

TESTE DE FORMULAÇÕES DE RIZOBACTÉRIAS NA PRODUÇÃO DE MUDAS DE ESPÉCIE NATIVA**Jeane de Fátima Cunha Brandão¹, Isac Jonatas Brandão².**¹ Doutorado em Meio Ambiente pela UFV, FACIG, Jeanefcunha@yahoo.com.br² Mestrado em Economia Aplicada pela UFV, FACIG, isacbrand@yahoo.com.br

Resumo- O objetivo do trabalho foi comparar o efeito de formulações (líquida e sólida) e em suspensão salina de rizobactérias, na germinação de sementes e no crescimento de mudas de Sibipiruna (*Caesalpinia peltophoroides* Benth). Testaram-se os isolados FL2 (*Pseudomonas aeruginosa*), CIIB (*Stenotrophomonas maltophilia*), MF2 (*Pseudomonas* sp.), MF4 (*Pseudomonas* sp.). Para a rizobacterização do substrato, 100 g do inoculante sólido, 100 mL do inoculante em líquido e 500 mL do inóculo em suspensão salina, foram homogeneizados individualmente em caixas plásticas contendo 5 litros de substrato. Para a testemunha, foi adicionado ao substrato apenas água e fertilizante. As análises estatísticas foram feitas no programa STATISTICA e no SAEG. Observou-se diferença significativa entre as formulações líquida, sólida e em suspensão salina, sendo que a formulação líquida promoveu maiores ganhos em altura, matéria seca da parte aérea e do sistema radicular das mudas de sibipiruna, comparando-se com o inóculo em suspensão salina para os isolados CIIB e MF2. Para o FL2, os maiores ganhos na matéria seca de raiz e da parte aérea foram promovidos quando veiculado na forma sólida. O isolado MF4 formulado líquido não diferiu estatisticamente do MF4 em suspensão salina para germinação, altura e matéria seca da parte aérea. Os resultados obtidos mostram que as formulações de rizobactérias utilizadas para a cultura do eucalipto, também podem ser utilizadas para Sibipiruna.

Palavras-chave: Sibipiruna; Germinação de sementes; Crescimento de plantas.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, no Brasil, tem sido grande a preocupação com a conservação de espécies florestais nativas, sendo que o seu uso vem sendo restringido e também protegido por lei no intuito de impedir a destruição das florestas brasileiras. Não é, pois, por falta de legislação que a natureza no Brasil vem sofrendo agressões (CÂMARA, 1982).

Poucos estudos existem a respeito de produção de mudas de espécies nativas, ao contrário da cultura do eucalipto que vem tomando espaço no Brasil devido ao desenvolvimento de pesquisas (ROCHA, 2002).

Mudas de espécies nativas têm sido utilizadas para reflorestamentos ou recomposição florística e para arborização (PAIVA; GOMES, 2000). Os reflorestamentos destinam-se à recomposição de matas ciliares ou recuperação de áreas degradadas. O aumento da demanda por este tipo de reflorestamento é devido a multas aplicadas por agências de fiscalização florestal sobre derrubadas ilegais, compensações ambientais por aberturas de estradas, minerações, empresas em busca de certificação ambiental, como a ISO 14000, ou proprietários rurais que procuram restaurar as florestas que existiam originalmente, para fins conservacionistas. Nesses casos são feitos plantios mistos com espécies nativas optando por aquelas que ocorriam ou ocorrem no local.

A utilização de espécies nativas para reflorestamento ou recomposição florística de áreas desmatadas é de grande importância para reduzir o impacto ambiental causado pelos desmatamentos e conservar a biodiversidade (MENDONÇA, 1998).

Um dos principais elementos que condicionam as boas condições do meio ambiente das cidades é representado pelas árvores, através de uma arborização variada e intensiva contribuindo para a elevação da qualidade de vida urbana, compondo as áreas de lazer, suavizando o excesso de sol e, por fim, tornando agradável a paisagem através de sua forma, folhagem e flores (PAIVA; GONÇALVES, 2002). Entre as espécies ornamentais destinadas à arborização urbana pode-se citar: pata de vaca, sibipiruna, ipê amarelo anão, flamboyant anão, resedê e murta (LORENZI, 1992).

