

Bactérias associativas como promotoras de crescimento em *Eucalyptus urophylla*

Associative bacteria as growth promoters in Eucalyptus urophylla

Rayka Kristian Alves Santos¹, Joilson Silva Ferreira², Joelma da Silva Santos³,
Vinicius Alves Rodrigues⁴, Vera Lucia Divan Baldani⁵

RESUMO: O objetivo do trabalho foi selecionar, em casa de vegetação, bactérias associativas com potencial de promover o crescimento e desenvolvimento de plantas de eucalipto. Para o experimento foi utilizado o clone AEC 144 da espécie *Eucalyptus urophylla*. O período de condução do experimento compreendeu os meses de março a maio de 2017, com duração de 30 dias. Os tratamentos foram compostos por 17 isolados bacterianos e 1 controle sem inoculação, com 4 repetições, dispostos em DIC. Foi avaliada a altura, diâmetro, número de brotações, contagem do número de folhas das plantas, Índice Spad e peso de massa seca de parte aérea. Os isolados bacterianos JN32R, JN6R, JN5R, JN3R, JM6R, JM21R, JM5R, nativos do eucalipto; e as estirpes LGAM82, ZAE94, J11 e N15 promovem o crescimento e desenvolvimento em *Eucalyptus urophylla* nos primeiros 30 dias após a inoculação.

Palavras-chave: Bactérias rizosféricas. Eucalipto. Inoculação. Isolados bacterianos. Promoção do crescimento vegetal.

ABSTRACT: The objective of this work was to select, in a greenhouse, associative bacteria that promote the growth and development of eucalyptus plants. For this, the selection experiment used the AEC 144 clone of *Eucalyptus urophylla*, the experiment was carried out from March to May 2017, lasting 30 days, the treatments were 17 bacterial isolates and 1 control without inoculation, 4 replications, arranged in DIC. The height, diameter, number of shoots, counting of the number of leaves of the plants, Spad Index and dry weight of aerial part were evaluated. Bacterial isolates JN32R, JN6R, JN5R, JN3R, JM6R, JM21R, JM5R, native to eucalyptus; and strains LGAM82, ZAE94, J11 and N15 promote growth and development in eucalyptus.

Keywords: Bacterial isolates. Eucalyptus. Inoculation. Promotion of plant growth. Rhizospheric bacteria.

Autor correspondente: Rayka Kristian Alves Santos
E-mail: raykakristian@yahoo.com.br

Recebido em: 02/03/2022
Aceito em: 19/01/2023

INTRODUÇÃO

Com o aumento da população mundial existe a necessidade de aumento da produção agrícola, por isso é essencial a busca por alternativas que ajudem a maximizar os ganhos de produtividade com menor dano ao meio ambiente. Nesse contexto, a microbiota do solo é

¹ Pós-Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Agronomia, DFZ.

² Professor titular no Departamento de Fitotecnia e Zootecnia- Laboratório de Biotecnologia Florestal.

³ Doutora em Fitotecnia. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

⁴ Mestre em Fitotecnia. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

⁵ Embrapa Agrobiologia- Seropédica (RJ), Brasil.



primordial para o auxílio no desenvolvimento das culturas, a interação entre esses micro-organismos e a cultura irá proporcionar respostas referentes ao crescimento, controle de patógenos, melhoria de condição de solo, resposta a fatores bióticos e abióticos.

É sabido que cada cultura devido à sua produção de exsudatos radiculares e especificações de metabolismo interagem com diferentes grupos de micro-organismos, dentre eles destacam-se as bactérias que promovem o crescimento das plantas (BPCP's).

As BPCP's têm a capacidade de realizar a fixação biológica de nitrogênio (Prando *et al.*, 2019), apresentam uma simbiose mutualística que podem promover o crescimento das plantas através da solubilização de fosfato, além de produção de sideróforos e fitohormônios e como agentes de biocontrole (Maougal *et al.*, 2021).

