

Boletim de Pesquisa **59** ***e Desenvolvimento***

ISSN 1516 - 4675
Novembro, 2011

Manguezais: potencial fonte de microrganismos para o uso como agentes de biocontrole da podridão radicular e promotores de crescimento de plantas em hidroponia

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 59

Manguezais: potencial fonte de microrganismos para o uso como agentes de biocontrole da podridão radicular e promotores de crescimento de plantas em hidroponia

Élida Barbosa Corrêa
José Abraão Haddad Galvão
Wagner Bettiol

Embrapa Meio Ambiente
Jaguariúna, SP
2011

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Meio Ambiente

Rodovia SP 340 Km 127,5 - Tanquinho Velho

Caixa Postal 69

CEP 13820-000 Jaguariúna, SP

Fone: (19) 3311-2650

Fax: (19) 3311-2640

<http://www.cnpma.embrapa.br>

sac@cnpma.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Marcelo Augusto Boechat Morandi*

Secretária-Executiva: *Vera Lúcia S. S. de Castro*

Secretário: *Sandro Freitas Nunes*

Bibliotecário: *Victor Paulo Marques Simão*

Membro Nato: *Adriana M. M. Pires*

Membros: *Lauro Charlet Pereira, Fagoni Fayer Calegario, Aline de Holanda Nunes Maia, Nilce Chaves Gattaz, Marco Antonio Ferreira Gomes e Rita Carla Boeira*

Normalização bibliográfica: *Victor Paulo Marques Simão*

Editoração eletrônica: *Alexandre Rita da Conceição*

1ª edição eletrônica (2011)

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Meio Ambiente**

Manguezais: potencial fonte de microrganismos para o uso como agentes de biocontrole da podridão radicular e promotores de crescimento de plantas em hidroponia / Élide Barbosa Corrêa, José Abrahão Haddad Galvão, Wagner Bettioli. – Jaguariúna, SP : Embrapa Meio Ambiente, 2011.

26 p.— (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Meio Ambiente; 59).

1. Controle biológico. 2. Promotor de crescimento. 3. Mangue. 4. Pepino. 5. *Pythium aphanidermatum*. 6. Podridão radicular. 7. *Gordonia rubripertincta*. 8. *Pseudomonas stutzeri*. 9. *Bacillus cereus*. I. Corrêa, Élide Barbosa. II. Galvão, José Abrahão Haddad. III. Série. IV. Título.

CDD 632.96

© Embrapa 2011

Sumário

Resumo	5
Abstract.....	7
Introdução.....	8
Manguezais	9
Manejo da podridão radicular em cultivos hidropônicos por microrganismos residentes de manguezais	10
Promoção de crescimento em cultivos hidropônicos por microrganismos residentes de manguezais	13
Considerações finais	17
Referências	21

Manguezais: potencial fonte de microrganismos para o uso como agentes de biocontrole da podridão radicular e promotores de crescimento de plantas em hidroponia

Élida Barbosa Corrêa¹

José Abrahão Haddad Galvão²

Wagner Bettiol³

Resumo

Microrganismos residentes de manguezais são adaptados aos baixos teores de oxigênio e flutuações de salinidade, condições encontradas em ambientes hidropônicos. Essa adaptação ecológica torna esses microrganismos em potenciais agentes de controle biológico de podridões radiculares, importantes doenças que incidem sobre cultivos hidropônicos e promotores de crescimento de plantas, pois um dos principais problemas encontrados no biocontrole e na promoção de crescimento em hidroponia é a baixa adaptação dos microrganismos introduzidos. O objetivo do trabalho foi avaliar a capacidade de 28 isolados de microrganismos residentes de manguezais no controle da podridão radicular causada por *Pythium aphanidermatum* e na promoção de crescimento em pepino hidropônico. Dentre os microrganismos avaliados para o controle da doença em mini-hidroponia, utilizando plântulas de pepino, *Gordonia rubripertincta* SO-3B-2, uma mistura de isolados (*G. rubripertincta* SO-3B-2, MB- P3A-49, MB-P3-C68 e SO-3L-3 de *Pseudomonas stutzeri*) e *Bacillus cereus* AVIC-3-6 aumentaram a sobrevivência das plântulas.

¹Engenheira Agrônoma, Doutora em Fitopatologia, Bolsista do CNPq, Rod. SP 340, km 127,5 - Caixa Postal 69, Tanquinho Velho, 13.820-000 Jaguariúna, SP. E-mail: elidabcorrea@yahoo.com.br

²Engenheiro Agrônomo, Analista da Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, km 127,5 - Caixa Postal 69, Tanquinho Velho, 13.820-000 Jaguariúna, SP. E-mail: abrahao@cnpma.embrapa.br

³Engenheiro Agrônomo, Doutor em Fitopatologia, Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, km 127,5 - Caixa Postal 69, Tanquinho Velho, 13.820-000 Jaguariúna, SP. E-mail: bettiol@cnpma.embrapa.br

Em condições de casa-de-vegetação, *G. rubripertincta* SO-3B-2 e *P. stutzeri* MB-P3A-49 promoveram o crescimento vegetal das plantas não infestadas com o patógeno. Concluímos que, microrganismos residentes de manguezais são potenciais agentes de controle biológico da podridão radicular e da promoção de crescimento em cultivos hidropônicos.

Palavras chave: controle biológico, promoção de crescimento, manguezais, podridão radicular, *Pythium aphanidermatum*, *Gordonia rubripertincta*, *Pseudomonas stutzeri*, *Bacillus cereus*.

