



A1-356 Inoculação de rizóbios como bactérias promotoras de crescimento, para produção sustentável de tomateiros

Benjamin Dias Osorio Filho, Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS), benjamin-filho@uergs.edu.br; Bruno Treichel dos Santos, UERGS, brunotreichel@hotmail.com; Jéssica Maciel, UERGS, jessimm6@gmail.com; Patrick Thiago Lopes, UERGS, patrickthiagolopes@gmail.com; Viviane Milbradt Prade, UERGS, vivi.m.prade@bol.com.br; Gerusa Pauli Kist Steffen, Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO), gerusa-steffen@fepagro.rs.gov.br; Rosana Matos de Moraes, FEPAGRO, rosana-morais@fepagro.rs.gov.br.

Resumo

A inoculação com rizóbios apresenta potencial para diminuição das aplicações de fertilizantes minerais solúveis porque são capazes de estimular o crescimento vegetal por diferentes mecanismos de ação. Este trabalho avaliou a promoção de crescimento de variedades de tomateiro por isolados de rizóbios, inclusive um isolado de *Burkholderia* sp. cuja inclusão no grupo dos rizóbios está sendo discutida. Foram realizados dois experimentos, em vasos, em casa de vegetação. O delineamento foi inteiramente casualizado, com três repetições. Os tratamentos consistiram de combinações entre quatro variedades de tomateiro e quatro isolados de rizóbios, além de tratamentos controle. Em um experimento, as plantas foram cortadas aos 53 dias e, no outro, foram conduzidas até o final do ciclo. Foram avaliados o volume radicular, as massas secas da raiz, da parte aérea e da planta inteira, bem como a massa e o número de frutos. Observou-se resposta nas variedades Absoluto e Serato à inoculação de alguns isolados, demonstrando que o aumento na produção depende das interações entre variedades e estirpes.

Palavras-chave: tomate; ácido indol acético; promoção de crescimento vegetal.

Abstract

Inoculation with rhizobia shows potential for reduction of soluble chemical fertilizers because they are able to stimulate plant growth by different mechanisms of action. This study evaluated the growth promotion of tomato varieties by rhizobia isolates, including a strain of *Burkholderia* sp. whose inclusion in the group of rhizobia is being discussed. Two experiments were conducted in pots in the greenhouse. The design was completely randomized, with three replications. The treatments consisted of combinations of four varieties of tomato and four rhizobia isolates, as well as control treatments. In one experiment, the plants were harvested at 53 days and at the other, were conducted by the end of the cycle. They evaluated the root volume, dry mass of root, shoot and whole plant, as well as the mass and the number of fruits. Response was observed in Absoluto and Serato varieties to inoculation of a few isolated, showing that the increase in production depends on the interactions between varieties and strains.

Keywords: tomato; indole acetic acid; plant growth promotion.

Introdução

O tomate é uma das culturas agrícolas que mais recebe aplicações de agrotóxicos e fertilizantes solúveis durante o seu cultivo. Além de impactos ambientais e danos à saúde do agricultor e do consumidor, o uso massivo de insumos agrícolas no cultivo aumenta muito o custo de produção. Há bastante tempo se conhece a capacidade dos rizóbios em fixar o nitrogênio atmosférico quando em simbiose com plantas da família das leguminosas.

Alojados em nódulos nas raízes, os rizóbios disponibilizam nitrogênio às plantas em troca de carboidratos oriundos da fotossíntese. Por outro lado, estudos apontam outros mecanismos pelos quais os rizóbios estimulam o crescimento das plantas, inclusive de outras famílias. Entre estes mecanismos, destacam-se a produção de hormônios vegetais, principalmente auxinas (que aumentam o sistema radicular e conseqüentemente a capacidade de absorver nutrientes), a solubilização de fosfatos e a proteção da planta contra ataques de fungos fitopatogênicos (Biswas et al, 2000; Mantelin & Touraine, 2004; Chen et al, 2005; Rodriguez & Fraga, 1999; Mishra et al, 2006; Dutta et al, 2007, Yanni et al, 2010). Nos estudos realizados com interações entre rizóbios e não leguminosas, tem sido percebido que a resposta das plantas à inoculação varia entre as variedades avaliadas. Em um estudo com arroz, das quatro variedades testadas, apenas a variedade IRGA 424 foi responsiva à inoculação com rizóbios (Osorio Filho et al., 2014). Em outro trabalho, foram observadas respostas à inoculação com rizóbios em quatro variedades híbridas de milho (Hahn, 2013).

