

PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO EM MUDAS MICROPROPAGADAS DE BANANEIRA POR RIZOBACTÉRIAS

Kaliane Sírío Araújo¹; Karoline Greice Viana Cardoso²; Celma Cardoso Peixoto³;
Elizabeth Ramos⁴; Harllen Sandro Alves Silva⁵; Aldo Vilar Trindade⁶

¹Graduanda Ciências Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; E-mail: kaliasesirio@hotmail.com;

²Mestranda Microbiologia Agrícola, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; E-mail: karolgvc@yahoo.com.br;

³Mestranda Microbiologia Agrícola, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; E-mail: celma_22@yahoo.com.br;

⁴Mestranda Microbiologia Agrícola, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; E-mail: agrobeth@yahoo.com.br

⁵Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical; E-mail: harllen@cnpmf.embrapa.br

⁶Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical; E-mail: aldo@cnpmf.embrapa.br

INTRODUÇÃO

A micropropagação *in vitro* constitui uma ferramenta eficiente na obtenção de mudas saudáveis e homogêneas. Entretanto, a micropropagação também elimina a microbiota benéfica ao crescimento vegetativo. (Lazarovits e Nowak, 1997). A re-introdução de certos microrganismos tanto de forma individual como misturas de isolados, via tratamento de explantes, podem promover o crescimento das futuras plântulas e protegê-las contra doenças (Lazarovits e Nowak, 1997; Siddiqui e Shaukat, 2002). Rizobactérias ou PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria) são bactérias saprófitas que vivem na rizosfera das plantas, e têm sido relacionadas com o incremento da produção agrícola como promotoras do crescimento de plantas e como agentes de biocontrole de doenças (Chen et al., 1996; Liu et al., 1995)

De forma geral, em cultura de tecido, quando explantes vegetais são tratados com culturas de rizobactérias, selecionadas por promoverem o crescimento das plantas, as plântulas apresentam-se mais altas, com maior produção de matéria seca, melhor desenvolvimento do sistema radicular, maior número de folhas, aumentado montante de clorofila e lignina (Nowak et al., 1998). Assim, o objetivo do trabalho é buscar e selecionar rizobactérias com capacidade de produção de ácido indol acético, sideróforos e fosfatase, e estudar seu potencial quanto à aplicação no processo de produção de mudas micropropagadas de bananeira.

METODOLOGIA

Isolamento e preservação das rizobactérias

Inicialmente as amostras de solo da rizosfera de duas variedades de bananeira (Prata Anã e Prata Comum) foram levadas ao laboratório de microbiologia do solo e resíduos orgânicos imediatamente após a sua coleta, e armazenadas em câmara fria ($\approx 8^{\circ}\text{C}$). O isolamento foi realizado pelo método de diluição em placas em meio NA. A seguir as culturas foram preservadas em glicerina (Romeiro, 2001) e mantidas a -80°C .

Seleção *in vitro* de rizobactérias com capacidade de sintetizar ácido indol acético, solubilizar fosfato e produzir sideróforos.

Os isolados foram submetidos a ensaios qualitativos para detecção *in vitro* de possíveis mecanismos de promoção de crescimento. Três repetições para cada teste foram realizados para cada isolado, conforme metodologia descrita por Cattellan (1999), para produção de fosfatase, produção de ácido indol acético (AIA) e produção de sideróforos. Rizobactérias que proporcionaram resultado positivo em ao menos um teste foram selecionados e submetidos a ensaio de antibiose recíproca, visando o emprego em combinação de isolados. O teste usado foi o da dupla camada adaptado de Stonier (1960). Com o objetivo de estudar a possibilidade do uso de misturas de isolados.

Promoção do crescimento em mudas micropropagadas

As combinações formadas obedeceram aos seguintes pré-requisitos: a) síntese de ácido indol acético (AIA); b) síntese de sideróforos ou fosfatase; c) ausência de inibição do crescimento entre isolados. Assim, foram testadas as seguintes combinações: 1) A035 + A139 + A024; 2) A130 + A140 + A137; 3) A155 + A036 + A158; 4) A158 + A024 + C170; 5) A130 + A024 + C233; 6) Controle (explantos não tratados).

