



Seleção de bactérias promotoras de crescimento em eucalipto em condições de casa de vegetação

Rayka Kristian Alves Santos^{1*}, Carmela Amalia Scipioni², Theilon Henrique de Jesus Macedo³, Carol Chaves Nascimento², Joelma da Silva Santos¹, Joilson Silva Ferreira⁴

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi selecionar em casa de vegetação bactérias que promovam o crescimento de plantas de eucalipto. O experimento foi realizado com o clone AEC 144 de *Eucalyptus urophylla*, no período de Junho a Agosto de 2016, com duração de 45 dias, tendo como tratamento 14 isolados bacterianos e 1 controle sem inoculação, com 4 repetições e perfazendo 60 parcelas, disposto em delineamento inteiramente casualizado. Foi avaliado a altura das plantas, diâmetro, índice de robustez das mudas e a contagem do número de folhas das plantas. Foi realizado o teste de Skot knott a 5% com as médias dos tratamentos. Os isolados bacterianos nativos de eucalipto UESBJNR32E, UESBJNR6E, UESBJNR5E, UESBJNR3E, UESBJMR6E, UESBJMR21E promovem o crescimento em plantas de eucalipto.

Palavras-chave: *Eucalyptus urophylla*; desenvolvimento de plantas; rizobactérias.

Selection of growth promoting bacteria in eucalyptus under greenhouse conditions

ABSTRACT: The objective of this work was to select in greenhouse bacteria that promote the growth of eucalyptus plants. The experiment was carried out with the AEC 144 clone of *Eucalyptus urophylla*, from June to August 2016, with a duration of 45 days, with 14 bacterial isolates and 1 control without inoculation, with 4 replicates and 60 plots. completely randomized design. The height of the plants, diameter, robustness index of the seedlings and the number of leaves of the plants were evaluated. The Skot knott test was performed at 5% with the means of the treatments. Bacterial native eucalyptus isolates UESBJNR32E, UESBJNR6E, UESBJNR5E, UESBJNR3E, UESBJMR6E, and UESBJMR21E promote growth in eucalyptus plants.

Keywords: *Eucalyptus urophylla*; plant development; rhizobacteria.

INTRODUÇÃO

A interação entre planta e microrganismo é uma etapa essencial para a maioria dos fatores relacionados ao crescimento das plantas, esta associação depende de diversos elementos, como genótipo, idade da planta, tipos de exsudatos liberados, fatores edáficos, clima, interação da microbiota do solo (CAI et al., 2012; CARVALHAIS et al., 2013), tudo isso facilita ou dificulta esta associação.

As bactérias promotoras de crescimento ao se associarem as plantas podem agir como, biofertilizantes (aumentando a disponibilidade de nutrientes para a planta), fitoestimulantes (devido a promoção de crescimento de plantas, geralmente através de hormônios), rizoremediadores (devido a degradação de poluentes orgânicos) e biopesticidas pelo controle de doenças (SOMERS et al., 2004; ANTOUN, PRE'VOST, 2005).

A fim de elucidar essas ações e comprovar sua eficiência em campo, os ensaios com isolados bacterianos são necessários, pois conseguem mostrar padrões e respostas que podem ser diferentes dos apresentados em laboratório.

A inoculação de bactérias promotoras de crescimento pode ser realizada de diversas formas, sendo aplicadas como inoculante líquido

(SINGLETON et al., 2002), turfoso, granulado (XAVIER et al., 2004), com uso de material orgânico (ALBAREDA et al., 2008), material inorgânico (SARAVANAKUMAR et al., 2009), aplicação direta no sistema radicular (CHOUDHURY, KENNEDY 2004), sementes (CLAYTON et al., 2004), hastes ou miniestacas, buscando a promoção de crescimento das plantas, que resulta em incrementos na parte aérea, massa seca, crescimento radicular, dentre outros.

