UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

OSCAR EMILIO LUDTKE HARTHMANN

MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES COM RIZOBACTÉRIAS NA PRODUÇÃO DE CEBOLA

CURITIBA
2009

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

OSCAR EMILIO LUDTKE HARTHMANN

MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES COM RIZOBACTÉRIAS NA PRODUÇÃO DE CEBOLA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências Agrárias.

Orientador:

Prof. Dr. Átila Francisco Mógor

Co-orientadores:

Dr. João A. Wordell Filho

Dr. Wilmar C. da Luz

CURITIBA

2009

Harthmann, Oscar Emilio Ludtke
Microbiolização de sementes com rizobactérias na produção de cebola / Oscar Emilio Ludtke Harthmann.— Curitiba, 2009.
117 f.
Orientador: Átila Francisco Mógor.
Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

1. Cebola – Mudas – Crescimento. 2. Cebola - Sementes. 3. Inoculantes microbianos. 4. Rizosfera. 5. Cebola – Reguladores. I. Título.

CDU 635.25
CDD 635.25

TERMO DE APROVAÇÃO

OSCAR EMILIO LUDTKE HARTHMANN

MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES COM RIZOBACTÉRIAS NA PRODUÇÃO DE CEBOLA

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Curso de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Área de Concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:

Orientador: Prof. Dr. Átila Francisco Mógor
Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, UFPR

Dr. Domingos Savio Rodrigues
Instituto de Botânica, IBT

Dr. João Américo Wordell Filho
Centro de Pesquisa para Agricultura Familiar, EPAGRI

Prof. Dr. Cicero Deschamps
Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, UFPR

Prof. Dr. Edilberto Possamai
Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, UFPR

Curitiba, 29 de julho de 2009.

DEDICO E OFEREÇO

A minha esposa Eleine, pela presença insubstituível em minha vida, e pelo carinho, companheirismo e amor que foram indispensáveis a cada momento e amenizaram as dificuldades e obstáculos encontrados no caminho.

As minhas filhas Gabriela e Isabela, pelo amor e pelos momentos de alegria.

Aos meus pais, Assis e Verônica, pelo amor, apoio, incentivo, pela dedicação e pelo esforço que tornaram possível minha formação.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Átila Francisco Mógor, pela orientação, apoio, incentivo e principalmente pela amizade. Pelo auxílio e pelos conselhos que foram fundamentais ao desenvolvimento dos experimentos.

A todos os professores do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, do programa de Pós-Graduação em Agronomia do Curso de Produção Vegetal da UFPR, pela amizade e pelos ensinamentos.

Ao Dr. João Américo Wordell Filho, pela orientação, pelo auxílio e incentivo, pela amizade, dedicação, e pelas valiosas sugestões em todas as etapas dessa pesquisa.

Ao Dr. Wilmar Cório da Luz, pelo incentivo e contribuição para realização da pesquisa.

Ao meu irmão Adolfo Ricardo Ludtke Harthmann, a minha cunhada Rosane, e aos sobrinhos Murilo e Michelle, pelo acolhimento, companheirismo, carinho e incentivo.

Aos amigos do Laboratório de Fitossanidade da Estação Experimental de Ituporanga, José Roberto Knoth e Daniel Bezerra Loffi, pela ajuda, excelente convivência e companheirismo.

Ao Dr. Itamar Soares de Melo e a Dra. Márcia Maria Parma, do Laboratório de Microbiologia Ambiental da Embrapa Meio Ambiente, pela identificação dos isolados e esclarecimento de dúvidas.

Ao Dr. Reginaldo da Silva Romeiro, da Universidade Federal de Viçosa, pela liberação de isolados.

Ao pesquisador Cristiano Nunes Nesi, da Epagri Chapecó, pelo auxílio nas análises estatísticas dos dados.

A todos os amigos, companheiros de curso, representados por Sérgio Mazaro, Celso Ramos, Hernan Vielmo, Almir Gnoatto, Cláudio Keske, Genuíno Negri e Darcy Bitencourt Júnior e tantos outros aqui não citados, pela caminhada conjunta, amizade, apoio e agradável convivência.

A todos os funcionários do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da UFPR, pela amizade e pelos serviços prestados.

À Estação Experimental da Epagri de Ituporanga, na pessoa do Dr. Edison Xavier de Almeida, pela parceria e estrutura que tornou possível o desenvolvimento da pesquisa.

À Escola Agrotécnica Federal de Rio do Sul pela oportunidade da realização do curso de doutorado.

Aos Engenheiros Agrônomos da empresa Agritu-Sementes, pelo fornecimento das sementes e pelas sugestões.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo, e apoio financeiro prestado.

A todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho e para o meu crescimento pessoal e profissional.

BIOGRAFIA

OSCAR EMILIO LUDTKE HARTHMANN, filho de Assis dos Santos Harthmann e Verônica Ludtke Harthmann, nasceu em Pelotas, Rio Grande do Sul, no dia 22 de novembro de 1969.

Em dezembro de 1987, formou-se como Técnico em Agropecuária pelo Colégio Agrícola "Visconde da Graça" da Universidade Federal de Pelotas – RS.

Em fevereiro de 1993, graduou-se como Engenheiro Agrônomo pela Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel" da Universidade Federal de Pelotas – RS. Nesse mesmo ano, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, concentrando seus estudos na área de Plantas Forrageiras, defendendo dissertação em agosto de 1995.

Após concluir o curso de mestrado, foi admitido como professor de agricultura da Escola Agroténica Federal de Rio do Sul, em julho de 1996. Atualmente é professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Catarinense Campus Rio do Sul.

Em março de 2006, iniciou o curso de Doutorado em Produção Vegetal no Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, na Universidade Federal do Paraná. Em julho de 2009 concluiu sua tese na UFPR.

O Senhor é a minha rocha, a minha fortaleza e o meu libertador. O meu Deus é uma rocha em que me escondo. Ele me protege como um escudo; ele é o meu abrigo, e com ele estou seguro.

Salmos

A estrada em que caminham as pessoas direitas é como a luz da aurora, que brilha cada vez mais até ser dia claro.

Provérbios

RESUMO

A associação de plantas com rizobactérias benéficas pode promover o crescimento vegetal e o biocontrole de doenças, reduzindo custos de produção e diminuindo o impacto dos agrotóxicos no meio ambiente. Com o objetivo de avaliar rizobactérias quanto à capacidade de promover o crescimento de plantas de cebola e seu efeito sobre patógenos da parte aérea na fase de produção de mudas, bem como, avaliar o efeito das rizobactérias na produção, classificação e armazenamento de bulbos de cebola cv. Bola Precoce, foram conduzidos quatro trabalhos na Estação Experimental da Epagri, Ituporanga, SC, nos anos de 2007 e 2008. Foram testadas as rizobactérias *Pseudomonas* spp. (W1, W2, W5, W6), *Bacillus megaterium* (W7, W19), *Pseudomonas alcaligenes* (W15), *Paenibacillus polymyxa* (W18), *Bacillus cereus* (UFV 040) e *Pseudomonas putida* (UFV 043), juntamente com uma testemunha não tratada. No primeiro ano, foram avaliadas mudas de cebola em canteiros pelos parâmetros: emergência, plantas remanescentes, tombamento, altura, diâmetro do pseudocaule, massas fresca e seca da parte aérea das mudas no momento do transplante. A área foliar afetada pelos patógenos *Peronospora destructor* e *Botrytis squamosa* foi avaliada semanalmente, quantificando-se a área abaixo da curva de progresso das doenças (AACPD). Foi realizada avaliação biométrica aos 90 dias após o transplante e produção e classificação de bulbos aos 128 dias. Foi avaliada a percentagem de perda de massa e bulbos aos 50, 80 e 120 dias após a colheita. As sementes que receberam o isolado de *Bacillus cereus* UFV40 apresentaram mudas com menor severidade de *Peronospora destructor*. Os tratamentos com os isolados de *Pseudomonas* spp. W6, *Bacillus megaterium* W19 e *Bacillus cereus* UFV40 apresentaram plantas com maior produção de bulbos. O isolado de *Bacillus cere*us UFV40 exerceu um efeito positivo sobre a produção de biomassa da parte aérea aos 90 dias após o transplante das mudas, resultando em aumento no tamanho e melhor classificação de bulbos. Em 2008, em ambiente protegido, foi avaliado o volume do sistema radicular e produção de biomassa de plantas cujas sementes foram microbiolizadas com rizobactérias *Pseudomonas* spp. W6, *Bacillus megaterium* W19, *Bacillus cereus* UFV40, aplicadas isoladamente ou em mistura. Foi verificada a influência dos tratamentos sobre o volume radicular e produção de biomassa das folhas de cebola. Nesse período, foi avaliado o efeito dos tratamentos na produção de mudas e bulbos no campo. Foi verificado que os tratamentos com rizobactérias promoveram aumento da massa fresca das plantas e produção de bulbos, sendo que *Bacillus megaterium* W19, promoveu a maior produção e melhor classificação dos bulbos. Em função dos resultados das pesquisas, existe potencial para a formulação de inoculantes à base de rizobactérias para utilização comercial, uma das alternativas de produção agrícola com potencial para promoção do crescimento vegetal.

Palavras-chave: *Allium cepa*, RPCV, Microbiolização, Promoção de crescimento.

ABSTRACT

Plant association with benefic rhizobacteria can enhance plant growth and diseases biocontrol, reducing production costs and environment pesticides impact. Four experiments were carried out (Epagri Experimental Station in Ituporanga, SC, Brazil) in 2007/2008 to evaluate the impact of rhizobacteria in plant growth and its effect on pathogens of aerial part in seedlings production, on the production growth potential, ranking and storage of cv Precoce Bola onion bulbs . The following rhizobacteria were tested: *Pseudomonas* spp. (W1, W2, W5 and W6), *Bacillus megaterium* (W7, W19), *Pseudomonas alcaligenes* (W15), *Paenibacillus polymyxa* (W18), *Bacillus cereus* (UFV 040) and *Pseudomonas putida* (UFV 043) along with a control treatment. In 2007 the following variables were evaluated in field hotbeds: emergence, remaining plants, lodging**,** height, diameter of pseudo-culm, fresh and dry matter of seedlings aerial part at transplanting. Leaf area affected by pathogen *Peronospora destructor* and *Botrytis squamosa* was evaluated weekly by measuring the area below the diseases progress curve (AUDPC). A biometric evaluation was made 90 days after transplanting and production and ranking of bulbs at the 128th day. Weight loss percentage of bulbs was calculated at the 50th, 80th and 120th day after harvest. Seeds which received isolate of *Bacillus cereus* UFV 40, yielded seedlings with less severity of *Peronospora destructor*. The isolates of *Pseudomonas* spp. W6, *Bacillus megaterium* W19 and *Bacillus cereus* UFV 40 presented the best results in bulb yields. The isolate of *Bacillus cere*us UFV40 showed a positive effect on the parameters related to biomass production in the aerial part at 90 days after seedling transplanting, resulting in size increase and better ranking of bulbs. In 2008 the microbiolized rhizobacteria *Pseudomonas* spp. W6, *Bacillus megaterium* W19, *Bacillus cereus* UFV40 in isolated seeds or in mixtures, were evaluated in greenhouse for root volume and onion leaves biomass production. Effect of rhizobacteria on root volume and onion leaves biomass production of plants was observed. During this period the effect of treatments on production of seedling and bulbs was evaluated, in the field. Treatments with rhizobacteria caused increase in fresh weight of plants and production of bulbs; *Bacillus megaterium* W19 showed higher production and better increase and ranking of bulbs. According to these results there is a potential for the formulation of inoculants with rhizobacteria for commercial use, which is an alternative for agricultural production with potential to stimulate plant growth.

Key words: *Allium cepa*, PGPR, Microbiolization, Promotion of growth.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - EFEITO DA MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES DE CEBOLA COM RIZOBACTÉRIAS SOBRE A ÁREA ABAIXO DA CURVA DE PROGRESSO DAS DOENÇAS (AACPD) QUEIMA-ACINZENTADA E MÍLDIO. CULTIVAR BOLA PRECOCE, EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2007..... 61

FIGURA 2 - EFEITO DO TRATAMENTO COM RIZOBACTÉRIAS MICROBIOLIZADAS NAS SEMENTES DE CEBOLA SOBRE A PERCENTAGEM DE BULBOS NÃO COMERCIAIS (FLORESCIDOS E DETERIORADOS). CULTIVAR BOLA PRECOCE. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008 108

LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1 - MUDAS EMERGIDAS AOS 40 DIAS APÓS A SEMEADURA (NE), MUDAS REMANESCENTES AOS 90 DIAS APÓS A SEMEADURA (NR), E MUDAS TOMBADAS (NT) APÓS MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES DE CEBOLA COM RIZOBACTÉRIAS. CULTIVAR BOLA PRECOCE, EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2007 58

TABELA 3.2 - ALTURA DA PARTE AÉREA DAS PLANTAS (A), DIÂMETRO DE PSEUDOCAULE (DP), MASSA FRESCA (MFPA) E A MASSA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA) DE MUDAS REMANESCENTES NO MOMENTO DO TRANSPLANTE APÓS MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES DE CEBOLA COM RIZOBACTÉRIAS. CULTIVAR BOLA PRECOCE, EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2007 60

TABELA 4.1 - EFEITO DO TRATAMENTO DE SEMENTES DE CEBOLA COM RIZOBACTÉRIAS SOBRE O DIÂMETRO DO PSEUDOCAULE (DP), NÚMERO DE FOLHAS (NF), MASSA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA), ALTURA (A) E DIÂMETRO DE BULBOS (DB) AVALIADOS AOS 90 DIAS APÓS O TRANSPLANTE DAS MUDAS. CULTIVAR BOLA PRECOCE. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2007..... 75

TABELA 4.2 - EFEITO DO TRATAMENTO DE SEMENTES DE CEBOLA COM RIZOBACTÉRIAS SOBRE A PRODUTIVIDADE DE BULBOS (PB), POPULAÇÃO DE PLANTAS POR HECTARE (PP) E MASSA MÉDIA DE BULBO (MMB) AVALIADOS AOS 128 DIAS APÓS O TRANSPLANTE DAS MUDAS. CULTIVAR BOLA PRECOCE. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2007..... 77

TABELA 4.3 - CLASSIFICAÇÃO COMERCIAL DE BULBOS DE CEBOLA DA CV. BOLA PRECOCE APÓS TRATAMENTO DE SEMENTES COM RIZOBACTÉRIAS. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2007 78

TABELA 4.4 - PERCENTAGEM DE PERDAS DE MASSA DOS BULBOS AOS 50, 80 E 120 DIAS APÓS A COLHEITA E ARMAZENAMENTO DOS BULBOS DE CEBOLA DA CULTIVAR BOLA PRECOCE, ORIUNDOS DE SEMENTES MICROBIOLIZADAS COM RIZOBACTÉRIAS. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2007 78

TABELA 5.1 - EFEITO DO TRATAMENTO COM RIZOBACTÉRIAS MICROBIOLIZADAS NAS SEMENTES SOBRE AS VARIÁVEIS ALTURA DE PLANTA (ALT) E DIÂMETRO DE PSEUDOCAULE (DP), AVALIADOS AOS 30 E 60 DIAS APÓS O TRANSPLANTE DE MUDAS (DAT) DE CEBOLA CV. BOLA PRECOCE CULTIVADAS EM AMBIENTE PROTEGIDO. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008..... 89

TABELA 5.2 - EFEITO DOS TRATAMENTOS COM RIZOBACTÉRIAS MICROBIOLIZADAS NAS SEMENTES SOBRE AS VARIÁVEIS NÚMERO DE FOLHAS (NF), MASSA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA) E MASSA FRESCA DE BULBOS (MFB), AVALIADOS AOS 110 DIAS APÓS O TRANSPLANTE DE MUDAS DE CEBOLA BOLA PRECOCE CULTIVADAS EM AMBIENTE PROTEGIDO. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008 90

TABELA 5.3 - EFEITO DO TRATAMENTO COM RIZOBACTÉRIAS MICROBIOLIZADAS NAS SEMENTES SOBRE AS VARIÁVEIS VOLUME DE RAÍZES (VR) E MASSA SECA DE RAÍZES (MSR), AVALIADOS AOS 110 DIAS APÓS O TRANSPLANTE DAS MUDAS DE CEBOLA BOLA PRECOCE CULTIVADAS EM AMBIENTE PROTEGIDO. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008 91

TABELA 6.1 - MUDAS REMANESCENTES POR METRO QUADRADO (NR), ALTURA DA PARTE ÁEREA (ALT), DIÂMETRO DO PSEUDOCAULE (DP), MASSA FRESCA (MFPA) E MASSA SECA DA PARTE AÉREA DE MUDA (MSPA) AVALIADA AOS 90 DIAS APÓS MICROBIOLIZAÇÃO DAS SEMENTES COM RIZOBACTÉRIAS. CV. BOLA PRECOCE. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008 103

TABELA 6.2 - TEORES DE NITROGÊNIO, FÓSFORO, POTÁSSIO, CÁLCIO E MAGNÉSIO DAS PLANTAS DE CEBOLA CV. BOLA PRECOCE AOS 75 DIAS APÓS O TRANSPLANTE ORIUNDAS DE SEMENTES MICROBIOLIZADAS COM RIZOBACTÉRIAS. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008..... 104

TABELA 6.3 - TEORES DE FERRO, MANGANÊS, ZINCO, COBRE E BORO DAS PLANTAS DE CEBOLA CV. BOLA PRECOCE AOS 75 DIAS APÓS O TRANSPLANTE, ORIUNDAS DE SEMENTES MICROBIOLIZADAS COM RIZOBACTÉRIAS. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008..... 104

TABELA 6.4 - EFEITO DA MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES COM RIZOBACTÉRIAS, SOBRE PARÂMETROS BIOMÉTRICOS NÚMERO DE FOLHAS (NF), DIÂMETRO DO PSEUDOCAULE (DP) E ALTURA DA PARTE AÉREA (ALT), AVALIADOS AOS 90 DIAS APÓS O TRANSPLANTE DE MUDAS. CULTIVAR BOLA PRECOCE, EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008 105

TABELA 6.5 - EFEITO DA MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES DE CEBOLA COM RIZOBACTÉRIAS SOBRE A POPULAÇÃO DE PLANTAS POR HECTARE (PP), RENDIMENTO DE BULBOS POR HECTARE (RB) E MASSA MÉDIA DE BULBO COMERCIAL (MMBC). CULTIVAR BOLA PRECOCE, EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008 106

TABELA 6.6 - EFEITO DE TRATAMENTO COM RIZOBACTÉRIAS MICROBIOLIZADAS NAS SEMENTES DE CEBOLA SOBRE A MASSA FRESCA DE BULBO (MFB), DIÂMETRO TRANSVERSAL DE BULBO (DTB) E DIÂMETRO LONGITUDINAL DE BULBO (DLB). CULTIVAR BOLA PRECOCE, EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008..... 106

TABELA 6.7 - EFEITO DE TRATAMENTO COM RIZOBACTÉRIAS MICROBIOLIZADAS NAS SEMENTES DE CEBOLA SOBRE A CLASSIFICAÇÃO COMERCIAL DE BULBOS DA CULTIVAR BOLA PRECOCE. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008..... 108

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

UFPR – Universidade Federal do Paraná
PGPR – Plant Growth Promoting Rhizobateria
RPCV – Rizobactérias promotoras de crescimento vegetal
NE – Número de mudas emergidas
NR – Número de mudas remanescentes no ponto de transplante
NT – Número de mudas tombadas
ALT – Altura da parte aérea da planta
DP – Diâmetro de pseudocaule
NF – Número de folhas
MSPA – Massa seca da parte aérea da planta
DB – Diâmetro de bulbo
PP – População de plantas por hectare
PB – Produção de bulbos por hectare
MMB – Massa média de bulbo
DAT – Dias após o transplante das mudas
VR – Volume de raízes
MSR – Massa seca de raízes
MFB – Massa fresca de bulbos
MFPA – Massa fresca da parte aérea
PCB – Produção comercial de bulbos
DTB – Diâmetro transversal de bulbo
DLB – Diâmetro longitudinal de bulbo
UFC – Número de células formadoras de colônias
ACCPD – Área abaixo da curva de progresso da doença
EPAGRI – Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural
FAO – Food and Agriculture Organization
UFV – Universidade Federal de Viçosa
W – Isolados oriundos da coleção do Dr. Wilmar Cório da Luz
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
RAPP – Revisão Anual de Patologia de Plantas

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO..... 19
1.1. OBJETIVOS..... 22
1.2. Objetivo geral..... 22
1.3. Objetivos específicos..... 22
2. REVISÃO DE LITERATURA..... 23
2.1. Impacto dos microrganismos na rizosfera..... 23
2.2. Promoção do crescimento por rizobactérias..... 25
2.2.1. Especificidade das rizobactérias..... 26
2.2.2. Os gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*..... 27
2.2.3. Modo de ação das rizobactérias..... 28
2.2.4. Fatores que afetam a eficiência das rizobactérias na promoção do crescimento vegetal..... 31
2.3. Utilização de inoculantes..... 32
2.4. Resultados de rizobactérias em cebola..... 34
2.5. Características da cebola..... 35
REFERÊNCIAS..... 38

CAPÍTULO I

DOENÇAS FOLIARES E CRESCIMENTO DE MUDAS DE CEBOLA A PARTIR DE SEMENTES MICROBIOLIZADAS COM RIZOBACTÉRIAS 50
RESUMO..... 50
ABSTRACT..... 51
3.1. INTRODUÇÃO..... 52
3.2. MATERIAL E MÉTODOS..... 53
3.2.1. Localização da região e características das sementes..... 53
3.2.2. Origem dos isolados de rizobactérias..... 53
3.2.3. Microbiolização das sementes..... 54
3.2.4. Instalação do experimento de mudas em canteiros..... 55
3.2.5. Análise dos resultados..... 56
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 56

3.4. CONCLUSÕES..... 62

REFERÊNCIAS..... 62

CAPÍTULO II

PRODUÇÃO, CLASSIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE BULBOS DE CEBOLA EM FUNÇÃO DA MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES COM RIZOBACTÉRIAS 68

RESUMO..... 68

ABSTRACT..... 69

4.1. INTRODUÇÃO..... 70

4.2. MATERIAL E MÉTODOS..... 71

4.2.1. Localização e tratamentos..... 71

4.2.2. Instalação do experimento no campo..... 72

4.2.3. Análise dos resultados..... 74

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 74

4.4. CONCLUSÕES..... 79

REFERÊNCIAS..... 80

CAPÍTULO III

VOLUME DAS RAÍZES, CRESCIMENTO DAS PLANTAS E PRODUÇÃO DE BULBOS DE CEBOLA EM AMBIENTE PROTEGIDO..... 83

RESUMO..... 83

ABSTRACT..... 84

5.1. INTRODUÇÃO..... 85

5.2. MATERIAL E MÉTODOS..... 86

5.2.1. Localização e tratamentos..... 86

5.2.2. Produção de mudas e instalação do experimento..... 87

5.2.3. Análise dos resultados..... 88

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 88

5.4. CONCLUSÕES..... 91

REFERÊNCIAS..... 92

CAPÍTULO IV

EFEITO DE RIZOBACTÉRIAS NO CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DA CEBOLA..... 95

RESUMO..... 95

ABSTRACT..... 96

6.1. INTRODUÇÃO..... 97

6.2. MATERIAL E MÉTODOS..... 98

6.2.1. Experimento de mudas..... 99

6.2.2. Experimento de bulbos..... 100

6.2.3. Análise dos resultados..... 102

6.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 102

6.4. CONCLUSÕES..... 109

REFERÊNCIAS..... 109

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 113

8. ANEXOS..... 115

1. INTRODUÇÃO

A cebola, *Allium cepa* (L.), é uma das plantas cultivadas de mais ampla difusão no mundo. Originária da Ásia, foi introduzida no Brasil pelos portugueses no século XVI, é uma das hortaliças mais importantes, sendo cultivada na maioria das regiões brasileiras (BOITEUX & MELO, 2004). A área plantada no Brasil, na safra 2007/08, foi de 61.452 ha, com produção de 1.211.872 t e rendimento médio de 19,7 $t.ha^{-1}$ (IBGE, 2008). Ocupa o terceiro lugar entre as hortaliças de maior expressão econômica do Brasil e constitui atividade socioeconômica de grande relevância para os Estados da Região Sul.

A nutrição adequada das plantas é um desafio enfrentado pelos agricultores, que utilizam grandes quantidades de adubos químicos para melhorar a fertilidade do solo, além de agrotóxicos, principalmente fungicidas, para proteger as lavouras contra doenças foliares, devido ao clima úmido (BOEING, 2002). Os resultados de pesquisas e a conscientização sobre os efeitos danosos dos adubos químicos e agrotóxicos (CAMPANHOLA et al., 1997), juntamente com a elevação do custo de aquisição desses insumos, justificam as pesquisas sobre o uso de inoculantes bacterianos para promoção de crescimento vegetal e controle de patógenos.

Na rizosfera, região do solo que circunda a raiz e está sob a influência do sistema radicular, predominam bactérias de vida livre ou associadas aos tecidos das plantas. O termo rizobactéria caracteriza as bactérias da rizosfera que colonizam as raízes das plantas, denominadas rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (RPCV) quando apresentam efeitos positivos sobre as culturas (LUZ, 1996). Vários gêneros bacterianos são conhecidos pela capacidade de promover o crescimento vegetal, entre eles, *Bacillus* e *Pseudomonas,* de importância reconhecida e comercialmente utilizados em muitos países como inoculantes e biofertilizantes, uma alternativa para diminuir a utilização de adubos químicos e agrotóxicos (BASHAN & BASHAN, 2005).

O tratamento de sementes com microrganismos antagônicos, denominado microbiolização de sementes (LUZ, 1993), pode proporcionar o controle de patógenos habitantes da superfície das sementes e de patógenos presentes no solo (CARDOSO & FREITAS, 1992). A esse respeito, existem casos comprovados em

que a inoculação com rizobactérias torna a parte aérea mais resistente a patógenos (PIETERSE et al., 2000).

As pesquisas com rizobactérias não simbióticas, utilizadas como tratamento de sementes, foram iniciadas no século XIX com o objetivo de melhorar o crescimento e o rendimento das plantas (FREITAS, 2007). Países como Rússia, Ucrânia e Índia foram os primeiros que realizaram pesquisas e utilizaram microrganismos bacterianos na agricultura. O conceito de rizobactérias promotoras de crescimento vegetal foi estabelecido em 1978 com a utilização de estirpes específicas de *Pseudomonas fluorescens* (Migula) e de *Pseudomonas putida* (Trevisan) (KLOEPPER & SCHROTH, 1978). Após esses resultados, as RPCV passaram a ser pesquisadas numa grande amplitude de espécies vegetais (MARULANDA-AGUIRRE et al., 2008; HARIPRASAD & NIRANJANA, 2009).

Na China, as RPCV são conhecidas e comercializadas como bactérias que aumentam a produtividade e em 1987 já eram aplicadas em larga escala, em 48 diferentes culturas, atingindo 3,35 milhões de hectares. No Brasil, o uso de rizobactérias é mais recente, e os primeiros trabalhos realizados ao final da década de 80 tinham o objetivo de promover o crescimento de tomateiro e cafeeiro em condições de casa de vegetação (MARIANO et al., 2004). Atualmente, existem vários trabalhos com rizobactérias visando ao controle de doenças e à promoção do crescimento de plantas (JAGADEESH et al., 2006; KUMAR et al., 2009).

A inoculação com RPCV pode produzir aumento na massa radicular, devido à capacidade de produzir hormônios vegetais, que promovem o alongamento radicular e o aumento de raízes laterais, aumentando o volume de raízes (LAZZARETTI & MELO, 2005). Plantas inoculadas podem absorver mais rapidamente minerais da solução do solo e, consequentemente, acumular mais massa seca. A associação de plantas com rizobactérias benéficas vem adquirindo importância crescente por ter efeitos na promoção de crescimento, no biocontrole de doenças radiculares e foliares e, consequentemente, reduzindo custos de produção e diminuindo o impacto dos agrotóxicos no meio ambiente (ROMEIRO & BATISTA, 2002). Em sistemas sustentáveis, o uso de rizobactérias promotoras de crescimento pode ser uma das alternativas tecnológicas viáveis para aumentar a produção, sendo implementada pela microbiolização de sementes com microrganismos (BROWN, 1974; LUZ, 1993).

Os benefícios do uso de RPCV foram comprovados em diversas culturas (VESSEY, 2003; LUCY et al., 2004), e a maioria das pesquisas foi realizada em vasos com solo esterilizado. Os resultados de pesquisas laboratoriais e de estufa são significativos, entretanto os resultados de campo são inconsistentes (SIDDIQUI, 2005). A maioria dos trabalhos com RPCV está baseada em sua relação com cereais e gramíneas, sendo poucos os trabalhos com a cultura da cebola, principalmente no Brasil.