Além de rizóbios dos gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Mesorhizobium*, as bactérias do gênero *Burkholderia* também têm sido testadas quanto à promoção de crescimento de plantas. Estas últimas, por nodularem leguminosas como o feijão (*Phaseolus vulgaris*), por exemplo, são hoje consideradas por alguns autores como rizóbios e já têm recebido atenção de pesquisadores mexicanos por serem capazes de promover o crescimento de tomate (Caballero-Mellado, et al, 2007).

A demanda por produtos orgânicos é cada vez maior por parte dos consumidores, que estão se conscientizando dos problemas que os agrotóxicos causam à saúde humana e ao meio ambiente. Na produção orgânica, o uso de fertilizantes minerais solúveis não é permitido, por isso, os agricultores interessados em realizar este tipo de agricultura carecem de alternativas para continuarem produzindo volumes de alimentos economicamente viáveis. Nesta perspectiva, é fundamental o conhecimento da magnitude da promoção de crescimento vegetal por rizóbios em diferentes variedades de plantas. Por meios deste trabalho, avaliou-se a capacidade de diferentes isolados de rizóbios em promover o crescimento de variedades de tomateiro cultivadas em casa de vegetação.

Metodologia

Para esse estudo, foram realizados dois experimentos em casa de vegetação, na sede da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária - Fepagro, Unidade Florestas, em Santa Maria/RS, com plantas de tomateiro. O delineamento experimental utilizado em ambos os experimentos foi inteiramente casualizado com três repetições. Nos dois experimentos, os tratamentos consistiram de combinações entre variedades de tomateiros e isolados de rizóbios. Foram utilizadas quatro variedades de tomateiro: Absoluto, Tinto, Rally e Serato, sendo as mais utilizadas pelos agricultores da região central do Estado do RS, e quatro isolados de rizóbios da coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, obtidos de nódulos de leguminosas forrageiras dos gêneros *Trifolium* e *Lotus*, conforme a Tabela 1.

TABELA 1. Rizóbios utilizados no estudo, espécies e planta hospedeira.

Isolado	Espécie	Planta hospedeira
UFRGS-VP16	<i>Burkholderia</i> sp.	<i>Trifolium repens</i>
UFRGS-1TV	<i>Rhizobium leguminosum</i> bv. <i>Viciae</i>	<i>T. vesiculosum</i>
UFRGS-Lc336	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	<i>Lotus corniculatus</i>
UFRGS-Lc348	ainda indeterminada	<i>L. corniculatus</i>

Os rizóbios foram crescidos em meio de cultura à base de levedura manitol e incubados por 28 °C sob agitação durante 48 horas. As sementes das variedades de tomate foram desinfestadas com sucessivas lavagens de álcool 70%, hipoclorito de sódio e água destilada, inoculadas com 20 ml de caldo contendo rizóbios e incubadas, durante uma noite, em placas de petri esterilizadas, a 28 °C. Nos tratamentos controle, as sementes receberam caldo de crescimento esterilizado, sem a presença de microrganismos, nas mesmas condições. As unidades experimentais consistiram de vasos plásticos contendo solo e uma planta de tomateiro conduzida verticalmente em barbante. Foram semeadas três sementes, sendo realizado desbaste para uma planta dez dias após a emergência. A adubação foi realizada de acordo com as recomendações técnicas para o cultivo do tomateiro no Rio Grande do Sul em função da análise química do solo. A irrigação foi realizada diariamente, de acordo com a demanda hídrica. Em um dos experimentos, onde os vasos continham 925 gramas de solo, as plantas foram retiradas aos 53 dias após a emergência e medidas quanto ao comprimento da parte aérea e da raiz. As raízes foram lavadas, avaliadas quanto ao volume e separadas da parte aérea. Ambas as frações foram secas em estufa a 65 °C para posterior pesagem da massa seca. No outro experimento, onde os vasos continham 7,75 quilogramas de solo, as plantas foram conduzidas até o final do ciclo para avaliação da produção de frutos. Quando atingiam a maturação, os frutos eram colhidos, contados, medidos (para determinação do diâmetro) e pesados para avaliação da massa fresca. Os tratamentos foram submetidos à análise da variância e, quando significativas as diferenças, foi aplicado o teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Resultados e discussões

A inoculação com rizóbios nas sementes de tomateiro estimulou o crescimento das plantas da variedade Absoluto, entretanto, não foram verificados efeitos nos primeiros 53 dias nas demais variedades. Na variedade Absoluto, os rizóbios testados proporcionaram incrementos na massa seca da parte aérea e da raiz, na massa seca total e no volume radicular, destacando-se o isolado UFRGS-Lc336 da espécie *Bradyrhizobium japonicum* (Tabela 2).

