



Produção de Ácido Indol-3-Acético por Rizobactérias Presentes no Solo de uma Floresta Tropical Seca

Cláudia Maria da Silva, Jéssica Simões Pereira, Luiz Felipe da Silva Xavier, France Anne Dias Ruas, Henrique Maia Valério, Regina Cássia Ferreira Ribeiro

Introdução

As Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCP's) são capazes de colonizar as raízes, estimulando-as diretamente ou beneficiando o crescimento e o desenvolvimento de plantas. Em relação aos aspectos bioquímicos, a busca pelas rizobactérias e a investigação de seus mecanismos de ação visam a exploração comercial como biofertilizantes, para aumentar o crescimento de plantas [1], o controle de pragas [2] e, ainda, a recuperação de áreas degradadas [3]. No crescimento de plantas, estudos mostram que tais mecanismos, frequentemente, estão envolvidos na produção de fitormônios como as auxinas, giberelinas e citocininas [4]. Entre as auxinas, o ácido indol-3-acético (AIA) é o fitormônio mais estudado e o mais produzido pelas bactérias, sendo requerido em baixas concentrações. Ele é conhecido por sua capacidade de auxiliar no desenvolvimento da raiz, divisão celular e multiplicação celular [5].

O objetivo deste trabalho foi testar o efeito do estágio sucessional e da estação do ano na produção de AIA por rizobactérias oriundas de uma Floresta Tropical Seca.

Material e métodos

A. Área de estudo

O estudo foi realizado em três unidades de conservação (UCs) no Norte de Minas Gerais: na Reserva Biológica do Jaíba (criada em 1976, com 6.358 ha), no Parque Estadual Lagoa do Cajueiro (1998; 20.500 ha) e na Reserva Biológica Serra Azul (1998; 7.200 ha), localizados nos municípios de Matias Cardoso e Jaíba, no Vale do Médio Rio São Francisco.

B. Desenho amostral

As coletas foram realizadas na estação úmida (outubro/2011) e na estação seca (Julho/2012), nos três estágios sucessionais (Inicial, Intermediário e Tardio) de cada UC. Uma parcela de 30x60 m foi delimitada para cada estágio. No interior das parcelas foi feita uma sub-parcela de 20x50 m, onde as amostragens de solo foram realizadas nas profundidades de 0-10 e de 10-20 cm. As amostras foram coletadas em triplicata (3 m de distância uma da outra), as quais constituíram amostras compostas por parcela, que foram analisadas. Todas as amostras de solo foram acondicionadas em sacos plásticos transparentes, devidamente identificadas com etiquetas e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia Ambiental da Universidade Estadual de Montes Claros (UNIMONTES), no município de Montes Claros para o isolamento das rizobactérias. Do total de isolados obtidos, foram selecionados, aleatoriamente, 30 isolados de cada local de coleta, sendo 10 isolados de cada estágio sucessional, totalizando 90 amostras para a estação úmida e 90 amostras para a estação seca.

C. Produção de Ácido indol-3-acético (AIA)

Os isolados selecionados foram submetidos à avaliação da produção de AIA de acordo com o método colorimétrico descrito por Gordon e Weber [6], com modificações. O controle negativo foi feito utilizando o meio de cultura CN. Uma curva padrão da produção de AIA foi obtida com o hormônio sintetizado (Sigma), 98% de pureza, nas seguintes concentrações: 0, 1, 3, 5, 7, 10, 25, 50, 100 e 150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Além disso, foi realizada a avaliação da produção de AIA pela cepa padrão *Burkholderia cepacia* ATCC 25416.

D. Análise dos dados

Para avaliar a influência da estação do ano e do estágio sucessional na produção de AIA foi realizada análise de deviance via GLM assumindo a distribuição de erros Gaussian. A estação do ano e o estágio sucessional foram



FÓRUM

ENSINO • PESQUISA
EXTENSÃO • GESTÃO

FEPEG

UNIVERSIDADE: SABERES E PRÁTICAS INOVADORAS

Trabalhos científicos • Apresentações artísticas
e culturais • Debates • Minicursos e Palestras



24 a 27
setembro

Campus Universitário Professor Darcy Ribeiro

www.fepeg.unimontes.br

considerados como variáveis explicativas e a produção de AIA como variável resposta. Para a análise foi utilizado o nível de significância de 0,05. As análises foram desenvolvidas no software estatístico R, versão 2.10 [7].