Após um aprofundamento teórico, acompanhado de pesquisas de campo nas fases de mudas e crescimento vegetativo em diferentes condições edafoclimáticas, que buscaram avaliar os efeitos das rizobactérias microbiolizadas em sementes de cebola, construiu-se a presente tese.

Esse trabalho foi dividido em quatro capítulos, com resultados dos experimentos realizados nas safras 2007 e 2008. O primeiro se refere à microbiolização de rizobactérias nas sementes de cebola e seus efeitos sobre a produção de mudas, promoção de crescimento e severidade de doenças. O segundo capítulo se refere à continuidade do estudo dos efeitos na fase de produção de bulbos, avaliando-se o efeito benéfico ou não da microbiolização das sementes com rizobactérias na produção, classificação e armazenamento de bulbos de cebola, com seleção dos isolados mais promissores para aplicação como inoculante. O terceiro capítulo se refere ao experimento em casa-de-vegetação, observando-se o efeito sobre o enraizamento das plantas que receberam a microbiolização das sementes com os isolados benéficos selecionados nos primeiros capítulos, aplicados em separado ou em mistura de isolados. O quarto capítulo se refere ao experimento em campo, observando-se o desempenho agronômico da cebola em relação aos tratamentos de microbiolização de três rizobactérias, aplicadas em separado ou em mistura dos isolados.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Geral

Avaliar o efeito da microbiolização com rizobactérias em sementes de cebola sobre o crescimento e controle de doenças fungicas de mudas, bem como, na produção, classificação e armazenamento dos bulbos.

1.1.2 Específicos

- Avaliar *in vivo* o efeito de rizobactérias microbiolizadas nas sementes quanto à promoção do crescimento de plantas de cebola e na severidade de doenças foliares em mudas, bem como, seu efeito na produção, classificação e conservação de bulbos durante o armazenamento.
- Avaliar o efeito da microbiolização de rizobactérias, isoladamente ou em mistura, sobre o crescimento da parte aérea e sistema radicular das plantas de cebola em ambiente protegido.
- Avaliar a influência de rizobactérias microbiolizadas, isoladamente ou em mistura, sobre o crescimento e a produtividade da cebola, cultivadas no campo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. IMPACTO DOS MICRORGANISMOS NA RIZOSFERA

Os microrganismos são os componentes mais numerosos da fração biológica do solo. A comunidade microbiana na rizosfera é representada por populações diversificadas em estado de equilíbrio dinâmico, refletindo o ambiente físico, químico, biológico e suas relações (EHRENFELD et al., 2005). As bactérias do solo formam um de microrganismos que apresenta maior abundância e diversidade entre as espécies. Em termos gerais, estima-se que existam umas 30.000 espécies de bactérias das quais somente 8% são identificadas (BAREA et al., 2005).

A rizosfera, volume de solo que circunda as raízes, é um habitat altamente favorável à proliferação de microrganismos, que desempenham funções importantes no sistema solo-planta, participam de diversas atividades que afetam o crescimento, nutrição e sanidade das plantas, e também beneficiam a qualidade do solo (SORENSEN, 1997). Os microrganismos podem estimular a emergência das sementes e o enraizamento pela ação de hormônios de crescimento e outras substâncias secretados pelos mesmos (JAGADEESH et al., 2006). Podem aumentar a disponibilidade de nutrientes pela ação sobre os ciclos biogeoquímicos, como fixação de nitrogênio, solubilização de elementos minerais e mineralização de nutrientes de compostos orgânicos (PEREIRA, 2001). Melhoram a estrutura do solo contribuindo para a formação de agregados estáveis. Atuam como agentes de controle biológico de patógenos e podem eliminar produtos xenobióticos como agrotóxicos (ZHUANG et al., 2007). Melhoram a resistência e/ou tolerância aos estresses bióticos e abióticos (SCHEUNERT, 1994).

A interface das raízes com o solo define o ambiente rizosférico, e as modificações físicas e químicas que as raízes produzem, criam um ecossistema especializado, em que o crescimento das populações na comunidade microbiana pode ser beneficiado ou inibido (SIQUEIRA & FRANCO, 1988). Uma parte significativa do carbono fixado pelas plantas durante a fotossíntese é liberado no solo durante rizodeposição. Os exsudatos das raízes são ricos em aminoácidos,

monossacarídeos e ácidos orgânicos, servindo como principal fonte de nutrientes e como apoio a um crescimento dinâmico e à atividade de diversos microrganismos no interior e na proximidade das raízes, o que contribui para o solo e a sanidade das plantas (FROMIM et al., 2005). A presença de nutrientes orgânicos exsudados pelas raízes proporciona nichos atrativos para a maioria dos microrganismos que podem explorá-los. Esses nichos são seletivos, de tal forma que apenas um número limitado de espécies microbianas predomina num determinado momento. A composição dos exsudatos sofre mudanças em várias fases do desenvolvimento da planta (PEREIRA, 2001).

A existência de um microrganismo em um determinado tempo e lugar resulta da sua evolução, da existência de fatores abióticos favoráveis ou desfavoráveis ao seu desenvolvimento e das interações benéficas e/ou deletérias exercidas por outras populações da comunidade microbiana. Portanto, as interações biológicas determinam a densidade e a atividade das populações na comunidade microbiana rizosférica (SIQUEIRA & FRANCO, 1988). A colonização da bactéria na rizosfera é essencial para o estabelecimento e o desenvolvimento das comunidades microbianas associadas às raízes. A mobilidade, a rápida taxa de crescimento e a aderência radicular são características importantes para tornar a colonização eficiente (FREITAS, 2007).

As rizobactérias devem apresentar três características: colonizar as raízes, sobreviver e se multiplicar, competindo com a microbiota nativa e estimulando o crescimento vegetal. A promoção no crescimento vegetal por RPCV é quantificado por melhorias de emergência, biomassa e rendimento em várias espécies de plantas (KLOEPPER, 2003; LUCY et al., 2004). Desde seu reconhecimento como um importante subconjunto de microrganismos que colonizam as raízes, nas três últimas décadas, vários estudos foram desenvolvidos a fim de identificar RPCV em diferentes sistemas agrícolas (KLOEPPER et al., 1991; VESSEY, 2003). Com base nos resultados desses estudos as RPCV ganharam atenção como um importante grupo de bactérias benéficas.

2.2. PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO POR RIZOBACTÉRIAS

Apesar da utilização dos meios disponíveis de proteção de plantas, cerca de um terço das culturas produzidas são destruídas por pragas e doenças. A utilização de agrotóxicos tem contribuído para a produção de alimentos pelo controle de pragas e doenças. No entanto, a utilização dessas substâncias durante as últimas três décadas tem suscitado um grande número de problemas ecológicos (NAKKEERAN et al., 2005).

O manejo de alguns microrganismos presentes nos solos têm mostrado bons resultados no controle de fitopatógenos, principalmente daqueles causadores de podridões de sementes, raízes e colo de plantas (CRUZ et al., 2005). Os microrganismos podem promover o crescimento vegetal e ativar mecanismos de resistência no hospedeiro, aumentando o rendimento e a biomassa produzida pela planta (NAKKEERAN et al., 2005).

Na associação com as plantas, as rizobactérias podem ter efeito deletério, nulo ou benéfico. Aquelas que estabelecem uma associação benéfica com as plantas têm sido isoladas, multiplicadas, formuladas e utilizadas como prática agronômica rotineira em alguns países, favorecendo o desenvolvimento e a produtividade das plantas (LUZ, 1996). As RPCV têm sido usadas, inclusive comercialmente, para aumentar a produtividade de culturas e para o controle biológico de organismos causadores de certas enfermidades de plantas. A utilização de RPCV torna-se uma alternativa atraente a ser considerada em programas de manejo integrado (LUZ, 1996; MARIANO & ROMEIRO, 2000).

Pesquisadores têm obtido resultados positivos na emergência de sementes (ENEBAK et al, 1998; RANI et al., 2003), no crescimento de plantas e no rendimento de grãos de trigo e milho (LUZ, 2001a; 2001b). Os aumentos de rendimento atribuídos à RPCV variaram entre 18% e 28% para trigo e 8% e 16% para milho. Segundo Luz (2001a; 2001b), a microbiolização de sementes é uma alternativa para tratamento de sementes de milho no Brasil para o controle de vários patógenos e também como promotora de emergência e crescimento de plantas (DEY et al., 2004; SARAVANAKUMAR et al., 2007).

2.2.1. ESPECIFICIDADE DAS RIZOBACTÉRIAS

A interação entre isolados de rizobactérias e plantas é estudada e aparentemente não existe consenso sobre o assunto (BOTELHO et al., 2006; FREITAS, 2007). Apesar de alguns autores não considerarem a especificidade bactéria-hospedeiro como essencial para a promoção de crescimento (QUADT-HALLMANN & KLOEPPER 1996, SHISHIDO & CHANWAY 1998), outros pesquisadores enfatizam a importância dessa especificidade (ENEBAK et al., 1998; SRINATH et al., 2003).

Na literatura existem exemplos demonstrando que a mesma estirpe de rizobactéria pode ser eficaz em diferentes espécies de plantas, tipos de solo e regiões (ANTOUN & PRÉVOST, 2005). Os resultados obtidos por Melo & Valarini (1995) indicam que as rizobactérias isoladas de plantas de feijoeiro e cenoura não apresentaram especificidade de ação para biocontrole de *Fusarium solani* (Mart.) em pepino. Gomes et al. (2003) utilizaram *Bacillus pumilus* (Meyer & Gottheil) e *Bacillus thuringiensis* (Berliner) obtidos da rizosfera de couve e observaram que os isolados promoveram crescimento significativo em plantas de alface, evidenciando que não houve especificidade. As bactérias facilmente podem colonizar espécies diferentes, até mesmo com maior intensidade e promover-lhes o crescimento.

Melo et al. (2002) demonstraram falta de especificidade dos isolados de *Bacillus* quanto à promoção do crescimento. Isolados provenientes de couve, feijão e rabanete promoveram o crescimento em mudas micropropagadas de abacaxi. García et al. (2003) observaram que o isolado de *P. fluorescens* obtido de *Lupinus albus* (L.) colonizou a rizosfera de plantas de pimenta. A determinação de especificidade pode ser avaliada indiretamente pela inoculação de isolados de bactérias na mesma espécie de planta da qual foi isolada ou em espécies diferentes.

Em outros estudos, no entanto, parece haver especificidade de resposta para espécies tratadas com RPCV. Assim, isolados promotores de crescimento em uma espécie de planta podem não ser efetivos em outras. Alguns trabalhos sugerem que bactérias isoladas da mesma variedade da planta que se deseja inocular, sejam mais eficientes, especialmente quando a população de microrganismos nativos está presente. Organismos adaptados às condições ambientais da região podem

apresentar melhores condições para concorrer com a microbiota nativa, tanto pela adaptação às condições edafoclimáticas, quanto pelo aumento populacional promovido pela inoculação (SUMMER, 1990; ROESCH et al., 2005).

2.2.2. OS GÊNEROS *PSEUDOMONAS* E *BACILLUS*

Foram identificados como RPCV uma diversidade de cepas dos gêneros como *Aeromonas*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Arthobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* e *Serratia* (PODILE & KISHORE, 2006). A diversidade de RPCV na rizosfera varia de acordo com a espécie, tipo de solo e de nutrientes disponíveis (TILAK et al., 2005). Entre o leque variado de RPCV identificados, *Pseudomonas* spp. e *Bacillus* spp. dispõem de uma ampla distribuição e são os mais extensivamente estudados (KISHORE & PANDE, 2007; MENA-VIOLANTE & OLALDE-PORTUGAL, 2007).

De todos os microrganismos que colonizam a rizosfera, os mais comuns são as bactérias gram-negativas, e o gênero *Pseudomonas* é o que predomina (HERNÁNDEZ, 2000). Esse gênero apresenta propriedades que o colocam dentro das RPCV como agente de biocontrole, pois as bactérias deste grupo têm a capacidade de crescer colonizando os órgãos das plantas tais como raízes e tubérculos, utilizam um grande número de substratos orgânicos comumente encontrados em exsudatos radiculares e produzem uma grande variedade de metabólitos secundários tóxicos a fungos e bactérias fitopatogênicas, entre os quais se destacam os antibióticos e os alcalóides (HERNÁNDEZ et al., 1999). Além da antibiose, certas espécies de *Pseudomonas*, particularmente as do grupo fluorescente, produzem sideróforos na rizosfera, privando e inibindo o crescimento de outros microrganismos (FREITAS, 2007).

Conforme Nelson (2004), para que agentes de biocontrole sejam efetivos, é essencial que cresçam, proliferem e, desse modo, sejam competitivos com a microbiota do solo. Linhagens de *Pseudomonas* podem colonizar rapidamente sítios específicos do sistema radicular e da rizosfera, como também da espermosfera, área de influência ao redor das sementes, mais expressiva durante sua germinação, atuando como barreira à infecção por fitopatógenos.

As rizobactérias do gênero *Bacillus* têm potencial para serem utilizadas como inoculantes para as culturas, pois mantêm sua viabilidade quando estocadas por longos períodos (PETRAS & CASIDA, 1985). Por exemplo, em milheto e ervilha, as espécies *Bacillus circulans* (Jordan) e *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* (Bary) aumentaram a massa de planta e a absorção de fósforo, respectivamente (RAJ et al., 1981). Do mesmo modo, Gaind & Gaur (1991) relataram que um inoculante de *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) aumentou a biomassa e a produção de grãos de feijão cultivado em uma área deficiente em fósforo. Em outro estudo, Datta et al. (1982) constataram que uma estirpe de *Bacillus firmus* (Bredemann & Werner) aumentou a produção de arroz com maior absorção de fósforo.

O biocontrole de doenças tem sido alcançado com *Pseudomonas* e *Bacillus* em diversas culturas importantes. Os mecanismos de controle por rizobactérias incluem antibiose, competição e parasitismo. Segundo Melo & Faull (2000), a bactéria *B. subtilis* apresenta a vantagem de possuir endósporos, estruturas de sobrevivência termotolerantes, resistentes à dessecação, além de produzir uma gama de antibióticos com atividade contra uma série de fitopatógenos. *B. subtilis* pode atuar por antibiose e parasistismo, aderindo as células da bactéria à parede da hifa hospedeira.

2.2.3. MODO DE AÇÃO DAS RIZOBACTÉRIAS

Rizobactérias têm sido utilizadas como inoculantes para biofertilização, biorremediação, biopesticidas e fitoestimuladores. Os efeitos benéficos das rizobactérias nas plantas podem afetar o crescimento vegetal de forma direta e incluem, por exemplo, a fixação biológica de nitrogênio, síntese de sideróforos, produção de hormônios, solubilização de fósforo e aceleração dos processos de mineralização (PERSELLO-CARTIEAUX et al., 2003). Os mecanismos de ação indireta incluem a indução de resistência sistêmica nos vegetais, diminuição de fatores de estresse como etileno endógeno, produção de antibióticos e antagonismo a fitopatógenos, entre outros fatores (OLIVEIRA et al., 2003; DONZELI, 2006).

As interações entre as raízes de plantas e microrganismos desempenham um papel determinante na ciclagem e disponibilidade de nutrientes minerais às

plantas e melhoria na eficiência de utilização da água. Na realidade, pelos seus numerosos mecanismos de ação, as RPCV podem promover uma redução significativa na utilização de fertilizantes químicos. Esses efeitos benéficos podem agir simultaneamente ou sequencialmente, contribuindo para o crescimento de plantas, o aumento da produtividade das culturas e na melhoria da qualidade (ANTOUN & PRÉVOST, 2005).

A disponibilização de nutrientes, como a solubilização de fósforo, é outro mecanismo de promoção de crescimento das plantas pela ação das rizobactérias. No solo, existem microrganismos capazes de transformar o fósforo em formas disponíveis para as plantas, e pesquisas comprovaram a existência de elevada percentagem de microrganismos solubilizadores de fósforo concentrados na rizosfera de plantas (KUCEY 1983; ILLMER et al., 1995). Diferentes espécies de rizobactérias dos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus* foram identificadas como capazes de solubilizar compostos fosfatados inorgânicos (RODRIGUES & FRAGA, 1999). A solubilização do fósforo também está relacionada a fatores ambientais como níveis nutricionais e interação com outros organismos do ambiente.

Mesmo a diversidade de bactérias solubilizadoras de fósforo presentes no solo sendo grande, os níveis populacionais geralmente são baixos, ocorrendo competição com outras bactérias comumente associadas à rizosfera. Para que a quantidade de fósforo liberado por esses organismos seja suficiente para promover o crescimento vegetal, deve-se promover a inoculação desses organismos em concentrações elevadas. O principal mecanismo de ação na solubilização de fósforo mineral é por meio dos ácidos orgânicos sintetizados por microrganismos (OLIVEIRA et al., 2003).

A fixação do nitrogênio atmosférico é um mecanismo bem estudado e há vários exemplos descritos na literatura de isolamento de rizobactérias com capacidade de fixar nitrogênio e disponibilizá-lo às plantas (CANBOLAT et al., 2006). No gênero *Bacillus*, por exemplo, existem espécies fixadoras de nitrogênio atmosférico como *Paenibacillus polymyxa* (Prazmowski) e a *B. megaterium*, e também espécies solubilizadoras de fosfato como a *Bacillus cereus* (Frankland & Frankland). Espécies de *Bacillus* e *Pseudomonas* têm tempos de geração respectivamente 2,5 e 15,0 vezes menores na rizosfera do que no solo não rizosférico em vista da maior disponibilidade de substratos (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). A quantidade de diversos tipos de microrganismos na rizosfera pode exceder

mais de mil vezes aquela do solo não rizosférico. Entre espécies não leguminosas, a ocorrência da fixação biológica de nitrogênio ainda é um tema controverso (EHRENFELD et al., 2005).

A produção de hormônios de crescimento por rizobactérias também pode promover o crescimento das plantas (LUZ, 1996). A produção de ácido 3-indol acético (AIA) foi detectada em rizobactérias. Os efeitos da produção de AIA pelas RPCV são a maior proliferação e alongamento das raízes, proporcionando facilidade na retirada de água e nutrientes do solo. Há ainda outros relatos de RPCV produzindo outros hormônios como etileno, auxinas e citocininas (CEZÓN et al., 2003; DEY et al., 2004).

Experimentos *in vitro* e *in vivo* têm demonstrado que os sideróforos desempenham um importante papel no biocontrole de diferentes fungos fitopatogênicos que atacam as culturas de interesse econômico. A capacidade dessas bactérias de sequestrar ferro fornece uma vantagem competitiva aos microrganismos, evidenciando, em muitos casos, que sideróforos podem ser o fator responsável pelo controle biológico (O'SULLIVAN & O'GARA, 1992).

Sideróforos (do Grego: "carregadores de ferro") são moléculas sequestradoras de ferro de baixo peso molecular e elevada afinidade pelo substrato, como por exemplo a enterobactina, secretadas por microrganismos em resposta à baixa disponibilidade de Fe^{+3} em solução. Apesar de, por definição, os sideróforos possuírem altas afinidades por ferro, muitos podem formar também complexos relativamente estáveis com cobre, alumínio, molibidênio e alguns outros elementos (BENITE et al., 2002). Esses compostos atuam do lado externo da membrana celular, capturando moléculas de ferro em solução e ligando-se especificamente a receptores do complexo localizados na membrana, por onde são absorvidos, tornando assim o ferro absorvido disponível para o crescimento dos vegetais. Esses compostos atuam como promotores de crescimento pela capacidade de prevenir a proliferação de fitopatógenos no ambiente rizosférico, sequestrando a maioria do Fe^{+3} disponível, desta forma facilitando o crescimento vegetal (OLIVEIRA et al., 2003).

A indução de resistência pode ser definida como um processo de defesa ativa da planta, em que esta utiliza múltiplos mecanismos induzidos sistemicamente por agentes bióticos e abióticos, e que se apresenta eficiente contra uma variedade de patógenos de plantas (LUZ, 1996). Após exposição a um agente indutor, que

pode ser uma rizobactéria, as plantas têm seus mecanismos de defesa ativados não apenas no sítio de indução como também em outros locais dele distantes, de forma mais ou menos generalizada (ROMEIRO, 2002). Há relatos de indução de resistência sistêmica a diversos patógenos, como indução de resistência múltipla em tomateiro a patógenos pelo uso da rizobactéria *B. cereus* isolado UFV-101 (SILVA, 2002). Em estudos realizados por Silva (2002) detectou aumento de atividade de enzimas indicadoras do estado de indução, como lipoxigenases e polifenoloxidases, em plantas oriundas de sementes microbiolizadas para confirmar o caráter de multiplicidade da resistência. Outros trabalhos relatam alterações nos lipopolissacarídeos, modificações estruturais e bioquímicas, síntese de fitoalexinas, produção de ácido salicílico e outros compostos na indução de resistência sistêmica (RAMAMOORTHY et al., 2001).

De acordo com Silva et al. (2006), os mecanismos acima descritos, bem como outros, são em geral estudados isoladamente. Na natureza há inúmeras interações, é provável que alguns isolados promovam o crescimento das plantas exercendo mais de um mecanismo.

2.2.4. FATORES QUE AFETAM A EFICIÊNCIA DAS RIZOBACTÉRIAS NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO VEGETAL

Cada espécie de microrganismo possui um valor ótimo para cada fator físico e químico, que influi no crescimento e atividade. Propriedades físicas e químicas do solo (pH, umidade e disponibilidade de água, temperatura, salinidade, textura, estabilidade dos agregados, fertilidade, teor de matéria orgânica) (ALBAREDA et al., 2006), presença ou ausência de pesticidas e outras substâncias xenobióticas são exemplos bem conhecidos de fatores abióticos que podem afetar direta ou indiretamente o crescimento das plantas e sua interação com a microflora e fauna do solo (ZHUANG et al., 2007). Fatores abióticos também podem influenciar diretamente a atividade das RPCV e, provavelmente, seus efeitos no crescimento das plantas e a dinâmica das comunidades microbianas na raiz (HORWATH et al., 1998).

A capacidade de colonizar as raízes de plantas é fundamental para atingir o efeito desejado pela inoculação de sementes com RPCV (SOMERS et al., 2004). A germinação das sementes libera grandes quantidades de metabólitos na forma de exsudatos e, desta forma, os microrganismos aplicados na semente têm a oportunidade de serem os primeiros a utilizar esses substratos e, com isso, colonizar a espermosfera. Em virtude da presença de exsudatos radiculares, a rizosfera apresenta intensa atividade microbiana, em que predominam bactérias de vida livre ou associadas aos tecidos vegetais. Para que uma associação natural seja estabelecida com sucesso, primeiro deve ocorrer a colonização, seja ela a rizosfera ou os tecidos internos de uma planta (BENIZRI et al., 2001).

A necessidade de um limite para o nível inicial de inóculo bacteriano promover o crescimento vegetal significativo indica que o "*Quorum sensing"* por bactérias desempenha um papel importante na interação planta-rizobactéria (TEPLITSKI et al., 2000). "*Quorum sensing"* ou auto-indução é o mecanismo de comunicação através do qual bactérias regulam a expressão de conjuntos de genes especializados em resposta à densidade celular (FONSECA et al., 2004). É o modo como as bactérias se comunicam entre si, utilizando de sinais químicos por pequenas moléculas sinalizadoras (N-acil lactonas homoserinas – ALHs), pequenas e difusíveis denominadas auto-indutores que são produzidas por elas mesmas. Esta compreensão de sinais permite que células bacterianas individuais percebam a si e a outros indivíduos, adaptando-se ao ambiente de crescimento de acordo com a densidade populacional pela regulação de seus genes (OLIVEIRA et al., 2003).

A idade da planta e as propriedades químicas, físicas e biológicas do solo podem influenciar grandemente o resultado da inoculação com RPCV. Atualmente, a ausência de um inoculante formulado de RPCV utilizado amplamente para uma cultura importante reflete a complexidade das interações moleculares e dos intercâmbios no ecossistema solo-planta-organismos (ANTOUN & PRÉVOST, 2005).

2.3. UTILIZAÇÃO DE INOCULANTES

Nos últimos anos, tem sido favorecido o desenvolvimento de numerosos trabalhos de busca, seleção e aplicação de bactérias com propriedades benéficas

para as plantas, surgindo formulações a partir de bactérias dos gêneros *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus* e *Pseudomonas*. Esses produtos à base de rizobactérias juntamente com os obtidos a partir de fungos micorrizicos têm aplicação na agricultura (SHEN, 2000).

Para Vessey (2003), o desenvolvimento de inoculantes benéficos para culturas deverão considerar a utilização de uma mistura de microrganismos, em vez de uma única cepa. O inoculante poderá conter uma mistura de RPCV estimulando o crescimento de plantas em diferentes fases, com a ação de um ou mais dos conhecidos mecanismos de promoção das RPCV.

O inoculante desenvolvido, seja com uma cepa de rizobactérias ou uma mistura de microrganismos, terá de ser produzido tendo em conta o solo e os sistemas de cultivo utilizados na região. Os inoculantes terão de ser compatíveis com os produtos agroquímicos, bem como com as características do solo (ANTOUN & PRÉVOST, 2005).

Apesar da utilização de rizobactérias para o biocontrole de doenças e promoção do crescimento de plantas ser aceita numa abordagem de produção sustentável de alimentos, a proporção de registros de agentes de biocontrole disponíveis comercialmente é pequena. Além disso, os atuais produtos de biocontrole podem ainda ser melhorados para obter uma maior redução das doenças. O desenvolvimento de formulações com desempenho consistente, com o aumento da vida útil e de amplo espectro de ação, poderia abrir caminho para comercialização da tecnologia a um ritmo mais rápido (NAKKEERAN et al., 2005).

A exploração das rizobactérias para aumento da produtividade vegetal depende do desenvolvimento de métodos de produção de inoculantes em larga escala. A avaliação da eficiência da inoculação é uma etapa importante para a seleção de isolados de rizobactérias com potencial para produção de inoculantes. Entretanto, para justificar investimentos para produção desses inoculantes e, também, para garantir ao agricultor que o inoculante promoverá aumento de produtividade, são necessários estudos nas condições de campo.

2.4. RESULTADOS DE RIZOBACTÉRIAS EM CEBOLA

As rizobactérias podem promover o crescimento de plantas e diversos efeitos podem ser observados após sua aplicação em sementes e mudas de cebola. Pulido et al. (2003) estudaram os efeitos da mistura de rizobactérias e micorrizas sobre a colonização radicular e o estado nutricional da cebola e concluíram que plantas inoculadas com ambos os tipos de microrganismos foram capazes de extrair quantidades elevadas de N, P e K. Balemi et al. (2007) avaliaram a resposta da cebola à aplicação de fertilizantes químicos e biológicos. Constataram uma economia de 50 kg N ha^{-1} e um aumento de 13,5% no rendimento de bulbos comercializáveis com a inoculação de *Azotobacter.*

Bactérias isoladas a partir da rizosfera apresentam potencial para controle de doenças causadas por patógenos de solo. Algumas delas, especialmente *Pseudomonas* spp. e *Bacillus* spp., reduzem significativamente as doenças e aumentam o rendimento das culturas. No trabalho de Reddy & Rade (1989), a bacterização de sementes de cebola com *B. subtilis* reduziu significativamente a população de bactérias e fungos nativos da rizosfera. As observações dos autores sugerem que a promoção de crescimento de mudas de cebola esteja relacionada com a habilidade da bactéria introduzida reduzir os microrganismos nativos da microflora rizosférica, reduzindo o efeito de microrganismos deletérios. Tehrani et al. (2003) verificaram que os isolados de *Bacillus* spp. e *P. fluorescens* foram eficientes no controle de *Fusarium oxysporum* (Hansen), patógeno que causa a podridão-basal na cebola. Os isolados produziram metabólitos voláteis que inibiram o crescimento de *F. oxysporum*.

Karthikeyan et al. (2008) observaram efeitos positivos da inoculação de microrganismos na cultura da cebola. A utilização de uma mistura de *P. fluorescens*, *B. subtilis* e *Trichoderma viride* (Pers) reduziu em 42% a severidade de *Alternaria palandui* (Ayyangar). Além da supressão da doença, o tratamento com uma mistura de antagonistas promoveu aumento da altura da planta e rendimento de bulbos. Mandhare & Suryawanshi (2003) observaram efeito antagonista do *Bacillus thermophilus* (Hammer) sobre os fungos *Alternaria porri* (Ellis), *Alternaria alternata* (Keissl) e *Dreschlera rostrata* (Leonard). A germinação e o crescimento micelial dos três fungos foram inibidos.

