

Inoculação de bactérias produtoras de ácido 3-indol acético em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.)

Inoculation of indole-3-acetic acid producing bacteria in lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants



LIGIANE A. FLORENTINO¹
ADRIANO B. SILVA¹
PAULO R. C. LANDGRAF¹
FLAVIA R.C. SOUZA²

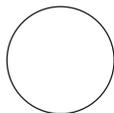
Inoculação de bactérias promotoras de crescimento em plantas de alface.

Foto: F.R.C. Souza

RESUMO

Os microrganismos exercem grande importância para o desenvolvimento dos vegetais por meio da produção de diversos compostos, como o ácido 3-indol acético (AIA), sintetizado por bactérias. No entanto, ainda são incipientes as pesquisas relatando o efeito da inoculação destas bactérias nas plantas. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar a produção *in vitro* de AIA por bactérias diazotróficas cultivadas na presença ou ausência do triptofano (Trp) e o efeito da inoculação destas estirpes em sementes de alface (*Lactuca sativa* L.). Inicialmente, foi instalado um experimento em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 19 × 2, sendo 19 estirpes bacterianas cultivadas em meios contendo ou não o Trp, com quatro repetições. Foi observado que o Trp contribuiu para a maior produção de AIA pela maioria das estirpes. Posteriormente, seis dessas estirpes foram selecionadas para inoculação em sementes de alface em dois experimentos, o primeiro em gerbox e o outro em bandejas contendo substrato comercial. Foi utilizado o DIC em esquema fatorial 8 × 2, sendo sete estirpes bacterianas e um controle sem inoculação e presença ou ausência do Trp no meio de cultivo, com quatro repetições. A inoculação com a maioria das estirpes contribuiu para o aumento da taxa de germinação das sementes, comprimento radicular e peso da matéria seca da parte aérea, no entanto, o excesso de AIA produzido por algumas estirpes quando cultivadas na presença de Trp pode interferir no desenvolvimento das mudas de alface.

Palavras chave adicionais: fito-hormônios, bactérias promotoras do crescimento vegetal, triptofano, sustentabilidade.



¹ Setor de Ciências Agrárias, Universidade do Rosário Vellano (UNIFENAS), Alfenas, MG (Brasil).

² Curso de Agronomia, UNIFENAS, Alfenas, MG (Brasil).

³ Autor para correspondência: ligianeflorentino@gmail.com



ABSTRACT

Microorganisms are of great importance for the development of plants through the production of various compounds, such as indole-3-acetic acid (IAA), synthesized by bacteria. However, research on the effect of inoculation of these bacteria on plants is still lacking. The objective of this study was to evaluate the *in vitro* production of IAA by diazotrophic bacteria grown in the presence or absence of tryptophan (Trp) and the effect of inoculation of these strains on lettuce seeds (*Lactuca sativa* L.). Initially, a completely randomized design experiment (DIC) was installed in a 19×2 factorial scheme, with 19 bacterial strains grown in media containing or not containing Trp, with four replications. It has been observed that Trp contributes to a higher production of IAA by most strains. Subsequently, six of these strains were selected for inoculation in lettuce seeds in two experiments: the first in gerbox and the other in trays containing commercial substrate. DIC was used in a 8×2 factorial scheme, with seven bacterial strains and one control without inoculation and the presence or absence of Trp in the culture medium, with four replications. Inoculation with most of the strains contributed to an increase in the seed germination rate, root length and shoot dry matter weight; however, the excess of IAA produced by some strains when grown in the presence of Trp may interfere with the development of lettuce seedlings.

Additional key words: phyto-hormones, plant growth promoting bacteria, tryptophan, sustainability.

Data de recepção: 23-01-2016 Aprovado para publicação: 15-04-2017

INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) se destaca como uma das olerícolas de maior importância econômica, sendo considerada a hortaliça folhosa mais importante na alimentação dos brasileiros (Silva *et al.*, 2011). Esta cultura é muito atrativa aos horticultores porque possui ciclo curto e alta produtividade, a qual é viabilizada pela utilização de grandes quantidades de fertilizantes (Malavolta *et al.*, 2002).