Mangroves: a potential source of microbes for use as biocontrol agents of root rot and plant growth promoters in hydroponic crops

Abstract

Mangrove microbes are well adapted to low oxygen and salinity fluctuation environments, conditions found in hydroponic systems. This ecological adaptation makes these microbes suitably adapted for use in hydroponic crops as biological control agents of root rot, important disease in hydroponic crops; and as plant growth promoters, because one of the most important issues found in the biocontrol and plant growth promotion in hydroponic crops is the low survival of the added microbes to the nutrient solution. The aim of this work was to evaluate the ability of 28 mangrove microbes strains for the control of root rot caused by *Pythium aphanidermatum* and growth promotion in hydroponic cucumber. Among the 28 strains evaluated to disease control in small-hydroponic system using cucumber seedlings, *Gordonia rubripertincta* SO-3B-2, the mix strains (*G. rubripertincta* SO-3B-2, MB-P3A-49, MB-P3-C68 and SO-3L-3 of *Pseudomonas stutzeri*), and *Bacillus cereus* AVIC-3-6 increased the seedlings survival. In greenhouse conditions *G. rubripertincta* SO-3B-2 and *P. stutzeri* MB-P3A-49 increased growth of plants not infested with the pathogen. We conclude that microbes from mangroves have potential value as biocontrol agents and growth promotion in hydroponic crops.

Key words: biological control, growth promotion, mangrove, root rot, *Pythium aphanidermatum*, *Gordonia rubripertincta*, *Pseudomonas stutzeri*, *Bacillus cereus*.

Introdução

Podridões radiculares são importantes doenças que incidem sobre culturas produzidas em hidroponia, podendo causar perdas de até 100% (BATES; STANGHELLINI, 1984; STANGHELLINI; RASMUSSEN, 1994; SUTTON et al., 2006). Agentes causais de podridões radiculares são patógenos do gênero *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium* e *Plasmopara* (JENKINS; AVERRE, 1983; BATES; STANGHELLINI, 1984; LINDE et al., 1990; STANGHELLINI et al., 1990; ROSE et al., 2003). Entretanto, os patógenos zoospóricos, pertencentes ao Reino Straminipila e ao Filo Oomycota, são os mais agressivos e comumente isolados de tecidos doentes. Dentre esses microrganismos, as espécies pertencentes ao gênero *Pythium* são as mais importantes (BATES; STANGHELLINI, 1984; STANGHELLINI; RASMUSSEN, 1994; UTKHEDE et al., 2000). *Pythium* spp. são altamente adaptados às condições aquáticas e capazes de infectar seus hospedeiros por meio de diferentes estruturas como fragmentos de hifas, zoósporos, esporângios e oósporos (ENDO; COLT, 1974). A disseminação do patógeno ocorre principalmente por zoósporos e fragmentos de hifa, sendo a disseminação por zoósporos ativa e passiva, aumentando a sua eficiência. Diferentes sintomas são expressos pelas plantas como resultado do parasitismo de *Pythium* spp., como podridão radicular, subdesenvolvimento, diminuição da produção e murcha (ZHENG et al., 2000; OWEN-GOING et al., 2003; SUTTON et al., 2006; CORRÊA et al., 2010).

A utilização do controle biológico em hidroponia é favorecida pelos seguintes fatores: (i) inexistência de agrotóxicos registrados para a doença, (ii) facilidade de introdução/disseminação de microrganismos benéficos por meio da solução nutritiva, e (iii) baixa competição microbiana com os microrganismos nativos, visto que, no início do cultivo hidropônico a comunidade microbiana que coloniza o sistema radicular é baixa devido a pouca disponibilidade de carbono orgânico no sistema. Entretanto, apesar da potencialidade de utilização do biocontrole na diminuição dos danos causados pela podridão radicular, a baixa sobrevivência dos microrganismos benéficos adicionados na

solução nutritiva, muitas vezes isolados do ambiente terrestre, precisa ser solucionada.

A utilização de microrganismos adaptados às condições aquáticas pode aumentar a efetividade do controle biológico e da promoção de crescimento de plantas em sistemas hidropônicos. Para isso, é necessário o isolamento de microrganismos em locais similares ao ambiente hidropônico, como por exemplo, em manguezais. Os ecossistemas de manguezais se assemelham ao sistema hidropônico devido aos baixos teores de oxigênio e aos diferentes níveis de salinidade. Microrganismos residentes de manguezais sofreram adaptação ao longo de sua evolução para residirem nesse ambiente. Essa adaptação biológica torna esses microrganismos potencialmente aptos a sobreviverem no ambiente hidropônico. Além das condições físicas e químicas semelhantes com o sistema hidropônico, manguezais são fontes ricas para isolamento de microrganismos, pois esses são responsáveis pela alta eficiência na ciclagem de nutrientes escassos no ambiente (HOLGUIN et al., 2001; BASHAN; HOLGUIN, 2002).

Manguezais

Manguezais são ecossistemas de transição entre ambientes terrestres, marinhos e de água doce, que compreendem 60-75% da linha costeira mundial. O nome manguezal é originário da palavra mangue, principal espécie vegetal constituinte desse ecossistema (HOLGUIN et al., 1999). A vegetação dos manguezais brasileiros é constituída, principalmente, pelas espécies de *Rhizophora mangle* (mangue-vermelho), *Avicennia* spp. (mangue-negro), *Laguncularia racemosa* (mangue-branco) e *Conocarpus erectus* (MENEZES, 1999; SOUZA; SAMPAIO, 2001); além das angiospermas citadas, micro e macroalgas (criptógamas) habitam os manguezais. A vegetação que compreende os manguezais é adaptada à flutuação de salinidade e caracterizada por colonizar sedimentos predominantemente lodosos, com baixos teores de oxigênio (SCHAEFFER-NOVELLI, 1995, citado por MENEZES, 1999). Brasil, Indonésia e Austrália são os países que possuem as maiores áreas de manguezal do mundo (HOLGUIN et al., 1999).

Ecossistemas de manguezais são altamente produtivos e fornecem grandes quantidades de matéria orgânica para águas costeiras adjacentes na forma de detritos e animais (peixes e crustáceos). Os detritos servem como fonte de nutrientes, sendo a base de ampla cadeia alimentar onde organismos de importância comercial fazem parte. Além do mais, manguezais servem como abrigo e zonas de reprodução de crustáceos, moluscos, peixes e pássaros (HOLGUIN et al., 2001).