Neves (2001) selecionou in vitro e in vivo rizobactérias com potencial para o biocontrole da queima bacteriana da cebola causada pela bactéria *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* (Brown), bem como avaliou o potencial para promoção de crescimento das plantas. Alcançou 36% de redução no número de lesões e obteve incrementos de 131% na massa seca de bulbos, 219% na massa seca de raízes de cebola, aos 270 dias após a semeadura da cultivar Aurora.

Muito se tem avançado nos estudos sobre a utilização e os mecanismos de ação da RPCV. Pesquisadores de diferentes instituições e regiões do País estão pesquisando os efeitos e os benefícios da aplicação de rizobactérias em culturas como milho, trigo, tomate, pepino, essências florestais e outras espécies. São poucas as informações na literatura relacionadas ao efeito de rizobactérias sobre o desenvolvimento de mudas e bulbos de cebola.

2.5. CARACTERÍSTICAS DA CEBOLA

A cebola *A. cepa*, é uma planta herbácea monocotiledônea pertencente à família Alliaceae, originária da Ásia Central e tida por muitos como uma das mais antigas plantas cultivadas, tendo sido encontradas suas imagens datadas de cerca de 5.000 a.C. no Antigo Egito. A palavra cebola é originaria do latim e significa “grande pérola” (SHIGYO & KIK, 2008). É a segunda hortaliça em importância mundial, superada apenas pelo tomate (SONG et al., 2007). São produzidos cerca de 58 milhões de toneladas anualmente no mundo. A China é a maior produtora de cebola, sendo responsável por aproximadamente 46% da produção mundial, seguida pela Índia, EUA, Turquia, Paquistão, Rússia, Irã, Egito, Japão e Brasil (FAO, 2006).

As plantas apresentam folhas ocas e cobertas por uma camada cerosa. O pseudocaule é formado pela superposição das bainhas das folhas. Os bulbos são formados pelas bainhas carnosas das folhas e, nas partes externas, são envoltos por túnicas brilhantes de coloração variável. O caule verdadeiro situa-se na base do bulbo de onde partem as folhas e as raízes (COSTA et al., 2002). O sistema radicular é do tipo fasciculado, capaz de chegar a 60 cm de profundidade, embora normalmente não passe de 20 cm de profundidade e 15 cm de raio. As raízes são

tenras, finas, pouco ramificadas, de cor branca e odor típico da cebola. Dois conjuntos principais de raízes são formados durante o ciclo vegetativo, um conjunto dura até o início da bulbificação e o outro, que repõe o primeiro, dura do início da bulbificação até a maturação do bulbo (OLIVEIRA, 2008).

Normalmente a época de crescimento vegetativo das cultivares para produção de bulbos é de abril a dezembro na região sul do Brasil, a duração do ciclo depende da cultivar, do clima e do sistema de plantio, variando de 150 a 220 dias (RESENDE et al., 2002; DEBARBA et al., 2006). O crescimento vegetativo da cebola apresenta três fases bem definidas. A primeira é definida por um período de crescimento lento, sendo essa fase prolongada em plantios de inverno. A segunda fase é definida pelo rápido crescimento foliar e emissão de folhas novas, quando ocorre o incremento no número de raízes adventícias. A terceira fase é definida pelo desenvolvimento do bulbo e redução do desenvolvimento das folhas (RABINOWICH & BREWSTER, 1990, citado por MÓGOR, 2000), quando se inicia a translocação de fotoassimilados e outros compostos para a formação do bulbo, havendo um acúmulo rápido de matéria seca do bulbo (BREWSTER, 1994). O primeiro sinal de amadurecimento é o tombamento do pseudocaule (estalo), seguindo-se o secamento da parte aérea da planta. As três diferentes fases do desenvolvimento vegetativo da cebola definem diferenças na concentração de nutrientes (MÓGOR, 2000).

Oliveira (2008), cita a participação de hormônios de crescimento (auxinas, giberelinas, citocininas e etileno) durante o processo de desenvolvimento de bulbos. O autor relata que injeções de ácido indolacético (auxina) em folhas de cebola, particularmente em combinação com ácido giberélico (giberelina) e cinetina (citocinina), atrasam a senescência, resultando em bulbos maiores. Também é sabido que a aplicação de GA_3 em plantas de cebola retarda a formação de bulbos e a aplicação de solução de cinetina promove a formação dos bulbos.

O sistema de cultivo da cebola nos estados do Sul do Brasil é por transplante, com a produção de mudas em canteiros, onde o desenvolvimento depende de vários fatores edafoclimáticos e do manejo agronômico. Normalmente, a muda de cebola permanece em canteiros até atingir três a quatro folhas e, quando transplantada, a planta continua seu desenvolvimento, emitindo novas folhas e renovando seu sistema radicular (REY et al., 1974).

O sucesso na produção de bulbos depende diretamente da qualidade da muda obtida na sementeira. A instalação do canteiro para produção de mudas é feita a partir de sementes, que, no caso da cebola, são de pouca reserva e germinação epígea. A semeadura é realizada predominantemente entre abril e junho. O transplante se concentra nos meses de julho e agosto, com mudas de mais de oitenta dias pós-semeadura. Portanto, o tempo para a produção de mudas é um período longo devido principalmente às temperaturas baixas que predominam nesta época, muitas vezes com ocorrência de geadas (REGHIN et al., 2006).

As sementes de cebola, de modo geral, demoram mais tempo para germinar do que a maioria das espécies hortícolas. Levando em consideração a velocidade e a percentagem de germinação, pode-se considerar a faixa de 11 a 25°C como temperatura ótima, em condições de solo úmido (OLIVEIRA, 2008). Na semeadura, a profundidade, a densidade e o manejo do solo e água influenciam no desenvolvimento da muda.

A sanidade da muda de cebola durante o período de canteiro afeta diretamente o desenvolvimento da cultura no pós-transplante (BOFF, 1994). No Sul do Brasil, as principais doenças na cultura da cebola são a queima acinzentada *Botrytis squamosa* (Walker) e o míldio *Peronospora destructor* (Berk) na fase de muda, ao passo que na fase pós-transplante, as mais frequentes são o próprio míldio e a mancha-púrpura (*A. porri*) (BOFF, 1996; WORDELL FILHO & BOFF, 2006). Para manter a sanidade das mudas nesse período, a intensidade de pulverizações com defensivos tem sido cada vez maior.

O míldio da cebola é causado pelo parasita obrigatório *P. destructor*, de ocorrência amplamente disseminada em regiões de clima temperado, onde são frequentes os períodos de temperaturas amenas, alta umidade e baixa luminosidade. O patógeno se desenvolve somente no tecido vivo, esporulando na parte aérea verde da cebola. A cerosidade da folha e a lignificação das células são fatores estruturais de resistência de *Allium* spp. ao patógeno *P. destructor* (WORDELL FILHO & BOFF, 2006). A doença considerada como queima-acinzentada, é causada pelo fungo *B. squamosa*, e apresenta-se inicialmente em pequenas manchas isoladas sobre a lâmina foliar, com dimensões de 1 por 3 mm, halos prateados, não esporulantes, permanecendo verde o resto do tecido. A utilização de microrganismos benéficos pode contribuir na tolerância ao ataque de *B.*

squamosa, através do manejo orgânico do solo propiciando nutrição adequada a planta (BOFF et al., 1999).

Os agricultores utilizam grandes quantidades de agrotóxicos, principalmente fungicidas, para proteger as lavouras contra as doenças foliares, devido ao clima úmido (BOEING, 2002). Em alguns países, a utilização de agrotóxicos na cultura da cebola variou de 10,5 a 23,0 kg ha^{-1} (SERRA BOSCH & CURRAH, 2002). O sistema de manejo integrado visando à redução e ao uso racional dos recursos está sendo pesquisado e utilizado pelos agricultores da Europa, além do aumento da produção de orgânicos.

Nesse contexto, os efeitos benéficos das RPCV podem contribuir no crescimento da cebola dentro de um manejo integrado de produção, por meio dos mecanismos diretos e indiretos de promoção do crescimento, contribuindo para a redução dos impactos da utilização de insumos químicos na produção.

REFERÊNCIAS

ALBAREDA M.; DARDANELLI, M.S.; SOUSA, C.; MEGIAS, M.; TEMPRANO, T. Factors affecting the of rhizospheric bacteria to bean and soybean roots. FEMS, **Microbiology Letters**, v.259, p.67-73, 2006.

ANTOUN, H; PRÉVOST, D. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In: SIDDIQUI, Z.A. (ed.), **PGPR: Biocontrol and biofertilization**, Netherlands, Springer, 2005. p.1-38.

BALEMI, T.; PAL, N., SAXENA, A.K. Response of onion (*Allium cepa* L.) to combined application of biological and chemical nitrogenous fertilizers. **Acta agriculturae Slovenica**, v.89, n.1, p.107-114, 2007.

BAREA, J.M.; POZO, M.J.; AZCO'N, R.; AZCON'N-AGUILAR, C. Microbial co-operation in the rhizosphere. **Jounal of Experimental Botany**, v.56, n.417, p.1761-1778, 2005.

BASHAN, Y.; BASHAN, L.E. Bacteria – Plant Growth-Promoting. In: HILLEL, D. (Ed.). **Encyclopedia of soils in the environment**, v.1, 2005. p.103-115.

BENITE, A.M.C.; MACHADO, S.P.; MACHADO, B.C. Sideróforos: “Uma resposta dos microorganismos”. **Química Nova**, v.25, n.6, p.1155-1164, 2002.

BENIZRI, E.; BAUDOIN, E.; GUCKET, A. Root colonization by inoculated plant growthpromoting rhizobacteria. **Biocontrol Science and Technology**, v.11, p.557-574, 2001.

BOEING, G. **Fatores que afetam a qualidade da cebola na agricultura familiar catarinense.** Florianópolis, Instituto Cepa/SC, 2002.

BOFF, P.; GONÇALVES, P.A. de S.; DEBARBA, J.F. Efeito de preparados caseiros no controle da queima-acinzentada na cultura da cebola. **Horticultura Brasileira**, v.17, n.2, p.81-85, 1999.

BOFF, P. Levantamento de doenças na cultura da cebola, em Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**, v.21, p.110-114, 1996.

BOFF, P. O complexo *Botrytis* spp., causando doenças em cebola. **Revista Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.7, n.13, p.14-16, 1994.

BOITEUX, L.S.; MELO, P.C.T.de. Taxonomia e Origem. In: **Sistema de produção de cebola (*Allium cepa* L.).** Embrapa-CNPH. Sistemas de Produção, 5. Brasília, 2004. Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/sistprod/cebola/index.htm>. Acesso em: 07 out. 2006.

BOTELHO, G.R.; XAVIER, G.R.; NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G. **A importância dos antibióticos produzidos por *Pseudomonas fluorescentes* na supressão de doenças de plantas.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2006. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 211).

BREWSTER, J.L. **Onion and other vegetable Alliums.** Wellesbourne: Horticulture Research International/CAB Internacional. 1994.

BROWN, M.E. Seed and root bacterization. **Annual Review Phytopathology**, v.12, p.181-197, 1974.

CAMPANHOLA, C.; LUIZ, A. J. B.; RODRIGUES, G. S. Agricultura e impacto ambiental. In: Simpósio sobre os Cerrados do Meio-Norte, 1., 1997, Teresina. **Anais...** Teresina: EMBRAPA, CPAMN, 1997. p.159 - 169.

CANBOLAT, M.Y., BILEN, S; ÇAKMAKÇ, R.; SAHIN, F.; AYDM, A. Effect of plant growth-promoting bacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. **Biology and Fertility of Soils**,v.42, p.350–357, 2006.

CARDOSO, E. J. B. N.; FREITAS, S. S. A Rizosfera. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P., (Ed.). **Microbiologia dos Solos.** Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p.41-58.

CEZÓN, R.; MAÑERO, F.G.; PROBANZA A.; RAMOS, B.; GARCÍA, J.L. Effects of two plant growth-promoting Rhizobacteria on the germination and growth o pepper seedlings (*Capsicum annum*) cv. Roxy. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v.49, n. 6, p.593-603, 2003.

COSTA, N.D.; LEITE, D.L.; SANTOS, C.A.F.; CANDEIA, J.A.; VIDIGAL, S.M. Cultivares de cebola. **Informe Agropecuário**, v.23, n.218, p.20-27, 2002.

CRUZ, J.C.S.; ROCHA, M.M.; CAMPOS JUNIOR, O. Saúde ambiental: microrganismos de solo e o controle de fitopatógenos. **O mundo da saúde**, v. 29, n. 2, p.252-257, 2005.

DATTA, M.; BANIK, S.; GUPTA, R.K. Studies on the efficacy of a phytohormone producing phosphate solubilizing *Bacillus firmus* in augmenting paddy yield in acid soils of Nagaland. **Plant and Soil**, v.69, p.365–373, 1982.

DEBARBA, J.F.; WORDELL FILHO, J.A.W.; ROWE, E.; GONÇALVES, P.A. de S.; THOMAZELLI, L.F.; BOFF, P. **Manejo fitossanitário na cultura da cebola.** Florianópolis, Epagri, 2006.

DEY, R., PAL, K.K., BHATTt, D.M.; CHAUHAN, S.M. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v.159, p.371-394, 2004.

DONZELI, V. P. **Biodiversidade funcional da microbiota e promoção de crescimento de alface por rizobactérias em substrato solarizado.** Campinas, 2006. 109p. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular). Universidade Estadual de Campinas.

EHRENFELD, J.G.; RAVIT, B.; ELGERSMA, K. Feedback in the plant-soil system. **Annual Review of Environment and Resources,** v.30, p.75-115, 2005.

ENEBACK, S.A.; WEI, G.; KLOEPPER, J.W. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on loblolly and slash pine seedlings. **Forest Science**, v.44, n.1, p.139-144, 1998.

FONSECA, M.C.C. da; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R. **"Quorum Sensing": uma nova interpretação da incidência e controle de doenças em plantas.** Seropédica, Embrapa Agrobiologia. Documentos, 170, 2004.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. FAO **Statistical Databases**. FAOSTAT: banco de dados da FAO. Disponível em:< http://faostat.fao.org> Acesso em: 26 jul. 2006.

FREITAS, S.S. Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. In: SILVEIRA, A.P.D.; FREITAS, S.S. **Microbiologia do solo e qualidade ambiental.** Campinas: Instituto Agronômico, 2007. p.1-20.

FROMIN, N.; TARNAWSKI, S.; ROUSSEL-DELIF, L.; HAMELIN, J.; BAGGS, E.M.; ARAGNO, M. Nitrogen fertiliser rate affects the frequency of nitrate-dissimilating *Pseudomonas* spp. in the rhizosphere of *Lolium perenne* grown under elevated p CO_2 (Swiss FACE). **Soil Biology & Biochemistry**, v.37, p.1962-1965, 2005.

GAIND, S; GAUR, A.C. Thermotolerant phosphate solubilizing microorganisms and their interaction with mung bean. **Plant and Soil**, v.133, p.141–149, 1991.

GARCÍA, J. A. L.; SCHLOTER, M.; DURKAYA,T.; HARTMANN,A.; MAÑERO, F.J. G. Colonization of pepper roots by a plant growth-promoting *Pseudomonas fluorescens* strain. **Biology and Fertilit of Soils**, v. 37, p.381-385, 2003.

GOMES, A.M.A., MARIANO, R.L.R., SILVEIRA, E.B.; MESQUITA, J.C.P. Isolamento, seleção de bactérias e efeito de *Bacillus* spp. na produção de mudas orgânicas de alface. **Horticultura Brasileira**, v.21, p.699-703, 2003.

HARIPRASAD, P.; NIRANJANA, S.R. Isolation and characterization of phosphate solubilizing rhizobacteria to improve plant health of tomato. **Plant Soil**, v. 316, p.13-24, 2009.

HERNÁNDEZ, A. Características de géneros asociados a los cultivos de gerbera y clavel. **Cultivos Tropicales**, v.21, n.3, p.15-18, 2000.

HERNÁNDEZ, A.; FERNÁNDEZ, A.I.; PÉREZ, J.; MIRANDA, S.; CARIDAD, F.; HERNÁNDEZ, A.N.; SANTANDER, J.L. Producción, purificación y diagnostico de sideróforos a partir de la cepa de *Pseudomonas fluorescens* J-1443. **Cultivos Tropicales**, v. 20, n.1, p.21-25, 1999.

HORWATH, W.R.; ELLIOTT, L.F.; LYNCH, J.M. Influence of soil quality on the function of inhibitory rhizobacteria. **Letters in Applied Microbiology**, v.26, p.87-92, 1998.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola: área plantada, produção e rendimento.** Disponível em: < http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_200806_6.shtm >. Acesso em: 09 jul. 2008.

ILLMER, P.; BARBATO, A.; SCHINNER, F. Solubilization of hardly-soluble AlPO4 with P-solubilizing microorganisms. **Soil Biology & Biochemistry**, v.27, p.265–270, 1995.

JAGADEESH, K.S.; KRISHNARAJ, P.U.; KULKARNI, J.H. Suppression of deleterious bacteria by rhizobacteria and subsequent improvement of germination and growth of tomato seedlings. **Current Science**, v.91, n.11, p.1458-1459, 2006.

KARTHIKEYAN, M.; RADHIKA, K.; BHASKARAN, R.; MATHIYAZHAGAN, S.; SANDOSSKUMAR, R.; VELAZHAHAN, R.; ALICE, D. Biological control of onion leaf blight disease by bulb and foliar application of powder formulation of antagonist mixture. **Archives Of Phytopathology And Plant Protection**, v. 41, n.6, p.407-417, 2008.

KISHORE, G.K.; PANDE, S. Chitin-supplemented foliar application of chitinolytic *Bacillus cereus* reduces severity of *Botrytis gray* mold disease in chickpea under controlled conditions. **Letters in Applied Microbiology**, v.44, p.98-105, 2007.

KLOEPPER, J.W.; SCHROTH, M. N. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. In: **Proceedings of the fourth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria.** Argers, France: Station de Pathologie Vegetale et Phytobacteriologyie, INRA, v.2, 1978. p.879-892.

KLOEPPER, J. W., ZABLOKOVICZ, R. M., TIPPING, E. M., LIFSHITZ, R. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. In: KEISTER, D. L.;

CREGAN, P. B. (Eds.). **The rhizosphere and plant growth.** The Netherlands, Kluwer Academic Publishers, 1991. p,315-326.

KLOEPPER, J.W. A review of mechanisms for plant growth promotion by pgpr. **In: International PGPR Workshop, 6**, 2003, Calicut, Índia. p.81-92.

KUCEY, R.M.N. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. **Canadian Journal of Soil Science**, v.63, p.671–678, 1983.

KUMAR, T.; WAHLA, V.; PANDEY, P.; DUBEY, R.C.; MAHESHWARI, D.K. Rhizosphere competent Pseudomonas aeruginosa in the management of Heterodera cajani on sesame. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.25, p.277-285, 2009.

LAZZARETI, E.; MELO, I.S. **Influência de *Bacillus subtilis* na promoção de crescimento de plantas e nodulação de raízes de feijoeiro.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2005. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 28.

LUCY, M; REED, E.; GLICK, B.R. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.86, p.1-25, 2004.

LUZ, W. C. Efeito de bioprotetores em patógenos de sementes e na emergência e rendimento de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p.16-20, 2001a.

LUZ, W. C. Microbiolização de sementes para o controle de doenças das plantas. In: LUZ, W. C.; FERNANDES, J. M. C.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo: RAPP, 1993. p.33-77.

LUZ, W. C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. In: LUZ, W. C.; FERNANDES, J. M. C.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas.** Passo Fundo: RAPP, v.4, 1996. p.1-49.

LUZ, W.C. Evaluation of plant growth-promoting and bioprotecting rhizobacteria on wheat crop. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, p.597-600, 2001b.

MANDHARE, V. K., SURYAWANSHI, A. V. Antagonistic effect of *Bacillus thermophillus* on some pathogens. **Journal of Maharashtra Agricultural Universities**, v.28, n.3, p.274-277, 2003.

MARIANO, R. I. R.; ROMEIRO, R. S. Indução de resistência sistêmica mediada por rizobactérias promotoras de crescimento de plantas. In: MELLO, I. S de; AZEVEDO, J. L. de. (Ed.) **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p.305-324.

MARIANO, R.L.R.; SILVEIRA, E.B.; ASSIS, S.M.P.; et al. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 1, p.89-111, 2004.

MARULANDA-AGUIRRE, A.; AZCÓN, R.; RUIZ-LOZANO, J.M.; AROCA, R. Differential effects of a *Bacillus megaterium* strain on *Lactuca sativa* plant growth depending on the origin of the arbuscular mycorrhizal fungus coinoculated: physiologic and biochemical traits. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.27, p.10-18, 2008.

MELO, M.R. F., MARIANO, R. L.R., MENEZES, M., CÂMARA, T. R. & ASSIS, S. M. P. Seleção de bactérias e métodos de bacterização para promoção de crescimento em mudas de abacaxizeiro micropropagadas. **Summa Phytopathologica**, v.28, p.222-228, 2002.

MELO, I. S.; FAULL, J.L . Tombamento de Plântulas e Controle Biológico de *Rhizoctonia solani* e *Pythium* spp.. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. (Eds.). **Controle Biológico,** v. 2, 2000. p.237-262.

MELO, I.S.; VALARINI, P.J. Potencial de rizobactérias no controle de *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. em pepino (*Cucumis sativum* L.). **Scientia Agricola**, v.52, n.2, p.326-330, 1995.

MENA-VIOLANTE, H.G.; OLALDE-PORTUGAL, V. Alteration of tomato fruit quality by root inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): *Bacillus subtilis* BEB-13bs. **Scientia Horticulturae**, v.113, p.103-106, 2007.

MOGOR, A.F. **Nível nutricional e incidência de doenças foliares na cultura da cebola (*Allium cepa* L.).** Botucatu, 2000. 65p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, SP.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Rizosfera. In: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo.** 2. ed., Lavras, UFLA, 2006. p.407-448.

NAKKEERAN, S.; DILANTHA FERNANDO, W.G.; SIDDIQUI, Z.A. Plant growth promoting rhizobacteria formulations and its scope in commercialization for the management of pests and diseases. In: SIDDIQUI, Z.A. (Ed.). **PGPR: Biocontrol and Biofertilization**. Springer, Netherlands, 2005. p.257-296.

NELSON, E.B. Microbial dynamics and interactions in the spermosphere. **Annual Review of Phytopathology**, v.24, p.271-309, 2004.

NEVES, D. M. S. **Controle biológico de *Pseudomonas marginalis* Pv. *Marginalis* e promoção de crescimento de cebola pela microbiolização de sementes**. Pelotas, 2001, 47p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia), Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel.

O'SULLIVAN, D.B.; O'GARA, F. Traits of *fluorescent Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. **Microbiological Reviews**, v. 56, p.662-676, 1992.

OLIVEIRA, A.L.M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J.I. **Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 161).

OLIVEIRA, V.R. **Cultivo da cebola (*Allium cepa* L.).** <http://www.unitins.br/ates/arquivos/Agricultura/Olericultura/Cebola/Cebola_-_Cultivo.pdf.> Acesso em: 03 set. 2008.

PEREIRA, J. C. **Os microrganismos e os metais pesados do solo.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2001. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 132).

PERSELLO-CARTIEAUX, F.; NUSSAUME, L.; ROBAGLIA, C. Tales from the underground: molecular plant-rhizobacteria interactions. **Plant, Cell and Environment**, v.26, p.189-199, 2003.

PETRAS, S. F.; CASIDA, L. E. J. Survival of *Bacillus thuringiensis* spores in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 50, p.1496-1501, 1985.

PIETERSE, C.M.J.; VAN-PELT, J.A.; TON, J.; PARCHMANN, S.; MUELLER, M.J.; BUCHALA, A.J.; METRAUX, J.P.; VAN-LOON, L.C. Rhizobacteria mediated induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* requires sensitivity to jasmonate and ethylene but is not accompanied by an increase in their production. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.57, n.3, p.123-134, 2000.

PODILE, A. R.; KISHORE, G. K. Plant Growth Promoting Rhizobacteria. In: GNANAMANICKAM, S.S. (Ed.). **Plant-Associated Bacteria**, Springer, Printed in the Netherlands, 2006. p.195–230.

PULIDO, L. E., CABRERA, A., MEDUBA, N. Biofertilization using rhizobacteria and AMF in the production of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and onion (*Allium cep*a L.) seedlings. II. Root colonization and nutritional status. **Cultivos Tropicales**, v. 24, n. 2, p.5-13, 2003.

QUADT-HALLMANN, A.; KLOPPER, J.W. Immunological detection and localization of the cotton endophyte *Enterobacter asburiae* JM22 in different plant species. **Canadian Journal of Microbiology**, v.42, p.1144-1154, 1996.

RAJ, J; BAGYARAJ, DJ; MANJUNATH, A. Influence of soil inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhiza and a phosphate dissolving bacterium on plant growth and 32P-uptake. **Soil Biology & Biochemistry**, v.13, p.105-108, 1981.

RAMAMOORTHY, V; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRACKASAM, V.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistence by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, v. 20, n. 1, p.1-20, 2001.

RANI, K.S.; PONNIAH, C.; RAJASEKARAN, P. Seed bacterization of rhizobacteria on the seedling emergence of cotton (MCU 9) under sterile growth pouch conditions. **Journal of Ecology**, v.15, n.6, p.441-444, 2003.

REDDY, M.S; RADE, J.E. *Bacillus subtilis* B-2 and selected onion rhizobacteria in onion seedling rhizospheres: Effects on seedling growth and indigenous rhizosphere microflora. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 21, n.3, p.379-383, 1989.

REGHIN, M.Y.; OTTO, R.F.; OLINIK, J.R.; JACOBY, C.F.S. Produção de cebola sobre palhada a partir de mudas obtidas em bandejas com diferentes números de células. **Horticultura Brasileira**, v.24, p.414-420, 2006.

RESENDE, L.M.A.; MASCARENHAS, M.H.T.; SIMÃO, M.L.R. Panorama da produção e da comercialização da cebola em Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, v.23, n.218, p.7-19, 2002.

REY, C.; STHAL, J.; ANTONIN, P; NEURY, A. Stades repères de l'oignon de semis. **Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture, Horticulture**, v.6, n.3, p.101-104, 1974.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bactéria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, v.17, p.319-339, 1999.

ROESCH, L.F.; CAMARCO, F.O.; SELBACH, P.A.; SÁ, E.S. Reinoculação de bactérias diazotróficas aumentando o crescimento de plantas de trigo. **Ciência Rural**, v.35, n.5, p.1201-1204, 2005.

ROMEIRO, R. S.; BATISTA, U. G. **Preliminary results on PGPR research at the Universidade Federal de Viçosa**, Brasil, 2002. Disponível em: <http\\:www.ufv.br/dfp/bac/Cordoba.html>. Acessado em: 05 dez. 2006.

SARAVANAKUMAR, D.; VIJAYAKUMAR, C.; KUMAR, N. SAMIYAPPAN, R. PGPR induced defense responses in the tea plant against blister blight disease. **Crop Protection**, v.26, p.556-565, 2007.

SCHEUNERT, I. Tranformation and degradation of pesticides in soils - Role of soil microorganisms. In: **Simpósio Brasileiro sobre Microbiologia do Solo, 3., Reunião de Laboratórios para Recomendação de Estirpes de Rhizobium e Bradyrhizobium, 6**, Londrina, 1994. Resumos... Londrina: IAPAR, 1994. p.13.

SERRA BOSCH, A.D.; CURRAH, L. Agronomy of Onions. In: RABINOWITCH, H.D.; CURRAH, L. **Allium Crop Science: Recent Advances**. CAB International, 2002. p.187-232.

SHEN, D. **Beneficial microorganisms and metabolites derived from agriculture wastes in improving plant health and protection.** The Haworth Press, Inc, 2000.

SHIGYO, M.; KIK, C. Onion. In: PROHENS, J.; NUEZ, F. **Vegetables II.** Springer New York, v.2, 2008. p.121-159.

SHISHIDO, M.; CHANWAY, C.P. Spruce growth response specificity after treatment with plant growthpromoting *Pseudomonads*. **Canadian Journal of Botany**, v.77, p.22-31, 1998.

SIDDIQUI, Z.A. PGPR: prospective biocontrol agents of plant pathogens. In: SIDDIQUI, Z.A. (Ed.). **PGPR: Biocontrol and Biofertilization**. Springer, Netherlands, 2005. p.111-142.

SILVA, H.S.A. **Rizobactérias como indutoras de resistência sistêmica a patógenos foliares e como promotoras de crescimento em tomateiro.** Viçosa, 2002, 115p. Dissertação Mestrado em Fitopatologia. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa.

SILVA, H.S.A.; BETTIOL, W.; TERRASAN, C.R.F.; TOZZI, J.P.L.; MELO, I.S.; NUNES, F.V. **Microrganismos endofíticos: potencial de uso como agentes de biocontrole da ferrugem do cafeeiro.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento; 38). 2006.

