

Efeitos de rizobactérias e substratos na qualidade fisiológica de sementes de alface

Effects of rhizobacteria and substrates in the physiological quality of lettuce seeds

Dayana Lúcia Mota Pinheiro Bernardino, Andréia Márcia Santos de Souza David, Josiane Cantuária Figueiredo*, Lucas Vinícius de Souza Cangussu, Cleisson Dener da Silva e Regina Cássia Ferreira Ribeiro

Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Montes Claros – Unimontes. Caixa Postal 91, Campus Janaúba – MG, Brasil
(*E-mail: josycantuaria@yahoo.com.br)
<http://dx.doi.org/10.19084/RCA17235>

Recebido/received: 2017.09.12
Recebido em versão revista/received in revised form: 2017.12.30
Aceite/accepted: 2018.01.10

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção e a qualidade fisiológica de sementes de alface, cultivar Grand Rapids TBR, produzidas por plantas tratadas com rizobactérias e cultivadas em diferentes substratos. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 3 x 5, envolvendo o tratamento de sementes com rizobactérias *Bacillus pumilus* 01 e *Bacillus subtilis* 34, e a testemunha (sem tratamento) e cinco substratos: solo+areia+Bioplant® (1:1:1), solo+esterco (2:1), solo+esterco+areia (1:1:1), solo+Bioplant® (2:1) e Bioplant®, com cinco repetições. Para a inoculação, as sementes foram imersas nas suspensões bacterianas ($OD_{540} = 0,5$) e mantidas sob agitação constante durante 15 minutos, sendo imediatamente semeadas. Após a colheita as sementes foram pesadas para avaliação da produção e, em seguida determinou-se o teor de água, percentagem de germinação, primeira contagem de germinação, emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência e envelhecimento acelerado. A inoculação de sementes com as rizobactérias *Bacillus pumilus* 01 e *Bacillus subtilis* 34, e o uso do substrato solo+esterco+areia (1:1:1), proporcionam maior produção de sementes de alface. O tratamento de sementes com a rizobactéria *Bacillus pumilus* 01 associado aos substratos solo+esterco+areia (1:1:1) e solo+Bioplant® (2:1), favorece a produção de sementes de melhor qualidade fisiológica.

Palavras-chave: germinação, *Lactuca sativa* L., vigor.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the production and physiological quality of lettuce seeds, cultivar Grand Rapids TBR, produced by plants treated with rhizobacteria and cultivated on different substrates. The experimental design was a randomized block in a factorial 3x5, involving seed treatment with rhizobacteria *Bacillus pumilus* 01 and *B. subtilis* 34, and the control (no treatment) and five substrates: soil+sand+Bioplant® (1:1:1), soil+manure (2:1), soil+manure+sand (1:1:1), soil+Bioplant® (2:1) and Bioplant®, with five repetitions. For inoculation, the seeds were immersed in the bacterial suspensions ($OD_{540} = 0.5$) kept under constant stirring for 15 minutes, and immediately seeded. After harvesting, cleaning and separation, the seeds were weighed for yield evaluation and then submitted to the determination of the water content and germination and vigor tests (first germination count, seedling emergence, rate of emergence and accelerated aging). The inoculation of seeds with the rhizobacteria *B. pumilus* 01 and *B. subtilis* 34, and the use of the substrate soil+manure+sand (1:1:1), provide higher seed yield. Seeds treated with the rhizobacterium *B. pumilus* 01 and cultivated in the substrates soil+manure+sand (1:1:1) and soil+Bioplant® (2:1) induced the production of better physiological quality lettuce seeds.

Keywords: germination, *Lactuca sativa* L., vigor.

INTRODUÇÃO

Dentre as hortaliças folhosas mais comercializadas e consumidas no Brasil a alface (*Lactuca sativa* L.) é a principal, apresentando destaque pelo seu sabor agradável e refrescante. É fonte de vitaminas (A1, B1, B2 e C) e sais minerais (Ca e Fe), e pode ser produzida durante o ano inteiro. A sua multiplicação dá-se por meio de sementes, e o ciclo da cultura no Brasil, para a produção de sementes, varia em função do clima, cultivar e local, podendo alcançar 120 a 170 dias.

Sementes de alto potencial fisiológico são essenciais para que ocorra uma germinação rápida e uniforme (Marcos Filho, 2015). Contudo, a produção de olerícolas requer gestão intensiva da área com grande consumo de insumos e recursos naturais (Rezende *et al.*, 2006).

Como alternativa, a inoculação de sementes com rizobactérias oferece resultados promissores, podendo aumentar a produtividade das lavouras principalmente devido a mecanismos como: estímulo do crescimento vegetal pela produção de fitohormonas, aumento da absorção de nutrientes, biocontrole de patógenos, aumento da resistência a estresses abióticos e fixação de nitrogênio (Martínez *et al.*, 2013).

Estes mecanismos tornam-se alternativas viáveis para a produção de sementes, além de serem de baixo custo para um sistema de agricultura moderna, que proporcionam melhor e maior utilização dos recursos do solo, diminuindo gastos com fertilização e proteção das plantas contra pragas e doenças.

