UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

CAMPUS DE JABOTICABAL

MICRORGANISMOS PROMOTORES DO CRESCIMENTO DE PLANTAS NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE ORQUÍDEAS DOS GÊNEROS *PHALAENOPSIS*, *CYMBIDIUM* E *DENDROBIUM*

LORENA BEZERRA DE MEDEIROS

Orientadora: Profa. Dra. Kathia Fernandes Lopes Pivetta

Coorientadoras: Eng.Agr. Dra. Cibele Mantovani

Eng. Agr. Ms. Kássia Barros Ferreira

JABOTICABAL – SP

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

CAMPUS DE JABOTICABAL

MICRORGANISMOS PROMOTORES DO CRESCIMENTO DE PLANTAS NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE ORQUÍDEAS DOS GÊNEROS *PHALAENOPSIS*, *CYMBIDIUM* E *DENDROBIUM*

LORENA BEZERRA DE MEDEIROS

Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, para graduação em ENGENHARIA AGRONÔMICA.

JABOTICABAL – SP

2022

M488m

Medeiros, Lorena Bezerra de

Microrganismos promotores do crescimento de plantas no desenvolvimento de mudas de orquídeas dos gêneros Phalaenopsis, Cymbidium e Dendrobium / Lorena Bezerra de Medeiros. -- Jaboticabal, 2022

20 p. : tabs.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Engenharia Agronômica) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Kathia Fernandes Lopes Pivetta

Coorientadora: Cibele Mantovani

1. Azospirillum brasilense. 2. Orchidaceae. 3. Bacillus subtilis. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

unesp **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**
CÂMPUS DE JABOTICABAL

DEPARTAMENTO: CIÊNCIAS DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA

CERTIFICADO

TRABALHO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

TÍTULO: Microrganismos promotores do crescimento de plantas no desenvolvimento de mudas de orquídeas dos gêneros *Phalaenopsis, Cymbidium* e *Dendrobium.*

ACADÊMICA: Lorena Bezerra de Medeiros

CURSO: Engenharia Agronômica

ORIENTADORA: Profa. Dra. Kathia Fernandes Lopes Pivetta

COORIENTADORAS: Dra. Cibele Mantovani
Ms. Kássia Barros Ferreira

PERÍODO **Mês/Ano** Agosto/2018 **a** **Mês/Ano:** Julho/2022

APROVADA

Este trabalho é recomendado para compor a base de dados CAPELO. ☐ **Sim** ☒ **Não**

BANCA EXAMINADORA:

	(Nomes)	(Assinaturas)
Presidente:	Profa. Dra. Kathia Fernandes Lopes Pivetta	
Membro:	Eng. Agrônomo Antonio Maricélio Borges de Souza	
Membro:	Eng. Agrônomo Thiago Souza Campos	

Jaboticabal 13 / 07 / 2022.

Aprovado na reunião do Conselho do Departamento em: 20/07/2022

Chefe do Departamento
Prof. Dr. Leonardo Bianco de Carvalho
Chefe do Depto. de Ciências da Produção Agrícola
FCAV/UNESP

Dedico

Dedico este trabalho a Deus, por ter me dado condições e a oportunidade de executá-lo.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por ter me sustentado até o momento.

Agradeço aos meus pais Juliana e Gilberto, e aos amigos pelo apoio, inspiração e ânimo.

Agradeço a Professora Kathia Fernandes Lopes Pivetta pela orientação, dedicação e paciência; às Engenheiras Agrônomas Cibele Mantovani e Kássia Barros Ferreira agradeço a coorientação, auxílio na execução deste trabalho, e pelo conhecimento compartilhado; aos Engenheiros Agrônomos Antônio Maricélio Borges de Souza, Thiago Souza Campos e Guilherme Rodrigues agradeço pelos conselhos e ajuda; à intituição CNPq por ajudar a tornar este trabalho possível; à FCAV Unesp pelo aprendizado.

Índice

Resumo VIII
Abstract VIII
1. Introdução 1
2. Material e Métodos 2
3. Resultados 4
4. Discussão 6
5. Conclusão 9
Referências 9

MICRORGANISMOS PROMOTORES DO CRESCIMENTO DE PLANTAS NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE ORQUÍDEAS DOS GÊNEROS *PHALAENOPSIS*, *CYMBIDIUM* E *DENDROBIUM*

