

EFEITO DA INOCULAÇÃO DE SIMILAR A *HERBASPIRILLUM* E DOSES DE NITROGÊNIO NO CRESCIMENTO INICIAL DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE EUCALIPTO

Ângela Macedo Moreira¹
Rayka Kristian Alves Santos²
Joelma da Silva Santos³
Mauricio Santos Souza⁴
Carol Chaves Nascimento⁵
Theilon Henrique de Jesus Macedo⁶
Joilson Silva Ferreira⁷

RESUMO

O presente trabalho objetivou avaliar a inoculação de bactérias diazotróficas e doses de nitrogênio em diferentes genótipos de Eucalipto, observando o crescimento das plantas. O trabalho foi realizado no *campus* experimental da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-UESB, no município de Vitória da Conquista no período de dezembro de 2013 até agosto de 2014. Mudanças com 90 dias dos clones AEC144 (*Eucalyptus urophylla*) e o clone VM058 (*Eucalyptus camaldulensis*) foram utilizadas. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em delineamento inteiramente ao acaso com 6 tratamentos, sendo: inoculação com os isolados J1, J9, J15, dose 20 e dose 40 kg ha⁻¹ N, e uma testemunha absoluta, com 5 repetições cada, perfazendo 60 parcelas. Os parâmetros morfológicos analisados aos 110 dias após plantio foram: a altura da parte aérea (H), o diâmetro do coleto (DC), peso da massa fresca da parte aérea (PMFPA) e o peso da massa seca da parte aérea (PMSPA). O isolado J1 similar ao gênero *Herbaspirillum* apresentou os melhores desempenhos nas variáveis avaliadas no clone VM058 e AEC144.

175

Palavras-chave: Bactérias diazotróficas. Adubação nitrogenada. *Eucalyptus sp.*

ABSTRACT

The present work aimed to evaluate the inoculation of diazotrophic bacteria and nitrogen doses in different genotypes of Eucalyptus, observing the growth of the plants. The work was carried out at the experimental campus of the State University of the Southwest of Bahia-UESB, in the municipality of Vitória da Conquista, Brazil, from December 2013 to August 2014. Clumps AEC144 (*Eucalyptus urophylla*) and clone VM058 (*Eucalyptus camaldulensis*)

¹ Engenheira (o) Florestal, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Caixa Postal 95, Vitória da Conquista, Bahia, Brasil, CEP 45031-900

² Doutora em Agronomia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, (raykakristian@yahoo.com.br)

³ Doutora em Agronomia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB

⁴ Engenheira (o) Florestal, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB

⁵ Graduanda em Engenharia Florestal, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB

⁶ Engenheira (o) Florestal, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB

⁷ Docente do Departamento de Fitotecnia e Zootecnia, Laboratório de Biotecnologia Florestal, UESB

were used. The experiment was conducted in a greenhouse, in a completely randomized design with 6 treatments: inoculation with isolates J1, J9, J15, dose 20 and dose 40 kg ha⁻¹ N, and an absolute control with 5 replicates each, making 60 installments. The morphological parameters analyzed at 110 days after planting were: aerial part height (H), shoot diameter (DC), fresh shoot weight (PMFPA) and shoot dry weight (PMSPA). The J1 isolate similar to the genus *Herbaspirillum* presented the best performances in the variables evaluated in clone VM058 and AEC144.

Keywords: Diazotrophic bacteria. Nitrogen fertilization. Eucalyptus sp.

INTRODUÇÃO

O eucalipto devido a sua grande diversidade genética, e variação nas características de crescimento conseguiu se adaptar a região dos trópicos. Devido ao seu vasto uso como matéria prima diversificada, a sua área de plantio vem se expandindo cada vez mais no Brasil, apresentando uma área de 5,7 milhões de hectares, sendo que o estado da Bahia apresenta um plantio de 612 mil hectares (IBÁ, 2017).

A expansão de área plantada faz com que diversos estudos sejam realizados afim de promover respostas no crescimento de mudas e plantas em campo, neste contexto as Bactérias Diazotróficas vêm sendo amplamente estudadas.

Estas bactérias possuem o complexo enzimático nitrogenase, que converte o N₂ da atmosfera em amônia favorecendo a absorção pelas plantas (HUNGRIA, 2011), deste modo a inoculação destas bactérias reduz a aplicação exacerbada de fertilizantes nitrogenados, minimiza os impactos ao ambiente e promove resposta financeira satisfatória.