Nos últimos anos, a agricultura orgânica vem ganhando mais espaço no mercado, uma vez que as pessoas, além de se preocuparem com a qualidade nutricional dos alimentos, também estão levando em consideração a forma como estes são produzidos, princípio básico da sustentabilidade (Wier e Calverley, 2002). Dessa forma, os agricultores que praticam o cultivo orgânico, em que não é permitida a utilização de fertilizantes solúveis e agrotóxicos, necessitam utilizar outras técnicas de manejo, como adubação verde, pó de rocha, composto orgânico, controle biológico e inoculação com microrganismos benéficos, como as bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV), para garantir boa produtividade de forma sustentável (Cola e Simão, 2002; Mariano *et al.*, 2004). Segundo Miguel *et al.* (2010), no cultivo de alface orgânica, cerca de 50% dos custos destinam-se aos insumos relacionados à nutrição e fertilidade do solo.

As BPCV são pertencentes a diferentes espécies e que, por meio de mecanismos diversos, são capazes de solubilizar fosfato, atuar como antagonistas a espécies patogênicas e produzir hormônios vegetais, como as auxinas (ácido indol-3-acético, AIA), contribuindo para o crescimento das plantas (Moreira e Siqueira, 2006; Moreira *et al.*, 2010).

De todos esses processos, a produção de ácido 3-indol acético (AIA) tem sido amplamente explorada pela pesquisa (Radwan *et al.*, 2004; Moreira *et al.*, 2010; Sabino *et al.*, 2012; Cassán *et al.*, 2014), devido à função deste hormônio na regulação do crescimento vegetal, podendo ser sintetizado em tecidos vegetais que apresentam alta taxa de crescimento, como nos meristemas apicais, folhas jovens, frutos e sementes em desenvolvimento (Taiz e Zeiger, 2004). De acordo com estes autores, na biossíntese do AIA, o aminoácido triptofano (Trp) constitui-se no principal precursor das rotas: indole-3-acetamida (IAM) e indole-3-piruvato (IpyA). Além destas, a produção de AIA pode ocorrer por outra rota independente de Trp (Dobbelaere *et al.*, 1999; Lambrecht *et al.*, 2000).

O AIA produzido por estas bactérias pode aumentar o comprimento e o número de pêlos radiculares, aumentando a área de exploração das raízes e, portanto, maior absorção de água e nutrientes e tolerância a

condições de baixa umidade do solo (Ryan *et al.*, 2008; Moreira *et al.*, 2010; Cassán *et al.*, 2014), favorecendo assim o desenvolvimento vegetal, principalmente em plantas que possuem o sistema radicular superficial, como a alface (Filgueira, 2003).

Entretanto, o efeito da inoculação com estirpes produtoras de AIA nas plantas é variável, podendo contribuir ou não para o desenvolvimento vegetal (Khalid *et al.*, 2004), necessitando portanto, de seleção de estirpes bacterianas produtoras de AIA para determinadas espécies vegetais. Com isso, este trabalho teve como objetivo avaliar a produção *in vitro* de AIA por bactérias diazotróficas cultivadas na presença ou ausência do Trp e o efeito da inoculação destas estirpes em sementes de alface (*Lactuca sativa* L.).

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia Agrícola e no Setor de Olericultura da Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS), localizada na cidade de Alfenas, na região sul de Minas Gerais, Brasil, com posição geográfica definida pelas coordenadas geográficas: 21°21'33" S e 45°54'42" W e 798 m de altitude. No primeiro experimento, foram utilizadas 19 estirpes bacterianas, sendo 18 pertencentes à coleção do Laboratório de Microbiologia Agrícola (UNIFENAS 100-01, 100-16, 100-21, 100-26, 100-28, 100-34, 100-39, 100-40, 100-52, 100-53, 100-54, 100-79, 100-94, 100-150, 100-153, 100-167, 100-185, 100-198), as quais foram isoladas em meios de cultura semissólidos e semi-seletivos (Dias, 2015), segundo metodologia descrita em Döbereiner *et al.* (1995) (Tab. 1). Além destas, a estirpe Ab-V5, da espécie *Azospirillum brasilense*, cedida pela Embrapa Londrina, foi inserida nos testes como estirpe controle, devido à comprovada capacidade em produzir AIA (Pedrinho *et al.*, 2010; Szilagyi-Zechhin *et al.*, 2015).

