

CRESCIMENTO DE TOMATEIRO APÓS TRATAMENTO DE MUDAS COM *BACILLUS SUBTILIS* E CARBOFURAN

GROWTH OF TOMATO AFTER TREATMENT OF PLANTS WITH *Bacillus subtilis* AND CARBOFURAN

Fábio Fernando de ARAÚJO¹; Marlon Henrique Marquezi de CARVALHO²

1. Professor, Doutor, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, Presidente Prudente, SP, Brasil. fabio@unoeste.br; 2. Aluno do curso de agronomia - UNOESTE

RESUMO: O presente trabalho teve como finalidade avaliar parâmetros relacionados com o crescimento de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) submetidos à ação da rizobactéria *Bacillus subtilis*. A hipótese testada foi a de que a *Bacillus subtilis* produz antibióticos e hormônios vegetais podendo assim proporcionar antagonismos a fitopatógenos de solo e alterar o crescimento da planta. Para avaliar esta hipótese foi desenvolvido em casa de vegetação um experimento durante 85 dias com cultivo de tomate tratado com *B. subtilis*, adicionado diretamente no solo na região em volta do caule no momento do transplante das mudas. Para avaliação do crescimento das plantas foi medida a altura das plantas aos 40 e 70 dias de condução do experimento. A avaliação de produtividade foi efetuada mediante contagem de pendões florais, número e peso de frutos maduros aos 85 dias. O tratamento com *Bacillus subtilis* aumentou a massa fresca da parte aérea e produção de frutos, mas reduziu a massa fresca de raízes quando comparado com a testemunha. Foi observado também o aumento de frutos maduros no tratamento com a rizobactéria, podendo com isto ser sugerido que *B. subtilis* atuou como biorregulador de crescimento em tomate.

PALAVRAS-CHAVES: Rizobactéria. *Lycopersicon esculentum*. Fitoreguladores.

INTRODUÇÃO

O tomate (*Lycopersicon esculentum*) é a hortaliça com maior volume de comercialização no Brasil (IBGE, 2007). O crescimento do tomateiro, assim como outras plantas, é grandemente influenciado pelo uso de reguladores vegetais que podem alterar diferentemente os órgãos das plantas, influenciando seu porte final (VIEIRA; CASTRO, 2001). Alterando o crescimento de partes da planta podem afetar a produção de matéria seca e, conseqüentemente, a produtividade (MARTINS; CASTRO, 1997). Reguladores de crescimento de plantas são substâncias orgânicas que influenciam os processos fisiológicos de plantas em baixas concentrações. Aplicados diretamente na planta eles podem alterar seus processos vitais e estruturais com a finalidade de incrementar a produção (LACA-BUENDIA, 1989).

A produção de reguladores de crescimento como metabólitos microbianos no solo está diretamente ligada à disponibilidade de substratos, incluindo exsudatos de plantas e resíduos de animais, onde os microrganismos produtores exercem um importante papel no controle de seu próprio ambiente, afetando o metabolismo da planta (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). As rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) são bactérias que habitam o solo e com freqüência são isoladas da rizosfera de diversas plantas cultivadas

(MARIANO; KOEPLER, 2000).. Os efeitos destes microrganismos sobre o desenvolvimento das plantas são amplos, incluindo os efeitos benéficos na germinação de sementes, emergência de plântulas, e produção de grãos (LAZARETTI; BETTIOL, 1997). Assim, como exemplo dos efeitos de RPCPs na produtividade, citam-se aumentos de 33% na produção de ervilha e de até 150% em plantas de rabanete com inoculação de *Pseudomonas* spp. (KLOEPPER; SCHORTH, 1981). Araujo e Hungria (1999) concluíram que *Bacillus subtilis* (AP-3) ou seus metabólitos proporcionaram incrementos na nodulação e rendimento da soja no campo. Foi constatado que esta mesma estirpe também produz fitohormônios e antibióticos durante seu desenvolvimento (ARAUJO et al., 2005). Os mecanismos de ação responsáveis pela produção de crescimento em plantas podem estar ligados inicialmente à inibição do patógeno, ou seja, beneficiando o crescimento vegetal de forma indireta (COOK; BAKER, 1983).