Microrganismos residentes de manguezais têm importante papel na ciclagem de nutrientes no sistema, sendo indispensáveis para a sua sustentabilidade. Apesar da elevada produtividade de manguezais, esses sistemas são pobres em nutrientes essenciais para o crescimento vegetal, como nitrogênio e fósforo. Entretanto, a diversa e altamente produtiva atividade microbiana no ambiente transforma a matéria orgânica em fonte de nitrogênio, fósforo e outros nutrientes utilizados pela vegetação (HOLGUIN et al., 2001; BASHAN; HOLGUIN, 2002).

Apesar da importância dos manguezais na manutenção da biodiversidade do planeta, a sua sistemática destruição está aumentando. O desmatamento de manguezais é considerado uma das maiores razões do decréscimo da pesca costeira de muitos países tropicais e subtropicais (HOLGUIN et al., 2001).

Manejo da podridão radicular em cultivos hidropônicos por microrganismos residentes de manguezais

O manejo da podridão radicular causada por *Pythium* spp. é um desafio para os produtores e técnicos, incluindo práticas de sanitização, desinfestação do sistema hidropônico e minimização dos fatores de estresse do desenvolvimento vegetal (SUTTON et al., 2006). Uma vez introduzido no sistema por meio da água de irrigação, mudas, poeira, insetos e em partículas de solo aderidas às ferramentas e aos calçados (FAVRIN, 1988; SUTTON et al., 2006), o oomycota coloniza o sistema radicular e se dissemina rapidamente por meio da circulação da solução nutritiva para as plantas sadias, onde encontra um ambiente favorável para o seu estabelecimento (STANGHELLINI et al., 1988; ZINNEN, 1988).

A principal forma de controle da doença é a preventiva, principalmente por meio da utilização de água sem a presença do patógeno e de mudas saudáveis. O controle genético e o químico não estão disponíveis atualmente para o produtor. Uma alternativa para o manejo da podridão radicular em hidroponia é a adição, na solução nutritiva ou no substrato de cultivo, de microrganismos antagonistas ao patógeno, indutores de resistência e promotores de crescimento de plantas. O controle biológico da podridão radicular em hidroponia foi demonstrado como viável por Paulitz et al. (1992), Utkhede et al. (2000), Paulitz e Bélanger (2001), Liu et al. (2002), Khan et al. (2003), Chatterton et al. (2004), Corrêa (2006), Liu et al. (2007) e Postma et al. (2009). No mercado internacional existem produtos registrados para o controle da doença, formulados com bactérias e fungos, como o Companion®, formulado com *Bacillus subtilis* GB03 (GROWTH..., 2009), o Mycostop®, formulado com *Streptomyces griseoviridis* (AGBIO, 2007) e o PlantShield®, formulado com *Trichoderma harzianum* T-22 (STEWART, 2001). No entanto, um dos problemas encontrados com a utilização do controle biológico da podridão radicular é a baixa sobrevivência dos agentes de biocontrole isolados do ambiente terrestre em hidroponia (CORRÊA, 2006; KHAN et al., 2003). Assim, o isolamento de microrganismos em locais similares ao ambiente hidropônico constitui uma alternativa para aumentar a eficiência do biocontrole em hidroponia.

A prospecção de agentes de controle biológico em manguezais para utilização em hidroponia é indicada, pois os microrganismos habitantes do mangue são adaptados às concentrações e flutuações de salinidade e aos baixos teores de oxigênio, características encontradas em sistemas hidropônicos.

Com o objetivo de selecionar microrganismos residentes do manguezal para o controle da podridão radicular, causada por *Pythium aphanidermatum*, 28 microrganismos (Tabela 1), incluindo bactérias, actinobactérias e fungos, foram pré-selecionados utilizando-se um mini sistema hidropônico, composto por plântulas de pepino, frascos de penicilina e solução nutritiva. Para tal, os microrganismos foram adicionados na solução nutritiva dois dias antes da infestação com

zoósporos do patógeno. Os microrganismos que aumentaram a sobrevivência das plântulas foram posteriormente avaliados em casa-de-vegetação.

Entre os 28 microrganismos testados em mini-hidroponia, *Bacillus cereus* AVIC-3-6, *Gordonia rubripertincta* SO-3B-2 e uma mistura de isolados (*G. rubripertincta* SO-3B-2, MB-P3A-49, MB-P3-C68 e SO-3L-3 de *Pseudomonas stutzeri*) aumentaram a sobrevivência das plantas e foram posteriormente testados em condições de casa-de-vegetação, em pepino hidropônico. A adição de *B. cereus* AVIC-3-6 no substrato de desenvolvimento das plantas de pepino, infestadas ou não com *P. aphanidermatum*, promoveu o desenvolvimento do sistema radicular em 20% e 17%, respectivamente, apesar de não diferir das respectivas testemunhas. Liu et al. (2007) verificaram que, em crisântemo hidropônico, a aplicação de *B. cereus* HY06 na solução nutritiva suprimiu o desenvolvimento da podridão radicular causada por *P. aphanidermatum* independentemente da temperatura da solução nutritiva ser alta (32 °C) ou moderada (24 °C), sendo um potencial agente de controle biológico da doença. No experimento com a adição de *G. rubripertincta* SO-3B-2 e da mistura dos isolados (*G. rubripertincta* SO-3B-2, MB-P3A-49, MB-P3-C68 e SO-3L-3 de *P. stutzeri*) no substrato infestado com zoósporos de *P. aphanidermatum*, não foram verificados efeitos dos tratamentos no desenvolvimento das plantas. Os isolados testados no presente trabalho (SO-3B-2, MB-P3A-49, MB-P3-C68 e SO-3L-3) foram selecionados por Reyes (2009) como produtores de biossurfactantes. A síntese de biossurfactantes pode ser listada como um importante mecanismo de controle da podridão radicular em hidroponia. Biossurfactantes são substâncias de superfície ativa, contendo composição química variada, produzidas por bactérias e fungos, com a capacidade de lisar células sem parede celular. Essas substâncias são utilizadas para inativar zoósporos, importantes estruturas de infecção de patógenos que ocorrem em sistemas hidropônicos, como *Pythium* spp., *Phytophthora* spp. e *Plasmopara* spp. (DE JONGHE et al., 2005; NIELSEN et al., 2006).