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. **Biotecnologia do solo; fundamentos e perspectivas.** Brasília: MEC, 1988.

SOMERS, E.; VANDERLEYDEN, J.; SRINIVASAN, M. Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. **Critical Reviews in Microbiology**, v.30, p.205-240, 2004.

SONG, S.I.; CHEONG, J.J.; CHOI, Y.D. Onion, Garlic and Related Species. **Biotechnology in Agriculture and Forestry**, v. 59, p.415-433, 2007.

SORENSEN, J. The rhizosphere as a habitat for soil microorganisms. In: VAN ELSAS, J. D.; TREVORS, J.T.; WELINGTON, E. M. H. (Eds.). **Modern Soil Ecology**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1997. p.21-46.

SRINATH, J.; BAGYARAJ, D.J.; SATYANARAYANA, B.N. Enhanced growth and nutrition of micropropagated Ficus benjamina to *Glomus mosseae* co-inoculated with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus coagulans*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.19, p.69-72, 2003.

SUMNER, M.E. Crop responses to *Azospirillum* inoculation. **Advances in Soil Sciences**, v.12, p.54-123, 1990.

TEHRANI, A. S.; RAMEZANI, M. Biological control of *Fusarium oxysporum*, the causal agent of onion wilt by antagonistic bacteria. **Communications in agricultural and applied biological sciences**, v.68, p.543-547, 2003.

TEPLITSKI, M.; ROBINSON, J. B.; BAUER, W. D. Plants secrete substances that mimic bacterial Nacyl homoserine lactone signal activities and affect population density-dependent behaviour in associated bacteria. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v.13, p.637-648, 2000.

TILAK, K. V. B. R.; RANGANAYAKI, N.; PAL, K. K.; DE, R.; SAXENA, A. K.; NAUTIYAL, C. S.; MITTAL, S.; TRIPATHI, A. K.; JOHRI, B. N. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. **Current Science**, v.89, p.136-150, 2005.

VESSEY, J.K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v.255, p.571-586, 2003.

ZHUANG, X.; CHEN, J.; SHIM, H.; BAI, Z. New advances in plant growth-promoting rhizobacteria for bioremediation. **Environment International**, v.33, p.406-413, 2007.

WORDELL FILHO, J.A.; BOFF, P. Doenças de origem parasitária. In: WORDELL FILHO, J.A.; ROWE, E.; GONÇALVES, P.A. de S.; DEBARBA, J.F.; BOFF, P.; THOMAZELLI, L.F. **Manejo fitossanítario na cultura da cebola**. Florianópolis: Epagri, 2006. p.19-162.

3 – CAPÍTULO I – DOENÇAS FOLIARES E CRESCIMENTO DE MUDAS DE CEBOLA A PARTIR DE SEMENTES MICROBIOLIZADAS COM RIZOBACTÉRIAS

RESUMO

A associação de plantas com rizobactérias benéficas pode promover o crescimento vegetal e o biocontrole de doenças, reduzindo custos de produção e diminuindo o impacto dos agrotóxicos no meio ambiente. Com o objetivo de avaliar os efeitos da microbiolização de sementes com rizobactérias no crescimento das mudas de cebola cv. Bola Precoce, foi conduzido um experimento na Estação Experimental da Epagri, Ituporanga, SC, em 2007. Foram testadas as rizobactérias *Pseudomonas* spp. (W1, W2, W5, W6), *Bacillus megaterium* (W7, W19), *Pseudomonas alcaligenes* (W15), *Paenibacillus polymyxa* (W18), *Bacillus cereus* (UFV 040), *Pseudomonas putida* (UFV 043), e testemunha não microbiolizada, em mudas produzidas em canteiros. Os seguintes parâmetros foram avaliados: emergência, plantas remanescentes, tombamento, altura, diâmetro de pseudocaule, massas fresca e seca da parte aérea de mudas remanescentes no momento do transplante. A área foliar afetada pelos patógenos *Peronospora destructor* e *Botrytis squamosa* foi avaliada semanalmente calculando-se a área abaixo da curva de progresso das doenças (AACPD). Nas condições em que o ensaio foi conduzido, as rizobactérias testadas não foram eficientes em promover o crescimento das mudas para reduzir a severidade de *Botrytis squamosa*. As sementes que receberam os isolados de *Bacillus cereus* UFV40 apresentaram mudas com menor área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por *Peronospora destructor*.

Palavras-chave: *Allium cepa*, *Pseudomonas, Bacillus, Peronospora destructor.*

3 - CHAPTER I - LEAF DISEASES AND ONION SEEDLINGS GROWTH OF ONIONS FROM SEED MICROBIOLIZATION WITH RHIZOBACTERIA

ABSTRACT

The association of plants with benefic rhizobacteria can enhance plant growth and diseases biocontrol, reducing production costs and the impact of pesticides on the environment. A study to evaluate the effects of seeds microbiolization with rhizobacteria in growth of onion seedlings of cv. Bola Precoce was conducted in the Experimental Station of Epagri in Ituporanga, Santa Catarina, in 2007. The following rhizobacteria were tested *Pseudomonas* spp. (W1, W2, W5, W6), *Bacillus megaterium* (W7, W19), *Pseudomonas alcaligenes* (W15), *Paenibacillus polymyxa* (W18), *Bacillus cereus* (UFV 040), *Pseudomonas putida* (UFV 043), along with a control treatment. In the field, the following variables were evaluated: emergence, remaining plants, lodging, height, diameter of pseudo-culm, fresh mass and dry matter of aerial part of remaining seedlings during transplanting. The area affected by leaf pathogen *Peronospora destructor* and *Botrytis squamosa* was evaluated weekly, quantifying the area below the diseases progress curve evaluated (AUDPC). Rhizobacteria tested did not present satisfactory results concerning the effect to stimulate growth in the seedlings to reduce the severity of *Botrytis squamosa* effects. Nevertheless, seeds which received the isolate of *Bacillus cereus* UFV40 yielded seedlings with less area under the disease progress curve (AUDPC) of *Peronospora destructor*.

Keywords: *Allium cepa*, *Pseudomonas, Bacillus, Peronospora destructor*.

3.1. INTRODUÇÃO

Os microrganismos benéficos desempenham um papel fundamental na produção vegetal, e algumas espécies podem ser usadas como inoculantes para melhorar o crescimento e a sanidade vegetal (VESSEY, 2003). Nesse grupo, estão incluídas as rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (RPCV) (LUZ, 1996), primeiramente definidas por Kloepper & Schroth (1978) como "Plant Growth Promoting Rhizobateria" – PGPR.

A microbiolização com RPCV pode promover aumentos no rendimento das culturas pela promoção do crescimento das plantas. Muitos efeitos em plantas têm sido atribuídos à síntese e liberação de hormônios pelas rizobactérias, provocando alterações fisiológicas e morfológicas nas raízes de plantas microbiolizadas (BENT et al., 2001; CEZÓN et al., 2003; DEY et al., 2004; FUENTES-RAMIREZ & CABALLERO-MELLADO, 2005). A melhoria na produtividade das culturas também pode ser explicada pelo aumento da disponibilidade de nutrientes (CANBOLAT et al., 2006) e aumento da resistência das plantas às doenças (PIETERSE et al., 2005; COMPANT et al., 2005).

O uso de RPCV pode ser uma das alternativas tecnológicas viáveis para aumentar a produção vegetal, sendo implementada pela microbiolização de sementes com microrganismos (LUZ, 1993). Essas bactérias colonizam o solo na área de ação das raízes, onde se multiplicam, sobrevivem e se protegem da ação antagonista do restante da microbiota do solo (ROMEIRO, 2005). Os benefícios causados pelas rizobactérias promotoras do crescimento de plantas podem ser verificados em diversas culturas (RANI et al., 2003; NAKKEERAN et al., 2005; HARIPRASAD & NIRANJANA, 2009; CHAIHARN & LUMYONG, 2009).

A mancha-acinzentada e o míldio são doenças de ocorrência generalizada no Sul do Brasil e vem se mostrando limitantes para a produção de mudas de cebola. Rizobactérias isoladas a partir da rizosfera apresentam potencial para controle de doenças causadas por patógenos na cultura da cebola. A microbiolização de sementes de cebola com isolados de rizobactérias foram eficientes no controle de *F. oxysporum* (TEHRANI et al., 2003), *A. palandui*

(KARTHIKEYAN et al., 2008), *A. porri*, *A. alternata* (MANDHARE & SURYAWANSHI, 2003) e *P. marginalis* (NEVES, 2001). Nesse contexto, o uso de rizobactérias como agente de biocontrole de patógenos tem como principal objetivo reduzir os danos causados nas mudas de cebola, contribuindo para redução das perdas e custos de produção em condições de campo.

O objetivo dessa pesquisa foi avaliar o efeito da microbiolização de rizobactérias em sementes de cebola na promoção de crescimento de mudas produzidas no campo em canteiros e a severidade das doenças mancha-acinzentada e míldio.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Localização da região e características das sementes

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Fitossanidade e na área de canteiros da Estação Experimental da Epagri, município de Ituporanga (SC), tendo por coordenadas geográficas latitude de 27º 25’ S, longitude de 49º 38’ W e altitude de 475 m. O trabalho foi realizado no período de abril de 2007 a julho de 2007. Foram utilizadas sementes de cebola da cultivar Bola Precoce. As sementes utilizadas apresentavam 86% de germinação, massa de mil sementes de 4,07 g e 7,93% de umidade.

3.2.2. Origem dos isolados de rizobactérias

Os isolados utilizados nesse trabalho fazem parte da coleção de RPCV do Dr. Wilmar Cório da Luz, obtidos da rizosfera de gramíneas da região de Passo Fundo – RS. Todos os isolados foram preservados em geladeira a 5ºC, em tubos de ensaio contendo meio de cultura ágar nutritivo. Vinte isolados foram microbiolizados em sementes de cebola e avaliados em condições de canteiros na safra 2006 (Dados não publicados). Desses isolados, oito foram selecionados e analisados em cromatógrafo gasoso para identificação, de acordo com a similaridade do perfil de

ácidos graxos, e fazem parte dessa pesquisa juntamente com dois isolados previamente estudados (VIEIRA, 2002; VIEIRA JUNIOR, 2005) e liberados pelo Dr. Reginaldo da Silva Romeiro, da Universidade Federal de Viçosa.

Os isolados foram identificados por meio do “Software” de Identificação Microbiana (MIDI, Biblioteca Sherlock® TSBA versão 5.0, Microbial ID, Newark, DE, USA). O resultado foi expresso por meio de um cromatograma e um relatório elaborado pelos softwares, que contêm comprimento, área de picos e tempo de retenção nomeados. O resultado final é apresentado de acordo com a similaridade entre o banco de dados e as áreas nomeadas, identificando, dessa forma, o microrganismo em questão. Foram positivamente identificados aqueles que obtiveram o índice de similaridade do perfil de ácidos graxos (IS) de 0,6 ou maior e com diferença de 0,1 entre uma espécie e outra (SUZUKI, 2006).

3.2.3. Microbiolização das sementes

Os tratamentos utilizados foram os seguintes: microbiolização nas sementes com *Pseudomonas* spp. (W1), *Pseudomonas* spp. (W2), *Pseudomonas* spp. (W5), *Pseudomonas* spp. (W6), *B. megaterium* (W7), *Pseudomonas alcaligenes* (Monias) (W15), *P. polymyxa* (W18), *B. megaterium* (W19), *B. cereus* (UFV40), *P. putida* (UFV43) e testemunha sem microbiolização. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com onze tratamentos e cinco repetições.

As rizobactérias foram multiplicadas em meio de cultura ágar nutritivo (extrato de carne em pó para microbiologia 3 g, peptona de carne 5 g, glicose anidra 2,5 g, ágar 15 g e água destilada 1000 mL), na temperatura de 23 ± 2ºC. Após 48 horas, as células foram removidas da superfície do meio de cultura com um pincel e colocadas em água destilada esterilizada. Uma suspensão de cada rizobactéria foi preparada com água destilada esterilizada com uma concentração de aproximadamente 10^7 unidades formadoras de colônias por mL (LUZ, 2001), e a suspensão foi padronizada segundo a escala de McFarland (MCFARLAND, 1970).

As sementes foram imersas nas suspensões bacterianas por 5 minutos, sendo agitadas e filtradas. As sementes da testemunha foram postas em água destilada esterilizada, agitadas por 5 minutos, posteriormente mantidas em repouso em ambiente asséptico durante 24 h para a secagem.

3.2.4. Instalação do experimento de mudas em canteiros

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com onze tratamentos e cinco repetições. A semeadura ocorreu no dia 26 de abril, utilizando-se 3 g m^{-2} semeadas a lanço. A profundidade de semeadura foi de 2 cm, sendo as sementes cobertas com casca de arroz carbonizada. As parcelas constaram de 4 m^2, com área útil de 1 m^2. O solo da área de estudo classifica-se com Cambissolo Húmico Distrófico Álico. A análise química do solo da camada de 0-20 cm da área de canteiros foi feita no laboratório de solos da Estação Experimental de Ituporanga e expressou pH (H_2O)= 5,8; P= 27 mg dm^{-3}; K= 234 mg dm^{-3}; Al+3= 0,0 cmolc dm^{-3}; Ca^{+2}= 7,2 cmolc dm^{-3}; Mg^{+2}= 3,9 molc dm^{-3}; CTC= 15,2 cmolc dm^{-3}; V%= 77,1, argila= 32% e matéria orgânica= 3,4 %. O solo foi arado, gradeado e preparados os canteiros. Na adubação química, foram utilizados 50 $g.m^{-2}$ da fórmula 5-20-10 (N-P-K), conforme a recomendação da COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO DO RS E SC (2004), sendo feita 7 dias antes da semeadura, com distribuição manual sobre a superfície do solo e incorporação com um encanteirador. Aos 40 dias após a emergência das plântulas, procedeu-se a uma adubação de cobertura com uréia, na dose de 45 kg N ha^{-1}. Para controlar plantas daninhas, foram efetuadas duas aplicações de herbicida com ingrediente ativo ioxynil (Totril® 2 $l.ha^{-1}$) (ANDREI, 1999), além de, ocasionalmente, terem sido feitas capinas manuais para manter a cultura livre da competição com plantas daninhas.

Nas parcelas não foram aplicados agrotóxicos para controle de doenças, visando a avaliar a curva de progresso das doenças e sua relação com os tratamentos (WORDELL FILHO & STADNIK, 2006). Em intervalos semanais, do estádio de plântula até a fase de transplante, foram avaliadas 10 plantas por parcela quanto à severidade das doenças mancha-acinzentada (*B. squamosa*) e míldio (*P. destructor*), estimando visualmente a percentagem de área foliar afetada pelas doenças (0 a 100%), conforme Wordell Filho & Stadnik (2006). Posteriormente, estimou-se a área abaixo da curva de progresso das doenças (AACPD) de mancha-acinzentada e míldio, pela fórmula AACPD= Σ [((y1+y2)/2*(t2-t1)], em que y1 e y2 são duas avaliações consecutivas de severidade feitas nos tempos t1 e t2, respectivamente.

Foi avaliado o número de plantas emergidas por m^2 aos 40 dias após a semeadura, sendo realizadas duas avaliações por parcela e calculadas as médias. Aos 90 dias após a semeadura, foram contadas as mudas remanescentes por m^2, sendo coletadas 25 plantas por tratamento de forma aleatória, para medição da altura entre a base do sistema radicular e o ápice da folha mais alta (cm) e o diâmetro do pseudocaule, utilizando uma régua e um paquímetro digital, respectivamente. A parte aérea das mudas foi acondicionada em sacos de papel e feita a pesagem para obtenção da massa fresca da parte aérea (MFPA), e após, levadas à estufa com circulação forçada de ar, regulada à temperatura de 60°C, até o material atingir massa constante. Desta forma, foi calculada a massa seca da parte aérea (MSPA), com os resultados expressos em gramas por muda.

3.2.5. Análise dos resultados

Os resultados foram analisados e verificada sua homocedasticidade e normalidade dos resíduos. Os dados que não atenderam a essas premissas foram transformados em $(x+0,5)^{1/2}$ para a variável tombamento ou em $1/ x^{1/2}$ para a variável AACPD da doença míldio. Os dados referentes às percentagens foram transformados em $y= \text{arcsen } (x/100)^{1/2}$. As variâncias foram comparadas pelo teste F e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo Teste de Duncan, a 5% de probabilidade. As análises foram feitas através dos programas “Statistica® 6.0” e “SASM-Agri® 8.0”.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes ao número de plântulas emergidas ($n.m^{-2}$), número de mudas remanescentes ($n.m^{-2}$), tombamento ($n.m^{-2}$), altura (cm), diâmetro (mm), massa fresca (g) e massa seca da parte aérea das mudas (g) no ponto de transplante em condições de canteiros são mostrados nas Tabelas 3.1 e 3.2.

Na emergência de plântulas (Tabela 3.1) ocorreu diferença significativa entre o tratamento com *B. cereus* UFV40 e os tratamentos W1, W5 e UFV43. Foi

observado que os tratamentos avaliados não apresentaram diferenças em relação à testemunha. Os dados de emergência variaram de 594 a 676 plântulas m^{-2}.

Trabalhos de microbiolização de sementes com rizobactérias relatam a ocorrência de efeitos promotores significativos na emergência de sementes (REDDY & RADE, 1989) e na promoção do crescimento das plantas (KARTHIKEYAN et al., 2008) que não foram observados nesse experimento.

O efeito positivo da microbiolização de rizobactérias foi verificado por Saravanakumar et al. (2007), que observaram incrementos variando de 37 a 50% na percentagem de emergência de sementes de *Camellia sinensis* (L.) em relação à testemunha, quando inocularam *B. cereus* e *P. fluorescens*. Nesta pesquisa, constataram aumento no comprimento de raízes, altura e índice de vigor de plântulas. Resultados semelhantes foram observados por Kishore et al. (2005), que, trabalhando com *B. megaterium*, obtiveram aumentos de 12 a 19% na emergência de plântulas de amendoim.

Os tratamentos não mostraram diferenças significativas para mudas remanescentes no ponto de transplante em relação à testemunha (Tabela 3.1). Os resultados com os isolados W1 e W6 apresentaram diferenças significativas entre tratamentos. Todos os tratamentos apresentaram redução no número de plântulas emergidas em relação às remanescentes no momento do transplante, exceto para as mudas que receberam o isolado W6, que não reduziu o número de mudas no momento do transplante. Várias hipóteses têm sido aventadas no sentido de explicar a capacidade que possuem as rizobactérias de promover o crescimento das plantas. A maioria dos trabalhos relaciona essa capacidade à produção de hormônios de crescimento vegetal. No sistema de produção de mudas, é normal a redução no número de mudas entre a emergência e o transplante, com índices variando de 25 a 45% (MENDONÇA et al., 2004). Boff et al. (2005) também observaram diferenças entre a emergência e a sobrevivência de mudas até o transplante, com reduções no número de mudas de 4 a 32%, e atribuíram o efeito à liberação de certos compostos orgânicos que podem melhorar o desenvolvimento das plantas.

Não houve efeito de tratamentos para tombamento com os resultados médios no intervalo de 0,4 a 2,0 mudas tombadas m^{-2} (Tabela 3.1). As plântulas e folhas tombadas não apresentaram presença de fitopatógenos, indicando ser o problema de origem abiótica ou devido ao dano causado por insetos como formigas. Provavelmente, o enfraquecimento da axila foliar devido à umidade no leito do

canteiro favoreceu o tombamento da lâmina foliar de mudas de cebola, como relataram Boff et al. (2005).

A microbiolização de rizobactérias nas sementes de cebola não afetou as variáveis altura, diâmetro e massa fresca da parte aérea (MFPA) de mudas no momento do transplante (Tabela 3.2). No trabalho de Neves et al. (2000), os isolados também não mostraram nenhum incremento no crescimento das plantas decorrente da microbiolização de sementes de cebola. Os resultados diferem daqueles obtidos por Pulido et al. (2003), que observaram diferenças quando aplicaram rizobactérias, com aumentos na altura das mudas de cebola variando de 22 a 80%.

TABELA 3.1 – MUDAS EMERGIDAS AOS 40 DIAS APÓS A SEMEADURA (NE), MUDAS REMANESCENTES AOS 90 DIAS APÓS A SEMEADURA (NR), E MUDAS TOMBADAS (NT) APÓS MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES DE CEBOLA COM RIZOBACTÉRIAS. CULTIVAR BOLA PRECOCE, EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2007

Isolados/Testemunha	NE ($n.m^{-2}$)	NR ($n.m^{-2}$)	NT ($n.m^{-2}$)*
Pseudomonas spp. W1	595 b	522 b	1,6
Pseudomonas spp. W2	613 ab	573 ab	0,8
Pseudomonas spp. W5	594 b	541 ab	0,8
Pseudomonas spp. W6	607 ab	608 a	1,0
Bacillus megaterium W7	641 ab	582 ab	1,2
Pseudomonas alcaligenes W15	606 ab	546 ab	0,4
Paenibacillus polymyxa W18	609 ab	566 ab	1,4
Bacillus megaterium W19	647 ab	582 ab	1,6
Bacillus cereus UFV40	676 a	551 ab	2,0
Pseudomonas putida UFV43	594 b	569 ab	1,6
Testemunha	652 ab	599 ab	1,2
C.V.%	7,11	8,75	32,97

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Duncan. * Efeito de tratamento não significativo. Os dados foram transformados em $(x+0,5)^{1/2}$ para a variável mudas tombadas ou em $1/ x^{1/2}$ para a variável mudas emergidas.

O resultado de diâmetro médio do pseudocaule das mudas ficou abaixo da faixa de 5 a 7 mm, ideal para obtenção de bulbos, pois o diâmetro do pseudocaule da muda, por ocasião do transplante, influi no tamanho final do bulbo colhido (BOFF & DEBARBA, 1999). A elevada densidade de mudas possivelmente contribuiu para

o aumento na sua altura e para a redução do diâmetro nas condições do experimento. Uma relação adequada entre altura e diâmetro de mudas é necessária para obter bulbos de tamanho comercial. As mudas são transplantadas quando apresentam o pseudocaule com diâmetro entre 4-8 mm e altura de 20-25 cm (FONTES & SILVA, 2002).

TABELA 3.2 – ALTURA DA PARTE AÉREA DAS PLANTAS (A), DIÂMETRO DE PSEUDOCAULE (DP), MASSA FRESCA (MFPA) E A MASSA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA) DE MUDAS REMANESCENTES NO MOMENTO DO TRANSPLANTE APÓS MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES DE CEBOLA COM RIZOBACTÉRIAS. CULTIVAR BOLA PRECOCE, EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2007

Isolados/Testemunha	A* (cm)	DP* (mm)	MFPA* (g)	MSPA (g)	
Pseudomonas spp. W1	30,0	4,38	2,757	0,166	a
Pseudomonas spp. W2	29,1	4,22	2,453	0,153	ab
Pseudomonas spp. W5	30,4	4,30	2,841	0,173	a
Pseudomonas spp. W6	29,3	4,34	2,557	0,154	ab
Bacillus megaterium W7	28,7	4,22	2,495	0,158	ab
Pseudomonas alcaligenes W15	30,1	4,46	2,933	0,175	a
Paenibacillus polymyxa W18	28,8	4,22	2,572	0,156	ab
Bacillus megaterium W19	28,7	4,32	2,486	0,164	a
Bacillus cereus UFV40	29,6	4,30	2,615	0,157	ab
Pseudomonas putida UFV43	28,7	4,10	2,441	0,130	b
Testemunha	29,6	4,26	2,789	0,174	a
C.V.%	5,59	6,17	13,36	11,63	

* Efeito de tratamento não significativo. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Duncan.

Com relação à variável massa seca da parte aérea (MSPA), somente os tratamentos W1, W5, W15, W19 e testemunha diferiram do tratamento UFV43, que apresentou o menor valor. A rizobactéria *P. putida* é considerada uma RPCV, entretanto, o efeito do isolado UFV43 nas mudas de cebola foi deletério. Algumas rizobactérias podem ser consideradas deletérias e inibir o crescimento de plantas. O mecanismo que poderia estar envolvido nesse processo seria a produção de cianeto de hidrogênio - HCN (KREMER & SOUISSI, 2001). A produção de HCN pela rizobactéria *P. putida* parece ser um fenômeno bastante comum, conforme demonstrado por Coelho (2006) em rizosfera de hortaliças. A glicina pode ser

encontrada nos exsudatos radiculares de muitas plantas e poderia provavelmente estar disponível na rizosfera como um precursor para a síntese de HCN por rizobactérias.

O crescimento vegetativo da cebola apresenta três fases bem definidas (MÓGOR, 2000). A primeira é definida por um período de crescimento lento com reduzido desenvolvimento radicular e aéreo, sendo essa fase prolongada em plantios de inverno, correspondendo ao período em que as mudas microbiolizadas foram avaliadas nos canteiros. Os resultados obtidos na fase de mudas podem ser explicados pelo efeito da temperatura sobre o crescimento das mudas e a multiplicação das rizobactérias na rizosfera das plantas. As mudas de cebola foram cultivadas em canteiros durante os meses de outono-inverno, período de baixas temperaturas e ocorrência de geadas na região (Anexo 1). A multiplicação das rizobactérias na microflora da rizosfera de mudas de cebola é favorecida em temperatura próxima a 25ºC (FENWICK, 1973).

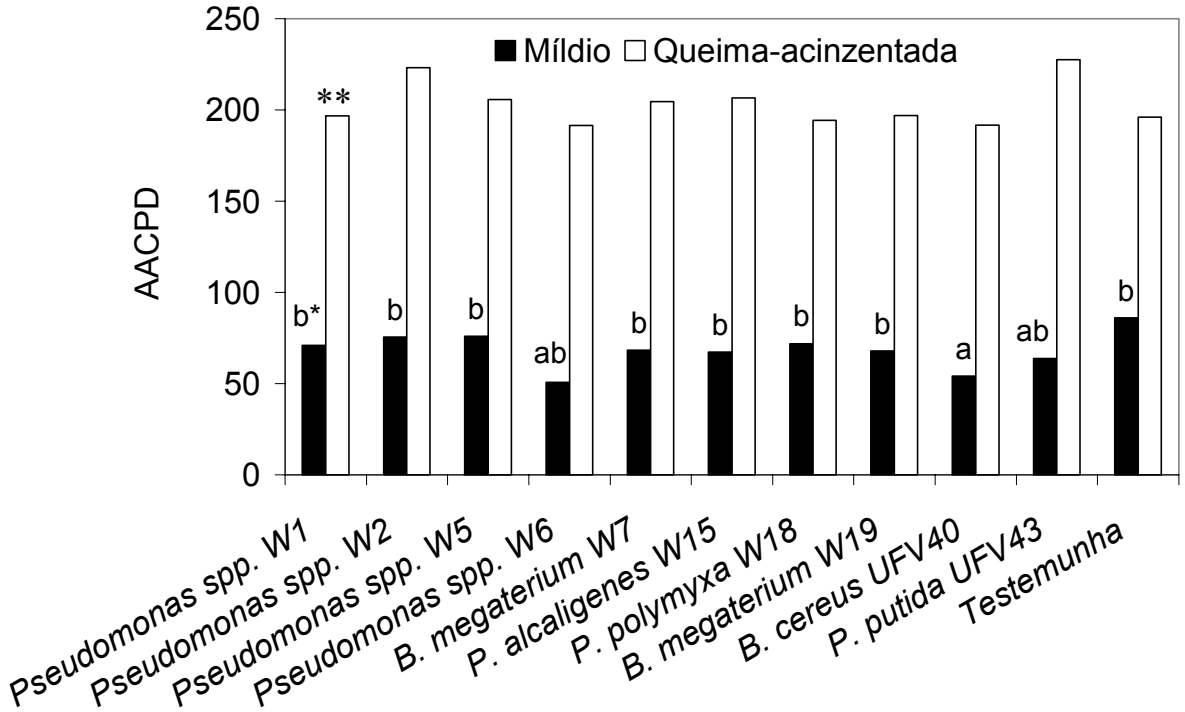
O efeito desejado pela microbiolização de sementes com rizobactérias quando não atingido é frequentemente associado à sua incapacidade de colonizar ou à ineficiente colonização das raízes de plantas (BENIZRI et al., 2001). Assim destaca-se que um estabelecimento efetivo de uma RPCV, será dependente da competência no ambiente da rizosfera e da sua estabilidade no local de atividade, ao longo do tempo. Provavelmente, os resultados obtidos nesse experimento com mudas de cebola estão relacionados com a pequena quantidade de exsudatos liberados pelas raízes das mudas e pela colonização ineficiente dos isolados, devido ao estádio de crescimento da cebola e ao efeito das baixas temperaturas ocorridas no período. A comunidade microbiana da rizosfera de plantas pode ser afetada por vários fatores, dependendo da espécie, estádio de crescimento da planta, características do solo, relação solo-raiz, práticas agronômicas e condições ambientais, principalmente temperatura e umidade (ANTOUN & PRÉVOST, 2005). Estas mudanças podem afetar negativamente o crescimento das plantas, ou positivamente, aumentando a proporção de RPCV.