Por conseguinte, vários estudos em diferentes culturas já foram testados, obtendo respostas positivas (SOUZA *et al.*, 2013; TORTORA *et al.*, 2011; SUN *et al.*, 2009; FARINA *et al.*, 2012) e o estudo na cultura do Eucalipto também faz-se necessário, buscando elucidar a interação com os diferentes genótipos e fases do crescimento na planta.

Diante do exposto, este trabalho objetivou avaliar a inoculação de bactérias diazotróficas e doses de nitrogênio em diferentes genótipos de Eucalipto, observando os ganhos ao crescimento das plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no *campus* experimental da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-UESB, no município de Vitória da Conquista no período de dezembro de

2013 até agosto de 2014. A região está localizada na latitude 15,95° S e longitude 40,88° W, a uma altitude de 839 m (CPTEC, 2009). O clima na região é tropical de altitude (Cbw), segundo a classificação de Köppen e Geiger. As médias de temperatura máxima e mínima são, respectivamente, 25,3 e 16,1 °C. Em Vitória da Conquista a temperatura média é 20 °C.

Segundo Matta *et al.*, (2004) a distribuição das chuvas em Vitória da Conquista é irregular com precipitação média de 732 mm ao ano. O período de maior precipitação pluvial ocorre nos meses de novembro a março, com altura máxima/dia entre 10 e 90 mm.

Caracterização dos genótipos

Mudas com idade de 90 dias foram utilizadas, sendo o material genético os clones AEC144 (*Eucalyptus urophylla*), e o outro clone VM058 (*Eucalyptus camaldulensis*).

Crescimento e Purificação dos isolados

Foram utilizadas três estirpes bacterianas oriundas de Vitória da Conquista – BA, obtidos por (SILVA, 2013) para produção dos inoculantes, caracterizados como maiores produtoras de auxina (AIA).

As estirpes J1, J9, J15 isoladas do híbrido de milho, AG 1051, estes isolados foram caracterizados morfológicamente como pertencentes ao gênero *Herbaspirillum*.

Para a inoculação das plantas, os isolados foram crescidos em meio DYGS (BALDANI, 1996) líquido por 5 dias a 30°C por 100 rpm, em seguida riscados em placa de Petri com meio batata sólido, para verificação da pureza. Colônias dos isolados puros foram transferidas para meio DYGS líquido e multiplicados, após o crescimento foi feita a contagem da população de bactérias diazotróficas para cada estirpe pela técnica do Número Mais Provável (NMP), (DÖBEREINER *et al.*, 1995).

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em delineamento inteiramente ao acaso com 6 tratamentos, sendo: inoculação com os isolados J1, J9, J15, dose 20 e dose 40 kg ha⁻¹ N, e uma testemunha absoluta, com 5 repetições cada, perfazendo assim 60 parcelas.

Análise de solo e adubação

O solo utilizado para plantio, foi coletado da camada 0 - 20 cm do horizonte A de um Latossolo Amarelo Distrófico Típico, coletado no *Campus* experimental da UESB- Vitória da Conquista.

A análise química de solo apresentou os seguintes resultados: pH em água = 5,1; P = 2 mg.dm⁻³, K⁺: 0,20 Cmolc .dm⁻³; Ca² = 1,7 Cmolc.dm⁻³; Mg²⁺ = 0,8 Cmolc. dm⁻³; Al³⁺ = 0,1 Cmolc.dm⁻³; M.O = 14 g dm⁻³.

A adubação foi definida com base nas Recomendações para o Uso de Corretivos e Fertilizantes em Minas Gerais (RODRIGUES, 1999) e (IPEF, 2005) para o cultivo do Eucalipto.

Inoculação e Plantio

Foram utilizados 2 mL da cultura crescida (1,4 x 10⁷ células.mL⁻¹) em meio DYGS, para cada inoculante correspondente aos tratamentos J1, J9 e J15 com 5 repetições. A inoculação foi feita no dia do plantio, sendo utilizado uma muda por vaso, com capacidade de 12L.

178

Coleta e variáveis analisadas

Os parâmetros morfológicos analisados aos 110 dias após plantio foram: a altura da parte aérea (H), o diâmetro do coleto (DC), peso da massa fresca da parte aérea (PMFPA) e o peso da matéria seca da parte aérea (PMSPA). Para o PMSPA o material foi seco em estufa de circulação forçada de ar, à temperatura de 65°C por um período de 72 horas.

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro Wilk), variância dos erros e homogeneidade dos erros (Bartlett); posteriormente aplicada a análise de variância (ANOVA) através do teste F a 5% de probabilidade e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram feitas com o auxílio do programa SISVAR (Ferreira, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o clone de *E. urophylla* (AEC144), o diâmetro do coleto foi 32,25% superior ao controle com a inoculação do isolado J1, que se diferiu dos isolados J9 e J15, mas se assemelhou estatisticamente a dose de 40 kg ha⁻¹ N (Tabela 1). O uso dos diferentes tratamentos não conseguiu diferir o crescimento em altura das plantas, entretanto a dose de 40 kg ha⁻¹ N conseguiu ser 7,40% superior a testemunha com uma altura de 59,5 cm (Tabela 1).

Tabela 1 – Altura, diâmetro, massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA) de mudas do clone AEC144 de *Eucalyptus urophylla* sob diferentes inoculantes de bactérias diazotróficas similares ao gênero *Herbaspirillum* sp. e doses de nitrogênio aos 110 dias após o plantio.

Tratamentos	Variáveis			
	Diâmetro (cm)	Altura (cm)	MFPA (g)	MSPA (g)
J1	0,82 a	58 a	51,27 a	14,55 a
J9	0,64 b	58,10 a	39,23 b	15,35 a
J15	0,64 b	54,60 a	38,69 b	11,33 ab
Testemunha	0,62 b	55,40 a	20,75 d	8,65 b
20 kg ha ⁻¹ N	0,56 b	57,24 a	27,91 cd	12,74 ab
40 kg ha ⁻¹ N	0,68 ab	59,5 a	31,79 bc	11,56 ab

Médias seguidas com a mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Observa-se que para altura, a inoculação se igualou a maior dose de nitrogênio, alcançando assim o objetivo de minimizar os impactos dos produtos químicos no ambiente, visto que o uso exclusivo da bactéria já conseguiu auxiliar no crescimento das plantas, isso acarreta em menos danos ao ambiente e menor custo ao produtor, tendo em vista que os adubos nitrogenados são os mais caros do mercado devido sua alta exportação.

A inoculação com o isolado J1, promoveu o maior acúmulo de massa fresca das plantas, sendo este um valor de 147,08% superior a testemunha. A massa seca de parte aérea foi superior com a inoculação dos isolados J1 e J9, superiores 68,20% e 77,45% ao controle, respectivamente (Tabela 1).

A massa fresca é um parâmetro importante pois está relacionado ao crescimento e expansão de novos tecidos, observamos novamente que o uso da bactéria permitiu essa resposta, sendo ocasionada possivelmente pela fixação biológica de nitrogênio, já que o nitrogênio é responsável pela produção de DNA e RNA, o que acarreta em crescimento celular, e por consequência maior acúmulo de água.

Zarpelon (2007), testando a eficiência do inoculante comercial Rizolyptus, observou que a rizobacterização variou de acordo com o clone, isolado, formulação e variável analisada com o clone, mas em geral obteve-se ganho em relação à testemunha (sem inoculação) e o tratamento com o ácido-indolbutírico.

Para o clone VM058 de *E. camaldulensis* foi observado diferenças significativas entre os tratamentos, onde o isolado J1 foi estatisticamente superior à testemunha em todas as variáveis analisadas com valores de 27,88 % no diâmetro, 8,81% na altura, 77,59% na massa fresca de parte aérea e 41,88% na massa seca de parte aérea (Tabela 2).

Tabela 2 – Altura, diâmetro, massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA) de mudas do clone VM058 de *Eucalyptus camaldulensis* sob diferentes inoculantes de bactérias diazotróficas similares ao gênero *Herbaspirillum* sp. e doses de nitrogênio.

Tratamentos	Variáveis			
	Diâmetro (cm)	Altura (cm)	MFPA (g)	MSPA (g)
J1	0,74 a	65,40 a	77,59 a	27,91 a
J9	0,66 ab	61,25 ab	46,70 b	21,80 ab
J15	0,64 ab	56,20 b	33,36 cd	14,38 c
Testemunha	0,58 ab	60,10 ab	43,69 bc	19,67 bc
20 kg.ha ⁻¹ N	0,56 b	60,40 ab	29,87 d	14,56 c
40 kg.ha ⁻¹ N	0,62 ab	61,40 ab	43,33 bc	18,32 bc

Médias seguidas com a mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A utilização de rizobactérias tem surgido como uma tecnologia promissora em diversas culturas, como podemos observar no Eucalipto os ganhos são de 7% à 147,08%, observando em ambos os clones que os ganhos em massa fresca de parte aérea são os mais significativos.

Estes resultados em crescimento de parte aérea são muito importantes, visto que o acúmulo de parte aérea reflete na aquisição de tecido fotossintético, que posteriormente ocasiona em ganhos em massa seca e produtividade das plantas.