Os substratos podem ser também uma alternativa para incrementar a produção de sementes. Conforme Zietemann e Roberto (2007), os substratos destinam-se a sustentar as plantas durante o enraizamento e a servir de fonte de nutrientes. A matéria orgânica presente nos substratos atua melhorando as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo e proporcionando mineralização lenta de nutrientes, o que pode resultar em uma comunidade microbiana mais estável.

Face às considerações feitas, pretendeu-se com este trabalho avaliar a produção e a qualidade

fisiológica de sementes de alface da cultivar Grand Rapids TBR, em plantas tratadas com rizobactérias e cultivadas em diferentes substratos.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido em estufa climatizada e no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Estadual de Montes Claros – UNIMONTES, Campus de Janaúba-MG, no período de abril a agosto de 2015. A região encontra-se inserida no semiárido brasileiro, tendo o município as coordenadas de 15°47'18" de latitude sul e 43°18'18" de longitude oeste, com altitude de 515 metros. Foram utilizadas sementes comerciais de alface, cultivar Grand Rapids TBR.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 3 x 5, envolvendo o tratamento de sementes com rizobactérias *Bacillus pumilus* 01 e *B. subtilis* 34, e a testemunha (sem tratamento) e cinco substratos, sendo quatro misturas e um comercial: solo+areia+Bioplant® (1:1:1), solo+esterco (2:1), solo+esterco+areia (1:1:1), solo+Bioplant® (2:1) e Bioplant®, com cinco repetições.

O solo de textura arenosa foi coletado na camada de 0-20 cm de profundidade, cujas principais características químicas foram: pH: 6,6; M.O (dag kg⁻¹): 1,7; P (cmol_c/dm³): 0,6; K (cmol_c/dm³): 0,5; Al (cmol_c dm⁻³): 0,0; H + Al (cmol_c dm⁻³): 1,5; Ca (cmol_c dm⁻³): 3,5; Mg (cmol_c dm⁻³): 1,0; e V (%): 77,0. Os resultados das análises químicas das diferentes misturas e do substrato comercial estão apresentados no Quadro 1.

Os isolados de rizobactérias utilizados no estudo fazem parte da coleção do Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia da Unimontes e foram obtidos a partir da rizosfera de bananeiras provenientes de diferentes municípios do Norte de Minas Gerais. Esses isolados apresentaram resultados promissores no desenvolvimento de bananeira e no controle de *Meloidogyne javanica* (Ribeiro *et al.*, 2012).

As bactérias foram cultivadas em meio TSA (Tryptic Soy Agar), em tubos de ensaio por um período de 24 horas a 28°C. Para proceder à preparação das

Quadro 1 - Resultados de análises de características químicas dos substratos estudados

Substratos	pH	N %	P %	K %	Cu %	Fe %	Mn %	Zn %	MO g kg ⁻¹	CT g kg ⁻¹	C/N
**Esterco	6,1	0,8	0,8	1,61	-	0,4	-	-	17,40	-	22/1
solo+areia+Bioplant® (1:1:1)	6,6	2,0	3,1	0,97	0,002	1,2	0,03	0,003	16,55	82	32/1
solo+esterco (2:1)	6,0	2,2	1,7	1,34	0,002	0,8	0,02	0,004	15,12	97	27/1
solo+esterco+areia (1:1:1)	6,2	2,0	2,3	1,14	0,002	0,6	0,03	0,004	18,81	95	25/1
solo+Bioplant® (2:1)	5,8	1,6	2,2	0,73	0,002	1,3	0,03	0,005	16,31	79	30/1
Bioplant®	5,5	0,3	3,1	1,06	0,002	2,3	0,02	0,007	13,52	52	34/1

** Análise realizada no Laboratório de Matéria Orgânica e Resíduos do Departamento de solos da Universidade Federal de Viçosa.

suspensões bacterianas, cada isolado foi repicado para erlenmeyers contendo 100 mL de meio TSB (Tryptic Soy Broth) e mantidos a 28 °C por 48 horas em agitador orbital "Shaker" sob agitação constante de 150 rpm. Após este período a suspensão foi transferida para tubos e centrifugada a 10.000 rpm por 15 minutos, e o sobrenadante descartado. Em seguida, foi adicionada solução salina (NaCl 0,85%) sobre o sedimento e agitado manualmente. A concentração de cada suspensão foi ajustada em espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP-22) para OD₅₄₀ = 0,5 de absorbância.

Para realizar a inoculação, as sementes de alface foram desinfetadas, através da imersão em hipoclorito de sódio 1% por 5 minutos e, em seguida, lavadas três vezes em água destilada esterilizada. Após a secagem em papel absorvente, as sementes foram imersas nas suspensões bacterianas e mantidas sob agitação constante durante 15 minutos. Após o procedimento as sementes foram colocadas em papel absorvente e secas em câmara de fluxo por 2 horas. Em seguida foram transferidas para placas de Petri estéreis e conduzidas imediatamente ao local de ensaio.