Promoção de crescimento em cultivos hidropônicos por microrganismos residentes de manguezais

De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) a produção agrícola terá que aumentar 70% até 2050 para alimentar nove bilhões de indivíduos (FOME..., 2010). Entretanto, esse aumento de produção precisa ser sustentável para não agravar os danos ao ambiente causado pela agricultura intensiva e, conseqüentemente, à saúde humana.

A utilização de microrganismos que promovam o crescimento de plantas e que aumentem a eficiência da absorção de nutrientes é uma ferramenta sustentável para o aumento da produção vegetal nas diversas formas de cultivo, sem os danos ao ambiente causados pelo uso demasiado de fertilizantes (BERG, 2009). A promoção de crescimento de plantas em hidroponia é altamente desejada pelo produtor, pois, utilizando o mesmo espaço físico, o seu ganho pode aumentar em consequência de colheitas precoces e/ou do aumento da produção das culturas.

Em manguezais, o equilíbrio das relações ecológicas é dependente da diversa e altamente produtiva atividade microbiana, que transforma a matéria orgânica em fonte de nitrogênio, fósforo e outros nutrientes utilizados pela vegetação. Em contrapartida, os exsudados radiculares são fonte de energia para os microrganismos que habitam o manguezal (HOLGUIN et al., 2001; BASHAN; HOLGUIN, 2002). Bashan e Holguin (2002) em sua revisão sobre "Bactérias promotoras de crescimento: potencial ferramenta para o reflorestamento de manguezais áridos" descrevem a importância da utilização dessas bactérias no aumento da taxa de reflorestamento com mudas nativas. De acordo com os autores, é necessária a manutenção e o restabelecimento das comunidades microbianas para a conservação de manguezais. O tratamento de mudas de espécies nativas com bactérias promotoras de crescimento pode ajudar na revegetação de áreas degradadas e na criação de ecossistemas reconstruídos. Essa promoção de crescimento pode ser realizada por bactérias que participam de um ou mais ciclos no ecossistema.

Diversos mecanismos de promoção de crescimento de plantas são conhecidos, como a produção de hormônios que estimulam o crescimento, a solubilização de fosfatos, a fixação de nitrogênio, a degradação de compostos tóxicos presentes no solo e o controle do metabolismo de estresse das plantas pela diminuição dos níveis de etileno (LUGTENBERG; KAMILOVA, 2009). Bactérias fixadoras de nitrogênio, solubilizadoras de fosfatos e produtoras de hormônios de crescimento são residentes de manguezais e já foram reportadas por vários autores, como Holguin et al. (1992), Holguin et al. (1999), Rojas et al. (2001), Vazquez et al. (2000) e Ravikumar et al. (2002). A habilidade de fixação de nitrogênio por bactérias isoladas da rizosfera de *Rhizophora mangle* e *Avicennia germinans*, classificadas como *Listonella anguillarum* e *Vibrio campbelli*, foi demonstrada por Holguin et al. (1992). Rojas et al. (2001) avaliaram as possíveis interações de duas potenciais bactérias promotoras de crescimento residentes de manguezais, uma fixadora de nitrogênio (*Phyllobacterium* sp.), outra solubilizadora de fosfato (*Bacillus licheniformis*), *in vitro*, em plântulas de mangue-negro. Os autores verificaram que, quando as bactérias foram cultivadas de forma conjunta, houve o aumento da fixação de nitrogênio e da solubilização de fosfato. Quando as mudas de mangue-negro foram tratadas com os isolados bacterianos e cultivadas em água do mar artificial, foi verificado maior desenvolvimento de folhas. Bashan et al. (1998) verificaram maiores quantidades de nitrogênio total e ¹⁵N em mudas de mangue-negro, nos tratamentos onde as cianobactérias diazotróficas *Microcoleus chthonoplastes* (isolados B1 e SC7B9002-1) foram aplicadas, em condições *in vitro*, sem competição com outros isolados. Em sedimentos marinhos, fosfatos usualmente precipitam devido à abundância de cátions na água intersticial (água do sedimento), fazendo do fósforo um elemento altamente indisponível para as plantas. No entanto, bactérias residentes de manguezais solubilizadoras de fosfato são potenciais fornecedoras de formas solúveis de fósforo para as plantas (BASHAN; HOLGUIN, 2002). Essas bactérias foram isoladas de raízes de mangue-negro e classificadas como *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter taylora*, *Enterobacter asburiae* e *Kluyvera cryocrescens* e de raízes de mangue-branco *Chryseomonas luteola* e *Pseudomonas*

stutzeri (HOLGUIN et al., 1999).

Promoção de crescimento da oleaginosa halófito anual *Salicornia bigelovii*, residente de manguezal e potencial espécie a ser utilizada na alimentação animal, foi avaliada por meio da aplicação de oito bactérias halotolerantes por meio do tratamento de sementes e da adição de “pellet” de alginato com as bactérias imobilizadas, ao substrato de crescimento das plantas, em condições parecidas às do habitat natural. Após 8-11 meses, as plantas que receberam o tratamento com as bactérias *Azospirillum halopraeferens*, mistura de dois isolados de *Azospirillum brasilense*, mistura de *Vibrio aestuarianus* e *Vibrio proteolyticus*, e a mistura de *Bacillus licheniformis* e *Phyllobacterium* sp. tiveram aumento significativo na altura e na matéria seca (Bashan et al., 2000). Três espécies de *Azotobacter* (*Azotobacter chroococcum*, *Azotobacter vinelandii* e *Azotobacter beijerinckii*), isoladas do manguezal indiano de Pichavaram, fixadoras de nitrogênio e produtoras de ácido-indol-acético (AIA), foram avaliadas como promotoras de crescimento de plântulas de *Rhizophora mucronata* e *Rhizophora apiculata*. A aplicação de *Azotobacter* spp. no substrato de cultivo das plântulas propiciou aumento no desenvolvimento da massa radicular, no comprimento radicular, na área foliar e na massa do sistema aéreo das plantas. Além de promover o crescimento das plântulas, foi observado aumento nos níveis de clorofila total e carotenóides nas plantas tratadas com as bactérias (RAVIKUMAR et al., 2004).