TABELA 2. Volume da raiz (VR), massa seca da raiz (MSR), da parte aérea (MPA) e da planta inteira (MSP) de variedades de tomateiro inoculadas com isolados de rizóbios.

Variedade	Isolados de rizóbios	VR	MSR	MPA	MSP
		..ml planta ⁻¹mg planta ⁻¹		
Absoluto	UFRGS-VP16	2,67 ab ¹	0,524 ab	3,617 a	4,140 a
	UFRGS-1TV	2,00 ab	0,512 ab	2,497 ab	3,008 ab
	UFRGS-Lc336	2,83 a	0,610 a	3,670 a	4,280 a
	UFRGS-Lc348	3,00 a	0,355 b	3,535 a	4,067 a
	Sem inoculação	1,50 b	0,291 b	1,590 b	1,881 b
Tinto	UFRGS-VP16	1,83 ns ²	0,347 ns	2,110 ns	2,457 ns
	UFRGS-1TV	4,00	0,751	3,670	4,421
	UFRGS-Lc336	2,17	0,553	2,617	3,170
	UFRGS-Lc348	2,50	0,642	3,105	3,747
	Sem inoculação	2,67	0,401	2,227	2,628
Rally	UFRGS-VP16	4,00 ns	0,662 ns	4,153 ns	4,815 ns
	UFRGS-1TV	2,67	0,572	3,503	4,076
	UFRGS-Lc336	3,00	0,526	3,430	3,956
	UFRGS-Lc348	3,83	0,717	3,993	4,710
	Sem inoculação	3,67	0,624	3,703	4,327
Serato	UFRGS-VP16	2,27 ns	0,476 ns	3,340 ns	3,816 ns
	UFRGS-1TV	4,00	0,526	4,057	4,583
	UFRGS-Lc336	2,00	0,472	3,723	4,195
	UFRGS-Lc348	2,43	0,430	3,703	4,133
	Sem inoculação	3,50	0,556	4,067	4,622

¹ médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro (dentro de cada variedade de tomateiro); ² diferenças não significativas a 5% de probabilidade de erro.

O melhoramento vegetal empregado desde o período conhecido como Revolução Verde prioriza a produtividade das plantas. Neste sentido, os experimentos avaliam a capacidade máxima produtiva das culturas agrícolas em condições ótimas de disponibilidade de água, nutrientes e sanidade. Neste processo de seleção, as associações entre as plantas e os microrganismos podem ser desfavorecidas, fazendo com que, cada vez mais, as novas variedades de plantas, altamente produtivas, dependam menos das interações microbianas. Estas interações foram fundamentais no processo evolutivo e garantiram a ocupação e a permanência das plantas em ambientes adversos, como solos ácidos, pobres em nutrientes e em água. Neste sentido, é possível que plantas com potencial genético para elevadas produtividades sejam menos responsivas à inoculação com rizóbios do que plantas geneticamente mais próximas das variedades *crioulas*.

Com o estímulo ao crescimento radicular, a planta consegue aumentar sua capacidade de absorção, melhorando o aproveitamento dos nutrientes do solo, sua nutrição e diminuindo as perdas de nutrientes por lixiviação, como, por exemplo, no caso do nitrogênio, ou por adsorção, como no caso do fósforo.

Em relação à produção de frutos, a inoculação com rizóbios promoveu incrementos nas plantas da variedade Serato. O isolado bacteriano UFRGS-VP16, do gênero *Burkholderia*, dobrou o número de frutos (Tabela 3). Por outro lado, a massa média dos frutos da variedade Serato foi aumentada quando as plantas foram inoculadas com a bactéria UFRGS-1TV, que pertence à espécie *Rhizobium leguminosum* bv. *Viciae*.

TABELA 3. Número e massa de frutos de variedades de tomateiro inoculadas com rizóbios.

Variedade	Isolados de rizóbios	Número de frutos	Massa de frutos
		..unidades planta ⁻¹ gramas planta ⁻¹ ...
Absoluto	UFRGS-VP16	1,50 ns ²	145,65 ns
	UFRGS-1TV	2,00	73,66
	UFRGS-Lc336	2,33	120,52
	UFRGS-Lc348	1,67	151,34
	Sem inoculação	2,00	88,94
Tinto	UFRGS-VP16	5,67 ns	44,75 ns
	UFRGS-1TV	4,33	72,86
	UFRGS-Lc336	2,50	74,22
	UFRGS-Lc348	7,00	40,87
	Sem inoculação	3,50	71,90
Rally	UFRGS-VP16	3,33 ns	138,19 ns
	UFRGS-1TV	3,00	117,38
	UFRGS-Lc336	2,67	60,52
	UFRGS-Lc348	4,00	91,35
	Sem inoculação	4,33	175,16
Serato	UFRGS-VP16	4,67 a ¹	65,51 b
	UFRGS-1TV	3,50 ab	124,84 ab
	UFRGS-Lc336	3,00 ab	72,71 ab
	UFRGS-Lc348	2,33 ab	108,61 ab
	Sem inoculação	2,00 b	58,11 b

¹médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro (dentro de cada variedade de tomateiro); ²diferenças não significativas a 5% de probabilidade de erro.

