

# EFEITO DE RIZOBACTÉRIAS SOBRE O ENRAIZAMENTO E CRESCIMENTO DE CLONES DE EUCALIPTO EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE PROPAGAÇÃO CLONAL<sup>1</sup>

Reginaldo Gonçalves Mafía<sup>2</sup>, Acelino Couto Alfenas<sup>2</sup>, Luiz Antônio Maffia<sup>2</sup>, Eraclides Maria Ferreira<sup>2</sup> e Leandro de Siqueira<sup>3</sup>

**RESUMO** – Objetivou-se, com este trabalho, avaliar a eficiência de isolados de rizobactérias sobre o enraizamento e crescimento de clones de eucalipto sob diferentes condições de propagação clonal. Os resultados evidenciaram que os incrementos em enraizamento e em biomassa radicular variaram de acordo com o isolado de rizobactéria e o clone de eucalipto, não sendo observado efeito deletério em nenhuma das combinações testadas. O ganho médio no enraizamento e biomassa radicular foi de 20,4 e 73,0%, respectivamente. Para enraizamento, o isolado mais promissor foi o S2 e na biomassa radicular, os isolados S1 e S2.

Palavras-chave: *Eucalyptus*, PGPR e microbiologia.

## ***EFFECT OF RHIZOBACTERIA ON ROOTING AND GROWTH OF EUCALYPTUS CLONES UNDER DIFFERENT CONDITIONS OF CLONAL PROPAGATION***

**ABSTRACT** – *The objective of this study was to evaluate the efficiency of rhizobacteria isolates in increasing rooting and growth of eucalyptus clones under different conditions of clonal propagation. Increments of both rooting and root biomass varied according to the combination rhizobacterium isolate – eucalyptus clone, and no harmful effect was observed in any of the tested combinations. Average increase in rooting was 20.4% and in root biomass was 73.0%. Isolate S2 was the most effective in increasing rooting, whereas isolates S1 and S2 most effectively increased root biomass.*

Keywords: *Eucalyptus*, PGPR and microbiology.

### **1. INTRODUÇÃO**

No Brasil, a produção de mudas de eucalipto é realizada, quase que exclusivamente, por propagação vegetativa. Embora a evolução nas técnicas de clonagem tenha possibilitado grandes incrementos nos índices de enraizamento e na qualidade do sistema radicular (ASSIS, 2001), ainda hoje podem ocorrer grandes variações na capacidade rizogênica entre espécies de eucalipto e materiais híbridos (PENCHEL et al., 1995), bem como redução gradual do potencial de enraizamento

com o envelhecimento ontogênico das matrizes (ASSIS, 2001), incidência de doenças (ALFENAS e MAFIA, 2003; ALFENAS et al., 2004) e formação de mudas com sistema radicular de baixa qualidade. Desse modo, a utilização de rizobactérias promotoras de crescimento tem surgido como tecnologia promissora, sobretudo, em face das possibilidades de incremento no índice de enraizamento, no crescimento e no controle biológico (TEIXEIRA, 2001; MAFIA, 2004).

<sup>1</sup> Recebido em 04.07.2006 e aceito para publicação em 29.03.2007. Parte integrante da Dissertação de Mestrado (DFP/UFV) do primeiro autor.

<sup>2</sup> Departamento de Fitopatologia da UFV, 36570-000 Viçosa-MG. E-mail: <rgoncalves@aracruz.com.br>; <aalfenas@ufv.br>.

<sup>3</sup> Cia. Suzano Bahia Sul de Papel e Celulose, 18200-000 Itapetininga-SP.

As rizobactérias colonizam a rizosfera, região onde interações entre solo, microrganismos e plantas ocorrem. Divide-se em três partes: ectorrizosfera ou solo adjacente às raízes; rizoplano ou superfície radicular; e a área interna das raízes, compreendida pela rizoderme e células corticais (BENIZRI et al., 2001). Em virtude da presença de exsudatos radiculares, a rizosfera é uma região de intensa atividade microbiana (BOWEN e ROVIRA, 1999), onde predominam bactérias de vida livre ou bactérias associativas (CHANWAY et al., 1991), as quais podem apresentar efeito benéfico, neutro ou deletério sobre as plantas hospedeiras. As bactérias que pertencem ao primeiro grupo têm sido designadas “Plant Growth-Promoting Rhizobacteria – PGPR” (KLOEPPER e SCHROTH, 1978).