Os tratamentos com RPCV na fase de produção de mudas de cebola não influenciaram a emergência e o crescimento das mudas, apresentando diferentes respostas em relação aos parâmetros analisados. Durante o período de condução do experimento, a temperatura média variou de 11 a 13ºC, com o registro de 11 geadas e temperaturas negativas (Anexo 1). Provavelmente os fatores ambientais

como as baixas temperaturas registradas no período de avaliação das mudas e o estádio fenológico da cebola influenciaram na resposta das rizobactérias microbiolizadas no experimento. Conforme Whipps (2001), esse é um fato comum no ambiente da rizosfera de qualquer planta, onde, em geral, ocorre um equilíbrio entre microrganismos.

Na avaliação da intensidade por queima-acinzentada e míldio, principais doenças na cultura da cebola na fase de muda (BOFF, 1996; WORDELL FILHO & BOFF, 2006), houve diferença significativa entre os tratamentos para a AACPD de míldio (Figura 1). As plantas que receberam o isolado de *B. cereus* UFV40 nas sementes apresentaram menor área abaixo da curva de progresso da doença.

FIGURA 1 – EFEITO DA MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES DE CEBOLA COM RIZOBACTÉRIAS SOBRE A ÁREA ABAIXO DA CURVA DE PROGRESSO DAS DOENÇAS (AACPD) QUEIMA-ACINZENTADA E MÍLDIO. CULTIVAR BOLA PRECOCE, EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2007



NOTA: Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Duncan. *Dados foram submetidos à transformação 1/ $x^{1/2}$. ** Efeito de tratamentos não significativo.

Existem casos comprovados em que a microbiolização com RPCV tornou a parte aérea da cebola mais resistente a patógenos (KARTHIKEYAN et al., 2008). Os mecanismos utilizados por RPCV são numerosos e provavelmente mais de um modo de ação deva estar ativo nas associações entre plantas e rizobactérias. Certas RPCV parecem atuar como agentes indutores de resistência sistêmica, no sentido em que a planta fica protegida contra mais de um patógeno. As moléculas elicitoras podem ser o ácido jasmônico, metil-jasmonato e etileno (ROMEIRO, 2005).

As RPCV podem contribuir para a produção de cebola agregando valor ao produto e causando menor impacto no meio ambiente. Os tratamentos devem ser avaliados em campo visando à determinação da eficiência destes isolados no aumento da produtividade de bulbos de cebola.

3.4. CONCLUSÕES

Não houve efeito dos isolados de rizobactérias sobre a emergência e o crescimento das mudas de cebola da cultivar Bola precoce cultivada em canteiros.

As rizobactérias não influenciaram a área abaixo da curva de progresso de *B. squamosa*.

As sementes que receberam os isolados de *B. cereus* UFV40 apresentaram mudas com menor área abaixo da curva de progresso de *P. destructor*.

REFERÊNCIAS

ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas**. 6. ed. São Paulo: Andrei, 1999.

ANTOUN, H; PRÉVOST, D. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In: SIDDIQUI, Z.A. (Ed.). **PGPR: Biocontrol and biofertilization**, Netherlands, Springer, 2005. p.1-38.

BENIZRI, E.; BAUDOIN, E.; GUCKET, A. Root colonization by inoculated plant growth promoting rhizobacteria. **Biocontrol Science and Technology**, v.11, p.557-574, 2001.

BENT, E.; TUZUN, S.; CHANWAY, C.P.; ENEBAK, S. Alterations in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. **Canadin Journal of Microbiology**, v.47, p.793-800, 2001.

BOFF, P. Levantamento de doenças na cultura da cebola, em Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**, v.21, p.110-114, 1996.

BOFF, P.; DEBARBA, J.F. Tombamento e vigor de mudas de cebola em função de diferentes profundidades e densidades de semeadura. **Horticultura Brasileira**, v.17, n.1, p.15-18, 1999.

BOFF, P.; DEBARBA, J.F.; SILVA, E.; WERNER, H. Qualidade e sanidade de mudas de cebola em função da adição de composto termófilo. **Horticultura Brasileira**, v.23, n.4, p.875-880, 2005.

CANBOLAT, M.Y., BILEN, S; ÇAKMAKÇ, R.; SAHIN, F.; AYDM, A. Effect of plant growth-promoting bacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. **Biology and Fertility of Soils**, v.42, p.350-357, 2006.

CEZÓN, R.; MAÑERO, F.G.; PROBANZA A.; RAMOS, B.; GARCÍA, J.L. Effects of two plant growth-promoting Rhizobacteria on the germination and growth o pepper seedlings (*Capsicum Annum*) cv. Roxy. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v.49, n.6, p.593-603, 2003.

CHAIHARN, M.; LUMYONG, S. Phosphate solubilization potential and stress tolerance of rhizobacteria from rice soil in Northern Thailand. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v.25, p.305-314, 2009.

COELHO, L.F. **Interação de *Pseudomonas* spp. e de *Bacillus* spp. com diferentes rizosferas.** Campinas, 2006, 71p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical), Instituto Agronômico, IAC.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO - RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina** - ROLAS. 10 ed. Porto Alegre, 2004.

COMPANT, S.; DUFFY, B.; NOWAK, J.; CLÉMENT, C.; BARKA, E.A. Use of plant growth promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of

action, and future prosptects. **Applied and Environmental Microbiology**, v.71, n.9, p.4951-4959, 2005.

DEY, R., PAL, K.K., BHATTt, D.M.; CHAUHAN, S.M. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v.159, p.371-394, 2004.

FENWICK, L. Studies on the rhizosphere microflora of onion plants in relation to temperature changes. **Soil Biology and Biochemistry**, v.5, n.3, p.315-320, 1973.

FONTES, P.C.R.; SILVA, D.J.H. Métodos de produção de cebola. **Informe Agropecuário**, v.23, n.218, p.28-35, 2002.

FUENTES-RAMIREZ, L.E.; CABALLERO-MELLADO, J. Bacterial Biofertilizers. In: SIDDIQUI, Z.A. (Ed.). **PGPR: Biocontrol and Biofetilization.** Springer, Netherlands, 2005. p.143-172.

HARIPRASAD, P.; NIRANJANA, S.R. Isolation and characterization of phosphate solubilizing rhizobacteria to improve plant health of tomato. **Plant Soil**, v.316, p.13-24, 2009.

KARTHIKEYAN, M.; RADHIKA, K.; BHASKARAN, R.; MATHIYAZHAGAN, S.; SANDOSSKUMAR, R.; VELAZHAHAN, R.; ALICE, D. Biological control of onion leaf blight disease by bulb and foliar application of powder formulation of antagonist mixture. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v.41, n.6, p.407-417, 2008.

KISHORE, G.K.; PANDE, S.; PODILE, A.R. Phylloplane bacteria increase seedling emergence, growth and yield of field-grown groundnut (*Arachis hypogaea* L.). **Letters in Applied Microbiology**, v.40, p.260-268, 2005.

KLOEPPER, J.W.; SCHROTH, M. N. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. In: **Proceedings of the fourth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria.** Argers, France: Station de Pathologie Vegetale et Phytobacteriologyie, INRA, v.2, 1978. p.879-892.

KREMER, R.J; SOUISSI, T. Cyanide production by rhizobacteria and potencial for suppression of weed seedling growth. **Current Microbiology**, v.43, p.182-186, 2001.

LUZ, W.C. Evaluation of plant growth-promoting and bioprotecting rhizobacteria on wheat crop. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, p.597-600, 2001.

LUZ, W.C. Microbiolização de sementes para o controle de doenças de plantas. In: LUZ, W.C. da; FERNANDES, J.M.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. (Eds.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas (RAPP)**, Passo Fundo, v.1, 1993. p.37-77.

LUZ, W.C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. In: LUZ, W. C.; FERNANDES, J. M. C.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas (RAPP).** Passo Fundo, v.4, 1996. p.1-49.

MANDHARE, V. K., SURYAWANSHI, A. V. Antagonistic effect of *Bacillus thermophillus* on some pathogens. **Journal of Maharashtra Agricultural Universities**, v.28, n.3, p.274-277, 2003.

MCFARLAND, J. The nephelometer: Na instrument for estimating the number of bactéria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. In: CAMPBELL, H.D.; GARVEY, S.J.; CREMER, E.N.; SUSSDORF, H.D. (Eds.). **Methods in immunology.** Benjamin. New York, 1970. p.435-437.

MENDONÇA, J.L.; MADEIRA, N.R.; RESENDE, F.V. Plantio. In: **Sistema de produção de cebola (*Allium cepa* L.)**. Embrapa-CNPH. Sistemas de Produção, 5, 2004. Disponível em: http://www.cnph.embrapa.br/sistprod/cebola/plantio.htm. Acesso em: 17 mar. 2008.

MÓGOR, A.F. **Nível nutricional e incidência de doenças foliares na cultura da cebola (*Allium cepa* L.).** Botucatu, 2000, 65p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, SP.

NAKKEERAN, S.; DILANTHA FERNANDO, W.G.; SIDDIQUI, Z.A. Plant growth promoting rhizobacteria formulations and its scope in commercialization for the management of pests and diseases. In: SIDDIQUI, Z.A. (Ed.). **PGPR: Biocontrol and Biofertilization**. Springer, Netherlands, 2005. p.257-296.

NEVES, D. M. S. ; MOURA, A. B. ; GOMES, C. B. . Efeito de PGPR em Cebola pela Microbiolização de Sementes. In: **Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes**, Pelotas, 2000.

NEVES, D. M. S. **Controle biológico de *Pseudomonas marginalis* pv. *Marginalis* e promoção de crescimento de cebola pela microbiolização de sementes**.

Pelotas, 2001, 47p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia), Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel.

PIETERSE, C.M.J.; VAN PELT, J.A.; VAN WEES, S.C.M.; TON, J.; VERHAGEN, B.W.M.; LEÓN-KLOOTERZIEL, K.; HASE, S.; DE VOS, M.; VAN OOSTEN, V.; POZO, M.; SPOEL, S.; VAN DER ENTE, S.; KOORNNEEF, A.; CHALFUN-JUNIOR, A.; RESENDE, M.L.V.; VAN LOON, L.C. Indução de resistência sistêmica por rizobactérias e comunicação na rota de sinalização para uma defesa refinada. In: LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.C.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas (RAPP),** Passo Fundo, v.13, 2005. p.277-295.

PULIDO, L.E.; MEDINA, N.; CABRERA, A. La biofertilización con rizobactérias y hongos microrrízicos arbusculares en la producción de posturas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y cebolla (*Allium cepa* L.). I. Crecimiento vegetativo. **Cultivos Tropicales**, v.24, n.1, p.15-24, 2003.

RANI, K.S.; PONNIAH, C.; RAJASEKARAN, P. Seed bacterization of rhizobacteria on the seedling emergence of cotton (MCU 9) under sterile growth pouch conditions. **Journal of Ecology**, v.15, n.6, p.441-444, 2003.

REDDY, M.S; RADE, J.E. *Bacillus subtilis* B-2 and selected onion rhizobacteria in onion seedling rhizospheres: Effects on seedling growth and indigenous rhizosphere microflora. **Soil Biology and Biochemistry**, v.21, n.3, p.379-383, 1989.

ROMEIRO, R.S. Rizobactérias promotoras do crescimento vegetal como indutores de resistência. In: CAVALCANTI, L.S (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos.** Piracicaba FEALQ, 2005. p.169-182.

SARAVANAKUMAR, D.; VIJAYAKUMAR, C.; KUMAR, N.; SAMIYAPPAN, R. PGPR-induced defense responses in the tea plant against blister blight disease. **Crop Protection**, v.26, p.556-565, 2007.

SUZUKI, M. T. **Isolamento, identificação e caracterização de linhagens endofíticas de *Bacillus thuringiensis* de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*).** São Paulo. 86 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas.

TEHRANI, A. S.; RAMEZANI, M. Biological control of *Fusarium oxysporum*, the causal agent of onion wilt by antagonistic bacteria. **Communications in agricultural and applied biological sciences**, v.68, p.543-547, 2003.

VESSEY, J.K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v.255, p.571-586, 2003.

VIEIRA JUNIOR, J. R. **Procariotas residentes de filoplano do feijoeiro como agentes de biocontrole de enfermidades da parte aérea da cultura.** Viçosa, 2005. 146 p. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitopatologia.

VIEIRA, B. de A. H. **Bactérias residentes do filoplano de tomateiro como agentes de controle biológico de enfermidades da parte aérea da cultura.** Viçosa, 2002. 108p. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitopatologia.

WHIPPS, J.M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v.52, p.487-511, 2001.

WORDELL FILHO, J.A.; BOFF, P. Doenças de origem parasitária. In: WORDELL FILHO, J.A.; ROWE, E.; GONÇALVES, P.A. de S.; DEBARBA, J.F.; BOFF, P.; THOMAZELLI, L.F. **Manejo fitossanítario na cultura da cebola**. Florianópolis: Epagri, 2006. p.19-162.

WORDELL FILHO, J.A.; STADNIK, M.J. Controle da mancha acinzentada da cebola e seu impacto sobre a qualidade de mudas. **Horticultura Brasileira**, v.24, p.437-441, 2006.

4 – CAPÍTULO II – PRODUÇÃO, CLASSIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE BULBOS DE CEBOLA EM FUNÇÃO DA MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES COM RIZOBACTÉRIAS

RESUMO

As rizobactérias benéficas podem ser uma alternativa para a produção de cebola. Com o objetivo de avaliar os efeitos de rizobactérias microbiolizadas às sementes de cebola da cv. Bola Precoce no crescimento de plantas e na produção, classificação e armazenamento de bulbos foi conduzido um estudo na Estação Experimental da Epagri, Ituporanga, SC, no ano de 2007. Foram avaliadas as rizobactérias *Pseudomonas* spp. (W1, W2, W5, W6), *Bacillus megaterium* (W7, W19), *Pseudomonas alcaligenes* (W15), *Paenibacillus polymyxa* (W18), *Bacillus cereus* (UFV40), *Pseudomonas putida* (UFV43), juntamente com uma testemunha não tratada. Foi verificada a influência das rizobactérias no crescimento das plantas de cebola. As rizobactérias que promoveram maior produção de bulbos foram *Pseudomonas* spp. W6, *B. megaterium* W19 e *B. cereus* UFV40. O isolado de *B. cere*us UFV40 exerceu um efeito positivo sobre as variáveis relacionadas com a produção de biomassa da parte aérea aos 90 dias após o transplante de mudas, traduzida esta última, pelo aumento no tamanho e melhor classificação de bulbos. As rizobactérias testadas não afetaram a perda de massa durante o período de armazenamento dos bulbos.

Palavras-chave: *Allium cepa*, RPCV, Microbiolização, Promoção de crescimento.

4 – CHAPTER II - PRODUCTION, STORAGE AND RANKING OF ONION BULBS AS AFFECTED BY MICROBIOLIZATION OF SEEDS WITH RHIZOBACTERIA

ABSTRACT

Benefic rhizobacteria can stimulate plant growth being an alternative for production of onions. The experiment was carried out at the Experimental Station of the Epagri, Ituporanga, State of Santa Catarina, Brazil in 2007 to evaluate the effect of microbiolization with rhizobacteria on onion seed cv. Bola Precoce on plants development and bulb yield, ranking and storage of bulbs. Rhizobacteria *Pseudomonas* spp. (W1, W2, W5, W6), *Bacillus megaterium* (W7, W19), *Pseudomonas alcaligenes* (W15), *Paenibacillus polymyxa* (W18), *Bacillus cereus* (UFV 040), *Pseudomonas putida* (UFV 043), were used as inoculants and compared with a control treatment. It was found that there is influence of rhizobacteria on plant growth of onion. The most significant result was shown by the treatment with *Pseudomonas* spp. (W6), *B. megaterium* (W19) and e *B. cereus* UFV40, significantly increasing bulb production. The isolate of *B. cereus* UFV40 showed a positive effect on the parameters related to the production of shoots biomass at 90 days after transplanting of seedlings, the latter reflected by increase in size and ranking of bulbs. Loss of mass during bulb storage was not affected by rhizobacteria.

Key words: *Allium cepa*, PGPR, Microbiolization, Promotion of growth.

4.1. INTRODUÇÃO

Na rizosfera, região do solo que circunda a raiz e está sob a influência do sistema radicular, predominam bactérias de vida livre ou associadas aos tecidos das plantas. O termo rizobactéria caracteriza bactérias da rizosfera que colonizam as raízes, denominadas rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (RPCV) quando apresentam efeitos positivos sobre as culturas (LUZ, 1996). Vários gêneros bacterianos são conhecidos pela capacidade de promover o crescimento vegetal, entre estes *Bacillus* e *Pseudomonas* os quais são de importância reconhecida e comercialmente utilizados como inoculantes e biofertilizantes em muitos países (KLOEPPER et al., 2004; BASHAN & BASHAN, 2005).

Uma vez que a sustentabilidade é uma direção a ser seguida na produção de alimentos, o uso de rizobactérias é considerado uma alternativa para a redução ou substituição do uso de produtos químicos como adubos e agrotóxicos (CASTRO & MELO, 2007; SHAHAROONA et al., 2008), seja diretamente como promotoras de crescimento, seja como agentes de controle biológico de doenças (FREITAS & AGUILAR-VILDOSO, 2004).

As rizobactérias exercem efeito benéfico sobre as plantas por diferentes mecanismos de ação, diretos ou indiretos, como por exemplo, a antibiose, o parasitismo, a competição, a produção de sideróforos e a indução de resistência (RAMAMOORTHY et al., 2001; TARNAWSKI et al., 2006). As rizobactérias são capazes de se multiplicar e colonizar rapidamente o sistema radicular, prevenindo a invasão de patógenos, pela produção de metabólitos secundários que inibem outros microrganismos deletérios (KLOEPPER et al., 2004).

A utilização de RPCV pode reduzir as perdas causadas pelas doenças e contribuir para a produção de hortaliças em condições de campo, agregando valor ao produto e causando menor impacto no meio ambiente. Pesquisas realizadas em ambientes com condições controladas com RPCV, em laboratórios e estufas, apresentam respostas significativas na promoção de crescimento de plantas e controle de patógenos. Os efeitos na promoção de crescimento incluem aumentos na altura, no número de folhas, na biomassa da parte aérea e da raiz, e na produção de bulbos. BADAWY et al. (2003) demonstraram que a inoculação de uma mistura de estirpes diazotróficas e um isolado solubilizador de fosfato promoveram o

crescimento de raízes e folhas de cebola e aumentaram o rendimento de bulbos em 30%.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da microbiolização de sementes de cebola com rizobactérias sobre o crescimento de plantas, produção, classificação e armazenamento de bulbos em condições de campo.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Localização e tratamentos

A pesquisa foi desenvolvida na Estação Experimental da Epagri de Ituporanga (27º 25' S, 49º 38' W), Ituporanga, SC, com altitude de 475 m e clima subtropical úmido (Cfa), segundo a classificação de Köeppen. O experimento foi conduzido a campo no período de julho a dezembro de 2007. Foram utilizadas sementes de cebola cv. Bola Precoce que apresentavam 86% de germinação e 7,93% de umidade.

Os isolados bacterianos utilizados no estudo fazem parte da coleção de RPCV do Dr. Wilmar Cório da Luz, obtidos da rizosfera de gramíneas da região de Passo Fundo - RS. Vinte isolados foram microbiolizados em sementes de cebola e avaliados quanto aos parâmetros biométricos da parte aérea de mudas em condições de canteiros no ano 2006. Destes isolados, oito foram selecionados e fazem parte da pesquisa, juntamente com dois isolados previamente estudados com as culturas do tomate e feijão e fornecidos pelo Dr. Reginaldo da Silva Romeiro da Universidade Federal de Viçosa (UFV) - MG.

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com onze tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos de microbiolização nas sementes foram os seguintes: *Pseudomonas* spp. (W1), *Pseudomonas* spp. (W2), *Pseudomonas* spp. (W5), *Pseudomonas* spp. (W6), *B. megaterium* (W7), *P. alcaligenes* (W15), *P. polymyxa* (W18), *B. megaterium* (W19), *B. cereus* (UFV040), *P. putida* (UFV043), e testemunha sem microbiolização.

As rizobactérias foram multiplicadas em meio de cultura agar nutritivo (extrato de carne em pó para microbiologia 3 g, peptona de carne 5 g, glicose anidra 2,5 g, agar 15 g e água destilada 1000 mL), e as placas foram incubadas a 23 ± 2ºC. Após 48 horas, as células foram removidas da superfície do meio de cultura com um pincel e colocadas em água destilada esterilizada. Uma suspensão de cada rizobactéria foi preparada com água destilada esterilizada com uma concentração de aproximadamente 10^7 unidades formadoras de colônias por mL (LUZ, 2001), e a suspensão foi padronizada segundo a escala de McFarland (MCFARLAND, 1970). As sementes foram imersas nas suspensões bacterianas por 5 minutos, sendo agitadas, filtradas e deixadas para secar por 24 horas em temperatura ambiente. As sementes da testemunha foram mantidas em água destilada esterilizada, agitadas por 5 minutos e deixadas secar a temperatura ambiente, também por 24 horas.

4.2.2. Instalação do experimento no campo

A semeadura foi realizada a lanço, utilizando-se 3 g m^{-2}. As mudas foram produzidas em canteiros conforme metodologia descrita nas recomendações da Epagri/Sistema de Produção para cebola (EPAGRI, 2000). Durante a fase de produção de mudas não foram efetuadas aplicações de agrotóxicos para controle de doenças.

Os resultados das análises químicas na camada de 0-20 cm do solo da área experimental de bulbos foram os seguintes: pH (H_2O)= 5,6; P= 11,0 mg dm^{-3}; K= 328 mg dm^{-3}; Al^{+3}= 0,0 cmolc dm^{-3}; Ca^{+2}= 7,0 cmolc dm^{-3}; Mg^{+2}= 3,1 molc dm^{-3}; CTC= 17,1 cmolc dm^{-3}; V%= 64,0, argila= 22% e matéria orgânica= 5,3%. O transplante foi realizado 90 dias após a semeadura pelo método de cultivo mínimo sobre palhada de milheto (*Pennisetum americanum* (L.). As mudas foram dispostas em 4 fileiras, no espaçamento de 0,1 m x 0,4 m, com população desejada de 250.000 plantas por hectare, em parcelas com 6,4 m^2, em 4 repetições. A adubação de plantio constou da aplicação a lanço de 6 t ha^{-1} de esterco de frango (3,5% N; 3,8% P_2O_5; 3,0% K_2O; 4,2% Ca; 0,9% Mg; 2 mg kg^{-1} Cu e 3 mg kg^{-1} Zn). Em cobertura 30 dias após o transplante foi aplicado 210 kg ha^{-1} de Fosmag® (26% N; 5% Ca; 2% Mg; 9% S e 0,3% B). Durante a condução do experimento, foram efetuados os tratos culturais e

fitossanitários recomendados para a cultura. Foram realizadas pulverizações com Lambdacyhalothrin (Karate® 50 CE 100 ml ha^{-1}), visando ao controle de tripes, *Thripis tabaci* (Lindeman). Foram realizadas pulverizações com os fungicidas Metalaxil-M + Clorotalonil (Folio Gold® 375 g/100 L) e Clorotalonil (Bravonil Ultrex® 525 g/100L) alternadamente, utilizando-se um pulverizador com CO_2 e bico do tipo DG 110015 ajustando para um volume de calda de 400 L ha^{-1}, totalizando 5 aplicações durante o ciclo da cultura, e herbicidas Ioxynil (Totril® 2 $l.ha^{-1}$) e Fenoxaprop-p-ethyl + Clethodim (Podium® 1 $l.ha^{-1}$) (ANDREI, 1999), procurando-se manter a cultura livre de patógenos e plantas daninhas, respectivamente. Os valores das precipitações e temperaturas médias mensais observadas durante o período de avaliação foram 233 mm e 11,1ºC em julho; 113,9 mm e 13,5ºC em agosto; 150,8 mm e 17,8ºC em setembro; 216,5 mm e 19,1ºC em outubro; 116,6 mm e 19,6ºC em novembro (Anexo 1).

Foi realizada avaliação biométrica aos 90 dias após o transplante (DAT). Foi medida a altura da planta a partir do ponto de inserção das raízes até o ápice da maior folha com o auxílio de uma régua, o diâmetro do pseudocaule utilizando-se um paquímetro digital, foi contado o número de folhas, e foi avaliada a massa seca da parte aérea. Para determinação da massa seca, as amostras foram acondicionadas em sacos de papel e levadas à estufa com circulação forçada de ar, regulada à temperatura de 60°C, até o material atingir peso constante para determinação da massa seca em balança analítica.

A contagem de plantas, para determinação da população de plantas por hectare, e a colheita dos bulbos foram realizadas 128 dias após o transplante, sendo a cura realizada ao sol durante duas semanas. A avaliação dos tratamentos foi realizada após a cura e as características avaliadas foram a produção de bulbos (kg ha^{-1}) e massa fresca média de bulbos (g), dividindo-se a produção de bulbos após a cura pelo número de plantas por hectare. A classificação dos bulbos segundo o diâmetro transversal (cm) foi realizada de acordo com BRASIL (1995), que estabelece quatro classes, ou seja, Classe 2: maior que 35 e até 50 mm de diâmetro; Classe 3: maior que 50 e até 70 mm; Classe 4: maior que 70 e até 90 mm e Classe 5: maior que 90 mm e expressos em percentagem.

Os bulbos foram armazenados em galpão estaleiro em temperatura ambiente, com umidade relativa do ar variável. Para facilitar o manuseio e controle, todos os tratamentos foram colocados em caixas de plástico abertas. Foi avaliado a percentagem de perda de massa e bulbos deteriorados aos 50, 80 e 120 dias após o

início do armazenamento. A perda de massa em percentagem foi determinada pela relação entre a diferença entre a massa inicial e a final, dividida pela massa inicial e multiplicada por 100. As determinações foram realizadas em balança de precisão, excluindo-se as perdas em virtude de deterioração e da brotação.

4.2.3. Análise dos resultados

Atendidas às pressuposições de homocedasticidade e normalidade dos resíduos, foi realizado a análise de variância, sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo Teste de Duncan, a 5% de probabilidade. Os dados referentes às percentagens foram transformados em y= arcsen $(x/100)^{1/2}$. Para a variável massa seca da parte aérea os dados foram transformados em y = 1/x. As análises foram feitas através dos programas “Statistica® 6.0” e “SASM-Agri® 8.0”.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os isolados pesquisados influenciaram as variáveis avaliadas aos 90 DAT (Tabela 4.1). Quanto ao diâmetro de pseudocaule, número de folhas, massa seca da parte aérea, altura e diâmetro de bulbos foram verificados diferenças significativas entre os tratamentos. Os isolados UFV40 e W5 foram os que mais influenciaram, diferindo da testemunha nas variáveis diâmetro do pseudocaule, número de folhas e massa seca da parte aérea. A altura de plantas e o diâmetro de bulbos foram semelhantes entre os tratamentos, sendo que apenas o isolado UFV40 apresentou diferença significativa da testemunha.

A análise dos dados demonstrou a efetividade do isolado UFV40 em promover o crescimento de plantas de cebola quando comparado à testemunha (Tabela 4.1). O tratamento com o isolado UFV40 apresentou plantas com maiores médias para todas as variáveis avaliadas aos 90 DAT. O efeito benéfico da microbiolização de sementes de cebola com isolados de rizobactérias, observado por NEVES (2001) em condições de casa-de-vegetação, também foi verificado no

presente estudo, embora os resultados obtidos nesse experimento tenham mostrado incrementos menores. Entretanto, houve respostas significativas na mesma fase de desenvolvimento das plantas, ou seja, no período de bulbificação. De acordo com CARDOSO & NOGUEIRA (2007), conforme a planta se desenvolve e atinge maior atividade fisiológica, com aumento do sistema radicular e da parte aérea, maiores quantidades e diversidade exsudatos são liberados para a rizosfera (LYNCH, 1990), aumentando a atividade dos microrganismos, inclusive os promotores de crescimento vegetal. Diversos componentes dos exsudatos de plantas atuam como sinais moleculares que controlam as interações planta-microrganismos. As raízes recebem entre 30 a 60% do C fotossintizado, dos quais 10 a 20% são liberados por rizodeposição (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). A maior quantidade de exsudatos liberados pelas raízes de cebola durante as fases vegetativa e bulbificação, provavelmente, favoreceram a colonização das rizobactérias na rizosfera das plantas afetando o crescimento das plantas.