Resumo

A demanda por sistemas sustentáveis de produção agrícola é crescente e o uso de microrganismos promotores de crescimento em plantas tornou-se uma estratégia importante, pois pode diminuir ou até substituir a utilização de fertilizantes químicos, reduzindo custos na produção. Objetivou-se estudar o desempenho de alguns microrganismos em mudas das principais orquídeas cultivadas no Brasil (*Phalaenopsis* sp. ´Taisuco Swan´, *Cymbidium atropurpureo* e *Dendrobium secundum*). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Foram sete tratamentos (ausência de microrganismos - controle; *Trichoderma* sp. via alginato de sódio; *Trichoderma* sp. via argila; *Trichoderma* sp. via alginato de sódio e argila; *Trichoderma* sp. em meio líquido; *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis* em meio líquido; *Bacillus pumilus* em meio líquido), quatro repetições e três plantas por parcela. As mudas foram cultivadas em casa de vegetação, e avaliadas aos 190 dias após a inoculação dos microorganismos, as características morfofisiológicas de maneira distinta, de acordo com as particularidades de cada gênero. Para *Phalaenopsis* sp. ´Taisuco Swan´, as rizobactérias *Bacillus pumilus* e *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis* em meio líquido e para *Cymbidium atropurpureo*, a aplicação do fungo *Trichoderma* sp. em meio líquido, proporcionaram incremento no crescimento e desenvolvimento das mudas. Para a orquídea *Dendrobium secundum*, a aplicação de *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis* em meio líquido proporcionou maior biomassa de raízes. Concluiu-se que o uso de microrganismos benéficos no cultivo de orquídeas é promissor, e o crescimento e desenvolvimento das mudas é dependente do modo de veiculação deles e das características morfofisiológicas de cada planta.

Palavras-chaves: *Azospirillum brasilense*. *Bacillus pumilus*. *Bacillus subtilis*. Orchidaceae. *Trichoderma* sp.

GROWTH-PROMOTING MICROORGANISMS IN THE DEVELOPMENT OF ORCHID SEEDLINGS OF *PHALAENOPSIS*, *CYMBIDIUM* AND *DENDROBIUM* GENERA

Abstract

The demand for sustainable systems of agricultural production is growing and the use of growth promoting microorganisms in plants has become an important strategy because it can decrease or even replace the use of chemical fertilizers, and therefore reduce production costs. The aim of this study was to evaluate the response of some microorganisms in seedlings of the main orchids cultivated in Brazil (*Phalaenopsis* sp. 'Taisuco Swan', *Cymbidium atropurpureo* and *Dendrobium secundum*). The experimental design was entirely randomized. There were seven treatments (absence of microorganisms - control; *Trichoderma* sp. in sodium alginate; *Trichoderma* sp. in clay; *Trichoderma* sp. in sodium alginate and clay; *Trichoderma* sp. in liquid medium; *Azospirillum brasilense* +

Bacillus subtilis in liquid medium; *Bacillus pumilus* in liquid medium), four repetitions and three plants per plot. The seedlings were grown in greenhouse, and evaluated at 190 days after microorganism inoculation. The morphophysiological characteristics were evaluated differently, according to the particularities of each genus. For *Phalaenopsis* sp. 'Taisuco Swan', the rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis* in liquid medium and for *Cymbidium atropurpureo*, the addition of the fungus *Trichoderma* sp. in liquid medium, increased the growth and development of the seedlings. For the orchid *Dendrobium secundum*, *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis* in liquid medium promoted greater root biomass. It was concluded that the use of beneficial microorganisms in orchid cultivation is promising, and the growth and development of the seedlings is dependent on the way they are inoculated and the morphophysiological characteristics of each plant.

Keywords: *Azospirillum brasilense*. *Bacillus pumilus*. *Bacillus subtilis*. Orchidaceae. *Trichoderma* sp.

1. Introdução

A produção comercial de orquídeas tem crescido a cada ano, sendo alguns dos principais fatores, a disponibilidade no mercado de híbridos com flores grandes ou hastes florais com muitas flores que apresentam ainda, grande variação de cores, maior produtividade e longevidade e, também, o maior domínio das técnicas de produção, permitindo maior oferta. Entre as principais cultivadas estão as espécies e híbridos dos gêneros *Phalaenopsis*, *Cymbidium* e *Dendrobium*. Para que se tenha sucesso na produção e comercialização dessas plantas, é necessário que as mudas sejam de alta qualidade sendo a nutrição adequada um dos principais fatores.

O desenvolvimento de tecnologias sustentáveis baseadas em microrganismos surgiu como uma proposta inovadora e ecologicamente correta para melhorar a fertilidade do solo e o crescimento das plantas (Fasusi et al. 2021). O uso de microrganismos benéficos nos sistemas de cultivo pode contribuir para a agricultura sustentável, promovendo melhorias no desenvolvimento das culturas sem danificar o meio ambiente (Andrade et al. 2019; Silva et al. 2020). Ainda, seu uso tem demonstrado capacidade de exercer efeitos sobre a planta através de modos de ação diretos (fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato, produção de fitohormônios) ou indiretos (produção de sideróforos e biofilme), além de estabelecer efeitos benéficos sobre a microbiota dos solos (Chitnis et al. 2020; Khan et al. 2021).

Dentre esses microorganismos, encontra-se o gênero *Trichoderma*, que são fungos de vida livre, comuns em solo e na rizosfera. A associação destes microrganismos com as raízes está relacionada ao aumento de crescimento e desenvolvimento da raiz, diminuição da atividade da microflora radicular deletéria, inativação de compostos tóxico na zona radicular, aumento da solubilização e absorção de nutrientes e, também, eficiência no uso de nitrogênio melhorando, dessa forma, a produtividade da cultura (Sood et al. 2020).

