

EFEITO INIBITÓRIO NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris*) E MILHO (*Zea mays*) MICROBIOLIZADAS COM UM ISOLADO ENDOFÍTICO DE *Bacillus subtilis*.

PAZ, I.C.P.¹; RUBINI, M.R.¹; CAGLIARI, J.¹; BIAZIN, A.G.¹; SILVA-RIBEIRO, R.T.¹ & AZEVEDO, J.L.^{1,2}.

PALAVRAS-CHAVE: Inibição, Microrganismos endofíticos, Feijão, milho, germinação, microbiolização.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de feijão e o terceiro de milho, sendo o milho a maior cultura plantada no país. Esta posição de destaque na produção de feijão e milho no cenário mundial está relacionado ao fato destes serem os alimentos básicos da população, sendo uma das principais fontes de proteína da dieta alimentar tanto humana quanto animal. (EMBRAPA, 2004).

Estas culturas são atacadas por um grande número de doenças fúngicas diminuindo consideravelmente a produtividade e depreciando a qualidade dos grãos. Visando a minimização dos prejuízos, atualmente é utilizada a peletização de sementes com produtos químicos.

Com o avanço dos conhecimentos sobre os danos ocasionados ao ambiente pelos agroquímicos utilizados na agricultura convencional, e a crescente conscientização dos consumidores sobre este tema, surge a necessidade da utilização de protetores biológicos de sementes (LUZ, 2001).

A microbiolização consiste na utilização de microrganismos ou de seus metabólitos na proteção de sementes, sendo este método já utilizado na promoção de germinação e crescimento e no controle de diferentes patógenos. (LAZZARETTI & BETTIOL, 1997; LUZ, 2001; LUZ, 2003; FARIA et al., 2003).

Na busca de alternativas ecologicamente corretas para a germinação de sementes de

¹UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL, Instituto de Biotecnologia, Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas. icppaz@ucs.br

²UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, Campus ESALQ, Laboratório de Genética

feijão e milho, este trabalho objetiva avaliar o efeito da emergência de sementes de *Phaseolus vulgaris* e *Zea mays in vitro*, microbiolizadas com um isolado endofítico de *Bacillus subtilis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Como agente microbiolizador de sementes foi utilizado um isolado de *B. subtilis* endofítico de ramos de cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.), que se mostrou promissor quando testado em plântulas e sementes de cacau auxiliando na germinação e proteção. Para obtenção do inóculo inicial o microrganismo foi crescido em placa de Petri contendo o meio LB (extrato de levedura 5g/L, triptona 10 g/L, NaCl 10 g/L, ágar 20 g/L, pH 7,5) por 24 horas com temperatura e agitação controlados (28°C e 150 rpm). Com o auxílio de uma alça de platina retirou-se uma certa quantidade de microrganismo e posteriormente inoculado em erlenmeyer de 250 mL contendo 50 mL de meio mínimo (K_2HPO_4 7 g/L, KH_2PO_4 3g/L, $(NH_4)_2SO_4$ 1 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,1g/L, citrato de sódio . 3 H_2O 0,5 g/L, 0,2 % de glicose 40%). Os frascos foram então mantidos em estufa com agitação e temperatura controlada de 28°C e 150 rpm. Após 12 horas em incubação, o meio foi centrifugado a 9000 rpm durante 30 minutos sendo o sobrenadante descartado e o precipitado ressuspensionado em 50 mL de solução salina (NaCl 8,5 g/L). Para a realização dos testes de microbiolização foram utilizadas 140 sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) e 140 sementes de milho (*Zea mays*). 70 sementes de cada cultivo foram imersas em suspensão bacteriana (1×10^6 UFC/mL) por quatro minutos. Decorrido este tempo, estas foram retiradas e colocadas sobre papel filtro e mantidas a temperatura ambiente por 24 horas para secagem. O controle consistiu na imersão das sementes em solução salina por quatro minutos e posterior secagem sobre papel filtro à temperatura ambiente por 24 horas.