Resultados e Discussão

A equação para o cálculo da concentração de AIA obtida e a curva padrão encontra-se na figura 1. A produção de AIA pela cepa padrão *Burkholderia cepacia* ATCC 25416 foi de $123 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Dos isolados analisados três (SE33A-312, SE32A-316 e SI23B-377) não produziram AIA. Esses três isolados pertencem às amostras da estação úmida. A produção de AIA variou de 0,05 (produzido pelos isolados LI24A-204 e 2JT13B-823) a $134 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (produzido pelo isolado ST33A-345). A estação do ano não afetou a produção de AIA ($p < 0,05$). Entretanto, o estágio sucessional afetou significativamente a produção de AIA por rizobactérias ($p < 0,001$) (Figura 2). Adicionalmente, a análise de contraste mostrou que a produção de AIA por bactérias encontradas nos estágios iniciais e intermediários foi menor do que a produção encontrada nos estágios tardios. Além disso, essa não foi significativa entre os estágios iniciais e intermediários.

Os resultados para produção *in vitro* de AIA não confirmaram nenhuma das hipóteses testadas. Com relação à maior produção de AIA por bactérias encontradas no estágio tardio não foi encontrado nenhum dado na literatura que corroborasse a diferença acentuada com relação à produção pelas bactérias do estágio tardio.

A avaliação da síntese de AIA por rizobactérias pode proporcionar mais um critério a ser utilizado na seleção de cepas boas produtoras [8]. Para isso, muitos trabalhos evidenciam a síntese de AIA por rizobactérias usando o L-triptofano como precursor [9]. Diferenças significativas já foram observadas na variação da produção de AIA, em diferentes concentrações de L-triptofano, com produção acima de $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ [8]. Em outro caso, o nível mais elevado de produção de AIA foi de $127 \mu\text{g.mL}^{-1}$ [10]. Este valor foi menor que o produzido pelo isolado mais produtivo no presente trabalho ($134 \mu\text{g.mL}^{-1}$, produzido pelo isolado ST33A-345).

Conclusão

A análise permite afirmar que as bactérias obtidas neste estudo são potenciais para a produção de AIA. O conhecimento de qual é a estação e o estágio sucessional em que as rizobactérias são mais eficientes para a produção de AIA permite que sejam definidos o momento e o local de coleta para selecionar as espécies mais promissoras.

Referências

- [1] VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, 255: 571-586, 2003.
- [2] FELTON, G. W.; KORTH, K. L. Trade-offs between pathogen and herbivore resistance. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.3, p.309-314, 2000.
- [3] LAMMEL, D. R.; CRUZ, L. M., CARRER, H.; CARDOSO, E. J. B. N. Diversity and symbiotic effectiveness of beta-rhizobia isolated from sub-tropical legumes of a Brazilian Araucaria Forest. **World J Microbiol Biotechnol**, DOI 10.1007/s11274-013-1400-7, 2013.
- [4] SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J. & OKON, O. (2009). Plant growth-promoting actions of rhizobacteria. **Advances in Botanical Research**, 51: 283-320.
- [5] DA SILVEIRA, E. L. **Identificação de comunidades bacterianas de solo por sequenciamento do gene 16S rDNA**. Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, 75p (Dissertação de mestrado), 2004.
- [6] GORDON, S. A. & WEBER, R. P. (1951). Colorimetric estimation of indoleacetic acid. **Plant Physiology**, Rockville Pike 26: 192-195.
- [7] R DEVELOPMENT CORE TEAM . R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>, 2009.
- [8] CHAGAS Jr; FREITAS, A.; OLIVEIRA, L. A.; OLIVEIRA, A. N. Produção de ácido indolacético por rizóbios isolados de Caupi. **Rev. Ceres, Viçosa**, 56(6): 812-817, 2009.
- [9] SOTTERO, N. A.; FREITAS, S. S.; MELO, A. M. T.; TRANI, P. E. Rizobactéria e alface: colonização rizosférica, promoção de crescimento e controle biológico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 30: 225-234, 2006.
- [10] GOUDJAL, Y.; TOUMATIA, O.; SABAOU, N.; BARAKATE, M.; MATHIEU, F.; ZITOUNI, A. Endophytic actinomycetes from spontaneous plants of Algerian Sahara: indole-3-acetic acid production and tomato plants growth promoting activity. **World J Microbiol Biotechnol**, DOI 10.1007/s11274-013-1344-y, 2013.