TABELA 4.1 - EFEITO DO TRATAMENTO DE SEMENTES DE CEBOLA COM RIZOBACTÉRIAS SOBRE O DIÂMETRO DO PSEUDOCAULE (DP), NÚMERO DE FOLHAS (NF), MASSA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA), ALTURA (A) E DIÂMETRO DE BULBOS (DB) AVALIADOS AOS 90 DIAS APÓS O TRANSPLANTE DAS MUDAS. CULTIVAR BOLA PRECOCE. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2007

Isolados/Testemunha	DP		NF		MSPA		A		DB	
	mm				g		cm		mm	
Pseudomonas spp. W1	14,2	abc	8,0	abc	7,800	ab	62,9	ab	30,6	ab
Pseudomonas spp. W2	13,7	abc	7,8	abc	5,075	ab	59,9	ab	26,9	ab
Pseudomonas spp. W5	15,0	ab	8,3	ab	7,450	a	63,6	ab	30,9	ab
Pseudomonas spp. W6	14,3	abc	7,9	abc	5,650	ab	64,3	ab	25,8	ab
Bacillus megaterium W7	14,1	abc	8,1	abc	7,000	ab	61,8	ab	29,6	ab
Pseudomonas alcaligenes W15	12,9	bc	7,9	abc	5,300	ab	57,3	b	27,7	ab
Paenibacillus polymyxa W18	13,4	abc	7,4	bc	4,725	ab	57,7	b	25,6	ab
Bacillus megaterium W19	13,9	abc	8,1	abc	5,125	ab	59,3	ab	25,8	ab
Bacillus cereus UFV40	15,7	a	8,8	a	8,125	a	66,4	a	32,0	a
Pseudomonas putida UFV43	14,3	abc	8,1	abc	5,650	ab	59,3	ab	26,1	ab
Testemunha	12,4	c	7,2	c	4,225	b	56,3	b	23,7	b
C.V. (%)	9,91		7,7		26,6		8,32		15,9	

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Duncan. Os dados referentes a variável massa seca da parte aérea foram transformados em y =RQ 1/x.

Quanto à produtividade de bulbos e a massa média de bulbo, foram verificadas diferenças significativas (Tabela 4.2). Os tratamentos W6 (23.375 kg ha^{-1}), W19 (23.104 kg ha^{-1}) e UFV40 (23.000 kg ha^{-1}) foram estatisticamente iguais entre si e superiores a testemunha que apresentou a menor média (15.844 kg ha^{-1}). Os isolados W6, W19 e UFV40 apresentaram aumentos significativos de 48%, 46% e 45%, respectivamente, na produtividade de bulbos em relação à testemunha, embora não tenham diferido estatisticamente dos tratamentos W1, W2, W5, W7 e W15. Os demais tratamentos não apresentaram aumentos significativos para esta variável. Os tratamentos UFV40 (88,6 g), W6 (88,3 g), W1 (87,7 g) e W19 (85,9 g) apresentaram maior massa média de bulbos. Os isolados W6, UFV40, W1 apresentaram maior massa média de bulbos, com diferença significativa para os valores da testemunha e para o isolado UFV43.

Os tratamentos apresentaram população entre 272.917 e 235.417 plantas por hectare (Tabela 4.2). O tratamento W19 teve o maior número de plantas no final do ciclo e o W7 o menor número. A população de plantas pode ser influenciada pela interação com isolados de rizobactérias e espécie vegetal, que sofrem efeitos deletérios reduzindo o número de plantas (PELTZER et al., 2004).

O fato de isolados de outras regiões e obtidos de outras espécies vegetais terem promovido crescimento em plantas de cebola sugere a não especificidade, como relatada por QUADT-HALLMANN & KLOEPPER (1996), onde descrevem que isolados originais de um hospedeiro podem facilmente colonizar outros hospedeiros de espécies diferentes, até mesmo com maior intensidade.

Dentre os tratamentos avaliados, o isolado UFV40 apresentou maior percentagem de bulbos na classe 3 (69,6%), considerada como a ideal para comercialização (Tabela 4.3). Os tratamentos com os isolados W1, W5, W19 e UFV40 não apresentaram refugo. Os tratamentos W15, W18 e a testemunha apresentaram percentagem de bulbos na classe 3 abaixo de 40%, e também, elevada percentagem de bulbos na classe 2 (acima de 50%), também considerada como padrão inferior de acordo com a classificação do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1995). O isolado UFV40 exerceu um efeito positivo sobre às variáveis avaliadas aos 90 dias após o transplante, o que pode ter refletido no aumento no tamanho de bulbos e melhor classificação destes, como resultado do melhor desenvolvimento da planta propiciado pela microbiolização do isolado. Estes resultados confirmam o potencial do isolado UFV40 na promoção de

crescimento de plantas obtidos por VIEIRA JUNIOR (2005) com a cultura do feijoeiro.

Os resultados demonstraram que a microbiolização das sementes com rizobactérias não afetou a perda de massa durante o período de armazenamento da cebola em nenhuma das avaliações (Tabela 4.4). As percentagens de perdas após 120 dias de armazenamento variaram de 16,5 a 22,5.

A maioria dos trabalhos com RPCV utiliza um grande número de isolados nas seleções preliminares (CHEN et al., 1996). No entanto, apesar do número reduzido de isolados testados nesse trabalho, alguns deles promoveram o crescimento de plantas e aumento na produção de bulbos de cebola. Por outro lado, não se conhece a capacidade e o tipo de colonização dessas bactérias nas sementes e raízes de cebola, uma vez que não foram feitos ensaios específios para quantificar a população bacteriana na superfície e no interior dos órgãos.

TABELA 4.2 - EFEITO DO TRATAMENTO DE SEMENTES DE CEBOLA COM RIZOBACTÉRIAS SOBRE A PRODUTIVIDADE DE BULBOS (PB), POPULAÇÃO DE PLANTAS POR HECTARE (PP) E MASSA MÉDIA DE BULBO (MMB) AVALIADOS AOS 128 DIAS APÓS O TRANSPLANTE DAS MUDAS. CULTIVAR BOLA PRECOCE. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2007

Isolados/Testemunha	PB (kg ha^{-1}) (kg/ha)		Diferença* %	PP (n. ha^{-1})		MMB (g) (g)	
Pseudomonas spp. W1	21.927	abc	38	250.000	ab	87,7	a
Pseudomonas spp. W2	20.417	abc	29	266.667	ab	76,2	abc
Pseudomonas spp. W5	21.521	abc	36	266.667	ab	80,8	abc
Pseudomonas spp. W6	23.375	a	48	264.583	ab	88,3	a
Bacillus megaterium W7	17.863	abc	13	235.417	b	75,7	abc
Pseudomonas alcaligenes W15	17.994	abc	14	260.417	ab	69,2	abc
Paenibacillus polymyxa W18	16.815	bc	6	258.333	ab	65,3	abc
Bacillus megaterium W19	23.104	a	46	272.917	a	85,9	ab
Bacillus cereus UFV40	23.000	ab	45	258.333	ab	88,6	a
Pseudomonas putida UFV43	16.302	c	3	266.667	ab	61,7	c
Testemunha	15.844	c	0	245.833	ab	63,9	bc
C.V. (%)	18,90			7,79		18,43	

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Duncan. * Diferença no rendimento de bulbos em relação à testemunha, expressa em porcentagem.

TABELA 4.3 - CLASSIFICAÇÃO COMERCIAL DE BULBOS DE CEBOLA DA CV. BOLA PRECOCE APÓS TRATAMENTO DE SEMENTES COM RIZOBACTÉRIAS. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2007

Isolados/Testemunha	Classe 4* (%)	Classe 3 (%)		Classe 2 (%)		Refugo* (%)
Pseudomonas spp. W1	2,5	56,6	ab	39,2	ab	0
Pseudomonas spp. W2	0	51,4	ab	44,4	ab	2,7
Pseudomonas spp. W5	0,7	51,1	ab	48,2	ab	0
Pseudomonas spp. W6	1,6	64,5	ab	29,9	b	1,6
Bacillus megaterium W7	0,8	49,4	ab	44,4	ab	3,5
Pseudomonas alcaligenes W15	0	36,1	b	60,0	a	3,1
Paenibacillus polymyxa W18	0	35,7	b	59,3	a	1,7
Bacillus megaterium W19	1,6	59,1	ab	38,5	ab	0
Bacillus cereus UFV40	0,8	69,6	a	28,1	b	0
Pseudomonas putida UFV43	0	46,2	ab	42,3	ab	4,6
Testemunha	1,6	34,1	b	57,5	a	4,4
C.V.%	191,80	25,00		24,01		131,31

* Efeito de tratamento não significativo. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Duncan. Os dados referentes às percentagens foram transformados em y= arcsen $(x/100)^{1/2}$.

TABELA 4.4 - PERCENTAGEM DE PERDAS DE MASSA DOS BULBOS AOS 50, 80 E 120 DIAS APÓS A COLHEITA E ARMAZENAMENTO DOS BULBOS DE CEBOLA DA CULTIVAR BOLA PRECOCE, ORIUNDOS DE SEMENTES MICROBIOLIZADAS COM RIZOBACTÉRIAS. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2007

Isolados/Testemunha	Perdas (%) 50 dias*	80 dias*	120 dias*
Pseudomonas spp. W1	6,0	15,1	21,8
Pseudomonas spp. W2	3,4	14,7	22,5
Pseudomonas spp. W5	5,7	13,7	19,3
Pseudomonas spp. W6	2,7	15,6	22,3
Bacillus megaterium W7	5,9	13,1	19,1
Pseudomonas alcaligenes W15	3,9	10,5	16,7
Paenibacillus polymyxa W18	5,7	15,6	20,1
Bacillus megaterium W19	6,5	14,2	21,3
Bacillus cereus UFV40	5,8	12,2	16,9
Pseudomonas putida UFV43	3,3	14,2	19,0
Testemunha	2,8	13,2	16,5
C.V.%	49,91	30,15	26,93

* Efeito de tratamento não significativo. Os dados referentes às percentagens foram transformados em y= arcsen $(x/100)^{1/2}$.

Os isolados avaliados pertencem aos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas*, que são residentes comuns do filoplano de plantas cultivadas, além de serem isolados da rizosfera de várias espécies vegetais (KLOEPPER et al., 2004; SHAHAROONA et al., 2008). Além disso, LODEWYCKX et al. (2002) incluem estes gêneros entre os endofíticos comuns em várias espécies vegetais. Os isolados podem ter colonizado tanto externa como internamente as mudas de cebola, já que essas bactérias apresentam a capacidade de colonizar os tecidos da planta, podendo sintetizar hormônios de crescimento ou induzir a síntese desses compostos como auxinas, citocininas e giberelina, que influenciam no crescimento das plantas (COCKING, 2003).

4.4. CONCLUSÕES

A microbiolização de sementes de cebola com rizobactérias influenciou no desenvolvimento da cultura, com efeito positivo sobre as variáveis relacionadas com a produção de biomassa da parte aérea aos 90 dias após o transplante das mudas, e os isolados que resultaram em maior produção de bulbos foram *Pseudomonas* spp. W6 (23.375 kg ha^{-1}), *B. megaterium* (23.104 kg ha^{-1}) e *B. cereus* UFV40 (23.000 kg ha^{-1})

O isolado de *B. cereus* UFV40 promoveu o crescimento das plantas, com efeito positivo sobre tamanho e melhor classificação de bulbos, apresentando em termos numéricos, a maior proporção de bulbos da classe 3 e menor da classe 2.

As rizobactérias testadas não afetaram a perda de massa durante o período de armazenamento dos bulbos.

REFERÊNCIAS

ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas**. 6. ed. São Paulo: Andrei, 1999.

BADAWY, F.H.; EL-DSOUKY, M.M.; SADIEK, H.S.; ABO-BAKER, A.A. Effect of inoculations with single and mixed bacterial strains on field grown onion. **Assiut Journal of Agricultural Sciences**, v.34, n.5, p.301-312, 2003.

BASHAN, Y.; BASHAN, L.E. Bacteria – Plant Growth-Promoting. In: HILLEL, D. **Encyclopedia of soils in the environment,** v.1, 2005. p.103-115.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária. **Portaria** n.529 de 18 ago. 1995. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1 set.1995, Seção 1, p.13513.

CARDOSO, E.J.B.N.; NOGUEIRA, M.A. A rizosfera e seus efeitos na comunidade microbiana e na nutrição de plantas. In: SILVEIRA, A.P.D.; FREITAS, S.S. (eds.). **Microbiota do solo e qualidade ambiental.** Instituto Agronômico, Campinas, SP, 2007. p.79-96.

CASTRO, V.L.S.S. de; MELO, I.S. de. Avaliação toxicopatológica em ratos expostos à *Pseudomonas putida*. **Journal Brazilian Society Ecotoxicology.**, v.2, n.1, p.1-5, 2007.

CHEN, Y.; MEI, R.; LIU, L.; KLOEPPER, J. W. The use of yield increasing bacteria (YIB) as plant growth-promoting rhizobacteria in chinese agriculture. In: UTKHEDE, R.S.; GUPTA, V.K. (Eds.) **Management of soil born diseases.** Ludhiana: Kalyani Publishers, 1996. p.165-184.

COCKING, C. E. Endophytic colonization of plant roots by nitrogen-fixing bacteria. **Plant and Soil**, v.252, n.1, p.169-175, 2003.

EPAGRI. **Sistema de produção para cebola: Santa Catarina** (3ª revisão). Florianópolis: 2000. (Epagri. Sistemas de Produção, 16).

FREITAS, S.S.; AGUILAR VILDOSO, C.I. Rizobactérias e promoção do crescimento de plantas cítricas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, p.987-994, 2004.

KLOEPPER, J.W.; RYU, C.M.; ZHANG, S. Induced systemic resistance and promotion o plant growth by *Bacillus* spp. **Phytopathology**, v.94, n.11, p.1259-1266, 2004.

LYNCH, J. M. **The rhizosphere**. Chichester: J. Wiley, 1990. 458 p.

LODEWYCKX, C.; VANGRONSVELD, J.; PORTEOUS, F.; MOORE, E.R.B.; TAGHAVI, S.; MEZEAY, M.; VAN DER LELIE, D. Endophytic bacteria and their potential applications. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.21, p.583–606, 2002.

LUZ, W.C. Evaluation of plant growth-promoting and bioprotecting rhizobacteria on wheat crop. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, p.597-600, 2001.

LUZ, W. C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. In: LUZ, W. C.; FERNANDES, J. M. C.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas (RAPP).** Passo Fundo, v.4, 1996. p.1-49.

MCFARLAND, J. The nephelometer: Na instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. In: CAMPBELL, H.D.; GARVEY, S.J.; CREMER, E.N.; SUSSDORF, H.D. (Eds.*).* **Methods in immunology**. Benjamin. New York, 1970. p.435-437.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Rizosfera. In: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo.** 2. ed., Lavras, UFLA, 2006. p.407-448.

NEVES, D. M. S. **Controle biológico de Pseudomonas marginalis Pv. Marginalis e promoção de crescimento de cebola pela microbiolização de sementes.** Pelotas, 2001, 47p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade), Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel.

PELTZER, S.C., LEE, S., KREMER, R.J. **Deleterious rhizobacteria for biological control of annual cropping weeds in Australia and South Korea**. Weed Science Society of America Meeting Abstracts. N.79, 2004. CD.

QUADT-HALLMANN, A.; KLOPPER, J.W. Immunological detection and localization of the cotton endophyte ***Enterobacter asburiae*** JM22 in different plant species. **Canadian Journal of Microbiology**, v.42, p.1144-1154, 1996.

RAMAMOORTHY, V; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRACKASAM, V.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection***,* v.20, n.1, p.1-20, 2001.

SHAHAROONA, B.; NAVEED, M.; ARSHAD, M.; ZAHIR, Z.A. Fertilizer-dependent efficiency of Pseudomonads for improving growth, yield, and nutrient use efficiency of wheat (***Triticum aestivum*** L.). **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.79, p.147-155, 2008.

TARNAWSKI, S.; HAMELIN, J.; JOSSI, M.; ARAGNO, M.; FROMIN, N. Phenotypic structure of ***Pseudomonas*** populations is altered under elevated pCO_2 in the rhizosphere of perennial grasses. **Soil Biology & Biochemistry**, v.38, p.1193-1201, 2006.

VIEIRA JUNIOR, J. R. **Procariotas residentes de filoplano do feijoeiro como agentes de biocontrole de enfermidades da parte aérea da cultura**. Viçosa, 2005. 146 p. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitopatologia.

5 – CAPITULO III – VOLUME DAS RAÍZES, CRESCIMENTO DAS PLANTAS E PRODUÇÃO DE BULBOS DE CEBOLA EM AMBIENTE PROTEGIDO

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a microbiolização de sementes de cebola com rizobactérias no sistema radicular e produção de biomassa das plantas de cebola cv. Bola Precoce em ambiente protegido. O trabalho foi conduzido na Estação Experimental da Epagri, Ituporanga, SC, no ano de 2008. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com quatro repetições, utilizando-se as rizobactérias *Pseudomonas* spp. W6, *B. megaterium* W19 e *B. cereus* UFV40, microbiolizadas nas sementes, aplicadas isoladamente ou em mistura dos três isolados, juntamente com uma testemunha não tratada. A microbiolização de isolados de rizobactérias nas sementes de cebola promoveu o aumento do volume radicular e crescimento das plantas de cebola, cujos incrementos variaram conforme o isolado de rizobactéria testado. Os tratamentos que receberam o isolado *B. cereus* UFV40 e a mistura dos isolados *Pseudomonas* W6, *B. megaterium* W19 e *B. cereus* UFV40 apresentaram os maiores valores de massa fresca de bulbo. O volume de raízes das plantas de cebola que receberam o isolado de *B. cereus* UFV-40 foi quantitativamente superior à testemunha.

Palavras-chave: *Allium cepa, Bacillus*, *Pseudomonas*, RPCV, Promoção de crescimento.

5 – CHAPTER III - ROOT VOLUME, PLANT GROWTH AND ONION BULB PRODUCTION UNDER GREENHOUSE CONDITIONS

ABSTRACT

This study evaluated the effect of rhizobacteria microbiolization applied on seeds alone or in combination on response in the amount of roots and biomass production of onion plants cv. Bola Precoce at the Experimental Station of Epagri, Ituporanga, SC, in 2008. The experimental design was in randomized blocks with four replications, using the rhizobacteria *Pseudomonas* spp. W6, *B. megaterium* W19 and *B. cereus* UFV40, microbiolized in seeds, applied isolatedly or in mixture of the three isolates, together with untreated plants. The microbiolization of rhizobacteria isolates in onion seeds stimulate the growth of root volume and growth of onion plants, with isolates tested rhizobacteria. Treatments that receive the isolated *B. cereus* UFV40 and the mixture of isolate of *Pseudomonas* W6, *B. megaterium* W19 and *B. cereus* UFV40 presented the highest values for fresh mass of bulb. The volume of roots formed in onion plants that receive the isolated of *B. cereus* UFV-40 is quantitatively superior to control treatment.

Keywords: *Allium cepa*, *Bacillus, Pseudomonas*, RPCV, Promotion of growth.

5.1. INTRODUÇÃO

Os microrganismos do solo são de fundamental importância na agricultura. A produção agrícola pode ser influenciada pelos microrganismos de diferentes maneiras, sendo uma delas a promoção do crescimento de plantas. As rizobactérias podem promover o crescimento das plantas - RPCV, refletido pela altura, crescimento das raízes e produção de biomassa vegetal, quando comparadas a plantas não associadas às RPCV (LUCY et al., 2004). Os efeitos da promoção de crescimento vegetal podem ser explicados pela melhoria da nutrição de plantas, por meio de um melhor desenvolvimento das raízes e produção de substâncias reguladoras de crescimento vegetal (KLOEPPER, 2003; FUENTES-RAMIREZ & CABALLERO-MELLADO, 2005).

Os estudos, em sua grande maioria, ainda têm sido desenvolvidos com rizobactérias aplicadas isoladamente. Para Freitas (2007), é mais provável que a maioria dos eventos de controle biológico que ocorrem naturalmente pelo uso de rizobactérias seja resultado da mistura de antagonistas e não de um único isolado. Ramamoorthy et al. (2001) comprovaram que a mistura de isolados selecionados pode ter melhor resultado que a aplicação de um só. A utilização de uma mistura de isolados de rizobactérias pode promover o crescimento de plantas por meio de vários mecanismos de ação, maior estabilidade na rizosfera e eficiência em uma gama de condições ambientais (NIRANJANRAJ et al., 2006).

É difícil precisar todos os fatores que podem interferir na microbiota nativa do solo, mas, entre eles, estão fatores abióticos como a estrutura e textura do solo, em relação ao conteúdo de umidade e de nutrientes, a aeração e os valores de pH (FREITAS, 2007). Em condições de campo, a variabilidade edafoclimática faz com que seja difícil avaliar isoladamente a influência dos vários fatores no desenvolvimento da planta.

Esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de rizobactérias no desenvolvimento radicular e na produção de biomassa das plantas de cebola em ambiente protegido.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Localização e tratamentos

A pesquisa foi realizada na Estação Experimental da Epagri, Ituporanga, localizada no Alto Vale do Rio Itajaí, Santa Catarina, tendo por coordenadas geográficas latitude de 27º 25' S, longitude de 49º 38' W e altitude de 475 m. O trabalho foi conduzido em ambiente protegido no período de julho a novembro de 2008.

Os isolados foram selecionados a partir de avaliações nas fases de muda (Capítulo 1) e produção de bulbos no campo (Capítulo 2). Os tratamentos constaram de testemunha sem microbiolização (T), da aplicação nas sementes de *Pseudomonas* spp. (W6), *B. megaterium* (W19), *B. cereus* (UFV40) e mistura dos três isolados (Mistura). Para se proceder ao preparo das suspensões rizobacteriana, cada isolado foi multiplicado separadamente em meio agar nutritivo (extrato de carne em pó para microbiologia 3 g, peptona de carne 5 g, glicose anidra 2,5 g, agar 15 g e água destilada 1000 mL), e as placas foram incubadas a 23 ± 2ºC, por 48 horas. Após esse período, as células foram removidas da superfície do meio de cultura com um pincel e colocadas em água destilada esterilizada. A concentração das suspensões foi ajustada de acordo com a escala de McFarland (MCFARLAND, 1970) e o número de unidades formadoras de colônias de aproximadamente 10^7 UFC mL^{-1}. Foi empregado a mesma proporção (1:1:1) de inóculo para realização da mistura de isolados e a suspensão de rizobactérias foi homogeneizada. As sementes foram imersas nas suspensões bacterianas por 5 minutos, sendo agitadas, filtradas e deixadas para secar em temperatura ambiente, por 24 horas. As testemunhas foram mantidas em água destilada esterilizada, agitadas por 5 minutos e deixadas secar a temperatura ambiente, por 24 horas.

5.2.2. Produção de mudas e instalação do experimento.

As mudas foram cultivadas em canteiros, conforme metodologia descrita nas recomendações da Epagri/Sistema de Produção para Cebola (EPAGRI, 2000). Aos 90 dias após a semeadura, as mudas oriundas de sementes microbiolizadas foram transplantadas em saco plástico contendo 4 kg de solo. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com quatro repetições. Cada unidade experimental era constituída de um vaso com duas mudas.

O solo utilizado no experimento foi proveniente de uma camada de 0-20 cm de profundidade, classificado como Cambissolo, cujas características químicas foram avaliadas por análise e resultaram em: pH (H_2O)= 6,1; P= 49,0mg dm^{-3}; K= 512mg dm^{-3}; Al^{+3}= 0,0cmolc dm^{-3}; Ca^{+2}= 11,0cmolc dm^{-3}; Mg^{+2}= 5,8molc dm^{-3}; CTC= 23,0cmolc dm^{-3}; V%= 78,7, argila= 33% ; e matéria orgânica= 5,5%. O solo foi peneirado e homogeneizado.

A adubação de plantio consistiu de 8 g de fosfato natural por vaso. Em cobertura, foi aplicado 9 g de adubo Fosmag® (26% N; 5% Ca, 2% Mg, 9% S e 0,3% B), parcelados aos 30, 45 e 60 dias após o transplante. Durante a condução do experimento, foram realizadas três pulverizações com Lambdacyhalothrin (Karate® 50 CE 100 ml ha^{-1}) (ANDREI, 1999), visando ao controle de tripes, *Thripis tabaci* (Lindeman). Os recipientes foram irrigados durante todo o experimento, sempre que necessário. As plantas daninhas que emergiram foram eliminadas manualmente. Os dados de temperatura máxima e mínima foram registrados durante a condução do experimento e encontram-se no anexo 2.

Aos 30 e 60 dias após o transplante (DAT), foram realizadas avaliações biométricas para determinar a altura das plantas a partir do nível do solo até o ápice da folha mais alta com o auxílio de uma régua e o diâmetro do pseudocaule com o auxílio de um paquímetro digital. Foi realizada a contagem do número de folhas e a avaliação final aos 110 dias após o transplante. No momento da avaliação final, as raízes das plantas foram cortadas rente ao bulbo, e a parte aérea cortada 1cm acima do bulbo. As raízes foram lavadas em água corrente. Foi determinado o volume de raízes pelo deslocamento de água em proveta de 100 mL, expresso em cm^3. Foram determinadas a massa fresca de bulbo e a massa seca da parte aérea e do sistema radicular. Para determinação da massa seca, as amostras foram

acondicionadas em sacos de papel e levadas à estufa com circulação forçada de ar, regulada à temperatura de 60°C, até o material atingir massa constante para determinação da massa seca em balança analítica.

5.2.3 Análise dos resultados.

Foi realizado o teste de normalidade e homogeneidade. Atendidas as pressuposições, os dados foram submetidos à análise de variância, aplicando-se o teste F a 5% de probabilidade. Posteriormente, as médias foram comparadas pelo Teste de Duncan. As análises foram feitas através dos programas “Statistica® 6.0” e “SASM-Agri® 8.0”.

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi verificada diferença significativa entre os tratamentos para a variável altura de planta aos 30 e 60 DAT (Tabela 5.1). Aos 30 dias, a altura das plantas microbiolizadas com os tratamentos W19 (59,5 cm), W6 (58,6 cm) e UFV40 (57,5 cm) foram estatisticamente iguais entre si e superiores a testemunha que apresentou a menor média (53,5 cm). Aos 60 dias, todos os tratamentos apresentaram plantas com alturas superiores à testemunha, porém só o isolado W19 diferiu estatisticamente. Esse aumento na altura da planta, devido à microbiolização de rizobactérias, também foi relatado por Mandhare et al. (1998) e Balemi et al. (2007) na cultura da cebola.

As rizobactérias proporcionaram maior diâmetro do pseudocaule (Tabela 5.1). Os isolados W19 (10,6 mm; 12,8 mm), W6 (10,5 mm; 12,5 mm) e UFV40 (10,3 mm; 11,9 mm) apresentaram aumentos significativos em relação à testemunha (9,3 mm; 10,8 mm), aos 30 e 60 DAT, respectivamente. O tratamento com mistura dos três isolados foi estatisticamente igual a testemunha em todas as avaliações para as variáveis altura de planta e diâmetro de pseudocaule .

TABELA 5.1 - EFEITO DO TRATAMENTO COM RIZOBACTÉRIAS MICROBIOLIZADAS NAS SEMENTES SOBRE AS VARIÁVEIS ALTURA DE PLANTA (ALT) E DIÂMETRO DE PSEUDOCAULE (DP), AVALIADOS AOS 30 E 60 DIAS APÓS O TRANSPLANTE DE MUDAS (DAT) DE CEBOLA CV. BOLA PRECOCE CULTIVADAS EM AMBIENTE PROTEGIDO. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008

		ALT (cm)				DP (mm)			
Isolados/Testemunha		30 DAT		60 DAT		30 DAT		60 DAT	
T	Testemunha	53,5	c	57,0	b	9,3	c	10,8	d
W6	*Pseudomonas* spp.	58,6	ab	59,5	ab	10,5	a	12,5	ab
W19	*Bacillus megaterium*	59,5	a	61,5	a	10,6	a	12,8	a
UFV40	*Bacillus cereus*	57,5	ab	59,8	ab	10,3	ab	11,9	bc
MISTURA	W6+W19+UFV40	55,1	bc	59,6	ab	9,6	bc	11,3	cd
	C.V. (%)	3,94		3,90		4,42		3,77	

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Duncan.