A maioria dos trabalhos sobre a influência das RPCPs, no crescimento das plantas, atribui esse fenômeno a um efeito indireto associado ao controle biológico de patógenos secundários (KLOEPPER; SCHROTH, 1981). No entanto, em alguns trabalhos, observou-se que a promoção de crescimento de plantas, por RPCPs, também tem sido relacionada a produção de giberilinas (HOLL et al., 1988), auxinas (BORONIN et al., 1993) e ácidos

lático e succínico (YOSHIKAWA, 1993). Também foi observada produção de substâncias tipo AIA (ácido indol acético) “in vitro” e na rizosfera das plantas de trigo (FREITAS; GERMIDE, 1992). *Pseudomonas* spp. (fluorescentes) produziram AIA em resposta aos exsudatos de raiz de milho (PAN et al., 1999). *Bacillus subtilis* produziu AIA e AIB em resposta aos exsudatos de raiz de soja (ARAÚJO et al., 2005).

Áreas com histórico de presença de nematóides no solo pode limitar o cultivo do tomate. O controle dos nematóides no solo pode ser feito mediante diferentes métodos, destacando-se o químico e o biológico, que podem atuar como nematicidas ou podem afetar a reprodução e orientação do parasita no solo (ARAÚJO et al., 2002). Contudo, o controle biológico tem-se apresentado como alternativa mais viável para o manejo de fitonematóides, por minimizar o dano ambiental e ser mais vantajoso economicamente, comparado aos métodos químicos convencionais (COIMBRA; CAMPOS, 2005).

O potencial das rizobactérias para proporcionar efeitos benéficos para as plantas e a viabilidade ambiental e econômica na aplicação desta técnica justifica sua avaliação em trabalhos nas várias especialidades agrônomicas. Desta forma os trabalhos nesta área contribuem para o avanço no desenvolvimento da agricultura sustentável.

Neste contexto o objetivo deste trabalho foi de avaliar o efeito de *Bacillus subtilis* estirpe PRBS-

1, isolada do solo, e do nematicida carbofuran como reguladores do crescimento em tomateiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação e no laboratório de microbiologia da Faculdade de Ciências Agrárias da UNOESTE em P. Prudente, SP. Sementes da tomate cultivar Santa Clara foram semeadas em substrato comercial, acondicionado em bandejas de isopor com 128 células. Aos 35 dias do semeio as mudas formadas foram transplantadas para vasos plásticos de 5kg. O solo para enchimento dos vasos foi coletado em área de cultivo comercial de tomate, com relato da presença de nematóides, no município de Álvares Machado (SP). A análise de fertilidade química do solo foi realizado segundo metodologia descrita por Van Raij et al. (2001) e está descrita na Tabela 1. Como adubação de plantio foi efetivado a aplicação de 0,5g de uréia (45% de N) por planta. As plantas foram conduzidas com apenas uma haste e condução com amarrios periódicos em varas de bambus fixadas lateralmente aos vasos. O experimento foi conduzido em ambiente de casa de vegetação durante 85 dias com reposição de umidade do solo até atingir a capacidade de campo.

A capacidade de campo foi determinada em amostras do solo desestruturado com leitura a -0,03 MPa no aparelho extrator de Richards, e o valor encontrado foi de 165 g de água kg⁻¹ de solo.

Tabela 1. Resultado de análise química do solo utilizado no experimento

pH	M.O.	Ca	Mg	K	P	SO ⁻² ₄	SB	CTC	V
CaCl ₂	gdm ⁻³	mmol ₃ cdm ⁻³	mmol ₃ cdm ⁻³	mmol ₃ cdm ⁻³	mgdm ⁻³	mgdm ⁻³	mmol ₃ cdm ⁻³	mmol ₃ cdm ⁻³	%
6,9	15	53	15	1,9	109	0,3	70	81	86

A estirpe de *Bacillus subtilis*, estirpe PRBS-1, utilizada no trabalho foi isolada de solo sob cultivo de soja (ARAÚJO et al. 2005), a mesma foi multiplicada, durante 7 dias, em 100mL de caldo nutriente (3g de extrato de levedura, 5g de peptona e 1000mL de água destilada). Decorrido este período o meio de cultura foi centrifugado e o precipitado contendo as células de *B. subtilis* foi misturado com 100 g de bentonita. O material foi homogeneizado e secado por 48 horas em estufa (50° C) com ventilação forçada durante 24 horas. O produto final teve a concentração de *B. subtilis* avaliada pelo método de diluição em placas, com meio ágar nutriente, apresentando a concentração de 1,0 10⁹ células g⁻¹.