Na cultura do eucalipto poucos estudos foram realizados com a seleção de bactérias, porque a maioria dos trabalhos cessam as pesquisas em laboratório, ou já usam produtos selecionados e disponíveis no mercado, estes estudos com bactérias promotoras de crescimento tem selecionado espécies em diversas culturas como soja, milho, sorgo, arroz, feijão, dentre outros, e devido à importância econômica do eucalipto (ABRAF 2010), é essencial o estudo de tecnologias que auxiliem no crescimento das plantas, que intensifique a produção e minimize os gastos.

Diante disto, o objetivo deste trabalho foi selecionar em casa de vegetação bactérias que promovam o crescimento de plantas de eucalipto.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, com o clone AEC144 de *Eucalyptus urophylla*.

Este experimento foi desenvolvido de Junho a Agosto de 2016, sendo 45 dias de avaliação, utilizando mudas com idade de 100 dias, plantadas em vasos de 14 litros.

Os vasos foram preenchidos com amostra de solo representativo do campo agropecuário da UESB, com as características químicas: pH em H₂O 5,4; P 4 mg dm⁻³; Ca 3,5 cmol_c dm⁻³; Mg 0,9 cmol_c dm⁻³; K 0,25 cmol_c dm⁻³; Al 0,1 cmol_c dm⁻³, V 66%, o qual foi previamente adubado, buscando a correção da fertilidade e atender as demandas nutricionais tradicionalmente estabelecidas para a cultura do eucalipto (RIBEIRO et al., 1999).

Os tratamentos foram constituídos por 14 isolados bacterianos e 1 controle sem inoculação, totalizando 15 tratamentos com 4 repetições e perfazendo 60 parcelas, disposto em delineamento inteiramente casualizado.

Os isolados bacterianos foram crescidos em meio Dygs líquido, e inoculados nas mudas, conforme os respectivos tratamentos, com 3 ml da solução bacteriana colocados diretamente em contato com a raiz antes do plantio, todos os isolados foram padronizados com uma população de 10⁹ ufc (unidades formadoras de colônia).

Foram utilizados os isolados: UESBJNR2E, UESBJNR32E, UESBJNR6E, UESBJMR2E, UESBLGF2E, UESBJNR1E, UESBJNR3E, UESBJNR5E, UESBJMR21E, UESBJNR4E, UESBJMF2E, UESBJMF3E, UESBJNF4E, UESBJM6R, todos isolados anteriormente de plantas de *Eucalyptus* sp.

Ao fim dos 45 dias foi avaliada a altura das plantas com auxílio de régua graduada, o diâmetro com uso de paquímetro digital, o índice de robustez das mudas que é a razão da altura dividida pelo diâmetro, e foi realizada a contagem do número de folhas das plantas.

Em ambos experimentos, os resultados obtidos, foram submetidos à análise de Normalidade (Teste de Lilliefors) e Homogeneidade (Teste de Batlett) dos dados, conforme recomendação de Banzatto, Kronka (2006). A análise de variância (ANAVA) foi realizada pelo programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011), e quando o teste F foi significativo as médias foram submetidas ao teste de Scott Knott a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A variável altura foi influenciada quando foram inoculados os isolados UESBJNR2E, UESBJNR32E, UESBJNR6E, UESBLGF2E, UESBJNR5E, UESBJNR4E, UESBJMF3E, UESBJNF4E e na presença do tratamento controle sem inoculação, entretanto os isolados UESBJNR32E e UESBJNR5E apresentaram crescimento superior de 3,48% em relação ao controle (Tabela 1).

Tabela 1. Altura (ALT), diâmetro (DIA), índice de robustez (HD), número de folhas (NUF) do clone AEC144 de *Eucalyptus urophylla*, sob inoculação de isolados bacterianos.