O número de folhas em plantas com os tratamentos W6, W19 e UFV40 foram superiores à testemunha (Tabela 5.2). Para a variável massa seca da parte aérea, o tratamento UFV40 (11,4 g) apresentou resultados superiores à testemunha (8,2 g), não diferindo dos tratamentos W6 (9,7 g) e W19 (9,5 g). A massa fresca de bulbo dos tratamentos UFV40 (55,1 g) e Mistura (59,9 g) foram estatisticamente iguais entre si e superiores as plantas que não receberam rizobactérias (42,3 g). Os resultados obtidos estão de acordo com aqueles encontrados por Badawy et al. (2003) e Karthikeyan (2008) que também obtiveram melhores resultados com mistura de isolados que promoveram a produção de bulbos de cebola.

Existem na literatura vários exemplos de pesquisas com mistura de rizobactérias (RAUPACH & KLOEPPER, 1998; BOER et al., 1999). Embora na maioria dos casos a mistura promova o crescimento de plantas e o biocontrole de doenças, em comparação com a aplicação de rizobactérias separadamente, existem relatos de redução de eficiência. As médias obtidas para as variáveis altura de planta, diâmetro de pseudocaule, número de folhas e massa seca da parte aérea não diferiram signficativamente da testemunha. A mistura foi superior a testemunha somente para a variável massa fresca de bulbo. Mafia (2007) aconselha como pré-requisito, considerar a compatibilidade entre os isolados. A inoculação conjunta de isolados pode afetar o crescimento das plantas, entretanto a presença de um microrganismo afeta a biologia e a fisiologia dos outros. Esta interação pode ser positiva ou negativa (SOMERS et al., 2004).

Os efeitos produzidos pelas RPCV dependem de fatores como a concentração inoculada, condições ambientais e momento de inoculação. Uma concentração elevada de inóculo pode provocar efeitos não desejáveis com a diminuição no comprimento das raízes. Em geral, a concentração ótima de aplicação é de 10^6 a 10^7 UFC mL^{-1}, que está de acordo com a utilizada no experimento (OKON & VANDERLEYDEN, 1997).

Quanto ao volume de raízes os tratamentos com rizobactérias foram estatisticamente iguais entre si (Tabela 5.3). O tratamento com o isolado de *B. cereus* UFV40 apresentou plantas com volume de raízes (28,8 cm^3) superior à testemunha que apresentou à menor volume de raízes (17,5 cm^3). Não houve efeito de tratamentos para a variável massa seca de raízes.

Os resultados estão de acordo com os obtidos por Badawy et al. (2003), que obtiveram aumentos de 39% na massa radicular da cebola pelo efeito de *B. polymyxa*. Conforme Benizri et al. (2001), o aumento no volume do sistema radicular mostra uma correta colonização das rizobactérias microbiolizadas, que tem relação direta com a promoção de crescimento das plantas, pela maior absorção de nutrientes e água.

TABELA 5.2 - EFEITO DOS TRATAMENTOS COM RIZOBACTÉRIAS MICROBIOLIZADAS NAS SEMENTES SOBRE AS VARIÁVEIS NÚMERO DE FOLHAS (NF), MASSA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA) E MASSA FRESCA DE BULBOS (MFB), AVALIADOS AOS 110 DIAS APÓS O TRANSPLANTE DE MUDAS DE CEBOLA BOLA PRECOCE CULTIVADAS EM AMBIENTE PROTEGIDO. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008

Isolados/Testemunha		NF*		MSPA* (g)		MFB * (g)	
T	Testemunha	9,9	b	8,2	b	42,3	c
W6	*Pseudomonas* spp.	11,0	a	9,7	ab	46,6	bc
W19	*Bacillus megaterium*	10,9	a	9,5	ab	43,2	c
UFV40	*Bacillus cereus*	11,6	a	11,4	a	55,1	ab
MISTURA	W6+W19+UFV40	10,8	ab	8,8	b	59,9	a
	C.V. (%)	5,45		13,56		12,59	

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Duncan.

Uma das explicações para o efeito das rizobactérias sobre a promoção do crescimento das plantas é a produção de substâncias reguladoras de crescimento (HOLL et al., 1988). Aproximadamente 80% das bactérias que vivem associadas às

plantas produzem auxinas (BOWEN e ROVIRA, 1999). A inoculação de rizobactérias afeta a estrutura radicular devido à produção de ácido 3-indol-acético (AIA), aumentando o número de raízes laterais e secundárias. Esta mudança na morfologia pode afetar os microrganismos associados à rizosfera (OKON & KAPULNIK, 1986).

Os resultados apresentados nesse experimento demonstram o efeito benéfico de rizobactérias sobre o crescimento de raízes, podendo afetar o crescimento da parte aérea das plantas e a produção da cultura. Os efeitos da promoção de crescimento vegetal podem ser explicados pelo melhor desenvolvimento das raízes.

TABELA 5.3 - EFEITO DO TRATAMENTO COM RIZOBACTÉRIAS MICROBIOLIZADAS NAS SEMENTES SOBRE AS VARIÁVEIS VOLUME DE RAÍZES (VR) E MASSA SECA DE RAÍZES (MSR), AVALIADOS AOS 110 DIAS APÓS O TRANSPLANTE DAS MUDAS DE CEBOLA BOLA PRECOCE CULTIVADAS EM AMBIENTE PROTEGIDO. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008

Isolados/Testemunha		VR (cm^3)		MSR* (g)
T	Testemunha	17,5	b	3,3
W6	*Pseudomonas* spp.	23,8	ab	3,8
W19	*Bacillus megaterium*	25,0	ab	4,0
UFV40	*Bacillus cereus*	28,8	a	4,2
MISTURA	W6+W19+UFV40	25,0	ab	4,1
	C.V. (%)	20,67		15,51

* Efeito de tratamento não significativo. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Duncan.

5.4. CONCLUSÕES

A microbiolização de isolados de rizobactérias nas sementes de cebola promove o aumento do volume radicular e crescimento das plantas de cebola.

As plantas microbiolizadas com *B. cereus* UF40 isoladamente e as que receberam a mistura dos isolados *Pseudomonas* spp. W6, *B. megaterium* W19 e *B. cereus* UFV40 apresentaram os maiores valores de massa fresca de bulbo.

O volume de raízes das plantas de cebola microbiolizadas com *B. cereus* UFV-40 foi superior à testemunha.

REFERÊNCIAS

ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas**. 6. ed. São Paulo: Andrei, 1999.

BADAWY, F. H.; EL-DSOUKY, M. M.; SADIEK, H. S.; ABO-BAKER, A. A. Effect of inoculations with single and mixed bacterial strains on field grown onion. **Assiut Journal of Agricultural Sciences**, v.34, n.5, p.301-312, 2003.

BALEMI, T.; PAL, N., SAXENA, A.K. Response of onion (*Allium cepa* L.) to combined application of biological and chemical nitrogenous fertilizers. **Acta agriculturae Slovenica**, v.89, n.1, p.107-114, 2007.

BENIZRI, E.; BAUDOIN, E.; GUCKERT, A. Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. **Biocontrol Science and Technology**, v.11, p.557-574, 2001.

BOER, M.; SLUIS, I.V.D; LOON, V.; BAKKER, P.A.H.M. Combining fluorescent *Pseudomonas* spp. strains to enhance suppression of *fusarium* wilt of radish. **European Journal of Plant Pathology**, v.105, p.201-210, 1999.

BOWEN, G.D.; ROVIRA, A.D. The rizhosphere and its management to improve plant growth. **Advances in Agronomy**, v.66, p.1-102, 1999.

EPAGRI. **Sistema de produção para cebola: Santa Catarina** (3ª revisão). (Epagri. Sistemas de Produção, 16). Florianópolis, 2000.

FREITAS, S.S. Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas. In: SILVEIRA, D.S.; FREITAS, S.S. (Eds.). **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Instituto Agronômico, 2007. p.1-20.

FUENTES-RAMIREZ, L.E.; CABALLERO-MELLADO, J. Bacterial Biofertilizers. In: SIDDIQUI, Z.A. (Ed.). **PGPR: Biocontrol and Biofetilization.** Springer, Netherlands, 2005, p.143-172.

HOLL, F.B.; CHANWAY, C.P.; TURKINGTO, R; RADLEY, R. Growth response of crested wheat grass (*Agropyron cristatum* L.) white clover (*Trifolium repens* L.), and perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) to inoculation with *Bacillus polymyxa*. **Soil Biology & Biochemistry**, v.20, p.19-24, 1988.

KARTHIKEYAN, M.; RADHIKA, K.; BHASKARAN, R; MATHIYAZHAGAN, S.; SANDOSSKUMAR, R.; VELAZHAHAN, R.; ALICE, D. Biological control of onion leaf blight disease by bulb and foliar application of powder formulation on antagonist mixture. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v.41, n.6, p.407-417, 2008.

KLOEPPER, J. W. A review of mechanisms for plant growth promotion by PGPR. In: REDDY, M.S.; ANANDARAJ, M.; EAPEN, S.J.; SARMA, Y.R.; KLOEPPER, J.W. (Eds.). **Abstracts and short papers. 6th International PGPR workshop**. Indian Instituteof Spices Research, Calicut, India, 2003, p.81-92.

LUCY, M.; REED, E.; GLICK, B.R. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. **Antonie van Leeuwenhoek** , v.86, p.1-25, 2004.

MAFIA, R.G.; ALFENAS, A.C.; MAFFIA, L.A.; FERREIRA, E.M.; SIQUEIRA, L. Compatibilidade e efeito da mistura de isolados de rizobactérias na indução do enraizamento e crescimento de clones de eucalipto. **Revista Árvore**, v.31, n.4, p.635-643, 2007.

MANDHARE, V.K.; PATIL, P.L.; GADEKAR, D.A. Phosphorus uptake of onion as influenced by Glomus fesciculatum, Azotobacter and phosphorus levels. **Agricultural Science Digest Karnal**, v.18, n.4, p. 228-230, 1998.

MCFARLAND, J. The nephelometer: Na instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. In: CAMPBELL, H.D.; GARVEY, S.J.; CREMER, E.N.; SUSSDORF, H.D. (Eds.). **Methods in immunology**. Benjamin. New York, 1970. p.435-437.

NIRANJANRAJ, S.; SHETTY, H.S.; REDDY, M.S. Plant growth promoting rhizobacteria: potential green alternative for plant productivity. In: SIDDIQUI, Z.A. (Ed.). **PGPR: Biocontrol and Biofertilization**. Springer, Netherlands, 2006, p.197-216.

OKON, Y.; KAPULNIK, Y. Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots. **Plant Soil**, v.90, p.3-16, 1986.

OKON, Y; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. **ASM News**, v.63, p.366-370, 1997.

RAMAMOORTHY, V.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRAKASAM, V. & SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, v. 20, p.1-11, 2001.

RAUPACH, G.S.; KLOEPPER, J.W. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. **Phytopathology**, v.88, p.1158-1164, 1998.

SOMERS, E.; VANDERLEYDEN, J.; SRINIVASAN, M. Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. **Critical Reviews in Microbiology**, v.30, p.205-240, 2004.

6 – CAPÍTULO IV – EFEITO DE RIZOBACTÉRIAS NO CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DA CEBOLA

RESUMO

Nesse trabalho, foi avaliado o efeito da aplicação de rizobactérias no crescimento e produtividade da cebola da cv. Bola Precoce realizado na Estação Experimental da Epagri, Ituporanga, SC, no ano 2008. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com cinco repetições, utilizando as rizobactérias *Pseudomonas* spp. W6, *B. megaterium* W19 e *B. cereus* UFV40, microbiolizadas isoladamente nas sementes ou em mistura dos três isolados, juntamente com uma testemunha não tratada. A massa seca da parte aérea das mudas microbiolizadas com *Bacillus cereus* UFV40 foi superior a testemunha. Os teores de macro e micronutrientes nas folhas não foram afetados pelos tratamentos. Os tratamentos com aplicação de rizobactérias proporcionaram maior altura, diâmetro de pseudocaule e número de folhas nas plantas avaliadas aos 90 dias após o transplante. Todas as plantas que receberam os tratamentos com rizobactérias apresentaram maior massa fresca e rendimento de bulbos em relação à testemunha. A massa dos bulbos e a classificação comercial foram afetados positivamente pelos tratamentos, com destaque para *B. megaterium* W19.

Palavras-chave: *Allium cepa*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas*, RPCV.

6 – CHAPTER IV - EFFECT OF RHIZOBACTERIA IN ONION GROWTH AND YIELD

ABSTRACT

This paper evaluates the effect of applying rhizobacteria in the growth and productivity of cv. Precoce Bola onions. The study was conducted in the Experimental Station of Epagri, Ituporanga, SC, in 2008. Experimental design consisted of randomized blocks with five replications using *Pseudomonas* spp. W6, *B. megaterium* W19 e *B. cereus* UFV40 rhizobacteria, microbiolized in seeds, applied alone or in mixture of the three isolates, along with a control treatment. The dry matter of the aerial part of the seedlings was superior to the control for the treatment microbiolized with *Bacillus cereus* UFV40. The contents of macro and micronutrients in seeds were not affected by treatments. The treatments involving rhizobacteria application showed higher heights, diameter of pseudo-culm and number of leaves in plants measured 90 days after transplanting. All the plants which received treatments with rhizobacteria presented better results considering the fresh weight and yield of bulb in relation to the control. The mass of bulbs and commercial ranking were positively affected by the treatments, especially for *B. megaterium* W19.

Key words: *Allium cepa*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas*, PGPR.

6.1. INTRODUÇÃO

A cebola é de origem asiática e uma das plantas cultivadas de mais ampla difusão no mundo. Ocupa o terceiro lugar entre as hortaliças de maior expressão econômica do Brasil (SOUZA & RESENDE, 2002) e constitui atividade socioeconômica de grande relevância para os Estados da Região Sul.

As bactérias que colonizam as raízes e sua zona de influência são denominadas rizobactérias. As rizobactérias benéficas são conhecidas na literatura como PGPR ("Plant Growth Promoting Rhizobacteria") (NIRANJAN RAJ et al., 2005; PODILE & KISHORE, 2006) ou RPCV (Rizobactérias promotoras de crescimento vegetal) (LUZ, 1996), desempenhando funções importantes para a planta, como o controle biológico de patógenos pelo efeito antagonista e indução de resistência sistêmica e aumento na disponibilidade de elementos minerais como a solubilização de fosfato, a fixação de nitrogênio e a fitoestimulação ao estimular a emergência e o enraizamento. Nos últimos anos, têm sido descritas numerosas espécies de bactérias associadas à rizosfera de diferentes plantas (FREITAS, 2007).

As RPCV se associam à superfície das raízes promovendo atividades benéficas para o crescimento, nutrição e sanidade da planta. Apesar dos numerosos resultados positivos com rizobactérias, a inoculação de RPCV pode gerar resultados imprevisíveis, o que limita seu uso como inoculante comercial em grande escala (DOBBELAERE et al., 2002). A atividade e a sobrevivência das RPCV na rizosfera dependem de vários fatores, tais como a variabilidade dos fatores ecológicos e ambientais, as condições físicas e químicas do solo, as características genéticas das cepas e a competição com a microbiota nativa na colonização da rizosfera (JOHRI et al., 2003).

A interação com o fator biótico é importante, devendo a população inoculada competir ativamente pelos nutrientes disponíveis e exsudatos liberados pela planta, mantendo uma população mínima para desencadear o efeito biológico na planta. A introdução de uma bactéria potencialmente RPCV, isolada ou em mistura com outras, pode alterar a comunidade rizobacteriana, que afeta de forma indireta a sanidade da planta (DOBBELAERE & OKON, 2007).

Nesse contexto, esse trabalho teve como objetivo avaliar a influência da microbiolização de sementes de cebola com rizobactérias sobre o crescimento e a produtividade da cebola, cultivadas no campo.

6.2. MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi realizada em campo na Estação Experimental da Epagri, Ituporanga, SC (27º 25' S, 49º 38' W), com altitude de 475 m e clima subtropical úmido (Cfa), segundo a classificação de Köeppen. O trabalho foi conduzido de abril a dezembro de 2008. Foram utilizadas sementes de cebola cv. Bola Precoce. As sementes utilizadas apresentavam 81% de germinação, massa de mil sementes 3,66 g e 7,41% de umidade.

A pesquisa foi desenvolvida com os isolados de rizobactérias obtidos das coleções enviadas pelo Dr. Wilmar Cório da Luz, Editor da Revisão Anual de Patologia de Plantas (RAPP) e do Dr. Reginaldo da Silva Romeiro, da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os isolados foram selecionados a partir de avaliações nas fases de muda (Capítulo 1) e produção de bulbos no campo (Capítulo 2) no ano de 2007. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com cinco tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos são os mesmos do capítulo 3 e constaram de testemunha sem microbiolização (T), da aplicação nas sementes de *Pseudomonas* spp. (W6), *B. megaterium* (W19), *B. cereus* (UFV40), mistura dos três isolados (Mistura). Para se proceder ao preparo das suspensões rizobacteriana, cada isolado foi multiplicado separadamente em meio agar nutritivo (extrato de carne em pó para microbiologia 3 g, peptona de carne 5 g, glicose anidra 2,5 g, agar 15 g e água destilada 1000 mL), e as placas foram incubadas a 23 ± 2ºC, por 48 horas (LUZ, 2001). Após esse período, as células foram removidas da superfície do meio de cultura com um pincel e colocadas em água destilada esterilizada. A concentração das suspensões foi ajustada de acordo com a escala de McFarland (MCFARLAND, 1970) e o número de unidades formadoras de colônias de aproximadamente 10^7 UFC mL^{-1}. Foi empragado a mesma proporção (1:1:1) de inóculo para realização da mistura de isolados e a suspensão de rizobactérias foi homogeneizada. As sementes foram imersas nas suspensões bacterianas por 5

minutos, sendo agitadas, filtradas e deixadas para secar em temperatura ambiente, por 24 horas. As testemunhas foram mantidas em água destilada esterilizada, agitadas por 5 minutos e deixadas secar a temperatura ambiente, por 24 horas.

6.2.1. Experimento de mudas

As mudas foram cultivadas em canteiros conforme metodologia descrita nas recomendações da Epagri/Sistema de Produção para cebola (EPAGRI, 2000). As parcelas, dispostas em canteiros, tinham área total de 4,8 m^2, e a semeadura foi realizada a lanço em 24 de abril numa densidade de 2,5 g m^{-2}. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com cinco tratamentos e cinco repetições.

O solo utilizado foi classificado como Cambissolo. As características químicas do solo da área de canteiros foram as seguintes: pH (H_2O)= 6,1; P= 26,0 mg dm^{-3}; K= 272 mg dm^{-3}; Al^{+3}= 0,0 cmolc dm^{-3}; Ca^{+2}= 10,0 cmolc dm^{-3}; Mg^{+2}= 5,5 molc dm^{-3}; CTC= 20,6 cmolc dm^{-3}; V%= 78,8; argila= 24%; e matéria orgânica= 6,4%. A adubação nos canteiros foi baseada nas Recomendações de Adubação e de Calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO-RS/SC, 2004). O solo recebeu adubação de cultivo com 3 g m^{-2} de nitrogênio, 28 g m^{-2} de fósforo e 6 g m^{-2} de potássio. A adubação de cobertura com 10 g m^{-2} de uréia foi realizada aos 40 dias após a emergência. Foram realizadas pulverizações com os fungicidas Metalaxil-M + Clorotalonil (Folio Gold® 1,5 kg ha^{-1}) e Mancozebe (Manzate GrDa 2,5 kg ha^{-1}) alternadamente, utilizando-se um pulverizador com CO_2 e bico do tipo DG 110015 ajustando para um volume de calda de 400 L ha^{-1}, totalizando 3 aplicações durante o ciclo da cultura, e o herbicida Ioxynil (Totril® 2 $l.ha^{-1}$) (ANDREI, 1999), procurando-se manter a cultura livre de patógenos e plantas daninhas, respectivamente.

Aos 90 dias após a semeadura, foram contadas as mudas remanescentes por m^2, sendo avaliados dois quadros por parcela. Foram coletadas dez plantas por tratamento de forma aleatória, para medição da altura entre a base do sistema radicular e o ápice da folha mais desenvolvida (cm) e o diâmetro do pseudocaule, utilizando-se uma régua e um paquímetro digital, respectivamente. A parte aérea das mudas foi acondicionada em sacos de papel e realizada a determinação da

massa verde da parte aérea, e após, levadas à estufa com circulação forçada de ar, regulada à temperatura de 60°C, até atingir massa constante. Dessa forma, foi calculada a massa seca da parte aérea, com os resultados expressos em gramas por muda.

6.2.2. Experimento de bulbos

Aos, 90 dias após a semeadura, as mudas foram transplantadas em linhas espaçadas de 0,4 m, mantendo-se espaço de 0,1 m entre plantas no sulco preparado no sistema de cultivo mínimo, totalizando uma população de 250.000 plantas por hectare. Cada parcela experimental foi constituída por oito linhas de plantio com 4,0 m de comprimento, perfazendo uma área de 12,8 m^2, sendo 0,5 m das extremidades, sendo as duas linhas externas consideradas bordadura. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com cinco tratamentos e cinco repetições.

As características químicas do solo da área de produção dos bulbos foram as seguintes: pH (H_2O)= 5,9; P= 45,0 mg dm^{-3}; K= 372 mg dm^{-3}; Al^{+3}= 0,0 cmolc dm^{-3}; Ca^{+2}= 4,0 cmolc dm^{-3}; Mg^{+2}= 2,7 molc dm^{-3}; CTC= 10,7 cmolc dm^{-3}; V%= 71,2; argila= 39%; e matéria orgânica= 3,6%. A adubação em pré-transplante foi baseada nas Recomendações de Adubação e de Calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO-RS/SC, 2004) e constou de 20 kg ha^{-1} de nitrogênio, 80 kg ha^{-1} de fósforo e 40 kg ha^{-1} de potássio. A adubação de cobertura foi realizada 40 dias após transplante, aplicou-se 210 kg ha^{-1} de Fosmag® (26% N; 5% Ca, 2% Mg, 9% S e 0,3% B).

Durante a condução do experimento, foram realizadas pulverizações com Lambdacyhalothrin (Karate® 50 CE 100 ml ha^{-1}), visando ao controle de tripes, *Thripis tabaci* (Lindeman). Foram realizadas pulverizações com os fungicidas Metalaxil-M + Clorotalonil (Folio Gold® 1,5 kg ha^{-1}) e Mancozebe + Metalaxil-M (Ridomil Gold MZ® 2,5 kg ha^{-1}) alternadamente, utilizando-se um pulverizador com CO_2 e bico do tipo DG 110015 ajustando para um volume de calda de 400 L ha^{-1}, totalizando 5 aplicações durante o ciclo da cultura, e herbicidas Ioxynil (Totril® 2 l.ha-

^{1}) e Fenoxaprop-p-ethyl + Clethodim (Podium® 1 l.ha^{-1}) (ANDREI, 1999), procurando-se manter a cultura livre de patógenos e plantas daninhas, respectivamente.

As plantas foram irrigadas por aspersão, de acordo com a necessidade, durante todo o período do experimento. Os dados de temperatura, precipitação, insolação e número de geadas foram registrados durante a condução do experimento e encontram-se no Anexo 1.

Aos 75 dias após o transplante (DAT), foi realizada a coleta da última folha completamente expandida de 10 plantas por parcela para análise de teores de macro e micronutrientes no laboratório de análise foliar da Estação Experimental de Caçador - Epagri. Aos 90 dias após o transplante (DAT), foi realizada avaliação biométrica para medir a altura da planta a partir do nível do solo até o ápice da folha mais alta com o auxílio de uma régua, o diâmetro do pseudocaule ao nível de 1cm acima do solo com o auxílio de um paquímetro digital e a contagem do número total de folhas por planta.

Na colheita, foram efetuadas as avaliações de população e a produção total dos bulbos colhidos nas áreas úteis das parcelas. A colheita foi realizada 120 dias após o transplante, quando 60% das plantas já tinham sofrido estalo. A cura foi realizada a campo, durante 14 dias. Após o período de cura, foi feita a limpeza dos bulbos colhidos por parcela, cortando-se hastes e raízes. Foi determinada a massa fresca de bulbo, o diâmetro transversal e o diâmetro longitudinal de 10 bulbos ao acaso por parcela. Foram avaliadas a produtividade total e comercial de bulbos (bulbos perfeitos e com diâmetro transversal acima de 35 mm) expressos em kg.ha^{-1}. Foi calculado o peso médio de bulbo comercial. A classificação de bulbos, segundo seu diâmetro transversal (cm), foi realizada de acordo com Brasil (1995), que estabelece quatro classes: Classe 2 - maior que 35 e até 50 mm de diâmetro; Classe 3 - maior que 50 e até 70 mm; Classe 4 - maior que 70 e até 90 mm; e Classe 5 - maior que 90 mm e expressos em percentagem. Após a classificação, os bulbos foram contados e pesados em balança eletrônica de precisão. Posteriormente, foram calculadas as distribuições percentuais em cada classe. Foram separados, também, os bulbos não comerciais (florescidos, deteriorados e refugos), expressos em percentagem.

6.2.3. Análise dos resultados

Os resultados foram analisados e verificados a homocedasticidade e a normalidade dos resíduos. Atendidas às pressuposições, foi realizado a análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo Teste de Duncan, a 5% de probabilidade. Os dados referentes às percentagens foram transformados em $y= \text{arcsen } (x/100)^{1/2}$. As análises foram feitas através dos programas "Statistica® 6.0" e "SASM-Agri® 8.0".

6.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos com rizobactérias não afetaram o número de mudas remanescentes por metro quadrado no ponto de transplante, que foi superior a 300 mudas m^{-2} para todos os tratamentos. O mesmo ocorreu com as vaiáveis altura, diâmetro do pseudocaule e massa fresca da parte aérea que não foram afetadas pelos tratamentos com rizobactérias microbiolizadas nas sementes isoladamente ou em mistura (Tabela 6.1). Diferenças entre os tratamentos foi verificada apenas quanto à massa seca da parte aérea de mudas, houve diferença significativa entre as mudas que receberam *B. cereus* (UFV40) e a testemunha. Os resultados obtidos no primeiro ano na fase de produção de mudas (Capítulo I) e os dados apresentados na Tabela 6.1 confirmam que, de maneira geral, as rizobactérias microbiolizadas nas sementes não promoveram significativamente o crescimento das mudas até o momento do transplante.

Os resultados obtidos na fase de mudas podem ser explicados pelo efeito da temperatura sobre o crescimento das bactérias. As mudas de cebola foram cultivadas a campo durante os meses de maio, junho e julho, período de baixas temperaturas e ocorrência de geadas na região (Anexo 1). A temperatura média durante o período de crescimento das mudas ficou no intervalo de 12 a 14ºC, com a ocorrência de 5 geadas e temperaturas negativas. As mudanças na microflora da rizosfera de mudas de cebola em resposta a diferença de temperatura foram

pesquisadas por FENWICK (1973). O autor concluiu que as mudas produzidas no regime de 25ºC apresentavam maior população de microrganismos, principalmente bactérias, quando comparadas às cultivadas no regime de 16 ºC.

TABELA 6.1 - MUDAS REMANESCENTES POR METRO QUADRADO (NR), ALTURA DA PARTE ÁEREA (ALT), DIÂMETRO DO PSEUDOCAULE (DP), MASSA FRESCA (MFPA) E MASSA SECA DA PARTE AÉREA DE MUDA (MSPA) AVALIADA AOS 90 DIAS APÓS MICROBIOLIZAÇÃO DAS SEMENTES COM RIZOBACTÉRIAS. CV. BOLA PRECOCE. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008

Isolados/Testemunha		NR* $n.m^{-2}$	ALT* cm	DP* mm	MFPA* g	MSPA g	
T	Testemunha	313	25,8	4,00	2,278	0,159	b
W6	*Pseudomonas* spp.	336	26,6	3,94	2,446	0,191	ab
W19	*Bacillus megaterium*	349	27,6	4,20	2,764	0,200	ab
UFV40	*Bacillus cereus*	334	26,3	4,34	2,689	0,206	a
Mistura	W6+W19+UFV40	338	25,2	3,98	2,265	0,180	ab
C.V. (%)		12,39	7,17	6,69	15,94	16,29	

* Efeito de tratamento não significativo. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Duncan.

As mudas de cebola respondem a microbiolização de rizobactérias conforme resultados de REDDY & RAHE (1989 a,b), que avaliaram o efeito de cinco isolados e observaram promoção de crescimento de mudas, com diferenças na colonização entre os isolados. A promoção de crescimento não foi correlacionada com a persistência da bactéria introduzida, mas com a capacidade da bactéria em reduzir os microrganismos da microflora nativa da rizosfera (REDDY & RAHE, 1989b). Os autores observaram aumentos significativos de massa seca da parte aérea e radicular, com aumento na altura das mudas, e a colonização na rizosfera foi favorecida pelo aumento de temperatura e umidade (REDDY & RAHE, 1989a).