Azospirillum brasilense é uma bactéria que, além de fixar de N_2 atmosférico, contribui para maior desenvolvimento das plantas através de diversos mecanismos como a

síntese de substâncias promotoras de crescimento, como auxinas, giberelinas e citocininas, aumento da atividade da enzima nitrato redutase, indução das resistências das plantas aos estresses abióticos e bióticos e a solubilização de fosfatos (Fukami et al. 2018).

Algumas bactérias do gênero *Bacillus* são solubilizantes de fosfato, assim estimula o crescimento da planta por meio da nutrição aprimorada com P, aumenta a absorção de N, P, K e Fe. Além disso, tem potencial agente biológico contra doenças de plantas (Sansinenea 2019). Resultados de pesquisa utilizando *Bacillus subtilis* e *Bacillus pumilus* são promissores (Blake et al. 2021; D'agostino e Morandi 2009).

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; Meyer et al. 2019; Fukami et al. 2018).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de microrganismos promotores do crescimento de plantas na produção de mudas de orquídeas *Phalaenopsis* sp. ´Taisuco Swan´, *Cymbidium atropurpureo* e *Dendrobium secundum*.

2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Orquidário Mantovani, Itápolis, SP (21°36'15" S 48°46'42" W), no período de dezembro de 2019 a outubro de 2020, separadamente para cada gênero de orquídea. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação coberta com plástico transparente, revestida nas laterais, com tela preta tipo sombrite® com proteção de 50% de luminosidade.

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 utilizados fazem parte da coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Produção Vegetal da UNESP-FCAV, Câmpus de Jaboticabal.

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 x 107 UFC mL^{-1} com auxílio de espectrofotômetro (Micronal, modelo B382, Brasil) na absorbância de 695 nm.

No tratamento 2, a solução de *Trichoderma* sp. foi adicionada solução de alginato de sódio ($NaC_6H_7O_6$) na concentração de 1% (m/v). A solução de *Trichoderma* sp. acrescida de alginato de sódio foi gotejada com solução de cloreto de cálcio ($CaCl_2$) 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, a solução de *Trichoderma* sp. foi adicionada solução de alginato de sódio ($NaC_6H_7O_6$) na concentração de 1% (m/v) e solução de argila na diluição de 1:3 (m/v) de água destilada. A solução de *Trichoderma* sp. acrescida de alginato de sódio e argila foi gotejada com solução de cloreto de cálcio ($CaCl_2$) 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).

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^3. 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%.

A avaliação foi realizada 190 dias após a inoculação dos microorganismos, cujas características avaliadas foram número de folhas; diâmetro do caule; área foliar; clorofila; número de raízes; comprimento da maior raiz; massa seca da parte aérea, de raízes, massa seca total; acrescentando alguns critérios diferentes para cada gênero de orquídea, pois apresentam características morfológicas distintas.

Avaliou-se para *Phalaenopsis* sp. ´Taisuco Swan´: número de folhas, diâmetro do caule, espessura e largura da maior folha, teor de clorofila, número de raízes, comprimento da maior raiz, massa seca da parte aérea, de raízes, e a massa seca total.

Para *Cymbidium atropurpureo* avaliou-se, diâmetro do caule, número de folhas, área foliar, teor de clorofila, número raízes, comprimento da maior raiz, massa seca da parte aérea e de raízes e massa seca total.

Avaliou-se para *Dendrobium secundum*, comprimento da parte aérea, número de folhas, número de bulbos, diâmetro do maior bulbo, área foliar, teor de clorofila, número raízes, comprimento da maior raiz, massa seca de bulbo, de folhas, da parte aérea, de raízes e, calculou-se a massa seca total.

Os critérios foram avaliados da seguinte maneira: diâmetro do caule, determinado ao nível do substrato, com uso de paquímetro digital (Digimess®); espessura e largura da maior folha, com auxílio de paquímetro digital; comprimento da parte aérea, com auxílio de régua milimetrada; diâmetro do bulbo, com auxílio de paquímetro digital; área foliar, utilizando medidor eletrônico de área foliar (modelo Li-3100C marca LI-COR®, Lincoln, Nebraska, USA); teor de clorofila, com o aparelho ClorofiLOG, (modelo CFL1030, marca FALKER®); comprimento da maior raiz, com auxílio de régua milimetrada; massa seca da parte aérea, de raízes, e do bulbo foram obtidas após a secagem em estufa com circulação forçada de ar a 70 °C até atingir massa constante, sendo posteriormente mensuradas em balança de precisão (0,001g) (modelo AY220, marca SHIMADZU®); a massa seca total foi obtida a partir da soma de massa seca da parte aérea e de raízes.

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® versão 1.0 (Barbosa e Maldonado Junior 2015).