O efeito de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas tem sido avaliado em culturas agrônomicas (BURR et al., 1978; KLOEPPER et al., 1980, 1988; e SCHROTH, 1982; ISWANDI et al., 1987; DIGAT, 1988; LALANDE et al., 1989; TURNER e BACKMAN, 1991; GAGNÉ et al., 1993). Recentemente, investigações quanto ao uso dessas bactérias em espécies arbóreas têm evidenciado, também, resultados promissores (CHANWAY e OLL, 1993a,b, 1994; CHANWAY, 1997; ENEBACK et al. 1998; ISHIDO e HANWAY, 2000). No setor florestal, onde o tempo de rotação é muito longo, a inoculação com rizobactérias geralmente não objetiva aumento direto na produção de madeira. Todavia, mudas produzidas com rizobactérias podem apresentar maior taxa de sobrevivência, em razão da melhoria da qualidade do sistema radicular, além da possibilidade de redução de doenças nos primeiros anos.

Estudos envolvendo promoção de crescimento nas espécies arbóreas, do grupo das angiospermas, relatam, basicamente, incremento na biomassa de mudas em relação ao controle não-inoculado. Ademais, não foram conduzidos experimentos em condições de viveiro (CHANWAY, 1997). Para o gênero *Eucalyptus* existe, à primeira vista, apenas um relato do efeito da co-inoculação de *Azotobacter chroococcum* Beijerinck e *Bacillus megaterium* de Bary em *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., com um incremento de 44% na biomassa (MOHAMMAD e PRASSAD, 1988). Em contrapartida, vários estudos têm sido conduzidos com gimnospermas, principalmente coníferas dos gêneros *Pinus*, *Picea*, *Tsuga* e *Pseudotsuga* (CHANWAY, 1997). Considerando os exemplos de várias culturas, a utilização de rizobactérias na propagação clonal do eucalipto

tem grandes possibilidades de sucesso, uma vez que, nesse sistema, são empregados substratos de composição essencialmente orgânica, e as principais etapas da multiplicação clonal são realizadas sob condições controladas. Todavia, entre diferentes empresas existem variações de manejo, como: diferenças na constituição do substrato de enraizamento, clones de eucalipto e nutrição, entre outras. Desse modo, objetivou-se, neste trabalho, avaliar o efeito de rizobactérias sobre o enraizamento e crescimento de mudas de eucalipto sob diferentes condições de propagação clonal.

## 2. MATERIALE MÉTODOS

### 2.1. Isolados de rizobactérias e preparo do inóculo

Empregaram-se oito isolados de rizobactérias (FL2 – *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula; S1, S2 e 3918 – *Bacillus subtilis* Cohn; MF2 – *Pseudomonas* sp. Migula; CIIB – *Stenotrophomonas maltophilia* (Hugh) Palleroni e Bradbury; Ca – *Pseudomonas fulva* Lizuga e Komagata; e VC2 – Isolado não identificado), obtidos a partir da rizosfera de mudas clonais de eucalipto de diferentes regiões do País. Esses microrganismos foram pré-selecionados de acordo com a sua capacidade em promover incremento na biomassa de raízes e induzir o enraizamento adventício (TEIXEIRA, 2001).

Para proceder ao preparo do inóculo, cada isolado foi cultivado separadamente em meio solidificado de Kado e Heskett (1970), no escuro. Após 48 h, procedeu-se à raspagem das colônias de bactérias em solução salina (NaCl 0,85%). A concentração de cada suspensão foi ajustada de acordo com a correlação entre a densidade ótica e o número de unidades formadoras de colônias (u.f.c./mL) para 0,2 Abs. (540 nm), o que corresponde aproximadamente a  $10^8$  u.f.c./mL. As suspensões de inóculo foram mantidas sob refrigeração até a utilização.

### 2.2. Instalação dos experimentos

Os experimentos foram instalados em viveiros florestais localizados em Aracruz, ES, Belo Oriente, MG, Bom Despacho, MG, Curvelo, MG, Dionísio, MG, Eunápolis, BA, Guaíba, RS, Itapetininga, SP, e Jacareí, SP, em 44 clones de eucalipto e oito isolados de rizobactérias. Os experimentos foram realizados entre os meses de janeiro e julho. A constituição e composição dos substratos de enraizamento de cada local encontram-se sumarizadas no Quadro 1. Em todos os experimentos,

as suspensões de rizobactérias foram adicionadas ao substrato de enraizamento na proporção de 0,1 ml/cc de substrato e homogêneas em misturador apropriado. Após essa etapa, miniestacas dos diferentes clones foram coletadas de minijardins clonais de eucalipto e postas para enraizar no substrato microbiolizado com os diferentes isolados. Após 25 dias de permanência em casa de enraizamento, realizou-se a avaliação do índice de enraizamento e da biomassa radicular. No primeiro caso, quantificou-se o número de miniestacas enraizadas em relação ao total. A avaliação da biomassa radicular foi realizada após a remoção dos resíduos de substrato e secagem das raízes em estufa por 24 h a 70 °C. Os clones 10, 1501, 6013, 1428, 2029 e 2277 foram testados duas vezes, enquanto os demais foram avaliados em um experimento.