A associação dessas bactérias depende de fatores como genótipo, idade da planta, tipos de exsudatos liberados, fatores edáficos, clima, interação com a microbiota do solo, entre outros (Carvalho *et al.*, 2013; Cai *et al.*, 2012), mas a eficácia da aplicação dessas BPCP's, segundo Zul *et al.* (2022), depende da quantidade de inóculo e das condições ambientais.

Após o processo de isolamento inicial desse grupo de bactérias, é necessária uma seleção quanto às suas respostas ao crescimento inicial da cultura. Para o eucalipto poucos estudos foram desenvolvidos até o momento com esse objetivo, por isso é tão importante determinar quais bactérias têm a capacidade de promover crescimento inicial, que auxiliarão tanto no desenvolvimento inicial de mudas em viveiro, quanto no desenvolvimento posterior destas plantas no campo.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi selecionar bactérias que promovem o crescimento inicial em *Eucalyptus urophylla* e que posteriormente podem ser utilizadas como insumos biológicos para o desenvolvimento da cultura.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Campus Agropecuário da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia em Vitória da Conquista (BA) (14° 51'S; 40° 50' W), com altitude média de 850 metros, no período de março a maio de 2017, utilizando mudas de *E. urophylla* com idade de 100 dias, plantadas em vasos de 18 litros.

Os vasos foram preenchidos com amostra de solo representativo do campo agropecuário classificado como Latossolo Amarelo típico, com clima regional classificado como tropical de

altitude (Cwb), de acordo com Köppen, com pluviosidade média anual em torno de 735 mm, as características químicas do solo: pH em H₂O 5,6; P 3 mg dm⁻³; Ca 2,5 cmolc dm⁻³; Mg 0,7 cmolc dm⁻³; K 0,22 cmolc dm⁻³; Al 0,1 cmolc dm⁻³; V 63%, o qual foi previamente adubado, buscando a correção da fertilidade e atendimento às demandas nutricionais tradicionalmente estabelecidas para a cultura do eucalipto (Ribeiro *et al.*, 1999).

Os tratamentos foram constituídos por 17 isolados bacterianos e 1 controle sem inoculação, totalizando 18 tratamentos com 4 repetições, perfazendo 72 parcelas, dispostos em delineamento inteiramente casualizado (DIC).

Os isolados bacterianos foram multiplicados 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 u.f.c.

Foram utilizados os isolados: JN5R, LG2F, JM3F, JN32R, JN6R, JM21R, JN3R, JM32R, JM2F, JM2R, JM6R, JM5R (isolados de *Eucalyptus* spp.); ZAE94 (*Herbaspirillum seropedicae*); LGAM82 e JMBR366 (os três cedidos pela Embrapa Agrobiologia - Seropédica); J11 e N15 (isolados de milho).

Ao fim dos 30 dias, foi avaliada a altura (cm) das plantas com auxílio de régua graduada, o diâmetro (mm) com uso de paquímetro digital, a contagem do número de folhas das plantas, o número de brotações crescidas ao longo do experimento e o índice Spad utilizando-se um clorofilômetro marca Opti-scienses, modelo CCM/200.

A avaliação foi realizada em três folhas completamente expandidas e fisiologicamente maduras, localizadas na porção mediana da copa. Para cada planta, considerou-se o índice Spad como resultante da média aritmética das três folhas: peso de massa seca de parte aérea, cujo material foi acondicionado em embalagens de papel e submetido à secagem em estufa com circulação forçada de ar, à temperatura de 65 °C, durante 72 horas, e o peso foi verificado utilizando balança de precisão de 0,001 mg.

2.1 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Em ambos os experimentos, os resultados obtidos foram submetidos à análise de Normalidade (Teste de Lilliefors) e Homogeneidade (Teste de Batlett) dos dados, conforme recomendação de Banzatto e 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%.