As sementes foram semeadas em bandejas de poliestireno expandido (isopor) de 128 células, contendo substrato comercial Bioplant®, e três sementes por célula. Após a germinação e emergência, quando as plântulas apresentavam o estágio de primeira folha definitiva, procedeu-se ao desbaste, deixando apenas uma plântula em cada célula. Aos vinte e três dias após a sementeira, quando as plantas apresentavam quatro folhas definitivas, realizou-se o transplante utilizando-se vasos plásticos (7,5 litros) contendo os diferentes substratos que foram mantidos em estufa.

A adubação de plantio consistiu no fornecimento de 15 g de ureia, 22 g de superfosfato simples e 10 g de cloreto de potássio por vaso. A adubação de cobertura com nitrogênio foi realizada de forma parcelada aos 15, 30 e 45 dias após o transplante, utilizou-se 5 g de ureia por vaso. Como adubação foliar, a cultura recebeu uma única aplicação da solução de bórax, sulfato de cobre e sulfato de zinco na dosagem de 1 g L⁻¹, aos 25 dias após o transplante (Ribeiro *et al.*, 1999). A irrigação foi realizada manualmente, duas vezes ao dia, no início da manhã e final da tarde, mantendo o substrato sempre úmido e de acordo com a necessidade da cultura.

A colheita das sementes foi realizada aos 125 dias após o plantio. O corte manual das inflorescências foi realizado quando estas apresentaram 70% de flores abertas. Em seguida, as sementes foram colocadas em sacos plásticos e levadas ao laboratório de sementes onde foram separadas, limpas e pesadas. As sementes de cada cinco plantas que constituíram os tratamentos foram pesadas, sendo calculada a produção de sementes em g/planta.

Determinou-se o teor de água das sementes, a 105±3 °C, por 24 horas com cinco repetições de 50 sementes, conforme as Regras para Análise de Sementes – RAS (Brasil, 2009).

O teste de germinação foi conduzido em caixas de plástico do tipo gerbox forradas com uma folha de papel mata-borrão humedecidas com água destilada, em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco (Brasil, 2009). As caixas contendo as sementes foram mantidas em germinador sob temperatura de 20 °C. As avaliações foram realizadas aos quatro e sete dias após a sementeira, e

os resultados foram expressos em percentagem de plântulas normais (Brasil, 2009). Consideram-se como normais as plântulas que apresentavam todas as estruturas essenciais que permitisse uma avaliação correta das mesmas e apresentavam capacidade de continuar o seu desenvolvimento e dar origem a uma planta normal.

Os resultados do teste de primeira contagem foram obtidos pela percentagem de plântulas normais, determinada por ocasião da primeira contagem do teste de germinação, ou seja, no quarto dia após a sementeira (Brasil, 2009).

A primeira contagem de germinação das sementes é considerada um teste de vigor, compreendendo o conjunto de características que determinam o potencial para a emergência e o rápido desenvolvimento de plântulas normais (Brasil, 2009). O vigor das sementes pode ser determinado pelos testes de emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência e teste de envelhecimento acelerado.

A emergência de plântulas foi conduzida em condições não controladas de laboratório ($\pm 26^{\circ}\text{C}$), sendo as sementes semeadas a uma profundidade de 0,5 cm em caixas gerbox, contendo areia humedecida com quantidade de água equivalente a 50% da capacidade de retenção. A humidade foi mantida por meio de regas diárias (Brasil, 2009). Os resultados foram obtidos pelo número de plântulas emersas, determinado por ocasião do 7.º dia após a sementeira, sendo os resultados expressos em percentagem.

O índice de velocidade de emergência (IVE) foi determinado contabilizando-se diariamente, o número de plântulas emergidas até ao 7.º dia após a sementeira (Maguire, 1962).

Para o teste de envelhecimento acelerado foi utilizada uma camada única de 300 sementes, distribuída uniformemente sobre uma tela acoplada ao gerbox, com 40 mL de água destilada. As caixas gerbox foram tapadas e mantidas em câmara BOD, a 41°C por 72 h (Panobianco e Marcos Filho, 2001). Em seguida, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, conforme descrito anteriormente, com contagem aos quatro dias.

Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A determinação do teor de água das sementes efetuada inicialmente revelou uma variação de 7,0 a 10,0% de humidade. Este fato é importante, considerando-se que a longevidade das sementes está diretamente ligada ao teor de água, uma vez que esta interfere diretamente nos processos fisiológicos, com redução da qualidade da semente, chegando a afetar diretamente o vigor e até o poder germinativo (Marcos Filho, 2015). O teor de água das sementes relativamente baixo, como ocorreu nas sementes de alface, confere maior confiabilidade aos resultados obtidos nos testes de qualidade fisiológica (Tunes *et al.*, 2011).

A análise de variância revelou interação significativa ($p < 0,05$) entre os fatores substratos e tratamentos de semente para todas as variáveis analisadas.

Analisando a capacidade germinativa das sementes provenientes de plantas não inoculadas (testemunha) e cultivadas nos diferentes substratos (Quadro 2), os maiores percentuais germinativos foram encontrados em sementes produzidas nos substratos solo+esterco+areia (1:1:1) e solo+Bioplant® (2:1).