A sibipiruna é originária da Mata-Atlântica Brasileira. É uma árvore de grande porte (8 a 16 m de altura), apresenta folhas compostas bipinadas, produz flores amarelas em grande quantidade, floresce do final do mês de agosto a meados de novembro, seus frutos amadurecem no final de julho a meados de setembro e pertence à família das leguminosae-caesalpinoideae. A sibipiruna é encontrada em todas as regiões do Brasil, mas existe com mais intensidade no litoral entre Bahia e Rio de Janeiro. A sibipiruna, além de ser recomendada para o paisagismo urbano, no geral (por possuir bela aparência e raiz longitudinal), pode ser cultivada em parques e jardins, pois possui copa aberta e com muitos ramos, sendo indicada para recuperação de áreas degradadas como espécie secundária inicial ou pioneira; sua madeira pode, também, ser usada para construção civil, como caibros e ripas, para estrutura de móveis e caixotaria em geral (LORENZI, 1992).

Para o sucesso desejado na implantação de projetos de reflorestamento, bem como arborização, é importante que as mudas sejam bem formadas, com maior resistência a doenças bióticas e abióticas, possibilitando melhor desempenho em condições de campo. Sendo assim, técnicas alternativas que otimizem a germinação das sementes e o crescimento de espécies nativas são fundamentais para melhorar a qualidade das mudas e reduzir o custo de produção. Neste aspecto as rizobactérias ganham destaque, pois podem propiciar a produção de mudas melhores.

Diversos testes tem sido realizados com a diluição da rizobactéria em suspensão salina, sendo aplicada no substrato de produção da muda. Nesses ensaios, observaram-se a capacidade da rizobactéria em aumentar o crescimento de plantas. Para que haja a produção e a comercialização do inóculo de rizobactérias é necessário a realização de testes, visando garantir a sua sobrevivência.

A Biosoja tem realizado testes de formulações líquida e sólida de rizobactérias para utilização na fase de produção de mudas de eucalipto. Mas, existem poucos estudos em relação a utilização de formulações comerciais em mudas espécies nativas. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi comparar o efeito das formulações líquida e sólida de rizobactérias, produzidas pela Biosoja, com o inóculo de rizobactéria em suspensão salina, produzido em laboratório, observando as variáveis germinação de sementes e crescimento de mudas de sibipiruna.

2 METODOLOGIA

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Patologia Florestal e Genética da Interação Planta Patógeno do Departamento de Fitopatologia/Bioagro e no viveiro de Pesquisa Florestal do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Viçosa (Viçosa – MG).

2.1- Isolados testados

De dez isolados testados, quatro que se destacaram como os mais promissores (MF2 (*Pseudomonas* sp.), MF4 (*Pseudomonas* sp.), FL2 (*Pseudomonas aeruginosa*) e CIIB (*Stenotrophomonas maltophilia*), sendo testados nas formulações líquida e sólida, comparado com o inóculo em suspensão salina.

2.2- Produção das formulações líquida e sólida

Foram utilizadas duas formulações de rizobactérias, uma líquida e outra sólida, produzidas pela Bio Soja Indústrias Químicas e Biológicas, com o objetivo de aumentar a sobrevivência e a eficiência das rizobactérias.

2.3- Produção e preparo do inóculo

A suspensão de cada rizobactéria foi preparada no laboratório de Patologia Florestal e Genética da Interação Planta Patógeno do Departamento de Fitopatologia/Bioagro a 0,2 de absorbância aferida em espectrofotômetro a 540 nm, equivalente a 10^8 ufc (unidades formadoras de colônias)/mL. Para a produção do inóculo, suspensões bacterianas em solução salina (0,85 %) foram obtidas a partir de colônias cultivadas em meio 523 de Kado e Reskett (1970) por 48 h a 27 °C.

Para o inóculo em suspensão salina foi adicionada 1% de leite em pó como fonte alimentar inicial para as rizobactérias. A suspensão de inóculo dos respectivos isolados, equivalente a 5 mL de suspensão por 50 cc (centímetros cúbicos) de substrato foi aplicada no substrato e homogeneizada em caixas de plástico.

2.4- Rizobacterização do substrato

Para a rizobacterização do substrato, 100 g do inoculante sólido a 10^9 ufc/g, 100 mL do inoculante em líquido a 10^9 ufc/mL, diluído em 900 mL de água e 500 mL do inóculo em suspensão salina a 10^8 ufc/mL, diluído em 500 mL de água e 1 % de leite em pó, foram homogeneizados individualmente em caixas plásticas contendo 5 litros de substrato (vermiculita : casca de arroz carbonizada (1:1)) e 0,04 g de superfosfato simples. Para a testemunha, foi adicionado ao substrato apenas água (1 L) e fertilizante (0,04 g).