Para avaliação da eficiência do produto biológico, contendo *B. subtilis*, adicionou-se 0,5 g

do produto contendo *B. subtilis* em volta do caule da planta (raio de 2 cm) visando a colonização da rizosfera do tomate. Como o solo tinha histórico da presença de nematóides formadores de galhas do gênero Meloydogine conduziu-se outro tratamento utilizando-se o nematicida sistêmico Carbofuran (Produto comercial FURADAN 350 CE) aplicando-se 10 µL por planta.

Para avaliação do crescimento das plantas foi medido a altura das plantas aos 40 e 70 dias de condução do experimento. As plantas foram coletadas aos 85 dias e a avaliação de produtividade foi efetuada mediante contagem de pendões florais e do número e peso de frutos maduros e em formação. As raízes e a parte aérea foram pesadas após a coleta do material para determinação da biomassa fresca produzida.

O delineamento experimental empregado foi de blocos casualizados com cinco repetições. Cada saco com uma planta constituiu uma parcela. Para análise de variância dos dados foi utilizado o programa estatístico SISVAR empregando-se o teste t de comparação múltipla ($P < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação de crescimento do tomate estimado pela medição da altura das plantas em duas épocas, não houve alteração significativa nos valores obtidos em todos os tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2. Crescimento de tomate, tratado com *Bacillus subtilis* e carbofuran, em duas épocas de avaliação.

Tratamento	Altura de plantas aos 40 dias(cm)	Altura de plantas aos 70 dias(cm)
Testemunha	49,0 a	71,4 a
Carbofuran	57,0 a	78,4 a
B. subtilis	56,0 a	70,4 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste t ($P < 0,05$)

A produção de biomassa da parte aérea teve influência dos tratamentos onde foi aplicado carbofuran e *Bacillus subtilis* (Tabela 3). Contudo

no tratamento *B. subtilis* houve redução na massa de raiz e relação raiz parte aérea por planta quando comparado com a testemunha.

Tabela 3. Produção de biomassa fresca em tomate, tratado com *Bacillus subtilis* e carbofuran, aos 85 dias de idade.

Tratamento	Massa fresca da raiz(g)	Massa fresca da parte aérea(g)	MFRaiz/MFAérea
Testemunha	68,3 a	114,1 b	0,60 a
Carbofuran	56,1 ab	143,2 a	0,39 ab
B. subtilis	32,5 b	146,6 a	0,22 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste t ($P < 0,05$)

A redução na produção de raízes em tomate, cultivado em solo infestado com nematóides, submetido ao tratamento com *Bacillus subtilis*, reforça a sugestão de Abrão e Mazzafera (2001) de que a emissão de novas raízes secundárias e aumento da massa radicular é consequência da infecção dos nematóides. Esta afirmação contribui para sugerir que o tratamento biológico das mudas reduziu a infecção dos nematóides nas raízes o que refletiu na menor produção de massa radicular neste

tratamento. Por outro lado o tratamento químico das mudas com carbofuran não conseguiu alterar esta variável em relação a testemunha.

Na avaliação de florescimento e produção de frutos de tomate nas plantas tratadas foi observado efeito do tratamento *Bacillus subtilis* no aumento de frutos maduros e massa seca total de frutos por planta, sendo que não houve alteração no número de pendões florais formados (Tabela 4).

Tabela 4. Número de pendões florais e frutos em plantas tratadas com *Bacillus subtilis* e carbofuran, aos 75 dias após o tratamento.

Tratamento	Número de pendões florais por planta	Número total de frutos por planta	Número de frutos maduros por planta	Massa fresca total de frutos por planta (g)
Testemunha	4,6 a	5,4 a	0,1 b	71,2 b
Carbofuran	4,6 a	5,8 a	0,2 b	98,1 ab
B. subtilis	3,0 a	5,2 a	0,8 a	110,0 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste t ($P < 0,05$)

O tratamento com carbofuran não conseguiu promover aumentos na massa de frutos formados pela plantas aos 85 dias do transplante. Este resultado confirma o que foi encontrado por Franzener (2005) que também não encontrou aumento de produção em tomate, cultivado em solo infestado com nematóides, porém houve redução na formação de galhas nas raízes.