3. Resultados

Para a orquídea do gênero *Phalaenopsis* (Tabela 1), 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 área, 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. 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	LF	AF	Clorofila
	-		(mm)	(mm)	(cm^2)	-
1.Controle	2,1250 a	4,7 b	1,5 a	2,8 b	12,3 b	27,2 a
2.*Trichoderma* (alg)	2,1250 a	4,3 b	1,5 a	2,6 b	10,8 b	22,8 b
3.*Trichoderma* (arg)	2,5000 a	4,6 b	1,5 a	2,7 b	11,8 b	20,2 c
4.*Trichoderma* (alg+arg)	2,1250 a	4,6 b	1,4 a	2,8 b	10,7 b	22,2 b
5.*Trichoderma* (líquido)	2,1250 a	4,1 b	1,6 a	2,6 b	9,8 b	23,9 b
6.*Azospirillum+Bacillus*	2,3750 a	5,2 a	1,7 a	3,2 a	16,8 a	26,8 a
7.*Bacillus pumilus*	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	MSPA	MSR	MST	
	-	(cm)	(g)	(g)	(g)	
1.Controle	7,4300 b	22,7 a	0,1440 b	0,5877 b	0,7316 b	
2.*Trichoderma* (alg)	6,6250 c	19,8 a	0,1055 b	0,4923 c	0,5977 c	
3.*Trichoderma* (arg)	7,7500 b	18,0 a	0,1278 b	0,5132 c	0,6410 c	
4.*Trichoderma* (alg+arg)	6,5000 c	18,2 a	0,1156 b	0,4511 c	0,5667 c	
5.*Trichoderma* (líquido)	7,6250 b	19,9 a	0,1335 b	0,4667 c	0,6002 c	
6.*Azospirillum+Bacillus*	8,8750 a	23,0 a	0,1637 a	0,6434 b	0,8070 b	
7.*Bacillus pumilus*	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*.

Observa-se na tabela 2, para mudas de *Cymbidium atropurpureo,* a superioridade do fungo *Trichoderma* sp., fornecido via solução (T5), que apresentou maiores médias para todas as características estudadas, seguido pelo tratamento com *Trichoderma* sp. fornecido via esferas de argila (T3). Porém, *Trichoderma* sp. veiculado somente via alginato de sódio (2) ou alginato de sódio junto com argila (T4) não mostraram a mesma eficiência, indicando que o alginato de sódio interferiu negativamente no crescimento e desenvolvimento de mudas desta orquídea. Para comprimento da parte aérea, número e comprimento da maior raiz, não houve diferenças entre os tratamentos.

Tabela 2. Comprimento da parte aérea (CPA), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF), 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 *Cymbidium atropurpureo* tratadas ou não com microrganismos promotores do crescimento de plantas. Jaboticabal, SP, 2020.

Tratamentos	CPA (cm)	DC (mm)	NF -	AF (cm^2)	Clorofila -
1.Controle	23,1 a	12,9 b	10,5 b	62,6 b	37,9 b
2.*Trichoderma* (alg)	21,9 a	13,5 b	10,5 b	57,5 b	36,6 b
3.*Trichoderma* (arg)	23,1 a	15,1 a	11,1 b	61,6 b	40,0 b
4.*Trichoderma* (alg+arg)	18,3 b	10,8 c	10,5 b	44,1 c	38,1 b
5.*Trichoderma* (líquido)	25,9 a	15,0 a	13,0 a	74,9 a	47,2 a
6.*Azospirillum+B. subtillis*	24,2 a	12,9 b	11,1 b	56,0 b	35,2 b
7.*Bacillus pumilus*	22,0 a	13,1 b	11,6 b	57,3 b	34,8 b
CV (%)	10,14	10,50	8,28	8,84	8,53
	NR -	CR (cm)	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)
1.Controle	9,4 a	16,0 a	0,7647 b	0,2804 b	1,0616 b
2.*Trichoderma* (alg)	12,1 a	15,6 a	0,7216 b	0,2697 b	0,9957 b
3.*Trichoderma* (arg)	11,6 a	18,8 a	0,8877 a	0,4074 a	1,4091 a
4.*Trichoderma* (alg+arg)	10,5 a	18,1 a	0,5565 c	0,2935 b	0,8954 b
5.*Trichoderma* (líquido)	12,9 a	20,3 a	0,8682 a	0,4159 a	1,2742 a
6.*Azospirillum+B. subtillis*	11,5 a	20,2 a	0,7188 b	0,3568 a	1,0736 b
7.*Bacillus pumilus*	11,3 a	16,0 a	0,5800 c	0,2530 b	0,8783 b
CV (%)	12,93	18,79	12,98	24,33	12,32

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*.

A orquídea *Dendrobium secundum* (Tabela 3) foi a que apresentou menor resposta aos tratamentos com os microorganismos promotores de crescimento em plantas, mostrando que não houve diferença entre os tratamentos para a maioria das características estudadas (Tabela 3). A aplicação de *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis* em meio liquido (T6) apresentou maior média para massa seca de raízes. O fornecimento de *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis* em meio liquido (T6) e de *Trichoderma* sp. via argila

(T3) proporcionaram maior diâmetro do bulbo. Todos os microorganismos estudados, nas diferentes formas de fornecimento, resultaram em maior área foliar em detrimento ao controle.