### 2.3. Delineamento experimental e análises estatísticas

Os experimentos foram instalados, para cada clone, em delineamento inteiramente casualizado, composto de seis repetições de 176 miniestacas. Os dados de cada ensaio foram submetidos à análise de variância (ANOVA), aplicando-se o teste F a 5% de probabilidade e as médias, comparadas pelo teste de Tukey. Os dados de enraizamento (E) foram transformados para arco-seno\*(E/100) ou para log (1/1 - (E/100)) (BARTLETT, 1947), para atendimento das pressuposições da análise de variância. Os dados de biomassa seca de raízes, quando necessário, foram transformados por raiz quadrada. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa SAEG (EUCLYDES, 1983). Para cada clone, calculou-se o ganho médio, em termos percentuais, em relação à testemunha, bem como o ganho médio considerando o(s) melhor(es) isolado(s).

### 3. RESULTADOS

Os incrementos em enraizamento e em biomassa radicular variaram de acordo com o isolado de rizobactéria e clone de eucalipto, não sendo observado efeito deletério em nenhuma das combinações testadas. Considerando-se os clones de eucalipto responsivos ao tratamento do substrato com rizobactérias, o ganho médio para enraizamento e biomassa radicular foi de 20,4 e 73,0%, respectivamente. No entanto, levando em conta a interação entre o(s) melhor(es) isolado(s) de rizobactéria e clone de eucalipto, observaram-se incremento médio de 21,4% e 78,0%, respectivamente, para índice de enraizamento e biomassa de raízes. Com relação ao enraizamento, obteve-se maior incremento para a combinação entre o isolado FL2 e o clone 619. Nos clones testados mais de uma vez, constatou-se a mesma resposta ao processo de microbiolização do substrato com rizobactérias (Quadro 2).

Para biomassa radicular, a melhor combinação entre isolado de rizobactéria e clone de eucalipto propiciou um incremento de 285%, quando foram empregados o isolado 3918 e o clone 1270 (Quadro 3). Em relação à reprodutibilidade dos resultados, observou-se no clone 2277 uma resposta diferenciada, sendo o melhor isolado no primeiro ensaio (FL2) diferente do segundo (Ca). Entretanto, no clone 6013, independentemente do ensaio, o isolado Ca foi o mais efetivo.

Considerando os clones responsivos à aplicação de rizobactérias em substrato, obteve-se maior número de respostas positivas para o isolado S2 e os isolados S1 e S2 para enraizamento e biomassa radicular, respectivamente.

**Quadro 1** – Composição e proporção volumétrica dos substratos de enraizamento em diferentes locais  
*Table 1* – Composition of rooting substrates used in the different places

Local	Componentes	Proporção
Aracruz-ES	Composto de casca de eucalipto, casca de arroz carbonizada e vermiculita	50:25:25
Belo Oriente-MG	Casca de arroz carbonizada e vermiculita	50:50
Bom Despacho-MG	Composto de casca de eucalipto, casca de arroz carbonizada e vermiculita	68:16:16
Curvelo-MG	Composto de casca de eucalipto, casca de arroz carbonizada e vermiculita	50:25:25
Dionísio-MG	Substrato Mec-Plant® e vermiculita	60:40
Eunapólis-BA	Substrato Plantmax, casca de arroz carbonizada e vermiculita	50:30:20
Guafba-RS	Casca de arroz carbonizada e vermiculita	50:50
Itapetininga-SP	Substrato Mec-Plant®, casca de arroz carbonizada e vermiculita	30:20:50
Jacareí-SP	Sunshine® (composto à base de casca de <i>Pinus</i> ), vermiculita e casca de arroz carbonizada	60:20:20

**Quadro 2** – Enraizamento de clones de eucalipto. <sup>a</sup>Coefficiente de variação (CV), <sup>b</sup>ganho médio (GM) e <sup>c</sup>ganho médio do melhor isolado (GMI)

**Table 2** – Rooting of eucalyptus clones. <sup>a</sup>Coefficient of variation (CV), <sup>b</sup>average gain (GM), and <sup>c</sup>average gain for the best isolate (GMI)

