. Tales from the underground: molecular plant–rhizobacteria interactions. **Plant, Cell & Environment**, v. 26, n. 2, p. 189-199, 2003.
- PRIDGEON, A. The illustrated encyclopedia of orchids. **Timber Press**, Portland, OR, USA. p. 304, 2006.
- PRIZÃO, E. C.; GONÇALVES, L. D. M.; GUTIERRE, M. A. M. MANGOLIN, C. A. MACHADO, M. D. F. P. D. Activated charcoal and grafite for the micropropagation of *Cattleya bicolor* Lindl. and a orchid double-hybrid 'BLC Pastoral Innocence'. **Acta Scientiarum**. Agronomy, v. 34, n. 2, p. 157-161, 2012.
- ROCHA, Weslany Silva et al. Efeito da microbiolização na germinação e crescimento inicial de feijão caupi no Estado do Tocantins. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 11, n. 6, p. 41-47, 2017.
- SADEGHI, Akram et al. Plant growth promoting activity of an auxin and siderophore producing isolate of *Streptomyces* under saline soil conditions. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1503-1509, 2012.
- STANCATO, G. C. Aspectos da germinação em sementes de orquídeas. *Orquidário*, Rio de Janeiro, v. 10, n. 14, p. 114- 118, 1996.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. **Artmed**: Porto Alegre, RS). 2009.
- UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. A família Orchidaceae. Disponível em: <http://sites.ffclrp.usp.br/lbmbp/index.php/p/familia>. Acesso em: 28 jun. 2019.
- VAN DEN BERGL, C. New combinations in the genus *Cattleya* Lindl. (Orcjdaceae). **Boletim CAOB**, v. 52, n. 100, 2004.