Bactérias residentes de manguezais também são relatadas por Ravikumar et al. (2002) como potenciais promotoras de crescimento de plantas cultivadas em solos alcalinos e salinizados. O gênero *Azospirillum* vem merecendo destaque devido a tolerância à salinidade, fixação de nitrogênio, síntese de hormônios de crescimento vegetal e por aumentarem a capacidade das plantas em absorverem nutrientes. Verificou-se aumento na porcentagem de germinação de sementes de grama negra e de arroz com o tratamento de sementes com *Azospirillum brasiliense* (10^8 células mL⁻¹), capaz de sintetizar AIA e fixar nitrogênio, isolada de raízes de *Avicennia marina* e do sedimento rizosférico de *Suaeda monoica*, do manguezal indiano de Pichavaram

(RAVIKUMAR et al., 2002).

Neste estudo, os isolados pré-selecionados em mini-hidroponia para o controle da podridão radicular (SO-3B-2 de *G. rubripertincta* e os isolados MB-P3A-49, MB-P3-C68 e SO-3L-3 de *P. stutzeri*) foram avaliados em três experimentos para a promoção de crescimento: (i) tratamento de sementes de pepino com suspensões contendo 1×10^6 ufc mL⁻¹ por 15 minutos; (ii) adição de suspensão dos isolados contendo 1×10^6 células/mL em vasos com 400 mL de substrato, e (iii) adição de suspensão dos isolados contendo 1×10^9 ufc/mL em vasos com 800 mL de substrato.

O tratamento das sementes de pepino com os isolados SO-3B-2 de *G. rubripertincta*, MB-P3A-49, MB-P3-C68 e SO-3L-3 de *P. stutzeri* teve efeito neutro ou negativo sobre a altura das plântulas, sendo verificado efeito negativo com a aplicação de *P. stutzeri* SO-3L-3 (Figura 1). Entretanto, a introdução da mistura dos isolados (1×10^6 células/mL) no substrato de cultivo de pepino hidropônico promoveu o desenvolvimento da massa total das plantas em 10% (Figura 2). *Gordonia rubripertincta* SO-3B-2 e *P. stutzeri* MB-P3A-49 na concentração de 1×10^9 ufc/mL de substrato de desenvolvimento das plantas promoveu o aumento de massa do sistema radicular em 36% e 41%, respectivamente (Tabela 2). Foi verificado incremento na massa total das plantas com a aplicação de *G. rubripertincta* SO-3B-2 (14%) uma vez no substrato de cultivo, e de *P. stutzeri* MB-P3A-49 aplicada uma vez (13%) ou duas (14%) no substrato apesar de não diferir da testemunha (Tabela 2). A produção de hormônios do grupo das auxinas tem sido relatada como um dos mecanismos responsáveis pela promoção de desenvolvimento do sistema radicular das plantas por bactérias benéficas (SUCKSTORFF; BERG, 2003).

Os diferentes resultados encontrados nos experimentos de promoção de crescimento de pepino hidropônico, com a aplicação da mistura de isolados, podem ser explicados pelas diferentes concentrações de inóculo utilizadas (1×10^6 células/mL e 1×10^9 ufc/mL) (Figura 2 e Tabela 2). Suckstorff e Berg (2003) também verificaram diferenças na resposta

das plantas, quanto à promoção de crescimento do sistema radicular, quando diferentes densidades de inóculo da bactéria *Stenotrophomonas maltophilia* foram aplicadas em plantas de morango. Os isolados DSM 50170 e E-p20 de *S. maltophilia* promoveram o crescimento do sistema radicular das plantas na concentração de 10^5 ufc mL⁻¹, mas não em baixas (10^1 e 10^3) ou elevadas (10^7 e 10^9) concentrações, causando nessas concentrações diminuição no crescimento das plantas. De acordo com Kloepper et al. (1980), a falha na colonização radicular por isolados bacterianos é responsável pela inconsistência dos resultados de promoção de crescimento. Diminuição da eficiência de colonização radicular, que resultou na ausência de promoção de crescimento das plantas pode ter ocorrido com a utilização da mistura dos isolados na concentração de 1×10^9 ufc/mL, devido à possível competição pelos sítios de colonização radicular e produção de metabólitos tóxicos, que provavelmente não ocorreu quando se utilizou a concentração inferior de inóculo (1×10^6 células mL⁻¹).

Considerações finais

No presente trabalho foi demonstrada a potencialidade de utilização de microrganismos residentes de manguezais em cultivos hidropônicos. Para tanto, esses ecossistemas precisam ser preservados para não perderem a sua biodiversidade, sendo a sua importância exemplificada pela grande área brasileira e mundial ocupada por esses ecossistemas. Além da importância funcional dos isolados para o controle biológico da podridão radicular causada por *P. aphanidermatum* e promoção de crescimento, há necessidade de estudar outras possibilidades de uso desses microrganismos. Considerando a similaridade do ambiente hidropônico ao dos manguezais, sugerimos que estudos mais detalhados sejam realizados com os isolados de *B. cereus* AVIC-3-6, *G. rubripertincta* SO-3B-2 e *P. stutzeri* MB-P3A-49, considerando sua disponibilidade para os agricultores.

Tabela 1. Isolados de microrganismos utilizados no estudo.