Local	Clone	Tratamento									CV <sup>a</sup>	GM <sup>b</sup>	GMI <sup>c</sup>
		Test.	FL2	3918	S2	S1	MF2	CIIb	Ca	VC2			
Aracruz ES	1428	53 b	89 a	90 a	91 a	91 a	90 a	-	-	-	12,1	70	70
	1428	77	88	88	91	79	77	-	-	-	10,1	-	-
	1501	84	98	97	97	95	97	-	-	-	9	-	-
	1501	97	97	96	97	97	96	-	-	-	4,2	-	-
	2029	56	55	62	62	54	69	-	-	-	19,8	-	-
	2029	94	91	93	94	94	93	-	-	-	7,6	-	-
	11099	91	94	90	90	88	93	-	-	-	6,3	-	-
	20242	64	61	69	73	59	73	-	-	-	17	-	-
Belo Oriente MG	57	82	83	83	-	82	79	-	-	-	6,8	-	-
	129	79	82	79	-	79	74	-	-	-	7,1	-	-
	1209	62	68	62	-	69	60	-	-	-	11,7	-	-
	1274	79	80	77	-	81	75	-	-	-	7	-	-
	7074	82	85	85	-	81	80	-	-	-	7	-	-
Bom Despacho MG	042	68 b	92 a	90 a	73 b	96 a	-	-	-	-	10,8	36	36
	224	93 b	94 ab	97 a	93 b	97 a	-	-	-	-	2	4	4
	1270	77 c	80 c	97 a	88 b	92 ab	-	-	-	-	6,9	20	26
Curvelo MG	3016	96	97	95	98	98	-	-	-	-	6,5	-	-
	3025	90	91	88	91	87	-	-	-	-	7,9	-	-
	3334	92 ab	93 a	93 a	95 a	89 b	-	-	-	-	2,6	-	-
	3486	73 b	91 a	83 ab	86 a	95 a	-	-	-	-	10,3	24	24
Dionísio MG	57	97	95	95	98	94	98	-	-	-	2,67	-	-
	129	52	62	61	46	40	41	-	-	-	33	-	-
	1591	74	63	73	70	62	63	-	-	-	11	-	-
	2719	92	91	93	92	81	91	-	-	-	7,8	-	-
Guaíba RS	602	39	47	56	65	63	-	-	-	-	11	-	-
	3330	45	19	24	48	58	-	-	-	-	26	-	-
	6870	35 abc	26 bc	25 c	51 a	47 ab	-	-	-	-	13	-	-
	6872	48	56	52	71	55	-	-	-	-	13,6	-	-
Itapetininga SP	10	86 b	92 a	95 a	93 a	96 a	-	-	94 a	-	3,5	9	9
	10	93 b	98 a	98 a	97 a	98 a	-	-	97 a	-	1,5	5	5
	24	40	43	40	36	38	-	-	-	-	40,2	-	-
	442	91 bc	86 c	98 ab	96 abc	98 ab	-	-	99 a	-	9,2	9	9
	617	17 b	27 a	28 a	23 a	25 a	-	-	-	-	8,7	51	51
	619	26 b	61 a	52 a	55 a	37 ab	-	-	-	-	9,7	115	115
	1172	79	83	95	96	89	-	-	92	-	10,2	-	-
	2277	89 b	97 a	96 a	96 a	96 a	-	-	97 a	-	2,6	8	8
	2277	92 b	98 a	98 a	98 a	98 a	-	-	98 a	-	1,9	7	7
	6013	96 b	97 b	100 a	93 b	97 b	-	-	96 b	-	3,1	4	4
	6013	93 b	98 a	99 a	98 a	99 a	-	-	99 a	-	1,8	6	6
	9844	53	52	56	54	60	-	-	50	-	13,1	-	-
	9882	87 b	94 a	95 a	94 a	97 a	-	-	95 a	-	2,8	9	9
	CO41	76 c	90 ab	95 a	82 bc	90 ab	-	91 ab	-	-	10,5	20	25
	C151	92 b	98 a	98 a	-	96 a	-	-	97 a	99 a	2,0	6	6

Continua ...  
Continued ...