TRATAMENTOS	ALT(cm)	DIA(mm)	HD	NUF
CONTROLE	43,00A	4,69B	9,17A	50,00D
UESBJNR2E	44,25A	5,68A	7,81B	56,00D
UESBJNR32E	44,50A	5,88A	7,54B	58,00D
UESBJNR6E	43,00A	5,67A	7,63B	61,00D
UESBJMR2E	43,75A	4,65B	9,53A	61,00D
UESBLGF2E	42,50A	4,91B	8,66A	68,00C
UESBJNR1E	38,50B	4,99B	7,72B	68,00C
UESBJNR3E	41,25B	5,75A	7,18B	68,00C
UESBJNR5E	44,50A	5,56A	8,03B	69,00C
UESBJMR21E	40,50B	5,50A	7,44B	69,00C
UESBJNR4E	43,00A	5,32A	8,08B	70,00C
UESBJMF2E	38,75B	4,71B	8,24B	70,00C
UESBJMF3E	43,25A	5,70A	7,64B	79,00B
UESBJNF4E	43,50A	5,60A	7,76B	92,00A
UESBJMR6E	41,00B	5,25A	7,80B	94,00A
CV (%)	4,94	8,62	7,46	9,63

Valores apresentados são provenientes da média de quatro repetições. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância.

Em relação ao diâmetro das plantas (Tabela 1), este foi superior na presença dos isolados UESBJNR2E, UESBJNR32E, UESBJNR6E, UESBJNR3E, UESBJNR5E, UESBJMR21E, UESBJNR4E, UESBJMF3E, UESBJNF4E, UESBJMR6E, sendo que o isolado UESBJNR32E foi superior ao controle 25,37%.

Os isolados bacterianos citados anteriormente, promoveram valores de diâmetro superiores à 5,00mm, e conforme Zwolinsky, Donald (1993), mudas com diâmetro de 5,00mm apresentaram uma taxa de sobrevivência de 85% no campo após 2 meses.

O índice de robustez está associado a estabilidade das plantas no campo, este indica o quanto a planta esta delgada e por consequência a estabilidade da planta, sabe-se que quanto menor este valor melhor será esta relação (GOMES, PAIVA 2004).

Diante disto, os melhores resultados foram obtidos da presença dos isolados UESBJNR2E, UESBJNR32E, UESBJNR6E, UESBJNR1E, UESBJNR5E, UESBJMR21E, UESBJNR4E, UESBJMF2E, UESBJMF3E, UESMJNF4E, UESBJMR6E e UESBJNR3E sendo este último superior 21,70% ao controle, apresentando o menor índice de robustez, e por consequência uma melhor qualidade de muda no campo (Tabela 1).

O número de folhas das plantas foi a característica que mais diferenciou os isolados, sendo que os isolados UESBJNF4E e UESBJMR6E apresentaram maior quantidade de folhas, sendo o último superior 88% ao controle (Tabela 1).

O isolado UESBJNR32E que se destacou nas avaliações de altura e diâmetro, foi caracterizado anteriormente como produtor de auxina (65,13 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ AIA) e como fixador de nitrogênio, estas características aliadas resultaram em respostas significativas, visto que a produção de auxina favorece a expansão dos tecidos resultando posteriormente em ganhos em altura e diâmetro, e a possibilidade de fixar nitrogênio e o disponibilizar para a planta, faz com que a planta cresça devido a produção de novos tecidos ocasionados pela maior presença de moléculas de DNA e RNA.

Os isolados UESBJNR3E e UESBJMR6E, que se destacaram nas avaliações de robustez e número de folhas, respectivamente, são isolados caracterizados como produtores de AIA (66,04 e 66,54 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), a produção de auxina geralmente afeta a divisão celular, extensão, e diferenciação, aumenta a taxa de desenvolvimento do xilema e da raiz e controla processos de crescimento vegetativo (GLICK, 2012), respostas que corroboram com o resultado obtido neste trabalho.