Estas estirpes bacterianas foram analisadas quanto ao potencial de produzir AIA em meio Dygs, na ausência e presença ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) de Trp, conforme metodologia descrita por Pedrinho *et al.* (2010). A concentração de AIA foi avaliada pelo método quantitativo colorimétrico (Gordon e Weber, 1951), durante a fase log de crescimento bacteriano, apresentando aproximadamente 10^8 UFC mL^{-1} . A estimativa da quantificação do AIA foi realizada com o auxílio de curva padrão previamente obtida com o meio Dygs esterilizado e com as quantidades conhecidas de AIA. A leitura de

absorbância foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 535 nm. Esse experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 19×2 , sendo 19 estirpes bacterianas e presença ou ausência de Trp no meio de cultivo.

Nos segundo e terceiro experimentos, foram selecionadas seis estirpes utilizadas no primeiro experimento e produtoras de AIA para inoculação em sementes de alface da cultivar Regina 500. As estirpes bacterianas foram cultivadas em meio Dygs contendo ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) ou não o aminoácido Trp. Como controle foi utilizado o meio Dygs sem inoculação contendo ou não o aminoácido Trp. Ambos os experimentos foram instalados em DIC, com esquema fatorial 8×2 , sendo 7 estirpes bacterianas e um tratamento sem bactéria (controle) e presença ou ausência de Trp no meio de cultivo bacteriano. O Trp foi adicionado também no controle sem inoculação, visando identificar se somente com a presença deste aminoácido estimularia a germinação e o desenvolvimento das mudas de alface. Em ambos os experimentos foram utilizadas quatro repetições.

No segundo experimento foram utilizadas 20 sementes por gerbox. Para desinfestação das sementes e inoculação das estirpes bacterianas, adotou-se a metodologia utilizada por Schindwein *et al.* (2008). O experimento foi conduzido por 7 d em temperatura média de 25°C , em que foram avaliados a porcentagem de germinação e o comprimento das raízes.

O terceiro experimento foi realizado em bandejas de poliestireno 128 células (40 cm^3 por célula), com substrato comercial (Tropstrato HT hortaliças®) à base de casca de pinus, turfa e vermiculita expandida, enriquecido com macro e micronutrientes. A inoculação com as estirpes bacterianas foi realizada nas sementes de alface, no momento do plantio (1 mL/semte). Esse experimento foi conduzido durante 15 d em casa de vegetação de estrutura metálica tipo arco, de 56 m^2 e cobertura com filme de polietileno difusor de luz, espessura 150 micras. As variáveis avaliadas foram comprimento de raízes e peso da matéria seca da parte aérea.

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANAVA) utilizando o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2011), sendo as médias comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 1. Identificação, meio de cultura semi-sólido utilizado para isolamento das bactérias e características morfológicas das estirpes cultivadas em meio de cultura batata dextrose ágar (BDA) contendo azul de bromotimol como indicador de pH.

Estirpes	Meio de cultivo de origem	Características morfológicas em meio de cultura BDA		
		pH	Cor	EPS ¹
UNIFENAS 100-01	JNFb	Ácido	Amarela	Baixa
UNIFENAS 100-16	JMV	Ácido	Amarela	Baixa
UNIFENAS 100-21	JNFb	Ácido	Amarela	Baixa
UNIFENAS 100-26	JNFb	Alcalino	Amarelada	Baixa
UNIFENAS 100-28	JNFb	Ácido	Amarela	Baixa
UNIFENAS 100-34	JMV	Ácido	Amarela	Baixa
UNIFENAS 100-39	JNFb	Ácido	Amarela	Média
UNIFENAS 100-40	JNFb	Ácido/alcalino	Amarela	Baixa
UNIFENAS 100-52	JMV	Ácido	Amarela	Alta
UNIFENAS 100-53	JMV	Ácido/alcalino	Amarela	Alta
UNIFENAS 100-54	JMV	Ácido/alcalino	Amarela	Alta
UNIFENAS 100-79	LGI	Ácido/alcalino	Amarela	Alta
UNIFENAS 100-94	JMV	Ácido	Amarela	Baixa
UNIFENAS 100-150	LGI	Alcalino	Amarela	Média
UNIFENAS 100-153	FAM	Ácido	Amarela	Média
UNIFENAS 100-167	NFb	Ácido	Amarela	Baixa
UNIFENAS 100-185	NFb	Ácido	Amarela	Alta
UNIFENAS 100-198	LGI	Ácido	Creme	Média
Ab-V5	-	-	-	-

¹EPS - produção de exopolissacarídeos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que todas as estirpes produziram AIA independente ou não do Trp no meio de cultivo (tabela 2), ocorrendo interação dos fatores. Entretanto, verificou-se que na presença deste aminoácido as estirpes UNIFENAS 100-16, 100-26, 100-39, 100-79, 100-94, 100-150, 100-153, 100-167, 100-198 e Ab-V5 produziram significativamente maior quantidade deste fito-hormônio.