**Quadro 2** – Cont.**Table 2** – Cont.

Local	Clone	Tratamento									CV <sup>a</sup>	GM <sup>b</sup>	GMI <sup>c</sup>
		Test.	FL2	3918	S2	S1	MF2	CIIB	Ca	VC2			
Jacareí SP	C183	81 c	91 b	95 ab	-	98 a	-	-	95 ab	94 ab	3,5	17	21
	P4295	87 ab	96 a	79 b	84 b	84 b	-	87 ab	-	-	9,4	-	-
	TC31	93 b	99 a	99 a	-	98 a	-	-	99 a	99 a	1,19	6	6
	VR370	82 c	91 ab	83 c	89 abc	93 a	-	84 bc	-	-	6,3	12	13
Eunápolis BA	244	79 c	91 a	86 ab	93 a	85 b	-	-	90 a	-	5,0	13	16
	830	86 c	89 bc	92 ab	96 a	97 a	-	-	89 bc	-	3,9	10	12
	865	68 b	85 a	85 a	84 a	88 a	-	-	84 a	-	8,9	25	25
	1006	88 b	95 a	98 a	97 a	97 a	-	-	93 ab	-	4,8	10	10
	1028	82 c	94 ab	89 b	94 ab	93 ab	-	-	96 a	-	5,3	14	17
Média	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20,4	21,4

\* Médias seguidas da mesma letra, em cada local e clone, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

**Quadro 3** – Biomassa radicular de clones de eucalipto. <sup>a</sup>Coefficiente de variação (CV), <sup>b</sup>ganho médio (GM) e <sup>c</sup>ganho médio do melhor isolado (GMI)**Table 3** – Dry root biomass of eucalyptus clones. <sup>a</sup>Coefficient of variation (CV), <sup>b</sup>average gain (GM), and <sup>c</sup>average gain for the best isolate (GMI)

Local	Clone	Tratamento									CV <sup>a</sup>	GM <sup>b</sup>	GMI <sup>c</sup>
		Test.	FL2	3918	S2	S1	MF2	CIIB	Ca	VC2			
Aracruz ES	1428	1091	1527	1404	1645	1423	1464	-	-	-	18,6	-	-
	1428	78	107	83	104	91	85	-	-	-	35,1	-	-
	1501	1200 b	1751 a	1625 a	1758 a	1610 a	1776 a	-	-	-	10,8	42	42
	1501	190	139	146	160	130	178	-	-	-	35,1	-	-
	2029	165	143	141	147	160	144	-	-	-	37,7	-	-
	2029	1821 ab	2185 a	1582 b	2063 a	1812 ab	1830 ab	-	-	-	14,8	-	-
	11099	81 b	98 ab	104 a	97 ab	79 b	116 a	-	-	-	18,3	36	36
	20242	91 b	140 a	90 b	135 a	94 b	122 a	-	-	-	17,6	45	45
Belo Oriente MG	57	2033	2016	2300	-	2200	2016	-	-	-	28,3	-	-
	129	1033 c	1516 ab	1250 bc	-	1583 a	1483 ab	-	-	-	20,6	48	53
	1209	916 b	1316 a	1250 a	-	1350 a	1266 a	-	-	-	13,1	41	41
	1274	1316 c	1850 a	1950 a	-	2000 a	1683 b	-	-	-	10,9	42	47
	7074	1083 b	1800 a	1900 a	-	1833 a	1833 a	-	-	-	11,32	70	70
Bom Despacho MG	042	900 b	1180 b	1928 a	868 b	1020 b	-	-	-	-	42,2	114	114
	224	2356 b	3162 a	3740 a	2152 b	2536 ab	-	-	-	-	2,34	47	47
	1270	604 b	1040 b	2328 a	1106 b	1190 b	-	-	-	-	38	285	285
Curvelo MG	3016	920 b	1380 ab	1380 ab	1640 a	1040 b	-	-	-	-	29,8	78	78
	3025	760 d	1060 bc	1520 a	1300 ab	920 cd	-	-	-	-	8,7	70	100
	3334	840 b	1040 ab	1280 a	1240 a	1060 ab	-	-	-	-	16,6	50	50
	3486	660 c	1240 a	1100 ab	1220 a	920 b	-	-	-	-	9,4	70	86
Dionísio MG	57	2020	1620	1370	1410	1821	1667	-	-	-	58,3	-	-
	129	652	727	522	671	638	706	-	-	-	28,1	-	-
	1591	691 b	800 b	1265 a	1148 a	1203 a	980 ab	-	-	-	23,1	74	74
	2719	1219 bc	1048 c	1828 a	1576 ab	1510 abc	1438 abc	-	-	-	20,9	50	50

Continua ...  
Continued ...