Tabela 3. Comprimento da parte aérea (CPA), número de folhas (NF), número de bulbos (NB), diâmetro do maior bulbo (DB), área foliar (AF), clorofila, número raízes (NR), comprimento da maior raiz (CR), massa seca de bulbo (MSB), massa seca de folhas (MSF), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raízes (MSR) e massa seca total (MST) de mudas de *Dendrobium secundum* tratadas ou não com microrganismos promotores do crescimento de plantas. Jaboticabal, SP, 2020.

Tratamentos	CPA (cm)	NF -	NB -	DB (mm)	AF (cm^2)	Clorofila -	NR -
1.Controle	10,2 a	7,0 a	4,6 a	9,0 b	19,2 b	22,4 a	19,6 a
2.*Trichoderma* (alg)	11,6 a	8,5 a	4,6 a	8,9 b	42,6 a	22,1 a	22,6 a
3.*Trichoderma* (arg)	11,9 a	6,9 a	5,1 a	9,8 a	34,6 a	22,3 a	24,8 a
4.*Trichoderma* (alg+arg)	11,4 a	7,9 a	4,5 a	9,2 b	42,6 a	23,7 a	22,8 a
5.*Trichoderma* (líquido)	12,7 a	7,8 a	5,3 a	8,5 b	35,8 a	23,2 a	22,6 a
6.*Azospirillum+B. subtillis*	12,2 a	8,4 a	4,9 a	10,4 a	46,1 a	24,4 a	26,6 a
7.*Bacillus pumilus*	11,3 a	7,6 a	4,8 a	9,2 b	37,0 a	24,1 a	23,5 a
CV (%)	8,45	18,23	15,84	8,33	18,44	6,76	13,13

	CR (cm)	MSB (g)	MSF (g)	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)
1.Controle	11,5 b	0,2504 a	0,1615 a	0,4175 a	0,1699 b	0,5699 a
2.*Trichoderma* (alg)	13,0 b	0,2725 a	0,1659 a	0,4348 a	0,1860 b	0,6154 a
3.*Trichoderma* (arg)	13,2 b	0,3111 a	0,1524 a	0,4199 a	0,1935 b	0,5553 a
4.*Trichoderma* (alg+arg)	11,9 b	0,2474 a	0,1681 a	0,4267 a	0,1847 b	0,6184 a
5.*Trichoderma* (líquido)	12,9 b	0,2695 a	0,1383 a	0,3553 a	0,1573 b	0,5258 a
6.*Azospirillum+B. subtillis*	14,7 a	0,3139 a	0,1965 a	0,5103 a	0,3040 a	0,7933 a
7.*Bacillus pumilus*	15,1 a	0,2517 a	0,1459 a	0,3963 a	0,1958 b	0,5921 a
CV (%)	9,70	20,84	22,25	20,82	21,82	19,86

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*.

4. Discussão

Neste estudo, para o hibrido do gênero *Phalaenopsis*, as rizobacterias se mostraram mais eficientes no crescimento das mudas. As rizobactérias produzem hormônios vegetais e aumentam a absorção vegetal de macronutrientes (Bubanz 2018) que influenciam no crescimento e desenvolvimento das plantas.

Os resultados desta e outras pesquisas mostram que a forma de aplicação e a espécie vegetal interferem sobremaneira na eficácia do fungo. O efeito benéfico de

Azospirillum brasilense no crescimento das plantas também foi verificado por Silva et al. (2020), que estudaram os efeitos de microrganismos (rizobactérias: *Azospirillum brasilense*, *Azospirillum* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Burkholderia* sp. e *Serratia* sp., além do fungo *Trichoderma asperellum*), individualmente e em combinação, aplicados de forma liquida na cultura da soja e verificaram que, apenas as plantas tratadas com *Azospirillum brasilense* mostraram aumento significativo na biomassa da parte aérea. Coelho et al. (2021) também encontrou resultados positivos de *Azospirillum brasilense* no crescimento e desenvolvimento de milho, inoculados via sementes; já Santos et al. (2020) observaram que a aplicação foliar de *Azospirillum brasilense*, não apresentou interferência no desenvolvimento da cultura de trigo.

Bacillus subtilis aplicado juntamente com *Azospirillum brasilense* foi um dos melhores tratamentos para a orquídea *Phalaenopsis* sp. ´Taisuco Swan´ (tabela 1). Costa et al. (2019) também verificaram o efeito positivo desta rizobacteria na cultura da soja nas doses de 2 e 4 mL kg^{-1}.

A rizobactéria *Bacillus pumilus* foi uma das que apresentou melhores resultados para *Phalaenopsis* sp. ´Taisuco Swan´ (tabela 1) corroborando com Massod et al. (2020) que também verificou a eficiência desta bactéria no crescimento de plantas de tomateiro.