Após a secagem, as sementes foram semeadas em placas de Petri contendo casca de arroz queimada umedecida (8g casca de arroz/10mL água) e mantidas no escuro durante 5 dias, após decorrido este tempo se procedeu a contagem do número de sementes germinadas e a medição da radícula, com o auxílio de um paquímetro digital (Starrett mod. 727).

Os testes foram realizados em duplicata contendo 35 sementes por placa de Petri tanto nos tratamentos como no controle.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos indicam que ocorreu inibição na germinação das sementes de milho e feijão microbiolizadas com o endófito, quando comparadas ao controle. Nas sementes de milho se observou a inibição na germinação de 22,79% quando comparado ao controle. Em feijão ocorreu a inibição na germinação de 14,29% quando comparada ao controle (TABELA 1). Quando calculado o comprimento médio das radículas nas sementes germinadas, foi constatado que em feijão ocorreu uma redução significativa a nível de 5%, comparando-se ao controle. Em milho este fato não foi constatado, sendo que o desenvolvimento das radículas nas sementes microbiolizadas e no controle, não apresentando diferenças estatisticamente significativas (TABELA 2).

A inibição da germinação pode ter ocorrido devido a alguns fatores entre estes podemos destacar o efeito inibitório ocasionado por um inóculo elevado, existindo um efeito de competição por nutrientes entre o microrganismo e o embrião vegetal. Outro fator de inibição pode ter ocorrido pela produção de metabolitos tóxicos pela bactéria à semente, o que pode ter acarretado uma diminuição nos índices de crescimento das radículas ou a morte do embrião.

Os dados obtidos neste trabalho contradizem os resultados de Lazzaretti e Bettiol (1997), onde a utilização de sementes microbiolizadas com *Bacillus subtilis*, demonstraram efeito positivo na germinação e na proteção contra patógenos de sementes e murcha de plântulas. Comparando-se os resultados, podemos sugerir que exista uma certa especificidade entre simbiote e planta hospedeira, levando-se em consideração que este isolado foi obtido de ramos de cacau. Outros testes serão realizados com o intuito de esclarecer esses e outros pontos que ficaram obscuros neste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FARIA, A. Y. K.; ALBUQUERQUE, M.C. de F. & NETO, D. C. 2003. Qualidade fisiológica de sementes de algodoeiro submetidas a tratamento químico e biológico. **Revista Brasileira de sementes** 25(1): 121-127
- LAZZARETTI, E. & BETTIOL, W. 1997. Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado à base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. **Scientia Agricola** 54 (1-2): 89-96
- A cultura do feijoeiro. **Disponível (online)**
<http://www.cnpaf.embrapa.br>
- LUZ, W. C. 2001. Efeito de bioprotetores em patógenos de sementes e na emergência e rendimento de grãos de milho. **Fitopatol. Bras.** 26(1): 16-20
- LUZ, W. C. 2003. Combinação dos tratamentos biológico e químico de sementes de milho. **Fitopatol. Bras.** 28(1):37-40

TABELAS E FIGURAS

TABELA 1. Percentual de germinação (%) de sementes de milho (*Zea mays*) e feijão (*Phaseolus vulgaris*) microbiolizadas com um isolado endofítico de *Bacillus subtilis*

Tratamento	Emergência(%)	
	Milho	Feijão
Controle	68,5	90
<i>B. subtilis</i>	45,71	75,71

TABELA 2. Crescimento médio (mm) das radículas de sementes de milho e feijão microbiolizadas com um isolado endofítico de *Bacillus subtilis*.

Tratamento	Comprimento médio de radículas (mm)	
	Milho	Feijão
Controle	8,65 ^a	28,17 ^a
<i>B. subtilis</i>	11,45 ^a	13,68 ^b

Médias seguidas de mesma letra não diferiram entre si através de teste – t a 5% de significância

AGRADECIMENTOS: CAPES e a UCS