**Quadro 3 – Cont.**  
**Table 3 – Cont.**

Local	Clone	Tratamento									CV <sup>a</sup>	GM <sup>b</sup>	GMI <sup>c</sup>
		Test.	FL2	3918	S2	S1	MF2	CIIb	Ca	VC2			
Guaíba RS	602	164 b	213 ab	199 b	275 a	212 ab	-	-	-	-	23,2	68	68
	3330	86	87	56	127	98	-	-	-	-	12,0	-	-
	6870	72 b	92 b	112 ab	100 b	169 a	-	-	-	-	9,4	135	135
	6872	208 b	216 b	279 ab	294 a	344 a	-	-	-	-	3,4	53	53
Itapetininga SP	10	156 b	255 a	241 a	163 b	231 ab	-	-	181 ab	-	23,6	59	59
	10	266 c	439 b	600 a	452 b	416 bc	-	-	403 bc	-	19,3	87	126
	24	70 c	79 bc	125 a	79 bc	112 ab	-	-	-	-	6,4	69	79
	442	385	388	460	343	429	-	-	457	-	17,3	-	-
	617	66	74	85	88	89	-	-	-	-	37	-	-
	619	107 b	97 b	146 a	111 ab	88 b	-	-	-	-	22,7	36	36
	1172	96 c	245 ab	270 ab	185 b	276 ab	-	-	301 a	-	22,3	166	214
	2277	282 b	372 a	263 b	271 b	292 b	-	-	269 b	-	13,4	32	32
	2277	408 b	689 a	556 ab	559 ab	615 a	-	-	753 a	-	4,9	68	68
	6013	352 b	375 b	379 b	359 b	389 b	-	-	510 a	-	20,6	45	45
	6013	337 b	595 a	589 a	463 ab	555 a	-	-	743 a	-	6,1	84	84
	9844	54 bc	75 ab	53 bc	102 a	66 bc	-	-	39 c	-	27,6	89	89
	9882	309 b	313 b	537 a	468 a	386 ab	-	-	395 ab	-	5,4	63	63
Jacareí SP	CO41	546 b	613 b	897 a	533 b	650 b	-	648 b	-	-	22,9	64	64
	C151	440	580	438	-	396	-	-	413	439	27	-	-
	C183	228 b	384 a	528 a	-	530 a	-	-	476 a	508 a	12,6	113	113
	P4295	420 c	701 a	579 ab	584 ab	520 bc	-	541 bc	-	-	19,9	48	67
	TC31	448 c	740 a	489 b	-	598 b	-	-	711 a	711 a	25,9	45	61
VR370	787 b	889 ab	1053 a	825 b	845 b	-	894 ab	-	-	15,2	34	34	
Eunápolis BA	244	190 c	242 bc	271 abc	327 ab	362 a	-	-	252 bc	-	21,7	82	91
	830	446 b	428 b	632 ab	775 a	520 ab	-	-	406 b	-	5,1	74	74
	865	236 b	382 a	553 a	333 ab	397 a	-	-	375 ab	-	6,5	88	88
	1006	390 b	448 b	654 a	530 ab	647 a	-	-	515 ab	-	25,4	67	67
	1028	340 b	442 b	481 b	374 b	641 a	-	-	484 b	-	24,6	89	89
Média	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	73,0	78,0	

\* Médias seguidas da mesma letra, em cada local e clone, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

#### 4. DISCUSSÃO

Em geral, obteve-se maior número de incrementos com os tratamentos com rizobactérias em relação à testemunha para a variável biomassa radicular, o que provavelmente se deveu ao fato de o enraizamento adventício ser um processo fisiológico complexo e depender da otimização concatenada de vários fatores (ASSIS, 2001). Outro ponto a considerar diz respeito à capacidade máxima rizogênica, que é variável de acordo com o material genético.

Observou-se, inicialmente, certa variação na eficiência dos isolados de rizobactérias. A redução da população de certas rizobactérias na rizosfera é apontada como um dos motivos da variabilidade de resposta

quanto à promoção de crescimento. Contudo, em alguns casos não ocorre concomitantemente redução na eficácia de promoção de crescimento e na população de rizobactérias (REDDY e RAHE, 1989). A título de exemplo, nas espécies arbóreas um isolado de *Bacillus* (L6-16R) foi capaz de colonizar efetivamente a rizosfera de pinus (*Pinus contorta* Dougl. ex Loud) um mês após a inoculação, mas, depois desse período, a população declinou, coincidindo com o período de promoção de crescimento (HOLL e CHANWAY, 1992). De forma similar, Shishido et al. (1995) observaram, realizando o estudo em câmaras de crescimento, que dois isolados de *Bacillus* (L6-16R e Pw-2R) mantiveram-se, na rizosfera, em uma população elevada (acima de  $5 \times 10^7$  u.f.c/g de tecido radicular fresco) e estável por pelo menos duas semanas

após a inoculação. Declínio na população foi verificado somente a partir da quarta semana, não se correlacionando com a promoção de crescimento de pinus (*P. contorta* Dougl. ex Lourd.).