A eficiência das rizobactérias no crescimento de mudas de orquídeas também foi verificada por Galdiano Júnior et al. (2011) que isolaram bactérias dos gêneros *Bacillus, Burkholderia, Enterobacter* e *Curtobacterium* de raízes da orquídea *Cattleya walkeriana*; após identificação em nível de gênero, as rizobactérias foram inoculadas em plantas da mesma espécie de orquídea sendo verificado que *Bacillus* sp. e *Enterobacter* sp. favoreceram incrementos em todas as características avaliadas e ampliaram a percentagem de sobrevivência enquanto *Burkholderia* sp*. e Curtobacterium* sp*.* proporcionaram a menor eficiência para o crescimento.

A eficiência de *Bacillus* spp. também foi observada por Silva et al. (2020), que verificaram a supremacia das rizobactérias dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* que proporcionaram aumento significativo na taxa fotossintética de plantas de soja. As rizobactérias promotoras de crescimento melhoram as características fisiológicas das plantas, especialmente a taxa fotossintética (Nascente et al. 2017) interferindo positivamente no crescimento e desenvolvimento das plantas.

Maior crescimento e desenvolvimento do sistema radicular é um dos efeitos dos microorganismos nas plantas (Sood et al. 2020) e foi observado neste estudo, para *Phalaenopsis* sp. ´Taisuco Swan´; não houve diferença entre os tratamentos para comprimento da maior raiz, no entanto, maior número foi observado quando as mudas foram tratadas com *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis* e, *Bacillus pumilus* e maior massa seca de raiz com *Bacillus pumilus* (tabela 1). Os microrganismos desempenham um papel fundamental na transformação do fósforo inorgânico, que é realizada por meio de mecanismos de solubilização e mineralização por bactérias e alguns fungos (Mehta et al. 2019), o que promove o desenvolvimento das raízes, e isso permite maior acesso e absorção de nutrientes.

De forma semelhante, Braga Junior et al. (2018) verificaram que a inoculação de plantas de soja com *Bacillus subtilis* também aumentou a biomassa seca da parte aérea e das raízes das plantas. Já Silva et al. (2020) verificaram que a mistura de isolados do fungo *Trichoderma asperellum* foi o mais eficiente para aumentar a biomassa das raízes de plantas de soja, porém, para *Phalaenopsis* sp. ´Taisuco Swan´, fungos do gênero *Trichoderma* não foram eficientes para promover aumento no crescimento e desenvolvimento das mudas.

O fungo *Trichoderma* sp. não apresentou, portanto, influencia no crescimento e desenvolvimento das mudas de orquídea do gênero *Phalaenopsis* em nenhuma forma de veiculação inclusive (tabela 1), as folhas apresentaram menor teor de clorofila quando comparado com os outros tratamentos, no entanto, tem se mostrado eficiente para outras plantas como para a ornamental primavera (*Bougainvillea spectabilis*) onde *Trichoderma longibrachiatum* proporcionou efeito significativo no crescimento e desenvolvimento inicial das mudas desta ornamental, porém, o fungo foi veiculado em composto orgânico que pela sua composíção, pode ter, também, auxiliado no crescimento e desenvolvimento das mudas (Adebayo et al. 2020).

Muitas espécies do gênero *Trichoderma* têm possibilidade de promover o crescimento das plantas (Nieto-Jacobo et al. 2017), porém, neste estudo, esse efeito não foi observado para orquídeas do gênero *Phalaenopsis* (tabela 1). Também não promoveu o crescimento e desenvolvimento de gladíolo (Cruz et al. 2018) e os autores justificam que, em geral, os benefícios da inoculação de fungos do gênero *Trichoderma* no crescimento das plantas têm sido observados em plantas originadas de sementes ou estacas e o gladíolo foi a primeira espécie emissora de bulbos testada com este isolado de fungos do gênero *Trichoderma*; como o gladíolo apresenta bulbo, esta estrutura deve ter garantido o fornecimento de energia na instalação inicial da planta sendo provável que a ação de *Trichoderma* sp. como promotor de crescimento não tenha sido necessária, evidenciado pelo fato do tratamento controle ter apresentado plantas com padrão comercial.

Contrariamente ao verificado para *Phalaenopsis* sp. ´Taisuco Swan´, para *Cymbidium atropurpureo* melhores resultados foram obtidos nos tratamentos com o fungo *Trichoderma* sp., em detrimento das rizobactérias (tabela 2). O desempenho deste fungo tem o respaldo de Nieto-Jacobo et al. (2017) e corrobora com os resultados obtidos por Adebayo et al. (2020) em mudas de *Bougainvillea spectabilis* onde *Trichoderma longibrachiatum*, veiculado em composto orgânico, proporcionou efeito significativo no crescimento e desenvolvimento inicial das mudas desta planta.

A resposta de *Cymbidium atropurpureo* corrobora com Almança et al. (2019), que relatam que a presença de *Trichoderma* spp. afeta positivamente o crescimento inicial das plântulas, tornando-as mais vigorosas e, consequentemente, resistentes ao ataque de patógenos.