A aplicação das rizobactérias foi realizada na etapa de enraizamento por imersão do explante em suspensão aquosa (50 mL) dos isolados por 5 minutos ajustada para 10^9 ufc mL^{-1} , sendo o volume da suspensão dividido pelo número de isolados, sob assepsia. Após, os explantes foram transferidos para frascos contendo meio de enraizamento onde permaneceram por 25 dias. A seguir foram transferidos para tubetes contendo substrato, mantidos em casa de vegetação por 60 dias, quando se procedeu às avaliações. As mudas foram avaliadas quanto à altura, peso seco da parte aérea e do sistema radicular. A média das seis repetições, para cada parâmetro de promoção de crescimento foi considerada como valor 100 no tratamento controle, sendo comparadas aos demais tratamentos. Somados os três valores atribuídos, o tratamento controle apresentava índice de crescimento igual a 300. A comparação entre tratamentos foi realizada pelo Teste Tukey com auxílio do software SAS.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De um total de 302 rizobactérias, sendo 138 de rizosfera da variedade Prata Comum, e 164 de Prata Anã, 13 isolados foram selecionados (Tabela 1). No ensaio de promoção de crescimento das mudas, apenas o tratamento 2, composto pelos isolados A130 + A140 + A137 proporcionaram resultados significativos, com índice de crescimento de 389. Os tratamentos 3, 4 e 5 embora apresentassem índices de crescimento acima do controle não diferiram estatisticamente (Tabela 2). Já o tratamento 1 causou a morte de todos os explantes.

A adição de rizobactérias com capacidade de produzir ácido indol acético (AIA) em quantidades desconhecidas, pode ter contribuído para a morte dos explantes no primeiro tratamento e o baixo crescimento dos tratamentos 3, 4 e 5.

Aspectos como exposição dos explantes às rizobactérias e o ajuste da dosagem para 10^9 ufc mL⁻¹ devem ser considerados e testados para que as rizobactérias realmente proporcionem redução no tempo de enraizamento das mudas e assim diminuição nos custos de produção, sendo incorporadas ao processo de produção das mudas micropropagadas de bananeira.

Tabela 1. Mecanismos de promoção de crescimento por rizobactérias.

Atividade	Rizobactéria
AIA	A035, A039, A130, A140, A155, A158
Fosfatase	A024, A036, A137
Sideróforos	A007, A083, C170, C233

Tabela 2 - Promoção do crescimento de mudas micropropagadas de bananeira por rizobactérias.

Tratamento	IC*
1	0 nd
2	389 a
3	312 b
4	321 b
5	305 b
Controle	300 b

*Índices médios de crescimento seguidos da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo Teste Tukey ($\alpha = 5\%$)

CONCLUSÕES

Rizobactérias são capazes de promover o crescimento de mudas micropropagadas de bananeira em diferentes combinações.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento à FAPESB e ao CNPq, pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CATTELAN, A. J. Métodos quantitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal. Londrina, EMBRAPA, 1999. 36 p.
- CHEN, Y.; MEI, R.; LU, S.; LIU, L.; KLOEPPER, J. W. The use of yields increasing bacteria (YIB) as plant growth-promoting rhizobacteria in chinese agriculture. In: UTKHEDE, R.S.; GUPTA, V.K. (Eds.) Management of soil borne diseases. New Delhi: Kalyani Publishers, 1996. p.165-184.
- LAZAROVITS, G.; NOWAK, J. Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. Hort Science, v. 32, n. 2, p. 188-192, 1997.
- LIU, L.; KLOEPPER, J. W.; TUZUN, S. Induction of systemic resistance in cucumber against bacterial angular leaf spot by plant growth-promoting rhizobacteria. Phytopathology, v. 85, n. 8, p. 843-847, 1995.
- NOWAK, J.; ASIEDU, S. K. BENSALIM, S.; RICHARDS, J.; STEWART, A.; SMITH, C.; STEVENS, D.; STURZ, A. V. From laboratory to applications: challenges and progress with "in vitro" dual cultures of potato and beneficial bacteria. Plant Cell Tissue Organ Culture, v. 52, p. 97-103, 1998.
- ROMEIRO, R. S. Métodos em bacteriologia de plantas. Viçosa: Editora UFV, 2001. 297 p.
- SIDDIQUI, I. A.; SHAUKAT, S. S. Mixtures of plant disease suppressive bacteria enhance biological control of multiple tomato pathogens. Biol Fertil Soils, v. 36, p. 260–268, 2002.
- STONIER, T. *Agrobacterium tumefaciens* Conn. II. Production of an antibiotic substance. Journal of Bacteriology, v. 79, p. 889-898, 1960.