Após a homogeneização, o substrato foi distribuído em tubetes de 50 mL de capacidade, que foram colocados em 20 bandejas (96 células) devidamente etiquetadas por repetição e tratamento, cada bandeja continha 80 tubetes. As bandejas foram levadas para casa de vegetação, onde se procedeu a semeadura de uma semente em cada tubete. A irrigação foi feita duas vezes por dia (de manhã e pela tarde) utilizando o sistema de irrigação por aspersão. Após 30 dias, avaliou-se o experimento.

2.5- Variáveis avaliadas

Foram avaliadas a porcentagem de germinação, o peso de matéria seca do sistema radicular e da parte aérea. Avaliou-se também a altura das plantas aos 30 dias com o uso de régua graduada em centímetros.

2.6 - Procedimentos estatísticos

O delineamento experimental do ensaio foi inteiramente casualizado (DIC) em arranjo fatorial 4 (isolados) x 3 (duas formulações e o inóculo em suspensão salina), com um tratamento adicional (testemunha), com 5 repetições de 20 mudas totalizando 1300 plantas. Foram realizadas a análise do fatorial e a análise do fatorial com o tratamento adicional (GOMES; GARCIA, 2002).

Como o ensaio foi instalado em esquema fatorial e com um tratamento adicional, foi necessário fazer a análise estatística considerando o efeito de isolado, de formulação e a interação “isolado*formulação”. Quando a probabilidade foi menor que 0,05 houve diferença estatística significativa entre os tratamentos. As análises estatísticas foram feitas no programa STATISTICA e no SAEG. As médias foram comparadas, pelo teste de Tukey a 5% de significância.

As porcentagens de ganhos individuais, para cada tratamento, foram calculadas em relação à testemunha. Para as porcentagens de ganhos gerais, para cada variável, foi tirada a média entre os tratamentos utilizando-se as porcentagens de ganhos individuais.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com à exceção do isolado FL2 na formulação líquida (para matéria seca da parte aérea), todos os isolados de rizobactérias nas formulações líquida e sólida e em suspensão salina promoveram aumento significativo na porcentagem de germinação, altura, matéria seca de raízes e da parte aérea, comparando-se com a testemunha (Tabela 1). Apenas para porcentagem de germinação não houve efeito entre isolado*formulação, ou seja, não houve diferença estatística significativa entre as formulações e o inóculo em suspensão salina, apesar de terem diferido da testemunha, não sendo possível indicar o melhor isolado para cada formulação e a melhor formulação para cada isolado. Para altura, matéria seca de raízes e da parte aérea houve efeito entre isolado* formulação, sendo possível indicar o melhor isolado para cada formulação e a melhor formulação para cada isolado.

Para a formulação líquida, os isolados que promoveram maiores ganhos em altura e maior incremento na matéria seca da parte aérea foram MF4, CIIB e MF2, já para aumento da matéria seca do sistema radicular foi o isolado MF4 e depois, o CIIB. No geral, para esta formulação os melhores isolados foram o MF4 e o CIIB. Para a formulação sólida os maiores ganhos em altura e matéria seca da parte aérea foram promovidos pelos isolados MF4, MF2 e FL2 e para matéria seca de raízes pelos isolados MF2 e FL2. No geral, os melhores isolados para a formulação sólida foram FL2 e MF2. Para o inóculo em suspensão salina os isolados mais eficientes para incremento em altura, em matéria seca de raízes e da parte aérea foram MF4 e FL2.

TABELA 1 – Efeito dos isolados MF4, MF2, CIIB e FL2 em formulações líquida e sólida e com o inóculo em suspensão salina na porcentagem de germinação, altura, matéria seca de raiz e da parte aérea de mudas de sibipiruna (*Caesalpinia peltophoroides*), aos 30 dias.