Maior crescimento e desenvolvimento do sistema radicular, esperado em tratamentos com microorganismos promotores de crescimento em plantas (Sood et al. 2020) não foi observado com relação ao número e ao comprimento da maior raiz, porém, foi evidenciado para o fungo *Trichoderma* sp., fornecido via solução (T5), *Trichoderma* sp., fornecido via esferas de argila (T3) e para o tratamento contendo as rizobactérias *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis* (T6) que apresentararam maior massa seca de raiz (Tabela 2).

A orquídea *Dendrobium secundum* foi a que apresentou menor resposta aos tratamentos com os microorganismos promotores de crescimento em plantas testados. A aplicação de *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis* em meio liquido (T6) apresentou maior média para massa seca de raízes evidenciando a eficiência dos microorganismos no crescimento e desenvolvimento de raízes (Sood et al. 2020).

Observa-se, de modo geral, que os microorganismos testados interferiram no crescimento e desenvolvimento das orquídeas estudadas, porém, de maneiras diferentes, o que é justificável já que são orquídeas são de diferentes origens e apresentam características morfológicas e fisiológicas distintas evidenciando que a ação destes

microrganismos é dependente da espécie vegetal e da forma de veiculação dos microorganismos; além dos fatores bióticos e abióticos e quantidade de inóculo como enfatiza Cruz et al. (2018).

Pelos resultados obtidos, verifica-se que o uso de microrganismos benéficos no cultivo de orquídeas é promissor, concordando com Bezerra et al. (2019) que também afirmaram que há potencial de aplicação de microrganismos para melhorar a produção de mudas da orquídea *Oncidium varicosum*, quando estudaram o efeito de um fungo, uma levedura e uma bactéria gram-positiva, isolados de raízes da orquídea *O. varicosum* e reinoculados no cultivo de protocormos e mudas *in vitro*, da mesma espécie, porém, estes microorganismos não foram identificados.

5. Conclusão

O uso de microrganismos benéficos no cultivo de orquídeas é promissor. Para *Phalaenopsis* sp. ´Taisuco Swan´, as rizobactérias *Bacillus pumilus* e *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis*, veiculados em meio líquido e para *Cymbidium atropurpureo*, a aplicação do fungo *Trichoderma* sp. em meio líquido, proporcionaram incremento no crescimento e desenvolvimento das mudas. Para a orquídea *Dendrobium secundum*, a aplicação de *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis* em meio liquido proporcionou maior biomassa de raízes.

Referências

ADEBAYO, A. J. G. et al. Effects of Trichoderma longibrachiatum (ngj167) and compost on early growth of Bougainvillea spectabilis. *Ornamental Horticulture*. 2020, **26**(4), 614-620. https://doi.org/10.1590/2447-536x.v26i4.2097

ALMANÇA, M. A. K., TONELLO, J. C. e RUSIN, C. BOTELHO, R. V. *Uso do Trichoderma na cultura da uva*. In: MEYER, M. C., MAZARO, S. M. e SILVA, J. C. *Trichoderma, uso na agricultura*. p. 507-520, 2019.

ANDRADE, F. M., et al. Beneficial effects of inoculation of growth-promoting bacteria in strawberry. Microbiol. Res. 2019, **223**, 120-128. https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.04.005

BARBOSA, J. C. e MALDONADO JUNIOR, W. *AgroEstat: sistema para análises estatísticas de ensaios agronômicos*. Jaboticabal, FCAV/UNESP: Funep, 2015.

BARRY, A. L. e THORNSBERRY, C. *Susceptibility tests: Diffusion Test Procedures*. In: BALOWS, A., HAUSER, W. J. e HERMANN, K. L. et al. *Manual of clinical microbiology*. 5th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1991.

BEZERRA, G. A. et al. In vitro culture and greenhouse acclimatization of *Oncidium varicosum* (Orchidaceae) with microorganisms isolated from its roots. *Ornamental Horticulture*. 2019, **25**(4), 407-416. https://doi.org/10.1590/2447-536x.v25i4.2046

BLAKE, C., CHRISTENSEN, M. N., e KOVÁCS, Á. T. *Molecular aspects of plant growth promotion and protection by Bacillus subtilis*. Molecular Plant-Microbe Interactions. 2021, **34**(1), 15-25. https://doi.org/10.1094/MPMI-08-20-0225-CR

BRAGA JUNIOR, G. M. et al. Efficiency of inoculation by *Bacillus subtilis* on soybean biomass and productivity. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*. 2018, **13**, 1-6. https://doi.org/10.5039/agraria.v13i4a5571

BUBANZ, H. C. S. Potencial de rizobactérias para a promoção de crescimento vegetal. 2018. Disponível em: https://rd.uffs.edu.br/bitstream/prefix/2367/1/BUBANZ.pdf

CARNEIRO, R. M. D. G. e GOMES, C. B. Encapsulação do fungo *Paecilomyces lilacinus* em matrizes de alginato-argila e avaliação da viabilidade dos conídios em duas temperaturas. *Nematologia brasileira*. 1997, **21**(2), 85-92.