A influência do Trp na maior produção de AIA por estirpes bacterianas também foi verificada por Baldoto *et al.* (2010). Essa influência pode ser explicada pelo fato do Trp ser o aminoácido precursor na biossíntese do AIA (Radwan *et al.*, 2004; Taiz e Zeiger, 2004; Spaepen *et al.*, 2007).

Em relação à quantidade de AIA produzida, foi observada alta variabilidade entre os isolados, sendo que os resultados variaram entre 3,99 a 46,97 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 2,68

a 37,63 $\mu\text{g mL}^{-1}$, nos meios contendo ou não Trp, respectivamente. Os valores de AIA obtidos estão de acordo com os encontrados em outros estudos, nos quais, observaram-se também alta variabilidade na capacidade de produzir este fito-hormônio pelas estirpes bacterianas (Baldoto *et al.*, 2010; Chaves *et al.*, 2015).

Observou-se que a estirpe UNIFENAS 100-153 foi a que produziu maior quantidade de AIA, independente da presença ou não de Trp, indicando maior versatilidade metabólica. Já a estirpe utilizada como controle, Ab-V5, os valores de AIA na presença de Trp estão de acordo com os encontrados por Pedrinho *et al.* (2010). Além destes autores, outros autores, como Moreira *et al.* (2010) e Radwan *et al.* (2004), relatam a capacidade do gênero *Azospirillum* em produzir AIA.

No teste realizado em gerbox, avaliando a porcentagem de germinação das sementes e comprimento radicular das plântulas de alface quando inoculadas

Tabela 2. Produção de ácido indol acético (AIA) pelas estirpes bacterianas em meio Dygs contendo ou não triptofano.

Estirpes bacterianas	AIA ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	
	Triptofano	
	Com	Sem
UNIFENAS 100-01	6,90 Fa	6,41 Da
UNIFENAS 100-16	13,46 Ea	2,90 Db
UNIFENAS 100-21	8,96 Fa	9,03 Ca
UNIFENAS 100-26	25,39 Da	9,13 Cb
UNIFENAS 100-28	12,14 Ea	11,89 Ca
UNIFENAS 100-34	11,35 Ea	11,00 Ca
UNIFENAS 100-39	13,11 Ea	5,33 Db
UNIFENAS 100-40	13,46 Ea	12,94 Ca
UNIFENAS 100-52	6,91 Fa	6,75 Ca
UNIFENAS 100-53	7,23 Fa	7,02 Ca
UNIFENAS 100-54	12,46 Ea	11,90 C a
UNIFENAS 100-79	16,11 Ea	2,44 Db
UNIFENAS 100-94	44,51 Aa	30,92 Ab
UNIFENAS 100-150	36,63 Ba	20,97 Bb
UNIFENAS 100-153	46,97 Aa	37,63 Ab
UNIFENAS 100-167	12,89 Ea	4,93 Db
UNIFENAS 100-185	3,99 Fa	2,68 Db
UNIFENAS 100-198	28,34 Ca	3,21 Db
Ab-V5 – <i>Azospirillum brasilense</i>	44,58 Aa	23,99 Bb

Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

com as estirpes bacterianas cultivadas na presença ou ausência de Trp, foi possível observar interação dos fatores somente para o comprimento radicular (Tab. 3).

A inoculação com as estirpes UNIFENAS 100-94, 100-150, 100-153, 100-167 e 100-198 proporcionou maior aumento na porcentagem de germinação das sementes de alface quando comparados ao tratamento controle (sem inoculação) e à inoculação com as estirpes UNIFENAS 100-185 e Ab-V5. Analisando os dados de produção de AIA (Tab. 2), observou-se que não foi possível estabelecer relação desta variável com a porcentagem de germinação das sementes, uma vez que as estirpes UNIFENAS 100-94, 100-153 e Ab-V5 foram as maiores produtoras de AIA. No entanto, somente as duas primeiras estirpes promoveram maior porcentagem de germinação nas sementes de alface. Também, a estirpe UNIFENAS 100-167 produziu baixa quantidade de AIA, mas quando inoculadas nas

Tabela 3. Porcentagem de germinação e comprimento das raízes das plântulas de alface aos 7 dias, inoculadas com diferentes estirpes bacterianas, cultivadas em meio Dygs contendo ou não triptofano.