Isolado	Identificação	Isolamento e Localidade do isolamento
AVIC-3-3 ⁽¹⁾	-	Rizosfera de <i>Avicennia</i> sp./ Maceió (AL)
AVIC-3-5	-	Rizosfera de <i>Avicennia</i> sp./ Maceió (AL)
AVIC-3-6	<i>Bacillus cereus</i>	Rizosfera de <i>Avicennia</i> sp./ Maceió (AL)
AVIC-3-9	-	Rizosfera de <i>Avicennia</i> sp./ Maceió (AL)
SR1-3-2	<i>Micrococcus luteus</i>	Rizosfera de <i>Rhizophora mangle</i> / Maceió (AL)
SR1-3-4	-	Rizosfera de <i>R. mangle</i> / Maceió (AL)
SR1-3-6	-	Rizosfera de <i>R. mangle</i> / Maceió (AL)
SR2-2-2	-	Rizosfera de <i>R.mangle</i> / Maceió (AL)
SR2-2-6	-	Rizosfera de <i>R.mangle</i> / Maceió (AL)
SR2-3-2	-	Rizosfera de <i>R.mangle</i> / Maceió (AL)
L-1-3 ⁽²⁾	<i>Penicillium</i> sp.	Epifítico de <i>Laguncularia</i> sp./ Cananéia (SP)
L-1-1	<i>Penicillium</i> sp.	Epifítico de <i>Laguncularia</i> sp./ Cananéia (SP)
R-2-4	<i>Penicillium</i> sp.	Epifítico de <i>R.mangle</i> / Cananéia (SP)
L-2-7	<i>Penicillium</i> sp.	Epifítico de <i>Laguncularia</i> sp./ Cananéia (SP)
A-1-1	<i>Penicillium</i> sp.	Epifítico de <i>Avicennia</i> sp./ Cananéia (SP)
MGE-7 ⁽³⁾	<i>Streptomyces thermocarboxydus</i>	Rizosfera /Ilhéus (BA)
MSC-330	<i>Streptomyces luridiscabiei</i>	Rizosfera /Florianópolis (SC)
22-B	<i>Streptomyces</i> sp.	Sedimento/Bertioga (SP)
R-2-17	<i>Streptomyces arenae</i>	Epifítico/Cananéia (SP)
L-3-28A	<i>Streptomyces luridiscabiei</i>	Epifítico /Cananéia (SP)
MSC-334	<i>Streptomyces luridiscabiei</i>	Rizosfera/Florianópolis (SC)
MSC-463	<i>Streptomyces luridiscabiei</i>	Rizosfera/Florianópolis (SC)
A-2-3	<i>Streptomyces</i> sp.	Cananéia (SP)
AERC-1	<i>Streptomyces luridiscabiei</i>	Endofítico de/Cananéia (SP)
SO-3B-2 ⁽⁴⁾	<i>Gordonia rubripertincta</i>	Sedimentos contaminados com óleo cru / Bertioga (SP)
MB-P3A-49	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Sedimentos contaminados com óleo cru/ Bertioga (SP)
MB-P3-C68	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Sedimentos contaminados com óleo cru/ Bertioga (SP)
SO-3L-3	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Sedimentos contaminados com óleo cru/ Bertioga (SP)

⁽¹⁾ Corrêa, (2009); ⁽²⁾ Coleção de Culturas CNPMA/Embrapa; ⁽³⁾ Canova, (2009); ⁽⁴⁾ Reyes, (2009).

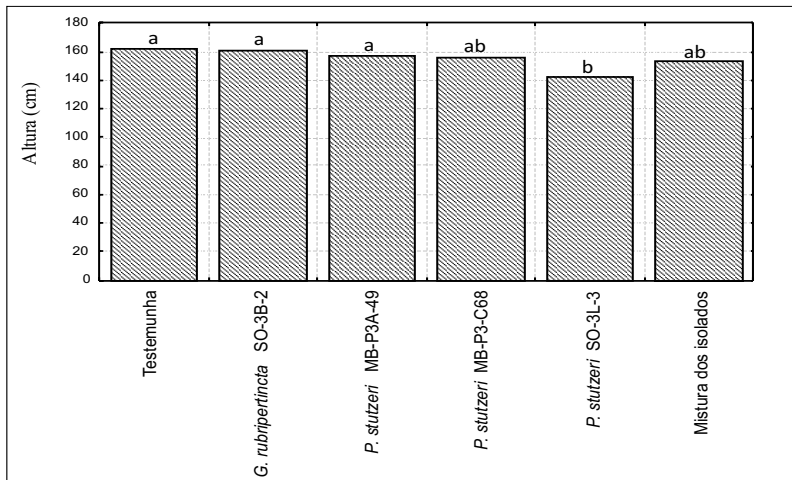


Figura 1. Efeito do tratamento de sementes de pepino com bactérias residentes de manguezaís sobre a altura (cm) das plântulas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste LSD a 5%.

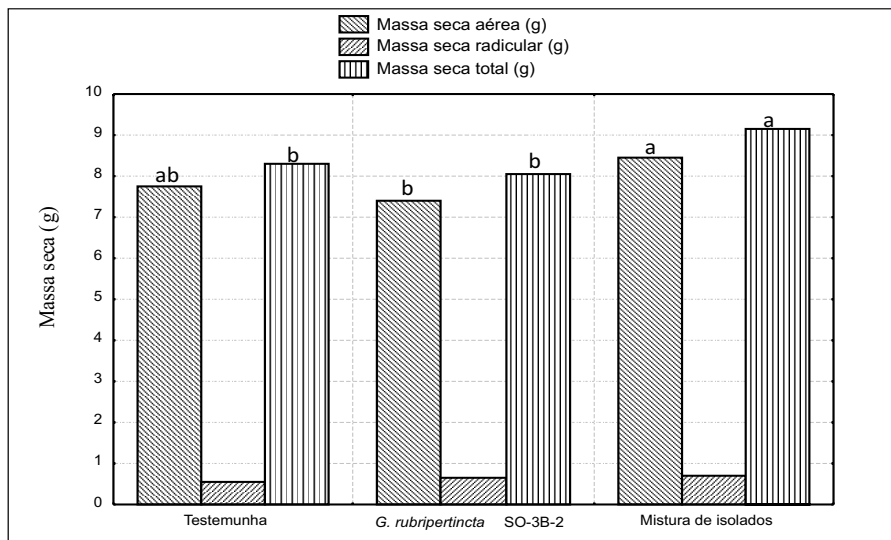


Figura 2. Efeito da introdução de bactérias residentes de manguezaís duas vezes (1×10^6 células mL^{-1}) no substrato de cultivo de pepino hidropônico sobre a massa da matéria seca das plantas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste LSD a 5%.

Tabela 2. Efeito da introdução de bactérias residentes de manguezais (1×10^9 ufc mL⁻¹) no substrato de cultivo de pepino hidropônico aos sete dias após a semeadura (1x), e aos sete e 13 dias após a semeadura (2x).