Sabe-se que a biometria, maturação dos frutos e produtividade da planta tem grande influência dos reguladores vegetais como as giberelinas, auxinas, ácido succínico, entre outros (MARTINS et al. 1997). Estas substâncias podem agir como estimuladores ou retardadores do crescimento de plantas (WEAVER, 1972). Observou-se na avaliação do ensaio conduzido com

tomate que o tratamento com *Bacillus subtilis* influenciou o crescimento das plantas em variáveis como produção de biomassa da parte aérea, massa total de frutos e número de frutos maduros, quando comparado com a testemunha. Contudo foi observado neste tratamento que houve redução na produção de raízes. A presença de auxinas em altas concentrações pode atuar como inibidora do crescimento radicular (TAIZ; ZEIGER, 1998). Já tendo sido relatado que a mesma estirpe de *Bacillus subtilis* utilizada neste trabalho produz fitoreguladores do grupo das auxinas em meio de cultura (ARAÚJO et al., 2005). Neste contexto, pode-se inferir que, provavelmente, ocorreu a produção de fitoreguladores por *Bacillus subtilis* na rizosfera do tomate as quais influenciaram na biometria da planta. Hathout et al (1993) observaram que a pulverização de AIA (10mg L^{-1}) induziu a floração e a frutificação em plantas de tomateiro e aumentou o número e a massa de frutos. Appezzato e Castro (1983) estudando o efeito do fitoregulador (Cloreto trimetilamônio -CCC), aplicado em plântulas, na produtividade do tomateiro cv. Angela, observaram que o tratamento com CCC 1000 mgL^{-1} , em duas aplicações, aumentou significativamente a produção. Em outro

trabalho foi verificado que tratamentos em tomate com auxinas (ANA) e giberelinas (GA_3) diminuíram o número de frutos em formação aos 61 dias após o tratamento (MARTINS; CASTRO, 1997). No presente trabalho verificou-se que o tratamento com *B. subtilis* aumentou a produção de massa fresca da parte aérea e de frutos, como também adiantou sua maturação, entretanto não proporcionou incrementos na altura das plantas de tomate em casa de vegetação. Desta forma o efeito da estirpe de *B. subtilis* (PRBS-1), no tratamento de mudas de tomateiro, foi mais pronunciado na fase reprodutiva da cultura podendo então ser afirmado que a mesma atuou de alguma maneira na bioregulação do crescimento do tomate.

CONCLUSÕES

O tratamento biológico do tomate com *Bacillus subtilis* aumentou o número e massa de frutos formados no tomateiro aos 85 dias de cultivo.

Bacillus subtilis reduziu a relação raiz: parte aérea, comparado com a testemunha o que, em parte, pode ser devido à influência de fitoreguladores produzidos na rizosfera.

ABSTRACT: This work was to evaluate parameters related to the growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) submitted to the action of *Bacillus subtilis*. The hypothesis tested was that the *Bacillus subtilis* plant produces antibiotics and hormones may well propocionar antagonisms of the soil pathogens and alter plant growth. To evaluate this hypothesis was developed in greenhouse an experiment for 85 days with cultivation of tomato treated with *B. Subtilis*. The plants were treated with *Bacillus subtilis* and carbofuran efetivados by the addition of the products directly in the soil in the area around the stem of the tomato at the time of transplant seedlings. For evaluation of plant growth was measured the height of plants to 40 and 70 days of conducting the experiment. The evaluation of growth was accomplished by counting of flower, number and weight of fruits to 85 days. Treatment with *Bacillus subtilis* increased the fresh weight of the shoot and production of fruits, but reduced the fresh weight of roots when compared with the control. It was also observed the number of ripe fruits in the treatment with rhizobacteria and can be with this suggested that *B. Subtilis* served as bioregulator of growth in tomatoes.

KEYWORDS: Rhizobacteria. *Lycopersicom esculentum*. Phytohormones.