Estirpes bacterianas	Germinação (%)	Comprimento radicular (cm/planta)	
		Triptofano	
		Com	Sem
UNIFENAS 100-94	95,00 a	3,71 Aa	3,46 Aa
UNIFENAS 100-150	94,17 a	3,11 Ab	3,68 Aa
UNIFENAS 100-153	96,60 a	3,77 Aa	3,96 Aa
UNIFENAS 100-167	94,16 a	1,51 Ba	1,62 Ca
UNIFENAS 100-185	82,50 b	0,65 Cb	2,67 Ba
UNIFENAS 100-198	92,83 a	1,72 Bb	3,63 Aa
Ab-V5 - <i>Azospirillum brasilense</i>	88,33 b	2,13 Bb	3,46 Aa
Controle sem inoculação	86,33 b	1,82 Ba	1,78 Ca

Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

sementes de alface, promoveu taxa de germinação semelhante às estirpes que produziram maior quantidade de AIA. Esses resultados dificultam a estimativa da quantidade de AIA benéfica à germinação das sementes, sugerindo que os resultados produzidos *in vitro* podem não refletir nas condições de cultivo, ou seja, *in vivo*.

Dessa forma, os resultados obtidos sugerem que outros compostos sintetizados por estas estirpes podem estar envolvidos no processo de germinação das sementes, como a produção de giberelinas, que atuam em processos como quebra da dormência, crescimento do embrião e emergência da plântula (Taiz e Zeiger, 2004). De acordo com Bastián *et al.* (1998) e Cassán *et al.* (2014), bactérias diazotróficas podem sintetizar giberelinas.

Sch lindwein *et al.* (2008) observaram que a inoculação com estirpes de rizóbios produtoras de AIA pode contribuir para o aumento da porcentagem de germinação de sementes de alface. Entretanto, estes autores relatam que a alta produção de AIA por determinadas estirpes pode inibir a germinação de sementes. O aumento da germinação de sementes inoculadas com rizóbios produtores de AIA também foram relatados por Vargas *et al.* (2015), em sementes de arroz.

A inoculação com a maioria das estirpes promoveu aumento no crescimento radicular quando comparado ao tratamento controle, o que pode ser devido à função do AIA em estimular a atividade da bomba eletrogênica H^+ -ATPase da membrana plasmática, promovendo expansão celular (Hager *et al.*, 1991; Sondegaard *et al.*, 2004).

No entanto, observou-se que a presença de Trp no meio de cultivo bacteriano reduziu o crescimento das raízes de alface inoculadas com as estirpes UNIFENAS 100-150, 100-185, 100-198 e Ab-V5. Todas essas estirpes produzem maior quantidade de AIA quando cultivadas na presença do Trp (Tab. 4), sendo assim, as quantidades produzidas podem ter sido prejudiciais ao desenvolvimento radicular.

Em termos de comprimento radicular e matéria seca da parte aérea (MSPA) das mudas de alface, foi possível observar interação dos fatores (inoculação com estirpes bacterianas cultivadas ou não na presença do Trp) (Tab. 4).

A inoculação com as estirpes bacterianas cultivadas na ausência de Trp contribuíram para o aumento do comprimento radicular, quando comparadas ao tratamento sem inoculação. Somente os tratamentos inoculados com as estirpes UNIFENAS 100-150, 100-185 e 100-198 proporcionaram os mesmos resultados quando cultivadas na presença ou ausência do Trp. Para os demais, o cultivo em meio contendo Trp promoveu menor desenvolvimento radicular, o que pode estar associado à alta quantidade de AIA produzida, inibindo assim o desenvolvimento das raízes (Schlindwein *et al.*, 2008).

Em relação aos valores de MSPA, observou-se a contribuição da inoculação bacteriana para o incremento desta variável, que, está diretamente relacionada à maior taxa fotossintética e, conseqüentemente, maior desenvolvimento das plantas (Taiz e Zeiger, 2004; Szilagyi-Zecchin *et al.*, 2015). Analisando a influência do cultivo em meio contendo ou não Trp, os valores de MSPA apresentaram comportamento semelhante ao observado para o comprimento radicular, em que os maiores valores foram obtidos a partir dos tratamentos inoculados com estirpes cultivadas sem o Trp.