A germinação das sementes provenientes de plantas tratadas com a rizobactéria *B. pumilus* 01 não foi influenciada pelos diferentes substratos (Quadro 2). Os constituídos de esterco, solo+esterco (2:1) e solo+esterco+areia (1:1:1), e Bioplant® proporcionaram incrementos na germinação de sementes oriundas de plantas inoculadas com *B. subtilis* 34. Dias *et al.* (2008) observaram que os substratos acrescidos de matéria orgânica afetaram positivamente a germinação das sementes de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.). Todavia, a germinação das sementes proveniente de plantas tratadas com *B. subtilis* 34 foi afetada negativamente nos substratos solo+areia+Bioplant® (1:1:1) e solo+Bioplant® (2:1). Provavelmente, essas combinações de substratos aliados à inoculação das sementes não ofereceram condições adequadas

Quadro 2 - Germinação (GER) e primeira contagem de germinação (PCG) de sementes de alface cv. Grand Rapids TBR, produzidas por plantas tratadas com rizobactérias e cultivadas em diferentes substratos

Substratos	Tratamentos de semente		
	Testemunha*	<i>Bacillus pumilus</i> 01	<i>Bacillus subtilis</i> 34
		GER (%)	
solo+areia+Bioplant® (1:1:1)	86 Ba	84 Aa	84 Ba
solo+esterco (2:1)	86 Ba	88 Aa	92 Aa
solo+esterco+areia (1:1:1)	92 Aa	86 Aa	89 Aa
solo+Bioplant® (2:1)	92 Aa	87 Ab	86 Bb
Bioplant®	83 Bb	83 Ab	90 Aa
CV (%)		4,02	
		PCG (%)	
solo+areia+Bioplant® (1:1:1)	79 Ba	77 Aa	78 Ba
solo+esterco (2:1)	75 Bb	65 Bc	89 Aa
solo+esterco+areia (1:1:1)	87 Aa	82 Ab	78 Bb
solo+Bioplant® (2:1)	83 Aa	79 Aa	81 Ba
Bioplant®	78 Bb	77 Ab	84 Aa
CV (%)		4,80	

Médias seguidas de letras distintas, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. *Sementes não inoculadas.

para as plantas expressarem o seu máximo desenvolvimento, afetando dessa forma a produção de sementes de qualidade.

Vale a pena destacar que em todos os tratamentos a percentagem de germinação foi superior a 80% (Quadro 2), atendendo ao padrão mínimo recomendado para a comercialização de sementes de alface (MAPA, 2005).

Avaliando o efeito de tratamento de semente dentro de cada substrato, nota-se que as sementes provenientes de plantas não inoculadas apresentaram maiores percentagens germinativas quando produzidas no substrato composto por solo+Bioplant® (2:1). Em comparação à testemunha, a rizobactéria *B. subtilis* 34 proporcionou um aumento de 7 pontos percentuais na germinação das sementes produzidas no substrato Bioplant®.

Estes resultados sugerem que o Bioplant® proporcionou um ambiente adequado ao desenvolvimento e aumento de células bacterianas da espécie *B. subtilis* 34, uma vez que as rizobactérias têm o seu desenvolvimento influenciado por fatores como o tipo de substrato e o ambiente em que se desenvolvem (Araújo e Carvalho, 2009). Conforme Marques *et al.* (2014) as espécies do género *Bacillus* possuem grande diversidade e habilidade

fisiológica, variando na capacidade de promoção do crescimento vegetal e consequente aumento na germinação devido à produção de ácido indolacético (AIA).

Ao se avaliar o vigor das sementes por meio dos resultados obtidos na primeira contagem de germinação (Quadro 2) observa-se o mesmo comportamento da variável germinação. Estudando o efeito de substratos dentro dos tratamentos de semente, verifica-se que as sementes produzidas de plantas não tratadas e cultivadas nos substratos solo+esterco+areia (1:1:1) e solo+Bioplant® (2:1), apresentaram maiores valores na primeira contagem. As sementes oriundas de plantas tratadas com *B. pumilus* 01 mostraram-se mais vigorosas quando produzidas em substratos contendo solo+areia+Bioplant® (1:1:1), solo+esterco+areia (1:1:1), solo+Bioplant® (2:1) e Bioplant®. Para as sementes produzidas de plantas tratadas com *B. subtilis* 34, os substratos solo+esterco (2:1) e Bioplant®, proporcionaram mais sementes germinadas na primeira contagem. A primeira contagem de germinação é um teste de vigor simples, realizado simultaneamente ao teste de germinação, e baseia-se no pressuposto de que as sementes mais vigorosas germinam mais rápido (Abud *et al.*, 2013).

As características dos substratos estudados (arejamento, estrutura, capacidade de retenção de água, etc.) poderão ter influenciado positivamente o desenvolvimento das sementes, fornecendo condições adequadas para a germinação e crescimento das plantas de alface. Estes substratos podem ter proporcionado aumento na produção e no teor de nutrientes para a cultura, favorecendo a produção de sementes com alto vigor. Estudando o efeito do tratamento de sementes dentro dos substratos, nota-se que as sementes provenientes das plantas inoculadas com *B. subtilis* 34 apresentaram um aumento de 14 e 6 pontos percentuais na porcentagem de germinação na primeira contagem em relação às sementes de plantas não inoculadas, quando se fez uso dos substratos solo+esterco (2:1) e Bioplant®, respectivamente (Quadro 2). Em soja e algodão, Araújo (2008) observou que um formulado de *Bacillus subtilis* com farinha de ostras levou a uma interação positiva, aumentando a velocidade de germinação das sementes. Em comparação com as sementes tratadas com as rizobactérias do gênero *Bacillus*, as não inoculadas demonstraram maior velocidade no processo germinativo quando foram cultivadas no substrato solo+esterco+areia (1:1:1).

Este estímulo à germinação, observado com o uso dos isolados bacterianos, pode estar associado à produção de hormonas como giberelinas e auxinas

(Araújo *et al.*, 2005). Provavelmente, estas hormonas atuaram diretamente na germinação e no desenvolvimento das plantas de alface, favorecendo o desempenho das sementes produzidas.

O teste de emergência de plântulas é considerado um importante teste de vigor em sementes, auxiliando na identificação de diferenças importantes entre lotes comercializáveis, complementando as informações do teste de germinação (Amaro *et al.*, 2014). Estudando-se o efeito de substrato dentro de cada tratamento de semente para a emergência de plântulas (Quadro 3), verifica-se que as sementes oriundas de plantas não inoculadas e produzidas nos substratos solo+esterco+areia (1:1:1) e solo+Bioplant® (2:1) destacaram-se novamente com os maiores percentuais de emergência.

O tratamento com *B. pumilus* 01 e cultivo nos diferentes substratos não influenciaram a emergência das plântulas de alface. Para as sementes oriundas de plantas que foram produzidas de sementes inoculadas com *B. subtilis* 34, os substratos solo+areia+Bioplant® (1:1:1), solo+esterco (2:1) e Bioplant® proporcionaram maior percentual de emergência de plântulas (Quadro 3).

O fornecimento de matéria orgânica ao solo é considerado uma das principais fontes de energia

Quadro 3 - Emergência de plântulas (EP) e índice de velocidade de emergência (IVE) de plântulas de alface cv. Grand Rapids TBR, produzidas por plantas tratadas com rizobactérias e cultivadas em diferentes substratos

Substratos	Tratamentos de semente		
	Testemunha*	<i>Bacillus pumilus</i> 01	<i>Bacillus subtilis</i> 34
		EP (%)	
solo+areia+Bioplant® (1:1:1)	78 Ba	85 Aa	86 Aa
solo+esterco (2:1)	81 Ba	81 Aa	86 Aa
solo+esterco+areia (1:1:1)	89 Aa	86 Aa	78 Bb
solo+Bioplant® (2:1)	87 Aa	91 Aa	78 Bb
Bioplant®	80 Ba	82 Aa	88 Aa
PCG (%)		7,45	
		IVE	
solo+areia+Bioplant® (1:1:1)	5,3 Ca	7,1 Ba	5,4 Ba
solo+esterco (2:1)	7,6 Bb	9,8 Aa	10,7 Aa
solo+esterco+areia (1:1:1)	10,4 Aa	9,5 Aa	8,5 Aa
solo+Bioplant® (2:1)	9,6 Aa	9,3 Aa	9,4 Aa
Bioplant®	7,6 Bb	9,9 Aa	9,5 Aa
CV (%)		14,63	

Médias seguidas de letras distintas, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. *Sementes não inoculadas.

e de nutrientes, capaz de manter a produtividade dos solos, proporcionando maior reciclagem de nutrientes, aumento da CTC do solo e infiltração de água, melhorando assim, a estrutura do solo e a disponibilização de nutrientes para a cultura. Portanto, isso pode ter influenciado positivamente as sementes produzidas, possibilitando uma emergência mais rápida às plântulas de alface. Para Silva *et al.* (2015), a prática de se realizar o cultivo de plantas utilizando substratos visa a determinação do melhor padrão vital de cultivo no menor tempo.

Resultados apresentados por Scalon e Jeromine (2013) demonstraram que sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis*) semeadas no substrato solo+Bioplant® favoreceram a emergência de plântulas.

Avaliando-se os tratamentos de semente dentro de cada substrato, é possível verificar que, sementes resultantes da não inoculação (testemunha) e do tratamento com *B. pumilus* 01, produzidas nos substratos solo+esterco+areia (1:1:1) e solo+Bioplant® (2:1) apresentaram as percentagens de emergência de plantas mais baixas (78%) (Quadro 3).

Várias hipóteses têm sido aventadas no sentido de explicar a capacidade que as rizobactérias possuem de promover o crescimento das plantas. A maioria dos trabalhos relaciona essa capacidade à produção de hormonas de crescimento vegetal que podem melhorar o desenvolvimento das plantas (Tarnawski *et al.*, 2006; Harthmann *et al.*, 2009). Este efeito positivo pode ser observado no tratamento das sementes de alface no presente estudo.

Analisando o efeito de substratos dentro de cada tratamento de semente para a variável IVE (Quadro 3), nota-se que, de forma semelhante aos demais testes, as sementes não inoculadas se destacaram com os maiores índices quando cultivadas nos substratos solo+esterco+areia (1:1:1) e solo+Bioplant® (2:1). Índices mais elevados indicam que as sementes emergiram mais rapidamente e de maneira uniforme, sendo, portanto, mais vigorosas. Com exceção dos substratos solo+areia+Bioplant® (1:1:1) e solo+Bioplant® (2:1), os valores mais elevados de IVE tendem a verificar-se nas sementes oriundas de plantas inoculadas e produzidas nos demais substratos.