Form.	Isolados							
		MF4	CIIB	MF2	FL2	Test.	Ganho Médio (%)	Coefficiente de Variação (%)
Líquida	Sobreviv.(%)	82 A (18,3)	78 A (13,0)	75 A (8,7)	78 A (13,0)	69 B	13,4	4,4
	MSPA (mg)	186 A (22,4)	188A (23,7)	191A (25,7)	171 (12,5)B	152 B	23,9	4,5
	MSR (mg)	73 A (65,9)	68 B (54,5)	60 C (36,4)	58 C (31,8)	44 D	47,1	4,8
	Haltura (cm)	7,7A (40,0)	7,7A (40,0)	7,8 A (42)	6,6 B (20)	5,5 C	35,5	3,9
Sólida	Sobrev. (%)	80 A (15,9)	79 A (14,5)	81 A (17,4)	81 A (17,4)	69 B	16,3	4,3
	MSPA (mg)	180AB (18,4)	177B (16,4)	189A (24,3)	180AB(18,4)	152 C	19,4	4,0
	MSR (mg)	53 C (20,4)	64 B (45,4)	70 A (59)	71 A (61,4)	44 D	46,5	4,4
	Haltura (cm)	7,5 A (36,0)	7,3 B (32,7)	7,5 A (36,0)	7,5 A (36,0)	5,5 C	35,0	2,4
S. Salina	Sobrev. (%)	79 A (14,5)	78 A (13,1)	79,0A(13,1)	78 A (13,1)	69 B	13,8	4,1
	MSPA (mg)	183 A (20,3)	169B (11,2)	173B (13,8)	176AB(15,8)	152 C	15,3	4,1
	MSR (mg)	60 A (36,3)	57 B (29,5)	57 B (29,5)	59 A (34,1)	44 C	32,3	3,6
	Haltura (cm)	7,7 A (40,0)	6,9 B (25,5)	6,8 B (23,6)	7,2AB(30,9)	5,5 C	30,0	7,1

Médias seguidas de mesma letra em uma mesma linha não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, em nível de 5% de significância

Form. – Formulação

()- Ganho médio para cada variável em relação à testemunha

Sobreviv.- Sobrevivência

MSPA- Matéria seca da parte aérea

MSR- Matéria seca de raízes

Test.- Testemunha

Fonte: Dados da pesquisa

Para formulação líquida os ganhos em altura variaram de 20,0 % a 42,0 %, com média de 35,5 %; para matéria seca da parte aérea, de 22,4 a 25,7 %, com média de 23,9 %; para matéria seca do sistema radicular de 31,8 % a 65,9 %, com média de 47,1 % (Figura 1 e 2).

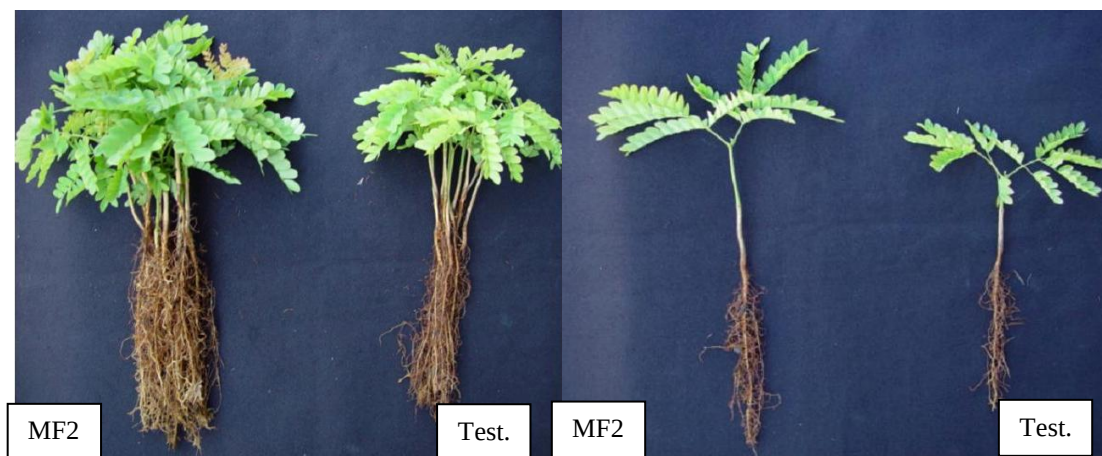


FIGURA 1- Mudas de sibipiruna aos 30 dias após semeadura tratadas com o isolado MF2 líquido e testemunha (sem rizobactéria).