A inoculação com as estirpes UNIFENAS 100-94, 100-167, 100-185 e Ab-V5, promoveu maiores valores de MSPA quando cultivadas sem o Trp. Todas essas estirpes produzem maior quantidade de AIA na presença deste aminoácido (Tab. 2). Esses dados concordam com os observados por Szilagyi-Zecchin *et al.* (2015), em que testaram duas concentrações de inoculantes com a estirpe FZB42 (*Bacillus amyloliquefaciens*) em mudas de tomate e verificaram que altas doses do inoculante contendo Trp retardou o desenvolvimento da parte aérea. Segundo Patten e Glick (1996), as altas concentrações de AIA produzidas pelas bactérias podem provocar um desequilíbrio hormonal nas plantas, inibindo assim o crescimento vegetal.

Os valores de MSPA inoculados com as estirpes UNIFENAS 100-150, 100-153 e 100-198 não estiveram relacionados com a presença ou ausência do triptofano, bem como o tratamento controle.

Ferreira *et al.* (2014) relatam sobre a influência da cultivar para o sucesso do estabelecimento da interação

Tabela 4. Matéria seca da parte aérea (MSPA) de mudas de alface inoculadas com diferentes estirpes bacterianas, cultivadas em meio Dygs contendo ou não triptofano.

Estirpes bacterianas	Comprimento radicular (cm/planta)		MSPA (g/planta)	
	Triptofano			
	Com	Sem	Com	Sem
UNIFENAS 100-94	4,26 Ba	4,57 Aa	0,17 Bb	0,24 Aa
UNIFENAS 100-150	5,63 Aa	5,69 Aa	0,25 Aa	0,25 Aa
UNIFENAS 100-153	4,75 Ba	4,86 Aa	0,19 Ba	0,21 Ba
UNIFENAS 100-167	4,91 Bb	5,11 Aa	0,18 Bb	0,24 Aa
UNIFENAS 100-185	5,66 Aa	5,33 Aa	0,20 Bb	0,24 Aa
UNIFENAS 100-198	5,9 Aa	5,37 Aa	0,27 Aa	0,25 Aa
Ab-V5 - <i>Azospirillum brasilense</i>	4,78 Bb	5,47 Aa	0,18 Bb	0,22 Ba
Controle	4,78 Ba	4,65 Ba	0,19 Ba	0,20 Ba

Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

planta-bactéria. Estes autores testando seis cultivares de arroz verificaram que somente numa delas a interação com a estirpe bacteriana foi mais eficiente, promovendo maior desenvolvimento na parte aérea e sistema radicular.

Em ambos os experimentos, gerbox e substrato comercial, não foi observada influência da presença de Trp no meio sem inoculação, discordando dos resultados obtidos por Ramaih *et al.* (2003), em sementes de trigo.

Resultados promissores obtidos por meio da inoculação com bactérias produtoras de AIA foram observados em mudas de tomate (Szilagy-Zechhin *et al.*, 2015), plântulas de arroz (Sabino *et al.*, 2012), no crescimento do abacaxizeiro durante a aclimatização (Baldoto *et al.*, 2010) e em plântulas e mudas de alface (Schlindwein *et al.*, 2008; Flores-Félix *et al.*, 2013; López *et al.*, 2014; Kozusny-Andreani e Andreani Junior, 2014).

Com isso, observou-se a contribuição da inoculação com bactérias produtoras de AIA para o desenvolvimento de mudas de alface, tornando-se uma alternativa sustentável na redução do tempo de produção de mudas e do sucesso de estabelecimento destas no campo.

CONCLUSÃO

A presença de triptofano em meio de cultivo promove maior síntese de ácido 3-indol acético (AIA) por bactérias diazotróficas associativas *in vitro*, no entanto, a maior produção de AIA nem sempre contribui para a maior taxa de germinação e desenvolvimento de mudas de *Lactuca sativa* L..