Pode-se constatar que estas bactérias nativas tem a capacidade de estimular o crescimento vegetativo nas plantas de eucalipto, e outro fato importante é que o isolado UESBJNR32E foi isolado de mudas de *E. urophylla* clone AEC144, mesmo clone utilizado neste experimento, deixando claro mais uma vez a importância da simbiose das bactérias com os genótipos específicos.

Este experimento de seleção conseguiu respostas satisfatórias ao crescimento das plantas de eucalipto e ressaltou a importância do uso de bactérias promotoras de crescimento que podem auxiliar o crescimento posterior no campo, visto que estas bactérias auxiliam na robustez das plantas e isso ajuda a tolerar as adversidades do campo logo após o plantio.

CONCLUSÕES

Os isolados bacterianos nativos de eucalipto UESBJNR32E, UESBJNR6E, UESBJNR5E, UESBJNR3E, UESBJMR6E, UESBJMR21E promovem o crescimento em plantas de eucalipto.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento à FAPESB pela concessão da bolsa de Doutorado, à UESB pela infraestrutura, e ao CNPQ pelo Edital Universal 2014-6.

REFERÊNCIAS

- ALBAREDA, M.; RODRIGUEZ-NAVARRO, D.N.; CAMACHO, M. TEMPRANO, F. J. Alternatives to peat as a carrier for rhizobia inoculant: solid and liquid formulations. *Soil Biol Biochem* v. 40, p. 2771-2779. 2008
- ANTOUN, H.; PRE´VOST, D., 2005. **Ecology of plant growth promoting rhizobacteria**. In: Siddiqui, Z.A. (Ed.), PGPR: biocontrol and biofertilization, Springer, Dordrecht, p. 1-38.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS (ABRAF). **Anuário estatístico da ABRAF 2010 ano base 2009**. Brasília: ABRAF, 2010. 140 p.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2008. 237 p.
- CAI, Z.; KASTELL, A.; KNORR, D.; SMETANSKA, I. Exudation: Na expanding technique for continuous production and release PGPB in agricultural soils of secondary metabolites from plant cell suspension and hairy root cultures. *Plant cell reports* v.31, p. 461-477. 2012.
- CARVALHAIS, L.C.; DENNIS, P.G.; FAN, B.; FEDOSEYENKO, D.; KIERUL, K.; BECKER, A.; VON WIREN, N.; BORRIS, R. Linking plant nutritional status to plant-microbe interactions. *PLoS One*. 2013
- CHOUDHURY, A. T.M.A.; KENNEDY, I.R.; Prospects and potentials for systems of biological nitrogen fixation in sustainable rice production. *Biol Fertil Soils* 39:219-227. 2004
- CLAYTON, G.W.; RICE, W.A.; LUPWAYI, N. Z.; JOHNSTON, A.M.; LAFOND, G. P.; GRANT, C.A.; WALLEY, F. Inoculant formulation and fertilizer nitrogen effects on field pea: crop yield and seed quality. *Can J Plant Sci* 84:89-96. 2004
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

- GLICK, B.R., 2012. **Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications**. Hindawi Publishing Corporation, Scientifica.
- GOMES, J, M; PAIVA, H, N. **Viveiros florestais: propagação sexuada** 3. Ed. Viçosa, MG: UFV, 2004, 116p.
- SARAVANAKUMAR, D.; LAVANYA, N.; MUTHUMEENA, K.; RAGUCHANDER, T.; SAMIYAPPAN, R. Fluorescent pseudomonad mixtures mediate disease resistance in rice plants against sheath rot (*Sarocladium oryzae*) disease. **Biocontrol** 54:273–286. 2009
- SINGLETON, P.; KEYSER, H.; SANDE, E. **Development and evaluation of liquid inoculants**, in: Herridge D (ed) Inoculants and nitrogen fixation of legumes in Vietnam. ACIAR Proceedings 109, Canberra, p 52–66. 2002
- Xavier, I. J.; Holloway, G.; Leggett, M. **Development of rhizobial inoculant formulations**. Online Crop Manag Netw. 2004