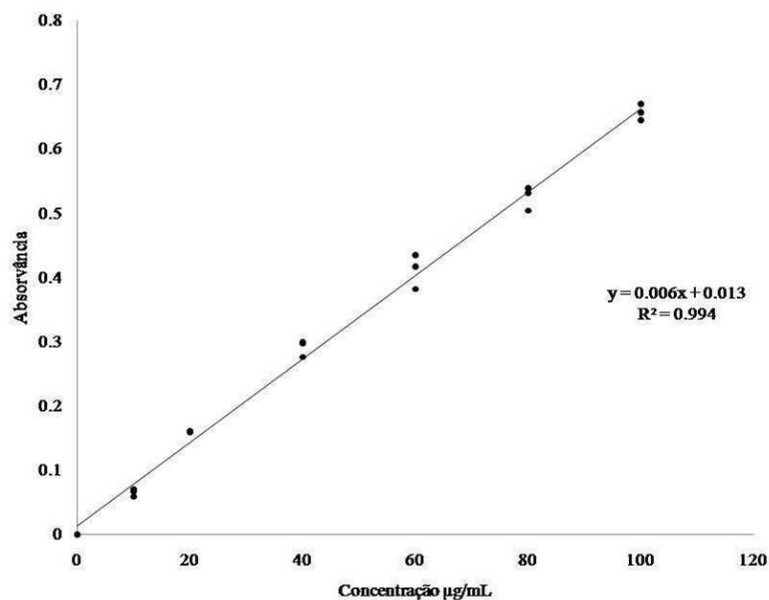


Figura 1. Curva padrão do Ácido indol-3-acético a partir do hormônio sintetizado (95%) utilizada para o cálculo da concentração do AIA produzido pelas rizobactérias de Florestas Tropicais Secas. Absorvância medida em nanômetros e concentração em $\mu\text{g/mL}^{-1}$.

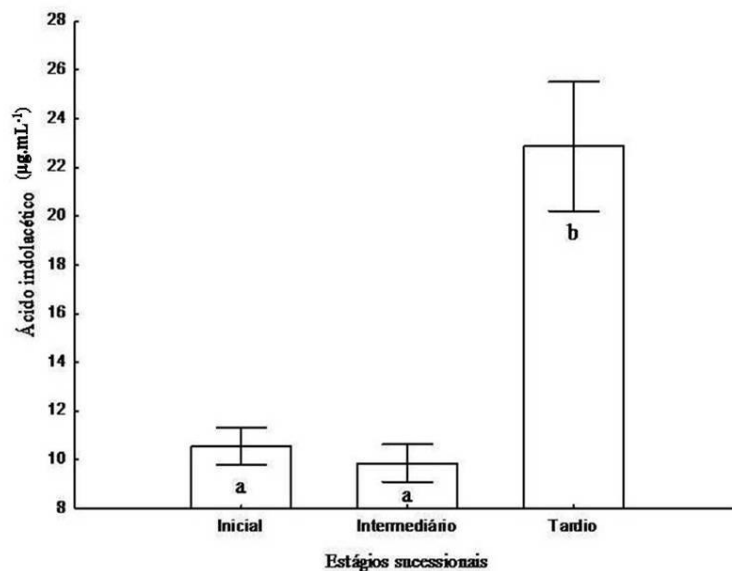


Figura 2. Produção de ácido indol-3-acético (AIA) em $\mu\text{g/mL}^{-1}$ por rizobactérias em função do estágio sucessional em uma Floresta Tropical Seca. No gráfico barras com mesma letra indica que os valores não foram significativos ($p > 0,05$) e com letra diferente foi significativo ($p < 0,05$) pela Análise de Contraste.