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica à estudante do curso de Agronomia Flávia Romam da Costa Souza.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baldotto, L.E.B., M.A. Baldoto, F.L. Olivares, A.P. Viana e R. Bressan-Smith. 2010. Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro cultivar vitória durante a aclimatização. *Rev. Bras. Ciênc. Solo* 34 (2), 349-360. Doi: 10.1590/S0100-06832010000200008
- Bastián, F., A. Cohen, P. Piccoli, V. Luna, R. Bottini, R. Baraldi e R. Bottini. 1998. Production of indole-3-acetic acid and gibberellins A(1) and A(3) by *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum seropedicae* in chemically-defined culture media. *Plant Growth Regul.* 24(1), 7-11. Doi: 10.1023/A:1005964031159
- Cassán F., J. Vanderleyden e S. Spaepen. 2014. Physiological and agronomical aspects of phytohormone production by model plantbacteria-promoting rhizobacteria (PGPR) belonging to the genus *Azospirillum*. *J Plant Growth Regul.* 33(2), 440-59. Doi: 10.1007/s00344-013-9362-4
- Chaves, V.A., S.G. Santos, N. Schultz, W. Pereira, J.S. Sousa, R.C. Monteiro e V.M. Reis. 2015. Desenvolvimento inicial de duas variedades de Cana-de-Açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas. *Rev. Bras. Ciênc. Solo* 39(6), 1595-1602. Doi: 10.1590/01000683rbc20151144
- Cola, G.P.A. e J.B.P. Simão. 2012. Rochagem como forma alternativa de suplementação de potássio na agricultura agroecológica. *Rev. Verde Agroecol. Desenvolv. Sustent.* 7(4), 15-27.
- Dias, M.S. 2015. Diversidade e potencial de utilização de bactérias fixadoras de N₂ em *Brachiaria brizantha*. Dissertação de mestrado. UNIFENAS, Alfenas, MG, Brasil.
- Dobbelaere, S., A. Croonenborghs, A. Trys, A. Vande Broeck e J. Vanderleyden. 1999. Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. *Plant Soil.* 212(2), 155-164. Doi: 10.1023/A:1004658000815
- Döbereiner, J., V.L. Baldani e J.I. Baldani. 1995. Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas. Embrapa-SPI, Itaguaí, Embrapa-CNPAB, Brasília, Brasil.
- Ferreira, D.F. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Cienc. Agrotec.* 35(6), 1039-1042. Doi: 10.1590/S1413-70542011000600001
- Ferreira, E.P.B., A.M. Knupp e C.C.C. Martin-Didonet. 2014. Crescimento de cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) influenciado pela inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas. *Biosci. J.* 30(3), 655-665.
- Filgueira, F.A.R. 2003. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2. ed. UFV, Viçosa, Brasil.
- Flores-Félix, J.D., E. Menéndez, L.P. Rivera, M. Marcos-García, P. Martínez-Hidalgo, P.F. Mateos, E. Martínez-Molina, M.E. Velázquez, P. García-Fraile e R. Rivas. 2013. Use of *Rhizobium leguminosarum* as a potential biofertilizer for *Lactuca sativa* and *Daucus carota* crops. *J. Plant Nutr. Soil Sc.* 176(6), 876-882. Doi: 10.1002/jpln.201300116
- Gordon, S.A. e R.P. Weber. 1951. Colorimetric estimation of indoleacetic acid. *Plant Physiol.* 26(1), 192-195. Doi: 10.1104/pp.26.1.192