O estímulo ao crescimento destas plantas, proporcionado por estes rizóbios, está provavelmente relacionado com a produção do hormônio auxínico Ácido Indol Acético (AIA). Em uma análise com cromatografia líquida, já foi confirmada a produção de AIA por três destas bactérias (UFRGS-VP16, UFRGS-1TV e UFRGS-Lc336), a qual foi incrementada ao

adicionar-se ao meio o aminoácido triptofano, precursor metabólico deste hormônio (Osorio Filho et al, 2014). As diferenças nas respostas encontradas entre as variedades e entre as bactérias podem estar relacionadas com a quantidade de AIA produzida pelos rizóbios. Doses muito elevadas de auxinas podem estimular o crescimento de algumas variedades enquanto que, em outras, pode haver redução do crescimento vegetal. Em se tratando de rizóbios, cada estirpe produz uma quantidade específica deste hormônio, que, quando em simbiose com leguminosas, tem a função de induzir a formação do nódulo radicular. Esse trabalho aponta a possibilidade de os agricultores menos capitalizados utilizarem a prática da inoculação com rizóbios para a produção de tomates, aumentando, assim, a produtividade com mais independência em relação à aquisição de fertilizantes minerais. Entretanto, novos trabalhos devem ser realizados com variedades *crioulas* de plantas de tomateiro em condições de diferentes níveis de fertilidade de solo e associados com fertilizantes orgânicos.

Conclusões

A inoculação com rizóbios proporcionou respostas diferenciadas entre as variedades de tomateiro. Observou-se potencial dos isolados de rizóbios no desenvolvimento de biofertilizantes para a produção sustentável de tomate, bem como para a agricultura de base ecológica.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa no Rio Grande do Sul, FAPERGS, pelo financiamento do projeto e concessão de bolsas de iniciação científica.

Referências bibliográficas

- Biswas JC, Ladha JK, Dazzo FB, Yanni YG & Rolfe BG (2000) Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. *Agronomy Journal* 92 (5) 880–886.
- Caballero-Mellado J, Onofre-Lemus J, Estrada-de los Santos, P & Martínez-Aguilar, L (2007) The tomato rhizosphere, an environment rich in nitrogen-fixing *Burkholderia* species with capabilities of interest for agriculture and bioremediation. *Applied and Environmental Microbiology* 73: 5308-5319.
- Chen X, Feng J, Hou B, Li F, Li Q & Hong G (2005) Modulating DNA bending affects Nod D mediated transcriptional control in *Rhizobium leguminosarum*. *Nucleic Acids Research* 33 (8): 2540-2548.
- Dutta S, Mishra AK & Dileep BK (2007) Induction of systemic resistance against fusarial wilt in pigeon pea through interaction of plant growth promoting rhizobacteria and rhizobia. *Soil Biology and Biochemistry*. doi:10.1016/j.soilbio.2007.09.009.
- Hahn L, Sá ELS, Machado RG, Silva WR, Oldra S, Damasceno RG & Schönhofen MA (2014) Growth promotion in maize with diazotrophic bacteria in succession with ryegrass and white clover. *American and Eurasian Journal of Agriculture & Environmental Science* 14 (1): 11-16.
- Mantelin S & Touraine B. (2004) Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. *Journal of Experimental Botany, Oxford* 55(394): 27-34.
- Mishra RPN, Singh RK, Jaiswal HK, Kumar V & Maurya S (2006) Rhizobium-mediated induction of phenolics and plant growth promotion in rice (*Oryza sativa* L.). *Current Microbiology* 52: 383–389
- Osorio Filho BD, Gano KA, Binz A, Lima RF, Aguilar LM, Ramirez A, Caballero-Mellado J, Sá ELS & Giongo A (2014) Rhizobia enhance growth in rice plants under flooding conditions. *American and Eurasian Journal of Agriculture & Environmental Science* 14(8): 707-718
- Rodriguez H & Fraga R (1999) Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances* 17(4-5): 319-339.
- Yanni YG & Dazzo FB (2010) Enhancement of rice production using endophytic strains of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* in extensive field inoculation trials within the Egypt Nile Delta. *Plant and Soil*. *Crawley* 336: 129-142.