	Massa seca (g)		
	Aérea	Radicular	Total
Testemunha	13,20 ab *	7,48 cd	20,78 ab
<i>Gordonia rubripertincta</i> SO-3B-2 (1x)	13,40 ab	10,20 ab	23,60 a
<i>Pseudomonas stutzeri</i> MB-P3A-49 (1x)	12,83 ab	10,59 a	23,42 a
<i>Pseudomonas stutzeri</i> MB-P3-C68 (1x)	13,55 ab	8,23 abcd	21,78 ab
<i>Pseudomonas stutzeri</i> SO-3L-3 (1x)	12,23 ab	9 abcd	21,25 ab
Mistura de isolados (1x)	12,86 ab	8,74 abcd	21,60 ab
<i>Gordonia rubripertincta</i> SO-3B-2 (2x)	11,73 ab	8,44 abcd	20,16 ab
<i>Pseudomonas stutzeri</i> MB-P3A-49 (2x)	13,75 a	9,87 abc	23,61 a
<i>Pseudomonas stutzeri</i> MB-P3-C68 (2x)	11,98 ab	7,94 bcd	19,92 ab
<i>Pseudomonas stutzeri</i> SO-3L-3 (2x)	12,86 ab	8,11 abcd	20,97 ab
Mistura de isolados (2x)	11,40 b	6,83 d	18,23 b
CV (%)	25,1	41,7	28,9

Referências

AGBIO. Mycostop®. Disponível em: <<http://www.agbio-inc.com/Mycostop.htm>>. Acesso em: 20 de maio de 2007.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. Plant growth-promoting bacteria: a potential tool for arid mangrove reforestation. **Trees**, Berlin, v. 16, p. 159-166, 2002.

BASHAN, Y.; MORENO, M.; TROYO, E. Growth promotion of the seawater-irrigated oilseed halophyte *Salicornia bigelovii* inoculated with mangrove rhizosphere bacteria and halotolerant *Azospirillum* spp. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 32, p. 265-272, 2000.

BASHAN, A. Y.; PUENTE, A. M. E.; MYROLD, B. D. D.; TOLEDO, G. *In vitro* transfer of fixed nitrogen from diazotrophic filamentous cyanobacteria to black mangrove seedlings. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 26, p. 165-170, 1998.

BATES, M. L.; STANGHELLINI, M. E. Root rot hydroponically grown spinach caused by *Pythium aphanidermatum* and *Pythium dissotocum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 68, p. 989-991, 1984.

FOME no mundo: setor privado deve contribuir, mas com responsabilidade. Disponível em: <<http://www.brasileconomico.com.br/noticias/nprint/71766.html>>. Acesso em: 29 maio 2010.

BERG, G. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 84, p. 11-18, 2009.

CANOVA, S. P. **Diversidade e bioprospecção de actinobactérias isoladas de manguezais**. 2009. 66 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

- CHATTERTON, S.; SUTTON, J. C.; BOLAND, G. J. Timing *Pseudomonas chlororaphis* applications to control *Pythium aphanidermatum*, *Pythium dissotocum*, and root rot in hydroponic peppers. **Biological Control**, San Diego, v. 30, p. 360-373, 2004.
- CORRÊA, E. B. **Controle biológico da podridão radicular (*Pythium aphanidermatum*) em cultivos hidropônicos**. 2009. 133 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- CORRÊA, E. B. **Controle da podridão de raiz (*Pythium aphanidermatum*) e promoção de crescimento em alface hidropônica**. 2006. 93 f. Dissertação – (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- CORRÊA, E. B.; BETTIOL, W.; SUTTON, J. C. Controle biológico da podridão radicular (*Pythium aphanidermatum*) e promoção de crescimento por *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 e *Bacillus subtilis* GB03 em alface hidropônica. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 4, p. 275-281, 2010.
- DE JONGHE, K.; DE DOBBELAERE, I.; SARRAZYN, R.; HÖFTE, M. Control of *Phytophthora cryptogea* in the hydroponic forcing of witloof chicory with the rhamnolipid-based biosurfactant formulation PRO1. **Plant Pathology**, Oxford, v. 54, p. 219-226, 2005.
- ENDO, R.; COLT, W. Anatomy, cytology and physiology of infection by *Pythium*. **Proceedings of the American Phytopathological Society**, Saint Paul, v. 1, p. 215-223, 1974.
- FAVRIN, R.J.; RAHE, J.E.; MAUZA, B. *Pythium* spp. associated with crown rot of cucumbers in British Columbia greenhouses. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 72, n. 8, p. 683-687, 1988.
- GROWTH Products. Disponível em: <<http://www.growthproducts.com/pages/horticulture.asp?tables=featured&product=10>>. Acesso em: 25 mar. 2009.

HOLGUIN, G.; GUZMAN, M. A.; BASHAN, Y. Two new nitrogen-fixing bacteria from the rhizosphere of mangrove trees: their isolation, identification and in vitro interaction with rhizosphere *Staphylococcus* sp. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 101, p. 207-216, 1992.

HOLGUIN, G.; BASHAN, Y.; MENDOZA-SALGADO, R.; AMADOR, E.; TOLEDO, G.; VÁZQUEZ, P.; AMADOR, A. La microbiología de los manglares. Bosques en la frontera entre el mar y la tierra. **Ciencia y Desarrollo**, México, v. 25, n. 144, p. 26-35, 1999.

HOLGUIN, G.; VAZQUEZ, P.; BASHAN Y. The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of the mangrove ecosystems: an overview. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 33, p. 265-278, 2001.

JENKINS, S. F.; AVERRE, C. W. Root diseases of vegetables in hydroponic culture systems in North Carolina greenhouses. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 67, p. 968-970, 1983.

KHAN, A.; SUTTON, J. C.; GRODZINSKI, B. Effects of *Pseudomonas chlororaphis* on *Pythium aphanidermatum* and root rot in peppers grown in small-scale hydroponic troughs. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 13, p. 615-630, 2003.

KLOPPER, J. W.; SCHROTH, N.; MILLER, T. D. Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 70, n. 11, p. 1078-1082, 1980.