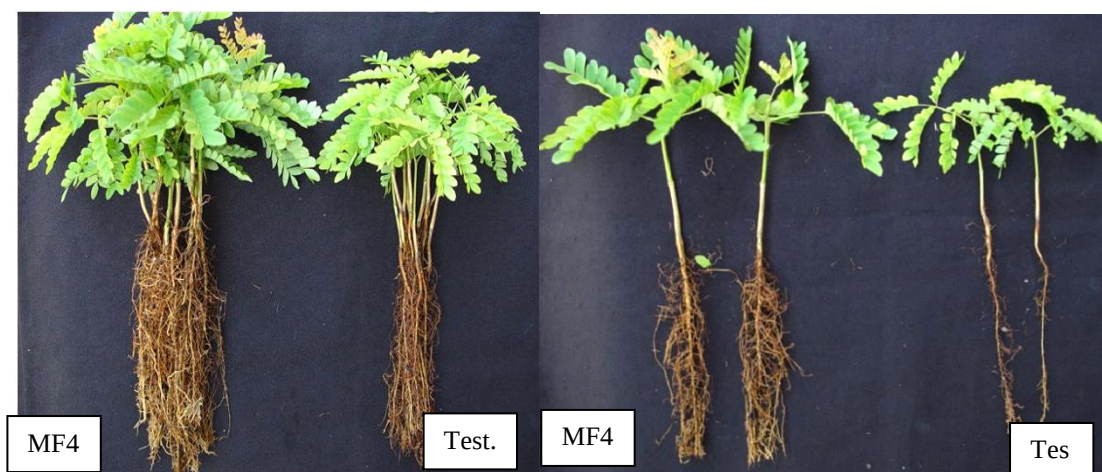


FIGURA 2- Mudas de sibipiruna aos 30 dias após semeadura tratadas com o isolado MF4 líquido e testemunha (sem rizobactéria).

Para a formulação sólida os ganhos em altura variaram de 32,7 % a 36,0 %, com média de 35,0 %, para matéria seca de raízes e parte aérea variaram de 20,4 % a 61,4 %, com média de 46,5 % e de 16,4 % a 24,3 %, com média de 19,4 %, respectivamente. Para o inóculo em suspensão salina os ganhos em altura variaram de 23,6 % a 40 %, com média de 30 %, para matéria seca de raízes e da parte aérea variaram de 29,5 % a 36,3 %, com média de 32,3 % e de 11,2 % a 20,3 %, com média de 15,3 %, respectivamente. Os ganhos para a formulação líquida, sólida e o inóculo em suspensão salina, levando-se em conta todos os isolados e as variáveis: altura, matéria seca de raízes e da parte aérea foram de 34,6 %, 34,3 % e 25,8 %, respectivamente.

Ao analisar-se a porcentagem de ganho de todos os isolados testados nas diferentes formulações, observou-se um maior incremento na matéria seca do sistema radicular, em comparação à matéria seca da parte aérea e altura. A porcentagem de ganho geral para matéria seca de raízes, levando-se em conta todas as formulações chegou a 41,9 %.

Para o isolado CIIB, não foi observada diferença estatística entre a formulação líquida e sólida, para todas as variáveis analisadas, mas a formulação sólida foi igual ao inóculo em suspensão salina para matéria seca da parte aérea e altura. Para o isolado FL2, a formulação que proporcionou maiores ganhos em altura, matéria seca de raízes e da parte aérea foi a sólida, apenas para altura, a formulação sólida não diferiu estatisticamente do inóculo em suspensão salina, mas foi superior à formulação líquida. Para o isolado MF2, as formulações líquida e sólida proporcionaram maiores ganhos na matéria seca de raízes e da parte aérea comparando-se com o inóculo em suspensão salina, apenas para altura, a formulação líquida foi superior à sólida, sendo que esta última não diferiu do inóculo em suspensão salina. O isolado MF4 apresentou maiores ganhos na matéria seca de raízes quando formulado em líquido, para matéria seca da parte aérea não houve diferença estatística entre as formulações e o inóculo em suspensão salina. Para altura, a formulação líquida não diferiu do inóculo em suspensão salina, mas foi superior a formulação sólida. No geral, para os isolados CIIB, MF2 e MF4 a melhor formulação foi a líquida e para o isolado FL2 a sólida. Com o isolado CIIB em formulação líquida obteve-se ganhos de 19 % e 11 % na matéria seca de raízes e da parte aérea, respectivamente, comparando-se com o inóculo em suspensão salina. Utilizando-se o isolado MF4 em formulação líquida, o ganho em relação ao inóculo em suspensão salina foi de 21,6 % para matéria seca de raízes, mas para parte aérea não houve diferença estatística entre a formulação líquida e o inóculo em suspensão salina. Para o isolado MF2 líquido, os ganhos foram de 14,0 % na matéria seca de raiz e 10,4 % para matéria seca da parte aérea, comparando-se com o inóculo em suspensão salina. Para o isolado FL2 sólido, o incremento na biomassa de raízes foi de 18,6 % e na biomassa da parte aérea 5,6 %, comparando-se com o inóculo em suspensão salina. Já para o isolado MF2 em líquido, os ganhos foram de 14,0 % na matéria seca de raiz e 10,4 % para matéria seca da parte aérea, comparando-se com o inóculo em suspensão salina.