A análise de componentes principais foi realizada pelo programa XLSTAT, considerando os valores de correlação de Pearson 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da seleção foram significativos para todas as características avaliadas. A altura das plantas foi superior quando inoculadas com os isolados JM5R, N15, JM32R e LGAM82, e não diferiram estatisticamente entre si, mas diferiram dos demais isolados e do tratamento controle, apresentando alturas de 39,00 cm, 37,75 cm, 37,25 cm e 37,00 cm, respectivamente. O isolado JM5R proporcionou crescimento superior ao tratamento controle em 9,25 cm (Tabela 1).

Em relação ao diâmetro, os isolados LG2F, JM21R, JM32R, JM2F, JM2R, ZAE94, LGAM82, JM32R e o isolado JN5R que apresentou a maior média sendo esse um incremento de 27,85% superior ao controle.

Para o índice Spad os isolados LG2F, JN32R, JM32R, JM2F, JM6R, ZAE94, J11, LGAM82, JM32R e o controle apresentaram os maiores índices (Tabela 1).

Com relação ao número de brotações os isolados que promoveram melhor resposta foram: JM21R, JN3R, JM32R, JM2R, JM5R, ZAE94, LGAM82 e N15, com incrementos de até 108%, superiores ao controle (Tabela 1).

O número de folhas com o uso do isolado JN3R (Tabela 1) proporcionou um incremento de 123%, superior ao controle, devido ao aumento expressivo na área fotossintética da planta, o que resulta em maior disposição de carboidratos e crescimento da planta, podendo ser observado nos parâmetros de diâmetro, índice Spad e número de brotações com a ação dessa mesma bactéria.

Por fim, a massa seca de parte aérea das plantas foi significativa e superior, quando houve a associação com os isolados JN5R, JN32R, JN6R, JN3R, JM32R, JM2R, JM5R, ZAE94, J11, LGAM82 e N15. Além disso, o isolado nativo de eucalipto JN3R proporcionou um incremento de 39,10%, superior ao controle (Tabela 1).

Tabela 1. Altura (ALT), diâmetro (DIA), índice Spad (SPAD), número de folhas (NUF), número de brotações (BROT) e massa seca de parte aérea (MPA) do clone AEC144 de *Eucalyptus urophylla*, sob inoculação de isolados bacterianos

Tratamentos	ALT (cm)	DIA (mm)	SPAD	BROT	NF	MPA (g)
Controle	29,75D	3,77C	51,22A	3,00B	10,75C	7,80C
JN5R	28,50D	4,82A	43,15D	4,50B	11,00C	9,79A
LG2F	28,50D	4,47A	51,02A	3,00B	9,25D	8,06C
JM3F	30,00D	3,97C	45,95C	4,25B	11,25C	9,08B
JN32R	30,25D	3,87C	49,40A	3,50B	11,75C	9,76A
JN6R	31,62C	4,23B	48,65B	4,37B	13,25C	10,51A
JM21R	32,75C	4,37A	47,87B	5,75A	11,00C	8,47C
JN3R	34,50B	4,66A	47,25B	6,25A	24,00A	10,85A
JM32R	34,75B	4,64A	50,40A	6,25A	17,75B	10,25A
JM2F	35,00B	4,34A	50,77A	4,75B	8,50D	9,39B
JM2R	35,00B	4,58A	48,07B	6,25A	11,75C	10,71A
JM6R	30,25D	4,18B	49,52A	3,50B	8,75D	9,27B
JM5R	39,00A	4,08B	48,07B	6,25A	15,00B	9,77A
ZAE94	31,75C	4,32A	50,75A	6,25A	17,25B	10,76A
J11	35,50B	4,65A	49,47A	4,25B	11,00C	10,77A
LGAM82	37,00A	4,52A	52,35A	5,00A	13,25C	10,52A
JMBR366	37,25A	4,45A	50,70A	3,75B	8,25D	9,42B
N15	37,75A	4,15B	48,67B	5,50A	11,25C	10,10A
CV (%)	4,04	5,38	3,6	22,5	15,97	8,18

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.

