

## Bioprospecção de Bactérias Isoladas de Milho para Promoção de Crescimento de Plantas.

Ikeda, A.C.<sup>1\*</sup>, Szilagy-Zecchin, V.J.<sup>1</sup>, Hungria, M.<sup>2</sup>, Kava-Cordeiro, V.<sup>1</sup>, Glienke, C.<sup>1</sup>, Galli-Terasawa, L.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Genética, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil. <sup>2</sup>Embrapa Soja, Londrina, Brasil.

\* angela@scientist.com

### RESUMO

Isolados bacterianos associados a raízes de milho identificados por sequenciamento parcial do gene 16S RNAr foram avaliados em testes de promoção de crescimento vegetal. Também foram conduzidos testes *in vitro* para a capacidade de produção de sideróforos, solubilização de fosfato, produção de AIA, FBN e produção de enzimas líticas. Cinco isolados apresentaram resultados promissores na caracterização enzimática e nos testes de atividade promotora de crescimento e, portanto, poderão ser avaliados *in vivo* quanto a parâmetros de crescimento vegetal em ensaios em casa de vegetação.

### INTRODUÇÃO

Associações entre raízes de gramíneas e bactérias podem trazer benefícios de incremento na produtividade do milho. Bactérias presentes no solo também podem promover indiretamente o crescimento vegetal, por inibição de fito-patógenos ao produzirem enzimas líticas e, de forma direta, atuam em processos de FBN e solubilização de fosfato, na produção de substâncias análogas a fitormônios, como a auxina, e compostos queladores de ferro (sideróforos) (Araújo *et al.*, 2010). O sequenciamento do gene 16S RNAr é uma ferramenta útil para a identificação da diversidade e estudos filogenéticos de bactérias.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os 24 isolados bacterianos provenientes de fragmentos radiculares de milho, pertencem à coleção do LABGEM, UFPR-Curitiba, Brasil. O DNA genômico foi extraído de acordo com Raeder e Broda (1985). A reação de sequenciamento do gene 16S RNAr foi realizada de acordo com Weisburg *et al.* (1991) e a qualidade das sequências foi avaliada pelo programa *Phred* com edição no programa BioEdit versão 7.0. As sequências editadas foram comparadas no GenBank pelo programa BLAST em busca de alinhamentos significativos. A avaliação da produção das enzimas líticas (celulase, quitinase e pectinase), a detecção da atividade esterásica, a produção de sideróforos, de ácido indol acético (AIA), a solubilização de fosfato e o potencial de fixação biológica de nitrogênio (FBN), foram realizados de acordo com Cattelan (1999).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos testes *in vitro* estão apresentados na Tabela 01. Os isolados que apresentaram os maiores índices de produção de AIA e melhor desempenho nos testes qualitativos foram identificados como pertencentes ao gênero *Bacillus* sp. Isolados desse gênero são amplamente descrito em estudos com promoção de crescimento em plantas (Wahyudi *et al.*, 2011). Os isolados LGMB137, LGMB196 e LGMB216 apresentaram resultados positivos em pelo menos cinco dos sete testes conduzidos e podem ser utilizados em ensaios de casa de vegetação, ainda que a produção de AIA apresente índices baixos, em comparação com o valor máximo observado (22,77 µg/ml). Araújo e Guerreiro (2010) observaram que a maioria dos isolados de *Bacillus* sp. que promoveram crescimento em milho não são os maiores produtores *in vitro* de

AIA, uma vez que a adição de auxina microbiana pode alterar o nível ótimo da auxina endógena, causando inibição do crescimento da planta. Os isolados LGMB189 e LGMB222 apresentaram o segundo e o terceiro maiores níveis de produção de AIA e resultado positivo para pelo menos cinco dos sete testes realizados, sendo assim promissores na promoção de crescimento *in vivo*.