Neves *et al.* (2010) demonstraram que os tratamentos compostos por solo+esterco de bovino e a testemunha (apenas solo) proporcionaram os maiores valores no IVE para as sementes de moringa. Gonçalves *et al.* (2007) avaliando o efeito dos diferentes substratos em sementes de tapiá (*Crataeva tapia* L.), constataram que o substrato Bioplant® apresentou um bom IVE, comprimento de raiz e comprimento da parte aérea.

Estudando-se os tratamentos de semente dentro de cada substrato (Quadro 3), verificou-se um efeito positivo no IVE de sementes produzidas por plantas não inoculadas e cultivadas nos substratos solo+esterco (2:1) e Bioplant®, sugerindo que as rizobactérias proporcionaram um desenvolvimento inicial mais rápido das plântulas nestes substratos.

Nestes substratos, ao que tudo indica, as rizobactérias atuaram na manutenção e proteção das plantas de alface, proporcionando sementes com alto potencial fisiológico. Sendo assim, plântulas que emergem mais rápido podem tornar-se menos vulneráveis às condições adversas do meio por passarem menos tempo nos estádios iniciais de desenvolvimento (Moreira *et al.*, 2015). Portanto observa-se que as rizobactérias puderam atuar no aumento da velocidade de emergência das plântulas de alface. Dan *et al.* (2010) ressaltam que a velocidade de emergência é um fator preponderante para um rápido estabelecimento das plântulas em condições de campo.

Quanto ao envelhecimento acelerado (Quadro 3), analisando os substratos dentro dos tratamentos de semente, observa-se um comportamento semelhante para as sementes providas de plantas não inoculadas e as sujeitas ao tratamento com *B. pumilus* 01, sendo os substratos solo+esterco (2:1), solo+esterco+areia (1:1:1) e solo+Bioplant® (2:1), os que tenderam a valores mais elevados na germinação das sementes envelhecidas. Já para as sementes oriundas de plantas tratadas com *B. subtilis* 34, o substrato solo+Bioplant® (2:1) favoreceu o vigor das sementes produzidas.

O teste de envelhecimento acelerado é reconhecido como um dos mais importantes para avaliação do vigor de sementes de várias espécies, sendo capaz

de proporcionar informações com alto grau de consistência.

Em relação ao efeito dos tratamentos de semente dentro de cada substrato, observa-se que apenas para o solo+Bioplant® (2:1) não houve diferença estatística entre os tratamentos de sementes. Para os demais substratos, as sementes produzidas de plantas não tratadas e as inoculadas com a rizobactéria *B. pumilus* 01 evidenciaram superioridade no vigor (Quadro 3). Através do teste de envelhecimento acelerado, percebe-se que houve estratificação dos tratamentos de sementes em função dos níveis de vigor. O estresse imposto às sementes foi eficiente para selecionar dentre as sementes produzidas, as de maior vigor.

Quanto à produção de sementes (Quadro 3), nota-se que de maneira semelhante às demais variáveis discutidas anteriormente, o substrato solo+esterco+areia (1:1:1) se destacou proporcionando ganhos, tanto para as sementes oriundas de plantas inoculadas como para as não inoculadas. O substrato solo+esterco (2:1) foi eficiente em promover maior produção das sementes produzidas por plantas tratadas com a rizobactéria *B. subtilis* 34.

Possivelmente, os resultados do presente estudo estão associados ao fato de que a composição química dos substratos solo+esterco+areia (1:1:1) e solo+esterco (2:1) contribuiu para que o pH fosse adequado ao desenvolvimento da cultura e para obtenção da produção de sementes, variando de 6,0 a 6,2. De acordo com Filgueira (2003), o pH adequado para produção da cultura de alface está entre 6,0 e 6,8.

Considerando o efeito do tratamento de semente dentro de cada substrato (Quadro 4), observam-se em geral, ganhos expressivos na produção das sementes inoculadas, em relação ao tratamento controle. Os maiores incrementos verificados foram da ordem de 298 e 318%, para as sementes tratadas com *B. pumilus* 01 e *B. subtilis* 34, respectivamente, e produzidas no substrato solo+areia+Bioplant® (1:1:1). Para as sementes tratadas com rizobactéria *B. subtilis* 34 e produzidas no substrato Bioplant®, os incrementos foram de 1618%.