Smethurst *et al.* (2003) afirmam que o crescimento em biomassa do eucalipto está correlacionado com a adição da adubação nitrogenada, e esta prática promove aumento em área foliar e, conseqüentemente, aumento de volume do tronco, quando se utilizam bactérias associativas que têm funções de fixação biológica do nitrogênio espera-se que ocorra a maior disponibilidade deste nutriente e, por consequência, respostas no crescimento, como foi visto no trabalho em altura, diâmetro e número de brotações.

Costa *et al.* (2014) afirmam que a expressão de características de crescimento de plantas realizado por bactérias associativas está relacionado com a fertilidade do solo, em condições ricas em nutrientes as plantas interagem preferencialmente com bactérias produtoras de hormônios de crescimento, já em condições de baixa fertilidade as interações ocorrem com bactérias que aumentem a aquisição de nutrientes pelas plantas.

A análise de componentes principais (Pca) foi realizada extraindo-se apenas os dois primeiros componentes, F1 e F2, sendo que o somatório dos mesmos explicou 58,42% da variabilidade original dos dados (Figura 1). Destes, 38,32% foram explicados pelo componente principal 1 e 20,01% pelo componente principal 2. Assim, os resultados da PCA mostram dois

agrupamentos de dados, elucidando a diferenciação da interação das bactérias e resposta em cada característica.

Observa-se na análise dos componentes principais que a massa seca de parte aérea, número de brotações e número de folhas foram as características que junto com as bactérias JM32R, JM5R, JN3R foram aquelas que mais se aproximaram do eixo X (primeiro componente) e interagiram mais fortemente na resposta do crescimento das plantas, já em relação ao eixo Y (segundo componente) o índice Spad com os isolados JM2F, J11 e JM3R366.

Outro fato importante de salientar é que no PCA (Figura 1) fica nítido o isolamento do tratamento controle bem diferente da ação das bactérias assim como uma ação diferenciada dos isolados JN5R, LG2F e JM3F, efeito importante principalmente quando se compara com o controle, pois deixa claro a ação destas bactérias na promoção do crescimento após a inoculação das plantas.

Mariano *et al.* (2004) afirmam que o comportamento dos micro-organismos quando entram em contato com as plantas pode promover efeitos benéficos, como incremento no desenvolvimento das plantas, neutro ou deletério, por isso fica clara a ação diferenciada de cada isolado. Trabelsi e Mhamdi (2013) afirmam que a associação é íntima e inerente da genética de cada espécie e às interações planta-solo-biota.

Sousa *et al.* (2022), estudando isolados bacterianos em *E. urophylla*, observaram que existe uma interação entre os isolados e as espécies de eucalipto, entretanto há também uma diferença na ação entre os inoculados e que isso deve ser considerado devido aos fatores abióticos (pH, disponibilidade de nutrientes, umidade, aeração, entre outros) e fatores bióticos (composição da microbiota e outros) que podem favorecer a colonização, sobrevivência e atividade benéfica do crescimento de plantas.

Em estudo realizado por Angulo *et al.* (2014) foi observado que as bactérias possuem potencial para serem utilizadas como estimuladoras de crescimento de *E. nitens* em viveiro por 3 meses, devido a funções como produção de auxina e solubilização de fosfato. Puente *et al.* (2010) registraram incrementos de 86% a 54% em biomassa de plântulas de *E. globulus* após 25 dias de avaliação, inoculada com *Azospirillum brasilense*. Zull *et al.* (2022) também observaram que BPCP's selecionados para a aplicação em *E. pellita* foram eficazes no aumento da altura da planta e diâmetro do caule em relação ao controle.

As interações existentes entre micro-organismo(s), inoculante(s), microbiota do solo e a planta hospedeira são vitais não apenas para o crescimento geral e maior produtividade das plantas cultivadas, mas também para manter a integridade da saúde do nosso planeta e ciclagem biogeoquímica (Basu *et al.*, 2021).

Vários estudos têm demonstrado que a inoculação de micro-organismos pode alterar a comunidade microbiana associada às plantas, sendo que a composição ou mesmo a presença de determinados grupos microbianos está fortemente relacionada à promoção do crescimento do vegetal (Han *et al.*, 2019; Deng *et al.*, 2019).