Ainda no que se refere à capacidade de colonização da superfície radicular e do substrato rizosférico, certas rizobactérias promotoras de crescimento são capazes, também, de penetrar nos tecidos vegetais e colonizar microssítios internos nas plantas (HALLMANN et al., 1997), algo que não pode ser descartado para os isolados testados. A promoção de crescimento normalmente ocorre de forma mais consistente em rizobactérias capazes de colonizar os tecidos internos da planta hospedeira (SHISHIDO e CHANWAY, 2000). Isso ocorre em virtude de não haver, nesse caso, competição com os microrganismos naturais do solo, que potencialmente podem reduzir ou até mesmo excluir as rizobactérias benéficas introduzidas (KLOEPPER et al., 1989).

De acordo com os resultados, aparentemente existe especificidade entre isolados de rizobactérias e clones de eucalipto, o que explica, dessa forma, as diferenças de resposta ao processo de tratamento do substrato. Existem evidências dessa especificidade de resposta para espécies arbóreas tratadas com rizobactérias (O'NEILL et al., 1992; CHANWAY e HOLL, 1993b). Além disso, também se devem considerar as diferenças no substrato de enraizamento, uma vez que uma série de fatores abióticos (pH, disponibilidade de nutrientes, retenção de umidade, aeração etc.) e bióticos (composição quali-quantitativa da microbiota e outros) podem favorecer ou não a colonização, sobrevivência e atividade dos isolados de rizobactérias.

Observaram-se grandes variações nos incrementos para enraizamento. Todavia, em geral os ganhos podem ser considerados satisfatórios quando comparados com a introdução da técnica de miniestaquia, que propiciou acréscimo no índice de enraizamento de no máximo 40% (ASSIS, 2001). Além disso, deve-se considerar que o tratamento de substrato com rizobactérias não envolve alterações significativas de infra-estrutura ou no manejo durante a produção de mudas, podendo maximizar a produção de mudas e otimizar a utilização das instalações do viveiro.

## 5. CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho permitem concluir que os isolados de rizobactérias testados foram eficientes

quanto à promoção do enraizamento e ao crescimento de clones de eucalipto, sob diferentes condições de propagação clonal. Além disso, os melhores isolados foram o S2 e as estirpes S1 e S2 para a indução do enraizamento e a promoção de crescimento, respectivamente, expresso pela biomassa radicular.

## 6. AGRADECIMENTOS

Às empresas florestais Aracruz Celulose S.A., CAF Santa Bárbara Ltda., Cenibra S.A., Cia. Suzano Bahia-Sul de Papel e Celulose, Jari Celulose S.A., Klabin Papel e Celulose S.A., Lwarcel Papel e Celulose, Plantar S.A., Veracel Celulose S.A. e Votoratin Celulose e Papel (VCP), pelo apoio logístico e pelo financiamento de parte deste trabalho.

## 7. REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. Controle integrado de doenças em viveiros clonais e aspectos relativos à ferrugem (*Puccinia psidii*) do eucalipto. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.156-163, 2003.
- ALFENAS, A. C. et al. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa, MG: Imprensa Universitária, 2004. 442p.
- ASSIS, T. F. Evolution of technology for cloning *Eucalyptus* in large scale. In: IUFRO INTERNATIONAL SYMPOSIUM, 2001, Valdivia. **Proceedings...** Valdivia: 2001. 417p. CD-ROM.
- BARTLETT, M. S. The use of transformations. **Biometrics**, v.3, p.39-53, 1947.
- BENIZRI, E.; BAUDOIN, E.; GUCKERT, A. Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. **Biocontrol Science and Technology**, v.11, p.557-574, 2001.
- BOWEN, G. D.; ROVIRA, A. D. The rhizosphere and its management to improve plant growth. **Advances in Agronomy**, v.66, p.1-12, 1999.
- BURR, T. J.; SCHROTH, M. N.; SUSLOW, T. Increased potato yields by treatment of seedpieces with specific strains of *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida*. **Phytopathology**, v.68, p.1377-1383, 1978.