As formulações líquida e sólida, em geral, propiciaram maiores ganhos tanto na porcentagem de germinação como na altura e na matéria seca de raízes e da parte aérea, comparando-se com o inóculo em suspensão salina. Isto mostra que rizobactérias formuladas apresentam grande potencial de uso, pois além de terem promovido um maior crescimento das mudas de sibipiruna, elas mantêm

a viabilidade das células bacterianas por um período maior, devido à presença de um agente estabilizante fornecedor de nutrientes para a bactéria. No caso do inóculo em suspensão salina, as bactérias perdem a viabilidade em um tempo menor, pois não possui nutrientes para manter o crescimento da população de células bacterianas.

Além da vantagem de serem encontradas em grande quantidade no solo, as rizobactérias são cultivadas em meio de cultura, facilitando o uso de formulações comerciais (WELLER, 1988). Fertilizantes bacterianos não simbiotes (Azobacter e Bacillus) foram primeiramente empregados no final do século XIX (1885) na antiga União Soviética. No mercado norte-americano já existem seis formulações a base de PGPR's, como por exemplo, o produto Kodiak à base de *Bacillus subtilis* usado no controle de tombamento de mudas em diversas culturas (TURNER; BACKMAN, 1991; LUZ, 1996), o K-84 (*Agrobacterium radiobacter*) para o controle de doença da galha (*Agrobacterium tumefaciens*) e o Dagger G (*Pseudomonas fluorescens*) utilizado para controle da podridão de raiz de algodão (*Rhizoctonia* e *Pythium*) (KERR, 1980). No Brasil há a necessidade de reforçar os investimentos e pesquisas que vise o desenvolvimento de tecnologias de produção e formulação dos agentes em escala industrial.

4 CONCLUSÃO

Em geral, a formulação que propiciou maiores ganhos em altura, matéria seca do sistema radicular e da parte aérea para a maioria dos isolados foi a líquida, seguido da sólida e por último o inóculo em suspensão salina, sendo viável a utilização das formulações para a Sibipiruna.

5 REFERÊNCIAS

CÂMARA, I.G. Atualização da legislação brasileira de conservação da Natureza. In: **Anais...** Campus do Jordão-SP, 1982. p.34, parte 1, ex: 1. Volume 16 A.

GOMES, F. P.; GARCIA, H.C. Estatística aplicada a experimentos agrônômicos e florestais: exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos. Piracicaba: **FEALQ**, 2002. 309 p.

KADO, C. I., HESKETT, M.S. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Pythopathology**, v.60, p.969-976.1970.

KERR, A. Biological control of crown gall through production of Agrocin 84. **Plant Disease**, 64: 24-30,1980.

LORENZI, H. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas no Brasil. Árvores Brasileiras. Nova Odessa, **Plantarum** (ed), São Paulo. P.48. 1992.

LUZ, W.C. da. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. **RAPP**. V.4. 1996. P.1-50.

MENDONÇA, F. A. Preservação florestal, reflorestamento e florestamento. **Universidade Federal da Bahia**. P.9-19. 1998.

PAIVA, A.N., GOMES, J.M. Viveiros Florestais. Caderno didático 72. **Editores UFV**. Ed. 2. Universidade Federal de Viçosa, MG, 2000. 7-53 p.

PAIVA, A.N., GONÇALVES, W. Florestas Urbanas. Viçosa-MG. **Aprenda Fácil** (ed). P. 24-26. 2002.

ROCHA, M.G.B. Melhoramento de Espécies Arbóreas Nativas. **IEF/MG (Instituto Estadual de Floresta)** – MG, 2002. 173P.

TURNER, J.T., BACKMAN, P.A. Factors relating to peanut yield increases following *Bacillus subtilis* seed treatment. **Plant Disease**, v.75, p.347-353. 1991.

WELLER, D.M. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, 26:379-40