Os resultados observados no presente estudo podem ser explicados pelo fato de que as rizobactérias promotoras do crescimento de plantas possuem a capacidade de aumentar a disponibilidade de nutrientes para as culturas, uma vez que a produção e a qualidade fisiológica das

Quadro 4 - Envelhecimento acelerado (EA) e produção de sementes (PS) de alface, cv. Grand Rapids TBR, em plantas tratadas com rizobactérias e cultivadas em diferentes substratos

Substratos	Tratamentos de semente		
	Testemunha*	<i>Bacillus pumilus</i> 01	<i>Bacillus subtilis</i> 34
		EA (%)	
solo+areia+Bioplant® (1:1:1)	70 Ba	71 Ba	33 Cb
solo+esterco (2:1)	83 Aa	84 Aa	70 Bb
solo+esterco+areia (1:1:1)	78 Aa	85 Aa	62 Bb
solo+Bioplant® (2:1)	75 Aa	81 Aa	83 Aa
Bioplant®	67 Ba	74 Ba	23 Db
CV (%)		5,36	
		PS (g/planta)	
solo+areia+Bioplant® (1:1:1)	1,80 Cb	7,17 Ca	7,53 Ba
solo+esterco (2:1)	5,54 Bb	11,51 Ba	11,46 Aa
solo+esterco+areia (1:1:1)	10,82 Ab	17,36 Aa	11,57 Ab
solo+Bioplant® (2:1)	5,30 Bb	2,80 Ec	6,92 Ba
Bioplant®	0,44 Dc	4,74 Db	7,56 Ba
CV (%)		9,31	

Médias seguidas de letras distintas, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. *Sementes não inoculadas.

sementes são influenciadas pela disponibilidade de nutrientes à planta, por afetar a formação do embrião e dos órgãos de reserva, assim como a composição química e, conseqüentemente, o metabolismo e o vigor (Carvalho e Nakagawa, 2012). Este efeito benéfico pode ocorrer por meio da fixação biológica de nitrogênio, da solubilização de fósforo e também pela melhoria das condições do solo (Vaz *et al.*, 2011).

Os resultados do presente trabalho concordam com os observados por Harthmann *et al.* (2009), os quais verificaram efeito benéfico do tratamento de sementes de cebola com isolados de rizobactérias. Conforme a planta se desenvolve e atinge maior atividade fisiológica, com aumento do sistema radicular e da parte aérea, maiores quantidades e diversidade de produtos são liberadas para a rizosfera, aumentando a atividade dos microrganismos, inclusive os promotores de crescimento vegetal (Cardoso e Nogueira, 2007).

CONCLUSÕES

A inoculação de sementes de alface, cultivar Grand Rapids TBR, com as rizobactérias *Bacillus pumilus* 01 e *Bacillus subtilis* 34, e o uso do substrato solo+esterco+areia (1:1:1), proporcionam produção de sementes de alface mais elevadas.

O tratamento de sementes com a rizobactéria *Bacillus pumilus* 01 associado aos substratos solo+esterco+areia (1:1:1) e solo+Bioplant® (2:1), favorece a produção de sementes de melhor qualidade fisiológica.

AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa e a Universidade Estadual de Montes Claros (UNIMONTES) pelo apoio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abud, H.F.; Araujo, E.F.; Araujo, R.F.; Araujo, A.V. & Pinto, C.M.F. (2013). Qualidade fisiológica de sementes das pimentas malagueta e biquinho durante a ontogênese. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, vol. 48, n. 12, p. 1546-1554. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2013001200003>
- Amaro, H.T.R.; David, A.M.S. de S.; Neta, I.C.S.; Assis, M. de O.; Araújo, E.F. & Araújo, R.F. (2014) – Teste de envelhecimento acelerado em sementes de crambe (*Crambe abyssinica* Hochst), cultivar FMS Brillhante. *Revista Ceres*, vol. 61, n. 2, p. 202-208. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-737X2014000200007>
- Araújo, F.F. (2008) – Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. *Ciência Agrotecnológica*, vol. 32, n. 2, p. 456-462. <https://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542008000200017>
- Araújo, F.F. de & Carvalho, M.H.M. de (2009) – Crescimento de tomateiro após tratamento de mudas com *Bacillus subtilis* e carbofuran. *Bioscience Journal*, vol. 25, n. 4, p. 59-64.
- Araújo, F.F.; Henning, A. & Hungria, M. (2005) – Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, vol. 21, n. 8-9, p. 1639-1645. <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-005-3621-x>
- Brasil (2009) – *Regras para análise de sementes*. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. MAPA/ACS Secretaria de Defesa Agropecuária.
- Cardoso, E.J.B.N. & Nogueira, M.A. (2007) – A rizosfera e seus efeitos na comunidade microbiana e na nutrição de plantas. In: Silveira, A.P.D. & Freitas, S.S. (Eds.) – *Microbiota do solo e qualidade ambiental*. Campinas, SP: Instituto Agrônomico. p. 79-96.
- Carvalho, N.M. & Nakagawa, J. (2012) – *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 5.ª ed. Jaboticabal: FUNEP, 590 p.
- Dan, L.G.M.; Dan, H.A.; Barroso, A.L.L. & Braccini, A.L. (2010) – Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas com inseticidas sob efeito do armazenamento. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 32, n. 2, p. 25-28. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222010000200016>