LINDE, A. R.; STANGHELLINI, M. E.; MATHERON, M. E. Root rot of hydroponically grown lettuce caused by *Phytophthora cryptogea*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 74 p. 1037, 1990.

LIU, W.; SUTTON, J. C.; KHAN, A.; GRODZINSKI, B. Effectiveness of five bacterial agents against root diseases caused by *Pythium aphanidermatum* and *Pythium dissotocum* in hydroponic chrysanthemum. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ontario, v. 24, p. 377, 2002.

LIU, W.; SUTTON, J. C.; GRODZINSKI, B.; KLOEPPER, J. W.; REDDY, M. S. Biological control of *Pythium* root rot of chrysanthemum in small-scale hydroponic units. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 35, p. 159-178, 2007.

LUGTENBERG, B.; KAMILOVA, F. Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 63, p. 541–56, 2009.

MENEZES, G.V. **Recuperação de manguezais: um estudo de caso na Baixada Santista, Estado de São Paulo, Brasil**. 1999. 164 f. Tese – (Doutorado) - Instituto Oceanógrafo da Universidade de São Paulo, São Paulo.

NIELSEN, C. J.; FERRIN, D. M.; STANGHELLINI, M. E. Efficacy of biosurfactants in the management of *Phytophthora capsici* on pepper in recirculating hydroponic systems. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ontario, v. 28, n. 3, p. 450-460, 2006.

OWEN-GOING, T. N.; SUTTON, J. C.; GRODZINSKI. Relationship of *Pythium* isolates and sweet pepper plants in single-plant hydroponic units. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ontario, v. 25, p. 155-167, 2003.

PAULITZ, T. C.; BÉLANGER, R. R. Biological control in greenhouse systems. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 39, p. 103-133, 2001.

PAULITZ, T. C.; ZHOU, T.; RANKIN, L. Selection of rhizosphere bacteria for biological control of *Pythium aphanidermatum* on hydroponically-grown cucumber. **Biological Control**, Orlando, v. 2, p. 226-237, 1992.

POSTMA, J.; STEVENS, L. H.; WIEGERS, G. L.; DAVELAAR, E.; NIJHUIS, E. H. Biological control of *Pythium aphanidermatum* in cucumber with a combined application of *Lysobacter enzymogenes* strain 3.1T8 and chitosan. **Biological Control**, Orlando, v. 48, p. 301-309, 2009.

RAVIKUMAR, S.; RAMANATHAN, G.; SUBA, N.; JEYASEELI, L.; SUKUMARAN, M. Quantification of halophilic *Azospirillum* from mangroves. **Indian Journal of Marine Science**, New Delhi, v. 31, p. 157-160, 2002.

RAVIKUMAR, S.; KATHIRESANB, K.; IGNATIAMMALC, S. T. M.; SELVAMA, M. B.; SHANTHY, S. Nitrogen-fixing azotobacters from mangrove habitat and their utility as marine biofertilizers. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, Amsterdam, v. 312, p. 5-17, 2004.

REYES, L.F. **Diversidade de bactérias em manguezal e biodegradação de hidrocarbonetos poliaromáticos**. 2009. 123 f. Tese – (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

ROJAS, A.; HOLGUIN, G.; GLICK.; B. R.; BASHAN, Y. Synergism between *Phyllobacterium* sp. (N₂ -fixer) and *Bacillus licheniformis* (P -solubilizer), both from a semiarid mangrove rhizosphere. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 35, p. 181-187, 2001.

ROSE, S.; PARKER, M.; PUNJA, Z. K. Efficacy of biological and chemical treatments for control of *Fusarium* root and stem rot on greenhouse cucumber. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 87, p. 1462-1470, 2003.

SOUZA, M. M. A.; SAMPAIO, E. V. S. B. Variação temporal da estrutura dos bosques de mangue de suape-pe após a construção do porto. **Acta Botânica Brasílica**, Porto Alegre, v. 15, p. 1-12, 2001.

STANGHELLINI, M. E.; ADASKAVEG, J. E.; RASMUSSEN, S. L. Pathogenesis of *Plasmopara lactucae-radicis*, a systemic root pathogen of cultivated lettuce. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 74, p. 173-178, 1990.

STANGHELLINI, M. E.; RASMUSSEN, S. L. Hydroponics a solution for zoosporic pathogens. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 78, p. 1129-1138, 1994.

STANGHELLINI, M. E.; WHITE, J. G.; TOMLINSON, J. A.; CLAY, C. Root rot of hydroponically grown cucumbers caused by zoospore-producing isolates of *Pythium intermedium*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 72, p. 358-359, 1988.

STEWART, A. Commercial biocontrol – reality or fantasy? **Australasian Plant Pathology**, v. 30, p. 127-131, 2001.

SUCKSTORFF, I.; BERG, G. Evidence for dose-dependent effects on plant growth by *Stenotrophomonas* strains from different origins. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 95, p. 656–663, 2003.

SUTTON, J. C.; SOPHER, C. R.; OWEN-GOING, T. N.; LIU, W.; GRODZINSKI, B.; HALL, J. C. Etiology and epidemiology of *Pythium* root rot in hydroponic crops: current knowledge and perspectives. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, p. 307-321, 2006.

UTKHEDE, R. S.; LÉVESQUE, C. A.; DINH, D. *Pythium aphanidermatum* root rot in hydroponically-grown lettuce and the effect of chemical and biological agents on its control. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ontario, v. 22, p. 138-144, 2000.

VAZQUEZ, P.; HOLGUIN, G.; PUENTE, M. E.; LOPEZ-CORTES, A.; BASHAN, Y. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 30, p. 460-468, 2000.

ZHENG, J.; SUTTON, J. C.; YU, H. Interactions among *Pythium aphanidermatum*, roots, root mucilage, and microbial agents in hydroponic cucumbers. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ontario, v. 22, p.368-379, 2000.

ZINNEN, T. M. Assessment of plant diseases in hydroponic culture. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 72, p. 96-99, 1988.

Embrapa

Meio Ambiente

Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PAÍS RICO É PAÍS SEM POBREZA