- Hager, A., G. Debus, H.G. Edel, H. Stransk e R. Serrano. 1991. Auxin induces exocytosis and rapid synthesis of a high-turnover pool of plasma-membrane H⁺-ATPase. *Planta* 185(4), 527-537. Doi: 10.1007/BF00202963
- Khalid, A., M. Arshad e Z.A. Zahir. 2004. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *J. Appl. Microbiol.* 96(3), 473-480. Doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.02161.x
- Kozusny-Andreani, D.I. e R. Andreani Junior. 2014. Colonização rizosférica e promoção do crescimento por rizóbios em mudas de alface. *Nucleus* 11(2), 443-452. Doi: 10.3738/1982.2278.1108
- Lambrecht, M., Y. Okon, A. Vande Broek e J. Vanderleyden. 2000. Indole-3-acetic acid: a reciprocal signalling molecule in bacteria-plant interactions. *Trends Microbiol.* 8(7), 298-300. Doi: 10.1016/S0966-842X(00)01732-7
- López, D.B.S., A.M.G. Hoyos, F.A.R. Perdomo e R.R.B. Buitrago. 2014. Efecto de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal solubilizadoras de fosfato em *Lactuca sativa* cultivar White Boston. *Rev. Colomb. Biotechnol.* 16(2), 122-128. Doi: 10.15446/rev.colomb.biote.v16n2.41077
- Malavolta E., F. Pimentel-Gomes e J.C. Alcarde. 2002. Adubos e adubação. Ed. Agronômica Ceres, São Paulo, Brasil.
- Mariano, R.L.R., E.B. Silveira, S.M.P. Assis, A.M.A. Gomes, A.R.P. Nascimento e V.M.T.S. Donato, 2004. Importância das bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. *Anais Acad. Pernambucana Ciênc. Agron.* 1(1), 89-111.
- Miguel, F.B., R.K. Grizotto e R.P.B. Furlaneto. 2010. Custo de produção de alface em sistema de cultivo orgânico. *Pesqui. Tecnol.* 7(2), 1-6.
- Moreira, F.M.S. e J.O. Siqueira. 2006. Microbiologia e bioquímica do solo. UFPA, Lavras, Brasil.
- Moreira, F.M.S., K. Silva, R.S.A. Nóbrega e F. Carvalho. 2010. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. *Comunicata Scientiae* 1(2), 74-99.
- Patten, C.L. e B.R. Glick. 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Can. J. Microbiol.* 42(3), 207-230. Doi: 10.1139/m96-032
- Pedrinho, E.A.N., R.R. Galdiano Júnior, J.C. Campanharo, L.M.C. Alves e E.G.M. Lemos. 2010. Identificação e avaliação de rizobactérias isoladas de raízes de milho. *Bragantia* 69(4), 905-911. Doi: 10.1590/S0006-87052010000400017
- Radwan, T.E.E., Z.K. Mohamed e V.M. Reis. 2004. Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 39(10), 987-994. Doi: 10.1590/S0100-204X2004001000006
- Ramaih, S., M. Guedira, G. Paulsen e G.M. Paulsen. 2003. Relationship of indoleacetic acid and tryptophan to dormancy and preharvest sprouting of wheat. *Funct. Plant Biol.* 30(9), 939-945. Doi: 10.1071/FP03113
- Ryan R.P., K. Germaine, A. Franks, D.J. Ryan e D.N. Dowling. 2008. Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS Microbiol. Lett.* 278(1), 1-9. Doi: 10.1111/j.1574-6968.2007.00918.x
- Sabino, D.C.C., J.S. Ferreira, S.L. Guimarães e V.L.D. Baldani. 2012. Bactérias diazotróficas como promotoras do desenvolvimento inicial de plântulas de arroz. *Enciclopédia Biosfera* 8(15), 2337- 2345.
- Schindwein, G., L.K. Vargas, B.B. Lisboa, A.C. Azambuja, C.E. Granada, N.C. Gabiatti, F. Prates e R. Stumpf. 2008. Influência da inoculação de rizóbios sobre a germinação e o vigor de plântulas de alface. *Ciênc. Rural* 38(3), 658-664. Doi: 10.1590/S0103-84782008000300010
- Silva, E.M.NCP., R.L.F. Ferreira, S.E. Araújo Neto, L.B. Tavelle e A.J.S. Solino. 2011. Qualidade de alface crespa cultivada em sistema orgânico, convencional e hidropônico. *Hortic. Bras.* 29: 242-245. Doi: 10.1590/S0102-05362011000200019
- Sondegaard, T.E., A. Schulza e M.G. Palmgren. 2004. Energization of transport processes in plants. Roles of plasma membrane H⁺-ATPase. *Plant Physiol.* 136(1), 2475-2482. Doi: 10.1104/pp.104.048231
- Spaepen, S., J. Vanderleyden e R. Remans. 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol.* 31(43), 425-448. Doi: 10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x
- Szilágyi-Zecchin, V.J., A.F. Mógor, L. Ruaro e C. Röder. 2015. Crescimento de mudas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) estimulado pela bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. plantarum FZB42 em cultura orgânica. *Rev. Ciênc. Agr.* 38(1), 26-33.
- Taiz, L. e E. Zeiger. 2004. Fisiologia vegetal. 3. ed. Artmed, Porto Alegre, Brasil.
- Vargas, L.K., B.B. Lisboa, G. Schindwein, C.E. Granada, A. Ginongo e L.M.P. Passaglia. 2015. Occurrence of plant growth-promoting traits in clover-nodulating rhizobia strains isolated from different soils in Rio Grande do Sul state. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 33(5), 1227-1235. Doi: 10.1590/S0100-06832009000500016
- Wier, M. e C. Calverley. 2002. Market potential for organic foods in Europe. *Brit. Food J.* 104(1), 45-62. Doi: 10.1108/00070700210418749