CHITNIS, V. R. et al. Fungal Endophyte-Mediated Crop Improvement: The Way Ahead. *Frontiers in Plant Science*. 2020, **11**, 561007. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.561007

COELHO, S. P. et al. *Azospirillum brasilense increases corn growth and yield in conventional low input cropping systems*. Renewable Agriculture and Food Systems. 2021, **36**(3), 225-233. https://doi.org/10.1017/S1742170520000241

COSTA, L. C. et al. Desenvolvimento de cultivares de soja após inoculação de estirpes de *Bacillus subtilis*. *Nativa*. 2019, **7**(2), 126-132. https://doi.org/10.31413/nativa.v7i2.6261

CRUZ, L. R. D. et al. Development and quality of gladiolus stems with the use of vermicompost and *Trichoderma* sp. in substrate. *Ornamental Horticulture*. 2018, **24**(1), 70-7. https://doi.org/10.14295/oh.v24i1.1131

D'AGOSTINO, F. e MORANDI, M. A. B., 2009. *Análise da viabilidade comercial de produtos à base de Bacillus subtilis e Bacillus pumilus para o controle de fitopatógenos no Brasil*. In: BETTIOL, W. e MORANDI, M. A. B, eds. Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas, Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, pp. 299-316. Disponível em: https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/580913/1/2009CL15.pdf

FASUSI, O. A., CRUZ, C., e BABALOLA, O. O. Agricultural Sustainability: Microbial Biofertilizers in Rhizosphere Management. *Agriculture*. 2021, **11**(2), 163. https://doi.org/10.3390/agriculture11020163

FUKAMI, J., CEREZINI, P. e HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. *AMB Express*. 2018, **8**(1) 1-12. https://doi.org/10.1186/s13568-018-0608-1

GALDIANO JÚNIOR, R. F. et al. Auxin-producing bacteria isolated from the roots of *Cattleya walkeriana*, an endangered brazilian orchid, and their role in acclimatization. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 2011, **35**, 729-737. https://doi.org/10.1590/S0100-06832011000300008

KHAN, N. et al. Plant growth-promoting rhizobacteria and their role as bio-inoculants for sustainable agriculture under stressful environments. *Biofertilizers*. 2021, 313-321. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821667-5.00020-8

MASOOD, S., ZHAO, X. Q. e SHEN, R. F. *Baccillus pumilus* promotes the groth and nitrogen uptke of tomato plants under nitrogen fertilization. *Scientia Horticulturae*. 2020, **272**, e109581. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109581

MEHTA, P. et al. Endophytic Fungi: Role in Phosphate Solubilization. *Advances in Endophytic Fungal Research*. 2019, 183-209. https://doi.org/10.1007/978-3-030- 03589-1 9

MEYER, M. C., MAZARO, S. M., e SILVA, J. C. *Trichoderma: uso na agricultura. Embrapa Soja-Livro científico (Alice)*. 2019. Disponível em: https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1117296/trichoderma-uso-na-agricultura

NASCENTE, A. S. et al. Biomass, gas exchange, and nutrient contents in upland rice plants affected by application forms of microorganism growth promoters. *Environmental Science and Pollution Research*. 2017, **24**, 2956-2965. https://doi.org/10.1007/s11356-016-8013-2

NIETO-JACOBO, M. F. et al. Condições de crescimento ambiental de *Trichoderma* spp. afeta os derivados do ácido indolacético, os compostos orgânicos voláteis e a promoção do crescimento das plantas. *Frontiers Plant Science*. 2017, **8**, 1-18. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2017.00102/full

SAHM, D. F. e 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.

SANSINENEA, E. *Bacillus spp.: as plant growth-promoting bacteria. Secondary metabolites of plant growth promoting rhizomicroorganisms.* 2019, 225-237. https://doi.org/10.1007/978-981-13-5862-3 11

SANTOS, L. D. et al. Desenvolvimento e produtividade de trigo submetido a aplicações aéreas sequenciais de *Azospirillum*. *Research, Society and Development*. 2020, **9**(10). https://doi.org/10.33448/rsd-v9i10.8680

SARRUGE, J. R. *Soluções nutritivas*. Summa Phytopathologica. Piracicaba, 1975.

SHEU, T. Y. e MARSHALL, R. T. Micro-encapsulation of Lactobacilli in calcium alginate gels. *Journal of Food Science*. 1993, **54**(3), 557-561. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb04323.x

SILVA, M. A. et al. Individual and combined growth-promoting microorganisms affect biomass production, gas exchange and nutrient content in soybean plants. *Revista Caatinga.* 2020, **33**(3), 619-632. https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n305rc

SOOD, M. et al. *Trichoderma: The "secrets" of a multitalented biocontrol agent*. *Plants.* 2020, **9**(6), 762. https://doi.org/10.3390/plants9060762

SULTANA, K. et al. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International Journal of Food Microbiology.* 2000, **62**(1-2), 47-55. https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00380-9