REFERÊNCIAS

- ABRÃO, M. M.; MAZZAFERA, P. Efeitos do nível de inóculo de *Meloidogyne incognita* em algodoeiro. *Bragantia*, Campinas, v. 60, p. 19-26, 2001.
- APPEZZATO, B.; CASTRO, P. R. C. Desenvolvimento e produtividade do tomateiro cultivar Santa Cruz sob ação de retardadores do crescimento aplicados em plântulas. *Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"*, Piracicaba, v. 40, p. 447-472, 1983.
- ARAÚJO, F. F.; SILVA, J. F. V.; ARAUJO, A. S. F. Influência de *Bacillus subtilis* na eclosão, orientação e infecção de *Heterodera glycines* em soja. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 32, p. 197-203. 2002.

ARAÚJO, F. F. HUNGRIA, M.; HENNING, A. A. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Dordrecht, v. 21, p. 1639-1645, 2005.

ARAÚJO, F. F.; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*/ *B. elkanii*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 34, p. 1633-1643, 1999.

BORONIN, A. M. et al. Biological control of soilborne plant pathogens by PGPR *Pseudomonas* isolated in Russia. In: **VI International Congress of Plant Pathology**, Montreal, Canada, International Society of plant pathology, p. 276, 1993.

COIMBRA, J. L.; CAMPOS V. P. Efeito de exsudatos de colônias e de filtrados de culturas de actinomicetos na eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio de *M. javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, Viçosa, v. 30, p. 232-238, 2005

COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St Paul: American Phytopathological Society, 1983. 539p.

FRANZENER, G. **Proteção de tomateiro a *Meloidogyne incognita* pelo extrato aquoso de *Tagetes patula***. 2005, 87p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel-PR, 2005.

FREITAS, J. R.; GERMIDE, J. J. Growth promotion of winter wheat by fluorescent pseudomonads under growth chamber conditions. **Soil Biology and biochemistry**, London, v. 24, p. 1127-1135, 1992.

HATHOUT, T. A.; SHETAWI, S. A.; KHALLAL, S. M. Effect of modes of application of some growth regulators on the physiology of tomato plants: III. Effect of nicotinamide on morphology growth, metabolism and productivity. **Egyptian Journal of Physiological Sciences**, Cairo, v. 17, p. 183-200. 1993

HOLL, F. B. et al. Response of crested wheatgrass (*Agropyron crystatum* L.), perennial ryegrass (*Lolium perenne*) and white clover (*Trifolium repens* L.) to inoculation with *Bacillus polymyxa*. **Soil Biology and Biochemistry**, London, v. 20, p. 19-24, 1988.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Disponível em: www.ibge.gov.br/home/estatisticas/indicadores. Acesso em 19 de setembro de 2007

KLOEPPER, J. W.; SCHORTH, M. N. Plant growth promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 71, p. 642-644, 1981.

LACA-BUENDIA, J. P. Efeito de reguladores de crescimento no algodoeiro. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 1, p. 109-113, 1989.

LAZZARETI E.; BETTIOL, W. Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado a base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. **Scientiae agricola**, Piracicaba, v. 54, p. 89-96, 1997.

MARIANO, R. L. R.; KLOEPPER, J. W. Método alternativo de biocontrole: resistência sistêmica induzida por rizobactérias. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 8, p. 121-137, 2000.

MARTINS, M. B. G.; CASTRO, P. R. C. Biorreguladores na morfologia e na produtividade de frutos de tomateiro cultivar Ângela gigante. **Bragantia**, Campinas, v. 56, p. 237-248. 1997.

MOREIRA F. M.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras : Editora UFLA, 2006. 729p.

- PAN, B.; BAY, Y.M.; LEIBOVITCH, S.; SMITH, D.L. Plant-growth promoting rhizobacteria and kinetin as ways to promote corn growth and yield in a short-growing-season area. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 11, p. 179-186, 1999.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Ed. Massachusetts: Sinauer Associates, 1998. 792p.
- VAN RAIJ, B.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: IAC, 2001. 284p.
- VIEIRA, E. L.; CASTRO, P. R. C. Efeito de bioestimulante na germinação de sementes, vigor das plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 23, p. 222-228, 2001.
- WEAVER, R. J. **Plant growth substances in agriculture**. San Francisco: W. H. Freeman, 1972. 594p.
- YOSHIKAWA, M. Succinic and lactic acids as plant growth promoting compounds produced by rhizosphere *Pseudomonas putida*. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 39, p. 1150-1154, 1993.