A capacidade de solubilizar fosfato está associada ao aumento da disponibilidade de fósforo para a planta e da eficiência de fixação biológica de nitrogênio. Na cultura de milho, a utilização de bactérias com resultado positivo para FBN e solubilização de fosfato, colabora para a diminuição do uso de fertilizantes fosfatados e nitrogenados, reduzindo custos para o produtor e com menor impacto ambiental. Também, a produção de sideróforos disponibiliza ferro para a planta e inibe, por competição, a colonização de fito-patógenos. Assim, bactérias com resultado positivo para a produção de enzimas líticas podem ser promissoras para o bioantagonismo, uma vez que essas enzimas podem quebrar compostos da parede celular de fito patógenos (Hernández, 2004; Singh, 2013). Concluindo, os isolados LGMB137, LGMB189, LGMB196, LGMB216 e LGMB222 foram selecionados para avaliação de desempenho em ensaios *in vivo* por parâmetros de crescimento vegetal em casa de vegetação.

**Tabela 1.** Resultados dos testes *in vitro* de promoção de crescimento e identificação por sequenciamento parcial do gene 16S RNAr de isolados bacterianos isolados de raízes de milho.

Isolado	ID 16S RNAr	Celulase	Quitinase	Pectinase	Esterase	Sideróforos	Sol Fosfato	FBN	AIA (ug/ml)
LGMB114	<i>Bacillus</i> sp.	+	+	-	-	-	+	+	4,20
LGMB121	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	+	+	-	2,10
LGMB122	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	+	+	-	-	2,10
LGMB124	<i>Bacillus</i> sp.	+	-	-	+	+	-	+	5,96
LGMB127	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	+	22,77
LGMB129	<i>Bacillus</i> sp.	-	+	-	-	+	+	+	4,03
LGMB132	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	0,18
LGMB133	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	+	+	+	+	4,91
LGMB137	<i>Bacillus</i> sp.	+	+	-	-	+	+	+	2,28
LGMB138	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	+	0,18
LGMB158	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	+	+	+	+	1,75
LGMB161	<i>Paenibacillus</i> sp.	-	-	-	+	+	+	-	1,75
LGMB168	<i>Bacillus</i> sp.	+	-	-	-	+	+	-	2,98
LGMB189	<i>Bacillus</i> sp.	+	+	-	+	+	-	+	14,02
LGMB190	<i>Bacillus</i> sp.	+	+	-	-	+	-	-	3,15
LGMB196	<i>Bacillus</i> sp.	+	+	-	+	+	+	+	3,85
LGMB197	<i>Bacillus</i> sp.	-	+	-	+	+	-	-	2,98
LGMB199	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	3,50
LGMB203	<i>Staphylococcus</i> sp.	+	-	-	+	-	-	+	2,80
LGMB215	<i>Bacillus</i> sp.	-	-	-	-	+	-	-	2,98
LGMB216	<i>Bacillus</i> sp.	+	-	-	+	+	+	+	3,33
LGMB220	<i>Paenibacillus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	+	0,18
LGMB222	<i>Bacillus</i> sp.	+	+	-	+	+	+	+	13,84
LGMB224	<i>Bacillus</i> sp.	-	+	-	-	+	-	-	8,76

## AGRADECIMENTOS

À Semilia-Genética e Melhoramento pelo material genético. O trabalho foi parcialmente financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq-Microrganismos Facilitadores (557746/2009-4) e CNPq-Repensa (562008/2010-1).

## REFERÊNCIAS

- Araújo, W.L., *et al.* (2010). CALO, 169p.  
 Araújo, F.F. e Guerreiro, R.T. (2010). *Ciên, Agrotec.* 34: 837-844.  
 Cattelan, A.J. (1999). Embrapa Soja, 36p.  
 Hernández, A. (2004). *Ver. Colom. Biotec.* 6: 6-13  
 Raeder, U., and Broda, P. (1985). *Lett. Appl. Microbiol.* 1: 17-20.  
 Singh, J.S. (2013). *Resonance.* 275-281.  
 Wahyudi, A.T., *et al.* (2011). *J. Microbiol. Antimicrob.* 3: 34-40.  
 Weisburg, W.G., *et al.* (1991). *J. Bacteriol.* 173: 697-703.