- CHANWAY, C. P.; HOLL, F. B. First year field performance of spruce seedlings inoculated with plant growth promoting rhizobacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, v.39, p.1084-1088, 1993a.
- CHANWAY, C. P.; HOLL, F. B. Ecotypic specificity of spruce emergence-stimulating *Pseudomonas putida*. **Forest Science**, v.39, p.520-527, 1993b.
- CHANWAY, C. P.; HOLL, F. B. Growth of out planted lodgepole pine seedlings one year after inoculation with growth promoting rhizobacteria. **Forest Science**, v.40, p.238-246, 1994.
- CHANWAY, C. P. Inoculation of tree roots with PGPR soil bacteria: an emerging technology for reforestation. **Forest Science**, v.43, p.99-112, 1997.
- CHANWAY, C. P.; TURKINGTON, R.; HOLL, F. B. Ecological implications of specificity between plants and rhizosphere microorganisms. **Advances in Ecological Research**, v.21, p.121-169, 1991.
- DIGAT, B. The bacterization of horticultural substrates and its effects on plant growth. **Acta Horticulturae**, v.221, p.279-288, 1988.
- ENEBACK, S. A.; WEI, G.; KLOEPPER, J. W. Effects of PGPR on loblolly and slash pine seedlings. **Forest Science**, v.44, p.139-144, 1998.
- EUCLYDES, R. F. **Manual de utilização do programa SAEG (Sistema para Análises Estatística e Genética)**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1983. 59p.
- GAGNÉ, S. et al. Increase of greenhouse tomato fruit yields by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) inoculated into the peat-based growing media. **Soil Biology and Biochemistry**, v.25, p.269-272, 1993.
- HALLMANN, J. et al. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, v.43, p.895-914, 1997.
- HOLL, F. B.; CHANWAY, C. P. Rhizosphere colonization and seedling growth promotion of lodgepole pine by *Bacillus polymyxa*. **Canadian Journal of Microbiology**, v.38, p.303-308, 1992.
- ISWANDI, A. et al. Effect of the seed inoculation with the rhizopseudomonad strains 7NSK2 on the root microbiota of maize (*Zea mays*) and barley (*Hordeum vulgare*). **Biology and Fertility of Soils**, v.3, p.153-158, 1987.
- KADO, E. I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, v.60, p.969-976, 1970.
- KLOEPPER, J. W.; SCHROTH, M. M. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON PLANT PATHOGENIC BACTERIA, 4, 1978, Angers. **Proceedings...** Angers: 1978. p.879-882.
- KLOEPPER, J. W. et al. Plant growth-promoting rhizobacteria on canola (rape-seed). **Plant Disease**, v.72, p.42-46, 1988.
- KLOEPPER, J. W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R. M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends in Biotechnology**, v.7, p.39-44, 1989.
- KLOEPPER, J. W.; SCHROTH, M. N.; MILLER, T. D. Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. **Phytopathology**, v.70, p.1078-1082, 1980.
- LALANDE, R. et al. Identification of rhizobacteria from maize and determination of their plant-growth promoting potential. **Plant and Soil**, v.115, p.7-11, 1989.
- MAFIA, R. G. **Rizobactérias como promotoras do enraizamento, crescimento e como agentes de biocontrole de doenças na propagação clonal do eucalipto**. 2004. 105f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2004.
- MOHAMMAD, G.; PRASAD, R. Influence of microbial fertilizers on biomass accumulation in polypotted *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. seedlings. **Journal of Tropical Forest Science**, v.4, p.74-77, 1988.

O'NEILL, G. A. et al. An assessment of spruce growth response specificity after inoculation with coexistent rhizosphere bacteria.

**Canadian Journal of Botany**, v.70, p.2347-2353, 1992.

PENCHEL, R. M. et al. Otimização de parâmetros fisiológicos da propagação vegetativa por estaquia de matrizes elite de eucaliptos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 1995, Lavras **Resumos...** Lavras SBFV, 1995. CD ROOM.

REDDY, M. S.; RAHE, J. E. Growth effects associated with seed bacterization not correlated with populations of *Bacillus subtilis* inoculant in orion seedling rhizospheres. **Soil Biology and Biochemistry**, v.21, p.373-378, 1989.

SHISHIDO, M.; CHANWAY, C. P. Colonization and growth promotion of outplanted spruce seedlings pré-inoculated with plant growth-promoting rhizobacteria in the greenhouse. **Canadian Journal of Forest Research**, v.30, p.845-854, 2000.

SHISHIDO, M.; LOEB, B. M.; CHANWAY, C. P. Rhizosphere and internal root colonization of lodgepole pine by two seedling growth-promoting *Bacillus* strains originating from different root microsites. **Canadian Journal of Microbiology**, v.41, p.701-713, 1995.

SUSLOW, T. V.; SCHROTH, M. N. Rhizobacteria of sugarbeet: effects of seed application and root colonization on yield. **Phytopathology**, v.72, p.199-206, 1982.

TEIXEIRA, D. A. **Promoção de enraizamento e indução de resistência sistêmica à ferrugem e à mancha-de-Cylindrocladium, mediadas por rizobactérias em clones de *Eucalyptus* spp.** 2001. 67f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

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