Gouda *et al.* (2018) afirmam que o aprimoramento da aplicação das BPCP's pode servir como chave na agricultura sustentável, auxiliando na fertilidade do solo, a tolerância a estresse, produtividade e equilíbrio de nutrientes. O potencial de uso de micro-organismos benéficos tem forte apelo mundial, sobretudo por se tratar de uma tecnologia de baixo custo, de fácil aplicação e que não gera poluição e que intensifica a agricultura sustentável (Silva *et al.*, 2020).

4 CONCLUSÕES

As bactérias associativas JN32R, JN6R, JN5R, JN3R, JM6R, JM21R, JM5R, nativas do eucalipto, e as estirpes LGAM82, ZAE94, J11 e N15, promovem o crescimento e desenvolvimento em *Eucalyptus urophylla*, nos primeiros 30 dias após a inoculação.

As avaliações de massa seca de parte aérea, número de brotações e número de folhas são as características que correlacionam positivamente o crescimento das bactérias associativas no eucalipto.

REFERÊNCIAS

ANGULO, V. C. *et al.* Caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de *Eucalyptus nitens*. **Revista Argentina de Microbiología**. 46(4): 338-347. 2014.

BASU, A.; PRASAD, P.; DAS, S. N.; KALAM, S.; SAYYED, R. Z.; REDDY, M. S.; EL ENSHASY, H. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Green Bioinoculants: Recent Developments, Constraints, and Prospects. **Sustainability** 13, 1140. 2021.

CAI, Z.; KASTELL, A.; KNORR, D.; SMETANSKA, I. Exudation: An expanding technique for continuous production and release PGPR 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.; BORRISS, R. Linking plant nutritional status to plant-microbe interactions. **PLoS One**. 2013.

COSTA, P. B. *et al.* A model to explain plant growth promotion traits: a multivariate analysis of 2,211 bacterial isolates. **PLOS ONE**, v. 9, n. 12, 2014.

DENG, S. *et al.* A Plant Growth-Promoting Microbial Soil Amendment Dynamically Alters the Strawberry Root Bacterial Microbiome. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-5, 2019.

GOUDA, S. *et al.* Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. **Microbiological Research**, v. 206, p. 131-140, 2018.

HAN, L. *et al.* *Bacillus amyloliquefaciens* B1408 suppresses *Fusarium* wilt in cucumber by regulating the rhizosphere microbial community. **Applied soil ecology**, v. 136, p. 55-66, 2019.

MARIANO, R. L. R. *et al.* Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**. 1:89-111. 2004.

PUENTE, M. L.; GARCÍA, J. E.; PATHAUER, P.; PERTICARI, A. Inoculation with *Azospirillum brasilense* is a useful tool in *Eucalyptus globulus* management. **American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sci**. 8:124-30. 2010.

SILVA, M. A. *et al.* Individual and combined growth-promoting microorganisms affect biomass production, gas exchange and nutrient content in soybean plants. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 33, n. 3, p. 619-632, 2020.

SMETHURST, P. *et al.* Fertilizer effects on LAI and growth of four *Eucalyptus nitens* plantations. **Forest ecology and management**, v. 176, n. 1-3, p. 531-542. 2003.

SOUSA, F. G. *et al.* Genetic diversity and inoculation of plant-growth promoting diazotrophic bacteria for production of *Eucalyptus urophylla* seedlings. **Australian Journal Crop Science** 16(01): 35-44. 2022.

TRABELSI, D.; MHAMDI, R. Microbial Inoculants and Their impact on soil microbial communities: A Review. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.

ZUL, D.; ELVIANA, M.; ISMI, K. R. N.; TASSYAH, K. R.; SIREGAR, B. A.; GAFUR, A.; TJAHJONO, B. Potential of PGPR isolated from rhizosphere of pulpwood trees in stimulating the growth of *Eucalyptus pellita* F. Muell. **International Journal of Agricultural Technology** 18(1): 401-420. 2022.