- Dias, M.A.; Lopes, J.C.; Corrêa, N.B. & Dias, D.C.F.S. (2008) – Germinação de sementes e desenvolvimento de plantas de pimenta malagueta em função do substrato e da lâmina de água. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 30, n. 3, p. 115-121. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222008000300015>
- Filgueira, F.A.R. (2003) – *Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. 3.^a ed. Viçosa, MG: UFV, 421 p.
- Gonçalves, E.P.; Alves, E.U.; Bruno, A.R.L.; França, P.R.C.; Silva, K.B. & Galindo, A.E. (2007) – Germinação e vigor de sementes de *Crataeva tapia* L. em diferentes substratos. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, vol. 29, n. 4, p. 363-367. <http://dx.doi.org/10.4025/actasciobiolsci.v29i4.874>
- Harthmann, O.E.L.; Mogor, A.F.; Filho J.A.W.; Luz, W.C. da & Biasi, L.A. (2009) – Tratamento de sementes com rizobactérias na produção de cebola. *Ciência Rural*, vol. 39, n. 9, p. 2533-2538. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782009000900023>
- Maguire, J.D. (1962) – Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, vol. 2, p. 176-177.
- MAPA (2005) – *Instrução normativa n.º 25*, de 16 de dezembro de 2005. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. [cit. 2016.01.11] http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaato.do?method=consultarlegislacao_federal.
- Marcos Filho, J. (2015) – *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba: Fealq, 495 p.
- Marques, E.; Aquiles, K.R.; Blum, L.E.B. & Uesugi, C.H. (2014) – Bactérias extremófilas facultativas melhorando a germinabilidade de sementes de *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake. *Revista Árvore*, vol. 38, n. 3, p. 489-494. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622014000300011>
- Martínez, L.L.; Peniche, R.A.M.; Iturriaga, M.H.; Medrano, S.M.A. & Aguilar, J.R.P. (2013) – Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento. *Revista Fitotecnia Mexicana*, vol. 36, n. 1, p. 63-69.
- Moreira, E.R.; Boliani, A.C.; Corrêa, L. de S.; Pagliarini, M.K.; Santos, D.M.A. dos; Junior, E.F. & Pereira, G.A. (2015) – Tratamentos pré-germinativos e substratos na emergência de sementes e qualidade de mudas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). *Semina: Ciências Agrárias*, vol. 36, n. 2, p. 657-668. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n2p657>
- Neves, J.M.G.; Silva, H.P. da & Duarte, R.F. (2010) – Uso de substratos alternativos para produção de mudas de moringas. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, vol. 5, n. 1, p. 173-177.
- Panobianco, M. & Marcos-Filho, J. (2001) – Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de tomate. *Scientia Agricola*, vol. 58, n. 3, p. 525-531. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162001000300014>
- Rezende, B.L.A.; Cecílio Filho, A.B.; Feltrim, A.L.; Costa, C.C. & Barbosa, J.C. (2006) – Viabilidade da consorciação de pimentão com repolho, rúcula, alface e rabanete. *Horticultura Brasileira*, vol. 24, n. 1, p. 36-41.
- Ribeiro, H.B.; Ribeiro, R.C.F.; Xavier, A.A.; Campos, V.P.; Dias-Arieira, C.R. & Mizobutsi, E.H. (2012) – Resíduos de frutos de pequi no controle do nematóide das galhas em tomateiro. *Horticultura Brasileira*, vol. 30, n. 3, p. 453-458. <https://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362012000300016>
- Ribeiro, A.C.; Guimarães, P.T.G. & Alvares, V.H. (1999) – *Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais*: 5.^a aproximação. Viçosa, MG: UFV, p. 97-159.
- Scalon, S.P.Q. & Jeromine, T.S. (2013) – Substratos e níveis de água no potencial germinativo de sementes de uvaia. *Revista Árvore*, vol. 37, n. 1, p. 49-58. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622013000100006>
- Silva, K.B.; Pinto, M. do S. de C.; Melo, E.N. de; Pereira, L.M.; Dantas, L.T.; Bezerra, M.D. & Sousa, N.A. de (2015) – Influência de diferentes substratos na emergência e crescimento inicial de plântulas de Chichádo-cerrado (*Sterculia striata* A. St. Hill. & Naudin) Sterculiaceae. *Revista Agropecuária Técnica*, vol. 36, n. 1, p. 176-182.
- Tarnawski, S.; Hamelin, J.; Jossi, M.; Aragno, M. & Fromin, N. (2006) – Phenotypic structure of *Pseudomonas* populations is altered under elevated pCO₂ in the rhizosphere of perennial grasses. *Soil Biology & Biochemistry*, vol. 38, n. 6, p. 1193-1201. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.10.003>
- Tunes, L.M.; Pedroso, D.C.; Barbieri, A.P.P.; Conceição, G.M.; Roething, E.; Muniz, M.F.B. & Barros, A.C.S.A. (2011) – Envelhecimento acelerado modificado para sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.) e sua correlação com outros testes de vigor. *Revista Brasileira de Biociências*, vol. 9, n. 1, p. 12-17.

- Vaz, M.V.; Canedo, E.J.; Machado, J.C.; Vieira, B.S. & Lopes, E.A. (2011) – Controle biológico de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita* com *Bacillus subtilis*. *Perquirere. Revista do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão*, vol. 1, n. 8, p. 203-212.
- Zietemann, C. & Roberto, S.R. (2007) – Produção de mudas de goiabeira (*Psidium guajava* L.) em diferentes substratos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, vol. 29, n. 1, p. 137-142. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452007000100030>