Conseguimos observar que o clone AEC144 de *E. urophylla* conseguiu maiores resultados em relação ao outro clone, este clone já vem sendo bastante utilizado na região do Sudoeste da Bahia, devido a sua maior adaptação ao amplo período seco da região.

A resposta da inoculação está intimamente ligada ao sucesso da simbiose formada entre a planta e as bactérias, este processo depende do genótipo, clima, solo, condições de desenvolvimento da cultura, por este motivo diferentes grupos de bactérias e diferentes genótipos devem ser testados buscando elucidar melhor este processo.

Experimentos com inoculantes biológicos devem ser cada vez mais realizados, visto que seu uso ocasiona melhoria ao ambiente devido as diversas associações e funções que estas bactérias desempenham na planta e no solo, e devido ao menor custo ao produtor.

CONCLUSÃO

O isolado J1 similar ao gênero *Herbaspirillum* apresentou os melhores desempenhos nas variáveis avaliadas no clone VM058 e AEC144.

Os resultados encontrados demonstram que a inoculação de bactérias diazotróficas pode ser uma estratégia eficiente capaz de contribuir no desenvolvimento inicial de mudas de eucalipto.

AGRADECIMENTOS

À UESB pela estrutura, a FAPESB pela concessão da bolsa de Iniciação científica e ao CNPQ pelo Edital Universal 2014-6.

181

REFERÊNCIAS

BALDANI, V.L.D. **Efeito da inoculação de *Herbaspirillum* spp. no processo de colonização e infecção de plantas de arroz, e ocorrência e caracterização parcial de uma nova bactéria diazotrófica.** 1996. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1996.

CPTEC. Centro de Previsão do Tempo e Estudos Climáticos. **Dados de precipitação e temperatura para Vitória da Conquista – BA.** 2009. Disponível em: <http://www.agritempo.gov.br/agroclima/pesquisaWeb?uf=BA>. Acesso em: 20 nov. 2018.

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas.** Brasília, DF: Embrapa-SPI, 1995.

FARINA, R. A.; BENEDUZI, A.; AMBROSINI, A.; CAMPOS, S. B.; LISBOA, B. B.; WENDISCH, V.; VARGAS, L. K.; PASSAGLIA, L. M. P. Diversity of plant growth-promoting rhizobacteria communities associated with the stages of canola growth. **Applied Soil Ecology**, [S.l.], v.55, p. 44-52, 2012.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, [S.l.], v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GONÇALVES, J. L. M. **Recomendação de Adubação para *Eucalyptus*, *Pinus* e Espécies Nativas**, 1995. Atualizado. SILVA, P. H. M.; IPEF (Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais), 2005. Disponível em: <http://www.ipef.br/silvicultura/adubacao.asp>. Acesso em: 20 nov. 2018.

IBÁ. **Indústria Brasileira de árvores, Relatório 2017**. Disponível em: http://iba.org/images/shared/biblioteca/IBA_RelatorioAnual2017.pdf. Acesso em: 20 nov. 2018.

MATTA, J. M. B.; VEIGA, A. J. P.; SOUSA, G.V. Variabilidade da pluviometria de Vitória da Conquista – BA. In: SIMPOSIO BRASILEIRO DE CLIMATOLOGIA GEOGRÁFICA, 5., 2004, Aracajú. **Anais [...]**. Aracajú: UFS, 2004. 1 CD ROM.

SILVA, J. S. **Isolamento e inoculação de bactérias diazotróficas na cultura do milho em Vitória da Conquista – BA**. 2013. 93 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2013.

SOUZA, R.; BENEDUZI, A.; AMBROSINI, A.; COSTA, P. B.; MEYER, J.; VARGAS, L. K.; SCHOENFELD, R.; PASSAGLIA, L. M. P. The effect of plant growth-promoting rhizobacteria on the growth of rice (*Oryza sativa* L.) cropped in southern Brazilian fields. **Plant Soil**, [S.l.], v. 366, p. 585-603, 2013

SUN, Y.; CHENG, Z.; GLICK, B. R. The presence of a 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase deletion mutation alters the physiology of the endophytic plant growthpromoting bacterium *Burkholderia phytofirmans* PsJN. **FEMS Microbiology Letters**, [S.l.], v. 296, p. 131-136, 2009.

TORTORA, M. L.; DÍAZ-RICCI, J. C.; PEDRAZA, R.O. *Azospirillum brasilense* siderophores with antifungal activity against *Colletotrichum acutatum*. **Archives of Microbiology**, [S.l.], v. 193, p. 275-286, 2011.

ZARPELON, T. G. **Caracterização de rizobactérias e eficiência do Rizolyptus no enraizamento e crescimento de eucalipto**. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, 2007.