De acordo com os resultados expressos nas Tabelas 6.2 e 6.3, não houve influência dos isolados de rizobactérias nos teores de nitrogênio, fósforo, potássio, magnésio, ferro, manganês, zinco, cobre e boro de folhas de cebola aos 75 DAT. Os resultados diferem dos obtidos por pesquisadores (TORO et al., 1997; PULIDO et al., 2003; JAYATHILAKE et al., 2003), que obtiveram aumentos nos níveis de macro e micronutrientes nas plantas quando inoculadas com rizobactérias. Para o nível de cálcio, houve diferenças significativas entre os tratamentos W6 e UFV40, não diferindo da testemunha.

As aplicações de rizobactérias na cebola promoveram significativamente o crescimento da parte aérea das plantas avaliadas aos 90 DAT, conforme resultados do número de folhas, diâmetro de pseudocaule e altura de planta apresentados na Tabela 6.4. Houve efeito dos tratamentos com rizobactérias para o número de folhas, e a média da testemunha foi inferior às obtidas nos demais tratamentos . O diâmetro de pseudocaule e a altura da parte aérea foram afetados pelos tratamentos, com exceção do tratamento W6, que não diferiu da testemunha. Os resultados médios apresentados estão de acordo com os encontrados por BALEMI et al. (2007), que se referem a um aumento nas variáveis número de folhas e altura da parte aérea.

TABELA 6.2 - TEORES DE NITROGÊNIO, FÓSFORO, POTÁSSIO, CÁLCIO E MAGNÉSIO DAS PLANTAS DE CEBOLA CV. BOLA PRECOCE AOS 75 DIAS APÓS O TRANSPLANTE ORIUNDAS DE SEMENTES MICROBIOLIZADAS COM RIZOBACTÉRIAS. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008

Isolados/Testemunha		N* (g kg^{-1})	P* (g kg^{-1})	K* (g kg^{-1})	Ca (g kg^{-1})		Mg* (g kg^{-1})
T	Testemunha	31,1	4,1	14,5	5,9	ab	10,6
W6	*Pseudomonas* spp.	27,0	4,2	14,9	6,8	a	10,8
W19	*Bacillus megaterium*	24,5	4,0	15,3	5,7	ab	10,7
UFV40	*Bacillus cereus*	29,7	3,9	16,6	5,7	b	10,5
Mistura	W6+W19+UFV40	27,0	4,1	15,6	6,3	ab	11,1
	C.V. (%)	23,91	8,01	10,78	11,76		5,39

* Efeito de tratamento não significativo. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Duncan.

TABELA 6.3 - TEORES DE FERRO, MANGANÊS, ZINCO, COBRE E BORO DAS PLANTAS DE CEBOLA CV. BOLA PRECOCE AOS 75 DIAS APÓS O TRANSPLANTE, ORIUNDAS DE SEMENTES MICROBIOLIZADAS COM RIZOBACTÉRIAS. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008

Isolados/Testemunha		Fe * (mg kg^{-1})	Mn* (mg kg^{-1})	Zn* (mg kg^{-1})	Cu* (mg kg^{-1})	B* (mg kg^{-1})
T	Testemunha	105,8	53,0	10,4	10,0	16,8
W6	*Pseudomonas* spp.	107,0	53,4	10,4	9,6	15,6
W19	*Bacillus megaterium*	105,8	53,2	11,2	8,8	14,6
UFV40	*Bacillus cereus*	104,6	51,0	10,8	8,8	16,6
Mistura	W6+W19+UFV40	103,0	53,8	10,8	8,8	13,6
	C.V. (%)	7,65	7,96	8,13	36,25	14,29

* Efeito de tratamento não significativo.

Houve efeito dos tratamentos para produção total de bulbos. Todos os tratamentos foram superiores à testemunha em relação a produção total de bulbos, com destaque para os tratamentos W19, W6 e Mistura, que também apresentaram maior massa média de bulbo comercial (Tabela 6.5).

TABELA 6.4 - EFEITO DA MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES COM RIZOBACTÉRIAS, SOBRE PARÂMETROS BIOMÉTRICOS NÚMERO DE FOLHAS (NF), DIÂMETRO DO PSEUDOCAULE (DP) E ALTURA DA PARTE AÉREA (ALT), AVALIADOS AOS 90 DIAS APÓS O TRANSPLANTE DE MUDAS. CULTIVAR BOLA PRECOCE, EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008

Isolados/Testemunha		NF		DP mm		ALT cm	
T	Testemunha	10,0	c	19,0	b	69,3	c
W6	*Pseudomonas* spp.	10,4	b	19,8	b	70,9	bc
W19	*Bacillus megaterium*	11,0	a	21,1	a	76,3	a
UFV40	*Bacillus cereus*	10,7	ab	21,0	a	77,2	a
Mistura	W6+W19+UFV40	10,9	a	21,1	a	74,1	ab
C.V. (%)		2,40		3,54		4,07	

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Duncan.

As diferenças em percentagem em relação à testemunha variaram de 15,7 a 24,4% para produção total de bulbos por hectare e de 4,3 a 13,5% para massa média de bulbo comercial. As percentagens são menores que as observadas no capítulo 2, quando chegaram a 48%, provavelmente pelo efeito das condições edafoclimáticas e pela adubação diferenciada no momento do transplante das mudas. As diferenças em percentagem dos tratamentos que diferiram significativamente da testemunha para a variável massa média de bulbo comercial (9,7 a 13,5%) são semelhantes às obtidas por BALEMI et al. (2007), que observaram aumento de 13,5% na produção de bulbos comercializáveis com a inoculação com rizobactérias.

Todos os tratamentos apresentaram maior massa fresca de bulbo em relação à testemunha (Tabela 6.6). Os valores de diâmetro variaram de 68,7 a 73,1 mm (transversal) e de 65,4 a 70,3 mm (longitudinal), sendo os menores valores aqueles da testemunha. Esses resultados confirmam as colocações de

THILAKAVATHY & RAMASWAMY (1999) e de BADAWY et al. (2003), de que a cebola responde a microbiolização de rizobactérias nas sementes. A promoção de crescimento vegetal e o aumento na produção de bulbos também foram obtidos por KARTHIKEYAN et al. (2008), quando aplicaram rizobactérias nas sementes de cebola.

TABELA 6.5 - EFEITO DA MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES DE CEBOLA COM RIZOBACTÉRIAS SOBRE A POPULAÇÃO DE PLANTAS POR HECTARE (PP), PRODUÇÃO DE BULBOS POR HECTARE (PB) E MASSA MÉDIA DE BULBO COMERCIAL (MMBC). CULTIVAR BOLA PRECOCE, EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008

		PP*	PB			MMBC		
Isolados/Testemunha		n. ha^{-1}	kg ha^{-1}		%	g		%
T	Testemunha	254.167	34.850	b	0	158,0	c	0
W6	*Pseudomonas* spp.	240.000	40.938	a	17,5	173,4	ab	9,7
W19	*Bacillus megaterium*	249.583	43.350	a	24,4	179,4	a	13,5
UFV40	*Bacillus cereus*	244.167	40.334	a	15,7	164,8	bc	4,3
Mistura	W6+W19+UFV40	245.000	41.496	a	19,1	176,8	ab	11,9
	C.V. (%)	4,96	6,43			5,35		

* Efeito de tratamento não significativo. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Duncan.

TABELA 6.6 - EFEITO DE TRATAMENTO COM RIZOBACTÉRIAS MICROBIOLIZADAS NAS SEMENTES DE CEBOLA SOBRE A MASSA FRESCA DE BULBO (MFB), DIÂMETRO TRANSVERSAL DE BULBO (DTB) E DIÂMETRO LONGITUDINAL DE BULBO (DLB). CULTIVAR BOLA PRECOCE, EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008

		MFB		DTB		DLB	
Isolados/Testemunha		g		mm		mm	
T	Testemunha	161,0	b	68,7	b	65,4	b
W6	*Pseudomonas* spp.	185,8	a	71,2	ab	66,8	ab
W19	*Bacillus megaterium*	202,0	a	73,1	a	69,7	ab
UFV40	*Bacillus cereus*	201,2	a	72,7	a	68,1	ab
Mistura	W6+W19+UFV40	198,8	a	72,8	a	70,3	a
	C.V. (%)	8,27		2,65		4,71	

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Duncan.

A classificação dos bulbos foi afetada pelos tratamentos (Tabela 6.7). Foi constatado valores acima de 58% para os tratamentos W19 e W6 para o número de bulbos das classes 4 e 5, e menores percentagens de bulbos na classe 2, que são

os bulbos de menor tamanho. Para a classificação de bulbos de classe 3, pôde-se observar efeito dos tratamentos, sendo que a testemunha apresentou a maior percentagem de bulbos nesta classe. O tratamento com *B. cereus* UFV40 não confirmou o resultado obtidos no capítulo 2, com mais de 70% de bulbos nas classes 3 e 4. Provavelmente, pelas condições diferenciadas de manejo nos dois anos de avaliação.

Esses resultados são corroborados por KARTHIKEYAN et al. (2008), que estudando o efeito de *P. fluorescens*, *B. subtilis* e *T. viride* no controle de *Alternaria palandui* obtiveram promoção de crescimento vegetal e produção de bulbos em casa de vegetação e em condições de campo, assim como com NEVES (2001) que relata diferenças significativas entre isolados para as variáveis altura de plantas, massa fresca e seca de bulbos e massa seca de raiz.

Com relação à percentagem de bulbos florescidos, não foi observado efeito dos tratamentos (Figura 2). Para bulbos deteriorados e refugos houve diferença significativa entre tratamentos. O tratamento UFV40 e mistura diferiram entre si em relação à variável percentagem de bulbos deteriorados, não diferindo da testemunha.

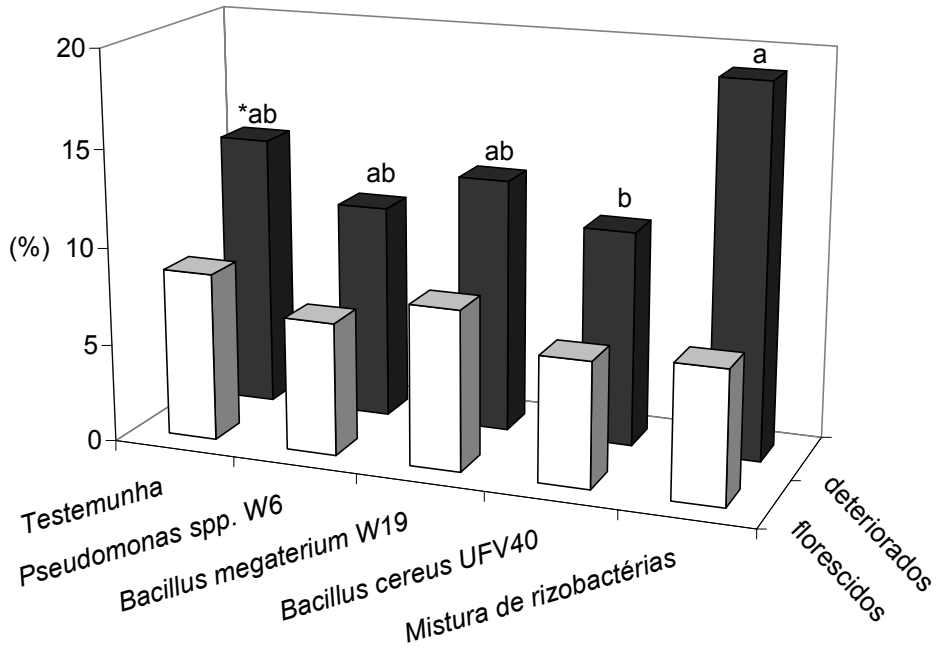
A capacidade de estimular o crescimento vegetal apresentada pelas rizobactérias tem sido atribuída a vários mecanismos, entre eles, a produção de hormônios, e, como consequência, aumento no crescimento das raízes e parte aérea, número de folhas, área foliar e rendimento de culturas. Se pelo menos uma dessas consequências for observada, ela pode ser considerada como promotora de crescimento vegetal (PATTEN & GLICK, 1996). Fato que foi comprovado no capítulo 3, com o aumento no volume de raízes de plantas devido ao efeito da microbiolização de rizobactérias nas sementes de cebola, tendo como conseqüência a maior absorção de água e nutrientes pela planta, e o incremento na produção de bulbos.

TABELA 6.7 - EFEITO DE TRATAMENTO COM RIZOBACTÉRIAS MICROBIOLIZADAS NAS SEMENTES DE CEBOLA SOBRE A CLASSIFICAÇÃO COMERCIAL DE BULBOS DA CULTIVAR BOLA PRECOCE. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008

Isolados/Testemunha		Classes 5 e 4 %		Classe 3 %		Classe 2* %
T	Testemunha	46,2	b	45,0	a	9,0
W6	*Pseudomonas* spp.	58,2	a	32,6	b	9,2
W19	*Bacillus megaterium*	60,4	a	33,4	b	6,2
UFV40	*Bacillus cereus*	52,4	ab	38,4	ab	9,0
Mistura	W6+W19+UFV40	56,4	ab	34,2	b	9,4
C.V.%		9,38		12,05		26,1

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Duncan. * Efeito de tratamento não significativo. Os dados referentes às percentagens foram transformados em y= arcsen $(x/100)^{1/2}$.

FIGURA 2 - EFEITO DO TRATAMENTO COM RIZOBACTÉRIAS MICROBIOLIZADAS NAS SEMENTES DE CEBOLA SOBRE A PERCENTAGEM DE BULBOS NÃO COMERCIAIS (FLORESCIDOS E DETERIORADOS). CULTIVAR BOLA PRECOCE. EPAGRI, ITUPORANGA, SC, 2008



NOTA: Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Duncan. Os dados referentes às percentagens foram transformados em y= arcsen $(x/100)^{1/2}$.

7.4. CONCLUSÕES

A microbiolização de isolados de rizobactérias nas sementes de cebola pouco afetou o crescimento das mudas, com exceção do tratamento de *B. cereus* UFV40, que aumentou a massa seca da parte aérea das mudas em relação à testemunha.

Os teores de macro e micronutrientes na massa seca de folhas de cebola não foram afetados pela microbiolização de rizobactérias nas sementes.

A aplicação de rizobactérias afetou as variáveis altura da planta, o diâmetro de pseudocaule, o número de folhas, a produção e a classificação de bulbos, com efeito promotor do crescimento vegetal.

REFERÊNCIAS

ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas**. 6. ed. São Paulo: Andrei, 1999.

BADAWY, F. H.; EL-DSOUKY, M. M.; SADIEK, H. S.; ABO-BAKER, A. A. Effect of inoculations with single and mixed bacterial strains on field grown onion. **Assiut Journal of Agricultural Sciences**, v.34, n.5, p.301-312, 2003.

BALEMI, T.; PAL, N.; SAXENA, A.K. Response of onion (*Allium cepa* L.) to combined application of biological and chemical nitrogenous fertilizers. **Acta Agriculturae Slovenica**, v.89, n.1, p.107-114, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária. Portaria n.529 de 18 ago. 1995. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1 set.1995, Seção 1, p.13513.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO - RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina.** ROLAS, 10 ed. Porto Alegre, 2004.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGHS, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and A-irakense strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. **Biology and Fertility of Soils**, v.36, n.4, p.284-297, 2002.

DOBBELAERE, S.; OKON, Y. The plant growth-promoting effect and plant responses. In: ELMERICH, C.; NEWTON, W.E. (Eds.). **Associative and Endophytic Nitrogen-fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations.** Springer, 2007. p.145-170.

EPAGRI. **Sistema de produção para cebola: Santa Catarina** (3ª revisão). (Epagri. Sistemas de Produção, 16). Florianópolis, 2000.

FENWICK, L. Studies on the rhizosphere microflora of onion plants in relation to temperature changes. **Soil Biology and Biochemistry**, v.5, n.3, p.315-320, 1973.

FREITAS, S.S. Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. In: SILVEIRA, A.P.D.; FREITAS, S.S (Eds.). **Microbiota do solo e qualidade ambiental.** Campinas, Instituto Agronômico, 2007, p.1-20.

JAYATHILAKE, P.K.S.; REDDY, I.P.; SRIHARI, D.; REDDY, K.R.; NEERAJA, G. Integrated nutrient management in onion (*Allium cepa* L.). **Tropical Agricultural Research**, v.15, p.95-104, 2003.

JOHRI, B.N.; SHARMA, A.; VIRDI, J.S. Rhizobacterial diversity in India and its influence on soil and plant health. **Advances in Biochemical Engineering/Biotecnhology**, v.84, p.49-89, 2003.

KARTHIKEYAN, M.; RADHIKA, K.; BHASKARAN, R; MATHIYAZHAGAN, S.; SANDOSSKUMAR, R.; VELAZHAHAN, R.; ALICE, D. Biological control of onion leaf blight disease by bulb and foliar application of powder formulation on antagonist mixture. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v.41, n.6, p.407-417, 2008.

LUZ, W.C. Evaluation of plant growth-promoting and bioprotecting rhizobacteria on wheat crop. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, p.597-600, 2001.

LUZ, W.C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. In: LUZ, W. C.; FERNANDES, J. M. C.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas (RAPP).** Passo Fundo, v.4, 1996. p.1-49.

MCFARLAND, J. The nephelometer: Na instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. In: CAMPBELL, H.D.; GARVEY, S.J.; CREMER, E.N.; SUSSDORF, H.D. (Eds.). **Methods in immunology**. Benjamin. New York, 1970. p.435-437.

NEVES, D. M. S. **Controle biológico de *Pseudomonas marginalis Pv. Marginalis* e promoção de crescimento de cebola pela microbiolização de sementes.** Pelotas, 2001, 47p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel.

NIRANJAN RAJ, S.; SHETTY, H.S.; REDDY, M.S. Plant growth promoting rhizobacteria: potential green alternative for plant productivity. In: SIDDIQUI, Z.A. (Ed.). **PGPR: Biocontrol and Biofertilization.** Springer, Netherlands, 2005, p.197-216.

PATTEN, C.; GLICK, B.R. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. **Canadian Journal Microbiology**, v.42, p.207-220, 1996.

PODILE, A.P.; KISHORE, G.K. Plant growth-promoting rhizobacteria. In: GNANAMANICKAM, S.S. (Ed.). **Plant-Associated Bacteria.** Springer, Netherlands, 2006. p.195-230.

PULIDO, L.E.; CABRERA, A.; MEDINA, N. Biofertilization using rhizobacteria and AMF in the production of tomato (*Lycopersicum esculent*um Mill.) and onion (*Allium cepa* L.) seedlings. II. Root colonization and nutritional status. **Cultivos Tropicales**, v.24, n.2, p.5-13, 2003.

REDDY, M.S.; RAHE, J.E. *Bacillus subtilis* B-2 and selected onion rhizobacteria in onion seedling rhizosphere: Effects on seedling growth and indigenous rhizosphere microflora. **Soil Biology and Biochemistry**, v.21, n.3, p.379-383, 1989b.

REDDY, M.S.; RAHE, J.E. Growth effects associated with seed bacterization not correlated with populations of *Bacillus subtilis* inoculant in onion seedling rhizospheres. **Soil Biology and Biochemistry**, v.21, n.3, p.373-378, 1989a.

SOUZA, R.J.; RESENDE, G.M. **Cultura da cebola.** Lavras: UFLA, 2002 (Textos Acadêmicos - Olericultura, 21).

THILAKAVATHY, S.; RAMASWAMY, N. Effect of inorganic and biofertilizers on yield and quality parameters of multiplier onion (*Allium cepa* L. *var. aggregatum*). **Vegetable Science**, v.26, n.1, p.97-98, 1999.

TORO, M.; AZCON, R.; BAREA, J.M. Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability and nutrient cycling. Applied and environmental microbiology. **Applied Environmental Microbiology**, v.63, n.11, p.4408-4412, 1997.

7 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho teve como objetivo geral avaliar o efeito da microbiolização de rizobactérias em sementes de cebola sobre o crescimento de mudas e produção de bulbos de cebola, seus efeitos sobre a classificação e o armazenamento dos bulbos e o potencial destas rizobactérias como agentes de controle de doenças fúngicas da parte aérea das mudas. Os resultados obtidos indicam que os isolados *Pseudomonas* W6, *B. megaterium* W19 e *B. cereus* UFV40 promoveram o crescimento das plantas após o transplante das mudas, na fase de crescimento vegetativo e produção de bulbos. Este fato é evidenciado pelas maiores produções de bulbos por hectare nos dois anos de avaliações, em diferentes condições edafoclimáticas (Capítulos 2 e 4).

Na primeira fase do sistema de produção de cebola, que abrange a produção de mudas em canteiros, há um período de crescimento lento até aproximadamente 75 dias após a emergência das plantas, afetado principalmente pela temperatura. As baixas temperaturas que ocorrem na região sul do Brasil durante a fase de mudas interferem no crescimento das plantas e na multiplicação dos microrganismos, influenciando nos efeitos dessa associação.

Quanto à promoção de crescimento de mudas de cebola em canteiros as rizobactérias avaliadas não foram capazes de estimular incrementos significativos no crescimento das mudas e controle de doenças fúngicas da parte aérea das mudas de cebola (Capitulo 1). Normalmente, a adubação é quase que exclusivamente feita com adubos minerais. Contudo, na fase de crescimento vegetativo e bulbificação, em solo cultivado no sistema cultivo mínimo adubado com cama de frango no transplante e adubação de cobertura, foram observados aumentos significativos no incremento de bulbos (Capitulo 2). Esta diferença nos resultados de promoção de crescimento entre as fases de mudas e a de bulbos se deve, possivelmente, às condições diferenciadas de condução dos experimentos. As condições climáticas e o metabolismo da planta são mais favoráveis ao crescimento vegetativo e bulbificação com maior liberação de exsudatos, que provavelmente proporcionou maior multiplicação das rizobactérias e a expressão do *Quorum Sensing* (Capítulos 2 e 4), do que na fase de mudas (Capítulo 1 e 4). Isso pode ter influenciado a resposta das plantas à interação com as rizobactérias. A ação das rizobactérias pode ter alterado

a produção de hormônios promovendo o aumento do volume do sistema radicular (Capítulo 3), refletindo em um incremento do crescimento das plantas. Entretanto, a maioria dos isolados avaliados não promoveram incrementos na biomassa das plantas (Capítulo 1 e 2).

O fato da cebola ser cultivada em duas etapas (produção de mudas e cultivo na área definitiva), em condições climáticas extremas e diferenciadas, contrasta com as avaliações realizadas apenas em laboratório ou ambiente protegido, em condições controladas de temperatura e umidade. Este trabalho é o primeiro a analisar o efeito de rizobactérias na promoção de crescimento de mudas e bulbos de cebola no campo, em condições de produção idêntica a comercial (Capítulo 4). Portanto, é desejável que um número maior de estudos complementares seja realizado. O pequeno número de isolados avaliados neste trabalho, face à grande diversidade de rizobactérias associadas à cebola, indica a necessidade da inclusão de um número maior de isolados em futuras pesquisas. Ênfase também deve ser dada à análise da colonização destas rizobactérias nas raízes da cebola, uma vez que a colonização é fundamental para uma série de processos benéficos mediados por esses microrganismos.

Os resultados obtidos indicam a importância de pesquisas futuras, que viabilizem o uso de rizobactérias na promoção de crescimento da cebola. É importante a realização de trabalhos com mais ênfase na interação das rizobactérias com outros membros da comunidade microbiana nativa da rizosfera, para que a inoculação seja bem sucedida e possa ter impacto na produção da cultura. Como perspectiva futura, verifica-se o potencial para a formulação de inoculantes à base de rizobactérias para utilização comercial, uma das alternativas de produção agrícola com potencial para promoção do crescimento vegetal.

ANEXOS

ANEXO 1 - Dados meteorológicos dos anos 2007 e 2008 da Estação Experimental da Epagri de Ituporanga, latitude 27º25'07'', longitude 49º38'46'' e altitude de 475m. Santa Catarina. Fonte: Epagri/Ciram.

Precipitação pluviométrica total mensal (mm)

ANO	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
2007	131,4	131,8	210,3	49,4	185,9	44,5	233,7	113,9	150,8	216,5	116,6	191,2
2008	215,6	146,8	82,7	160,0	68,0	143,0	36,9	89,1	165,4	110,8	199,5	109,0

Total mensal Número de Dias de Chuva (NDC)

ANO	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
2007	17	14	16	9	13	8	12	9	11	13	11	18
2008	15	15	15	13	3	14	7	13	12	6	18	11

Insolação total mensal (horas de brilho solar - h e dec)

ANO	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
2007	144,7	163,3	201,4	133,5	104,6	114	134,1	73,8	154,1	101,2	199,2	174,2
2008	124,3	189,4	177,6	154,5	187	104,9	149,1	140			113,9	208,5

Temperatura média mensal (ºC)

ANO	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
2007	23,31	22,78	23,18	20,07	13,98	13,33	11,17	13,58	17,87	19,14	19,67	22,05
2008	21,45	22,04	21,1	17,63	14,31	11,85	14,07	15,54	14,52	16,42	19,11	21,26

Temperatura mínima mensal absoluta (ºC)

ANO	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
2007	16,2	12	13,4	6,4	-0,9	2	-0,8	0,8	2,7	9,2	10,2	10,4
DATA	16/jan	12/fev	20/mar	28/abr	30/mai	05/jun	27/jul	21/ago	25/set	25/out	23/nov	13/dez
2008	13	11	11,6	3,2	1	-1,6	2,6	1,7	0	9	12,3	8
DATA	28/jan	04/fev	15/mar	30/abr	11/mai	17/jun	26/jul	04/ago	08/set	03/out	17/nov	04/dez

Temperatura máxima mensal absoluta (ºC)

ANO	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
2007	33,6	32,8	34,4	30,8	27,4	27	25	27,4	30	31,6	31,6	34
DATA	19/jan	03/fev	28/mar	02/abr	06/mai	14/jun	05/jul	16/ago	06/set	26/out	08/nov	09/dez
2008	34,2	32,8	32,6	31,4	29,4	26	26,8	29	32,4	28	31,8	33,4
DATA	11/jan	14/fev	07/mar	11/abr	22/mai	06/jun	28/jul	17/ago	03/set	02/out	15/nov	23/dez

Número de geadas

ANO	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
2007	0	0	0	0	4	2	5	2	0	0	0	0
2008	0	0	0	0	1	4	0	0	1	0	0	0

ANEXO 2 - Temperaturas mínimas e máximas dentro da casa de vegetação. Estação Experimental da Epagri. Ituporanga, SC, 2008.

Datas	Mín	Máx	Datas	Mín	Máx	Datas	Mín	Máx	Datas	Mín	Máx
24/jul	14	27	24/ago	11	23	23/set	9	32	23/out	20	36
25/jul	14	28	25/ago	12	37	24/set	8	30	24/out	18	38
26/jul	16	29	26/ago	18	39	25/set	10	28	25/out	19	28
27/jul	16	31	27/ago	15	33	26/set	11	26	26/out	18	34
28/jul	15	30	28/ago	15	33	27/set	12	33	27/out	21	39
29/jul	14	29	29/ago	13	31	28/set	13	30	28/out	16	28
30/jul	13	29	30/ago	6	31	29/set	13	27	29/out	15	22
01/ago	12	28	31/ago	11	35	30/set	12	29	30/out	17	32
02/ago	15	34	01/set	15	36	01/out	13	32	31/out	16	33
03/ago	14	33	02/set	15	38	02/out	14	34	01/nov	15	35
04/ago	6	30	03/set	16	41	03/out	14	35	02/nov	17	27
05/ago	13	20	04/set	12	20	04/out	11	27	03/nov	18	37
06/ago	14	20	05/set	12	24	05/out	14	29	04/nov	18	36
07/ago	13	28	06/set	6	30	06/out	12	28	05/nov	19	32
08/ago	13	20	07/set	3	26	07/out	14	33	06/nov	18	36
09/ago	11	14	08/set	6	25	08/out	14	30	07/nov	19	37
10/ago	12	24	09/set	11	21	09/out	11	24	08/nov	18	36
11/ago	14	31	10/set	14	24	10/out	12	26	09/nov	18	35
12/ago	14	33	11/set	14	23	11/out	12	27	10/nov	17	31
13/ago	14	18	12/set	13	21	12/out	13	34	11/nov	17	29
14/ago	14	20	13/set	13	28	13/out	19	36	**Média**	**13,9**	**29,6**
15/ago	16	34	14/set	9	26	14/out	18	34			
16/ago	16	32	15/set	9	21	15/out	19	33			
17/ago	14	34	16/set	12	30	16/out	18	31			
18/ago	16	36	17/set	11	31	17/out	16	20			
19/ago	18	38	18/set	12	26	18/out	14	21			
20/ago	19	38	19/set	12	28	19/out	13	28			
21/ago	18	36	20/set	12	31	20/out	12	28			
22/ago	14	28	21/set	11	26	21/out	12	29			
23/ago	11	16	22/set	7	27	22/out	18	30			

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo