

## **EFEITO DE BACTÉRIAS NA GERMINAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E CO-INOCULAÇÃO EM MUDAS DE ABACAXIZEIRO**

*Sueli Aparecida Gomes Soares*  
Bióloga, M.Sc., UFPE, Departamento de Micologia  
E-mail: [sueliags@bol.com.br](mailto:sueliags@bol.com.br)

*Rosa de Lima Ramos Mariano*  
Professor Visitante da UFRPE, Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade  
E-mail: [rmariano@truenet.com.br](mailto:rmariano@truenet.com.br)

*Uided Maaze Tibúrcio Cavalcante*  
Prof. Adjunto, UFPE, Departamento de Micologia  
E-mail: [umaaze@yahoo.com.br](mailto:umaaze@yahoo.com.br)

*Leonor Costa Maia*  
Prof. Adjunto, UFPE, Departamento de Micologia, Bolsista de Produtividade em Pesquisa CNPq  
E-mail: [leonorcmaia@yahoo.com.br](mailto:leonorcmaia@yahoo.com.br)

**RESUMO** - Foi avaliado o efeito de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) na germinação de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e da co-inoculação desses microrganismos, na aclimatização de mudas micropropagadas do abacaxizeiro cv. Pérola. No estudo de germinação foram realizados três experimentos em DIC, um para cada FMA (*Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum*, *Scutellospora heterogama*) x BPCP (C210, RAB9, ENF10) e controle, onde bactérias e esporos de FMA foram inoculados em placa com ágar-água. O estudo de co-inoculação foi realizado em DIC, fatorial de 5 (*G. albida*, *G. etunicatum*, *S. heterogama*, mistura de FMA e controle) x 5 (C210, RAB9, ENF10, mistura de BPCP e controle) em potes. Aos 21 dias, RAB9 estimulou a germinação de *G. albida* em relação às demais BPCP e ENF10 estimulou a germinação de *G. etunicatum* em relação à ausência de bactérias, onde os esporos não germinaram. Aos 28 dias, C210 inibiu a germinação de *G. albida*. Nos dois períodos, *G. albida* apresentou maior taxa de germinação. *G. albida* induziu melhor crescimento das mudas do que *G. etunicatum*, na ausência de BPCP, mas este efeito foi reduzido por C210 e mistura de BPCP. Confirmou-se que a germinação de FMA pode ser estimulada ou inibida em presença de BPCP enquanto a simbiose micorrízica pode ser inibida. Em geral, não houve benefício da co-inoculação de FMA e BPCP sobre o abacaxizeiro cv. Pérola, até 90 dias da aclimatização.

**Palavras-chave** - *Ananas comosus*, micorriza, FMA, bactérias promotoras do crescimento de plantas, aclimatização.

## **EFFECT OF BACTERIA ON GERMINATION OF ARBUSCULAR MYCORRIZAL FUNGI AND THEIR CO-INOCULATION ON PINEAPPLE SEEDLINGS**

**ABSTRACT** - The effect of plant growth-promoting bacteria (PGPB) on spore germination of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and the co-inoculation of these organisms on acclimatization of micropropagated pineapple cv. Pérola seedlings were evaluated. The germination study was performed in a completely randomized design (CRD), factorial of 3 (*G. albida*, *G. etunicatum*, *S. heterogama*) x 4 (C210, RAB9, ENF10 and control) with five replicates, in plate with water-agar, where the bacteria and spores were inoculated and evaluated after 21 and 28 days. The co-inoculation study was performed in a CRD, factorial of 5 (*G. albida*, *G. etunicatum*, *S. heterogama*, mixture of AMF and control) x 5 (C210, RAB9, ENF10, mixture of PGPB and control) and six replicates. At the 21<sup>th</sup> day RAB9 stimulated germination of *G. albida* in relation to the others PGPB; ENF10 stimulated the germination of *G. etunicatum* in relation to absence of bacteria, where the spores did not germinate; differences were not observed for *S. heterogama*. At the 28<sup>th</sup> day C210 inhibited the germination of *G. albida*. In both periods, *G. albida* showed higher germination rate. In absence of PGPB, *G. albida* improved growth more than *G. etunicatum*. The effect of *G. albida* on seedlings can be inhibited by C210 and by the bacterial mixture. It was confirmed that AMF germination can be stimulated or inhibited in presence of PGPB while the mycorrhizal symbiosis can be inhibited. In general co-inoculation of AMF and PGPB did not improve growth of pineapple cv. Pérola during the acclimatization period until the 90<sup>th</sup> day.

**Key words** - *Ananas comosus*, mycorrhiza, AMF, plant growth-promoting bacteria, acclimatization.

## INTRODUÇÃO

O abacaxizeiro (*Ananas comosus* L.), fruto de regiões tropicais e subtropicais, é apreciado *in natura* ou processado na forma de sucos, compotas, polpas, doces e bebidas. O Brasil ocupa o terceiro lugar no mercado mundial dessa bromeliácea com destaque das cultivares Smooth Cayenne (Cayenne), Pérola (Pernambuco) e Boituva (Amarelo Comum) (GRANADA *et al.*, 2004).

A técnica de micropropagação possibilita a multiplicação em massa de mudas com características geneticamente superiores, livres de patógenos, em espaço físico reduzido e curto período de tempo. Entretanto, tais mudas são altamente sensíveis às variações externas e dependentes da fertilidade do substrato, exigindo extremo cuidado em seu manejo, principalmente na fase de aclimatização (LOVATO *et al.*, 1996).

A cultura de tecidos também elimina todos os microrganismos associados ao tecido vegetal, incluindo os mutualistas, como bactérias benéficas e os fungos micorrízicos arbusculares (FMA), que podem melhorar o desempenho da planta sob condições de estresse e aumentar o rendimento (NOWAK, 1998).

Trabalhos sobre a associação de FMA e plântulas micropropagadas de abacaxi são escassos e têm demonstrado benefícios de crescimento que dependem da cultivar, do FMA e de fatores ambientais. Expósito *et al.* (1994) obtiveram aumentos significativos na altura, área foliar e biomassa seca de plântulas de abacaxizeiro cv. Smooth Cayenne, nos tratamentos com FMA. Resultados semelhantes foram obtidos por Guillemin *et al.* (1992) com três cultivares de abacaxi micropropagadas. Plântulas micropropagadas de abacaxi cv. Pérola inoculadas com FMA durante a aclimatização, quando transplantadas para o campo, apresentaram-se, após o 6º e o 12º mês, mais desenvolvidas que as não micorrizadas (MATOS e SILVA, 1996). Por outro lado, *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann, mesmo apresentando altos índices (70%) de colonização de raízes do abacaxizeiro cv. Smooth Cayenne, não promoveu o crescimento da planta (SIQUEIRA *et al.*, 1996).

Pesquisas vêm sendo realizadas com a associação de microrganismos do solo que promovem efeitos positivos no crescimento da planta, como FMA e Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal (BPCP) (LOVATO *et al.*, 1996). A inoculação de *Burkholderia bogorensis* e *B. cepacia* em mudas micropropagadas do abacaxizeiro cv. Cayenne Champac proporcionou aumentos na massa fresca dos frutos de, respectivamente, 19,4% e 9,9% (GRANADA *et al.*, 2004). A co-inoculação simultânea com FMA (*Glomus intraradices* Schenck & Smith e *G. geosporum* (Nicol. & Gerd.) Walker) e *Azospirillum brasilense* Tarrand *et al.* em mudas de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) apresentou efeito sinérgico no crescimento (MUTHUKUMAR *et al.*, 2001). No entanto, a inoculação de bactérias diazotróficas não apresentou efeito estimulatório, enquanto inoculações com FMA

isoladamente e em conjunto com as bactérias, aumentaram todas as variáveis de crescimento e nutricionais em plântulas de mandioca micropropagadas (BALOTA *et al.*, 1997). Em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. 'Rutgers') inoculado com *Glomus fasciculatum* (Gerdemann & Trappe) Walker & Koske e *Azotobacter chroococcum* Beijerinck, houve aumento significativo da biomassa em relação ao controle não inoculado, sugerindo a existência de sinergismo entre esses microrganismos (BAGYARAJ e MENGE, 1978). Portanto, a dupla inoculação com FMA e bactérias poderá constituir uma ferramenta biotecnológica, visando incrementar o desenvolvimento e a sanidade das plântulas, melhorando a adaptação e reduzindo o estresse no transplântio (AZCÓN-AGUILAR e BAREA, 1997).

As BPCP podem atuar inibindo ou estimulando a germinação de esporos de FMA conforme observado por Carpenter-Boggs *et al.* (1995), o que pode influenciar os resultados da co-inoculação visando o crescimento de mudas.

Os objetivos deste estudo foram avaliar o efeito, *in vitro*, de BPCP sobre a germinação de esporos de FMA e o efeito da co-inoculação destes microrganismos na fase de aclimatização de mudas micropropagadas do abacaxizeiro cv. Pérola.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os isolados bacterianos foram obtidos na coleção de Culturas do Laboratório de Fitobacteriologia (Área de Fitossanidade, Departamento de Agronomia, UFRPE): *Bacillus cereus* Frankland & Frankland (C210), *Bacillus* sp. (RAB9) e *B. thuringiensis* subvar. *kurstakii* Beliner (ENF10) isolados, respectivamente, de folhas de couve e rabanete (epifíticas), e de sementes de feijão (endofítica), preservadas em água.

Foram utilizados esporos de *Gigaspora albida* Schenck & Smith (UFPE 01), *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann (UFPE 08) e *Scutelospora heterogama* (Nicolson & Gerdemann) Walker & Sanders (UFPE 12), pertencentes à coleção do Laboratório de Micorrizas da UFPE. Os esporos dos FMA foram recuperados do solo por peneiramento úmido (GERDEMANN e NICOLSON, 1963), centrifugados em água e sacarose (JENKINS, 1964) e selecionados em microscópio estereoscópico (40x).

**Germinação dos esporos de FMA** – Foram conduzidos três experimentos distintos, em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com cinco repetições, usando combinações de um FMA (*G. albida*, *S. heterogama* ou *G. etunicatum*) e BPCP (RAB9, ENF10 e C210) e controle sem bactéria.

Em câmara de fluxo laminar, os esporos de FMA foram desinfestados em solução de hipoclorito de sódio (P.A. 5% de cloro livre, na concentração de 0,05%) por 2 minutos (NUTILA *et al.*, 1995) e em estreptomicina (200

mg L<sup>-1</sup>) por 20 minutos e lavados 5 vezes com água destilada esterilizada (BAREA *et al.*, 1998).

A partir de culturas com 36 horas em meio NYDA, suspensões bacterianas foram preparadas em água destilada esterilizada, com uma gota de Tween 80 e ajustadas para concentrações de A<sub>590</sub> = 0,7 de absorvância, correspondente a 2 × 10<sup>7</sup> ufc mL<sup>-1</sup>.

Em placas de Petri (9 cm de diâmetro) com 20 mL de ágar-água a 8% pH 6,4, foram semeados 50 µL das suspensões bacterianas. Em seguida, seis esporos de cada espécie de FMA, superficialmente desinfestados, foram transferidos individualmente para cada placa inoculada com bactérias e colocados em vértices de um hexágono imaginário com aproximadamente 3,5 mm de distância entre si (BAREA *et al.*, 1998). As placas foram vedadas com plástico autocolante, embrulhadas em papel alumínio e incubadas em temperatura ambiente (28 ± 2°C), no escuro.

A germinação foi avaliada aos 21 e 28 dias, sendo o esporo considerado germinado quando o tubo germinativo estava claramente visível. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste LSD a 5% de probabilidade utilizando-se o programa Statistica (STATSOFT, 1995).

**Co-inoculação em mudas de abacaxizeiro micropropagadas** – O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Departamento de Micologia da UFPE. Como substrato foi usado uma mistura de solo com húmus de minhoca, na proporção de 2:1 (solo: húmus v/v), conforme recomendado para o preparo de mudas micropropagadas de abacaxi pelo Laboratório de Cultura de Tecidos da UFRPE. Este substrato foi desinfestado com Bromex<sup>®</sup> (98% de brometo de metila + 2% de cloropicrina), 30 dias antes da utilização e apresentou as seguintes características: pH = 5,7; P = 122 mg dm<sup>-3</sup>; K = 180 mg dm<sup>-3</sup>; Ca = 9,00 mg dm<sup>-3</sup>; Mg = 3,27 mg dm<sup>-3</sup>; Al = 0,04 mg dm<sup>-3</sup>; Na = 220 mg dm<sup>-3</sup>; Zn = 3,2 mg dm<sup>-3</sup>; Cu = 1,0 mg dm<sup>-3</sup>; Fe = 110 mg dm<sup>-3</sup>; Mn = 35 mg dm<sup>-3</sup>; H = 4,01 mg dm<sup>-3</sup>; S = 13,69 meq 100g<sup>-1</sup>; C = 4,22%; M.O = 7,28%.

Plântulas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola, não aclimatadas, com aproximadamente 5 cm de altura, foram adquiridas na Empresa Verde-Vitro (Recife, PE).

Os esporos de FMA foram multiplicados em solo em associação com *Panicum milliactium* L. (*G. etunicatum* e *S. heterogama*) ou com *Malpighia emarginata* D.C. (*G. albida*). Os isolados bacterianos foram preparados conforme descrito anteriormente.

Para bacterização das plântulas, as raízes foram imersas por 30 minutos na suspensão bacteriana e as testemunhas tratadas apenas com água destilada. Após a imersão, as plântulas foram transferidas para potes com capacidade para 500 mL contendo 450 g do substrato. Nesse momento foram colocados junto às raízes 100

esporos de cada FMA e nos tratamentos com a mistura, 33 esporos de cada um dos fungos.

O delineamento experimental foi do tipo inteiramente casualizado, em arranjo fatorial de 5 × 5, correspondendo a cinco tratamentos de inoculação com FMA (*G. albida*, *G. etunicatum*, *S. heterogama*, a mistura desses fungos e controle não inoculado) e cinco tratamentos com bactérias (C210, RAB9, ENF10, a mistura dos isolados bacterianos e controle não bacterizado), com seis repetições.

Os potes foram mantidos em casa de vegetação e irrigados em dias alternados. Diariamente foram registradas com auxílio de termohigrômetro (TFA, Alemanha) a temperatura e a umidade relativa do ar que corresponderam, respectivamente, a mínimas de 23°C e 50% e máximas de 32°C e 81%.

Aos 90 dias, as plantas foram coletadas, pesadas e avaliadas: área foliar, biomassa fresca e seca da parte aérea e percentagem de raiz colonizada. A área foliar foi calculada no programa SIARCS-EMBRAPA. A biomassa seca da parte aérea foi obtida após as plantas atingirem peso constante (estufa com circulação de ar a 65°C). O percentual de colonização foi avaliado em raízes clarificadas e coradas com 0,05% de Azul de Trypan em lactoglicerol (PHILLIPS e HAYMAN, 1970), segundo a técnica de interseção dos quadrantes (GIOVANNETTI e MOSSE, 1980). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste LSD a 5% de significância utilizando-se o programa Statistica.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Germinação dos esporos de FMA** – Em geral, para todos os isolados de FMA a esterilização superficial possibilitou a germinação dos esporos no meio ágar-água, sem contaminação, até os 28 dias de incubação. Apesar dos FMA serem biotróficos obrigatórios, os seus esporos são capazes de germinar espontaneamente, em água destilada ou em ágar-água utilizando as reservas nutricionais (SIQUEIRA *et al.* 1985; MAIA e YANOMELO, 2001), no entanto, o crescimento do micélio cessa quando as reservas do esporo são exauridas e/ou raízes hospedeiras não estão presentes no ambiente (BUEE *et al.*, 2000).

**G. albida × RAB9, ENF10 e C210** - Os esporos de *G. albida* apresentaram as taxas de germinação mais elevadas. Na ausência de bactérias, as taxas variaram de 53,3 a 90,0% aos 21 dias e de 40,0 a 96,6 aos 28 dias, sem diferenças significativas entre os períodos (Tabela 1). Valores semelhantes foram obtidos por Romero e Siqueira (1996). A taxa de germinação de esporos de *G. albida* também foi elevada nos meios ágar-água e Murashige e Skoog (MS), respectivamente, sem alteração entre os períodos de 21 e 28 dias (MAIA e YANOMELO, 2001).

**Tabela 1.** Efeito de isolados bacterianos promotores do crescimento de plantas (BPCP) sobre a germinação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) *in vitro*, aos 21 e 28 dias após incubação em meio ágar-água, na ausência de luz, a temperatura de 28±2°C

Tratamentos	Germinação dos esporos de FMA (%)	
	21 dias	28 dias
<i>Gigaspora albida</i>	70,0abA	73,3aA
<i>Gigaspora albida</i> + RAB9	90,0aA	96,6aA
<i>Gigaspora albida</i> + ENF10	56,6bA	73,3aA
<i>Gigaspora albida</i> + C210	53,3bA	40,0bA
<i>Glomus etunicatum</i>	0,0bB	23,3aA
<i>Glomus etunicatum</i> + RAB9	6,7abA	13,3aA
<i>Glomus etunicatum</i> + ENF10	20,0aA	13,3aA
<i>Glomus etunicatum</i> + C210	3,3abA	13,3aA
<i>Scutellospora heterogama</i>	13,7aA	36,6aA
<i>Scutellospora heterogama</i> + RAB9	10,0aA	26,6aA
<i>Scutellospora heterogama</i> + ENF10	13,3aA	36,6aA
<i>Scutellospora heterogama</i> + C210	13,3aA	33,3aA

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na vertical para cada FMA e maiúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de LSD a 5% de probabilidade. BPCP: RAB9 = *Bacillus* sp.; ENF10 = *Bacillus thuringiensis* subvar. *kurstakii*; C210 = *Bacillus cereus*

Aos 21 dias, os esporos de *G. albida* mantidos em placas com o isolado bacteriano RAB9 (*Bacillus* sp.) apresentaram maior percentagem de germinação do que os mantidos com os isolados ENF10 (*Bacillus thuringiensis* subvar. *kurstakii*) e C210 (*Bacillus cereus*), não diferindo do controle. Aos 28 dias, a germinação de *G. albida* foi inibida na presença de C210 em relação aos demais tratamentos (Tabela 1). Este isolado também inibiu o crescimento *in vitro* de *Fusarium subglutinans* Wollenweb. & Reinking (= *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*) (MELLO, 2001). Os metabólitos produzidos por C210 não foram identificados, mas sabe-se que muitas espécies de *Bacillus* são produtoras de antibióticos (MELO, 1998), os quais podem atuar de diferentes maneiras na germinação dos esporos, dependendo da substância e da concentração utilizada (COLOZZI-FILHO *et al.*, 1994).

***G. etunicatum* × RAB9, ENF10, C210** - Aos 21 dias, não houve germinação dos esporos de *G. etunicatum* na ausência de bactérias, observando-se um estímulo por ENF10 (*Bacillus thuringiensis* subvar. *kurstakii*). Já aos 28 dias de incubação a germinação foi baixa em todos os tratamentos (Tabela 1). Esporos de *G. margarita* também foram estimulados e apresentaram alta percentagem de germinação na presença da bactéria *Streptomyces orientalis* Pittenger & Brigham, em meio ágar-água, (TYLKA *et al.*, 1991). Aumentos na taxa de germinação de esporos de FMA por *Pseudomonas* também foram observados por Barea *et al.* (1998).

A germinação de *G. etunicatum* foi baixa (<24%) independentemente da presença das bactérias e do período de avaliação. É possível que o isolado utilizado neste trabalho necessite de estímulos externos, do tipo exsudatos radiculares, para alcançar melhor índice de

germinação. Outras bactérias de solo também podem estimular a germinação de espécies de *Glomus*, tais como *S. orientalis* (TYLKA *et al.*, 1991)

***S. heterogama* × RAB9, ENF10, C210** - A presença das BPCP e os períodos de incubação não influenciaram a germinação de *S. heterogama* que variou de 26,6 a 36,6% aos 28 dias (Tabela 1). Existem relatos da dependência de *S. heterogama* em relação a *Azospirillum brasilense*, bactéria fixadora de nitrogênio, para a colonização de raízes de maracujazeiro (GRAÇA *et al.*, 1991). Segundo Tylka *et al.* (1991), diferenças significativas na germinação de esporos de *S. heterogama* associados a *S. orientalis*, só foram observadas 26 dias após o plaqueamento e máxima percentagem de germinação (32%) foi obtida após 65 dias. Taxas de germinação de *S. heterogama* podem ser relativamente elevadas (69%) (PAULA *et al.*, 1990a) ou baixas (14%) (PAULA *et al.*, 1990b).

As BPCP utilizadas, possivelmente, não produzem substâncias fungistáticas, pois só em poucas ocasiões houve efeito negativo das mesmas sobre a germinação dos esporos de FMA.

#### **Co-inoculação em mudas de abacaxizeiro micropropagadas**

– Houve interação entre os tratamentos com FMA e com as BPCP. Na ausência de bactérias, os FMA não proporcionaram aumento significativo de crescimento em mudas de abacaxizeiro cv. Pérola em relação ao controle (sem fungos). Comparando os tratamentos com FMA, na ausência das bactérias, as mudas inoculadas com *G. albida* apresentaram maiores médias de biomassa e área foliar do que as associadas com *G. etunicatum* (Tabela 2).

**Tabela 2.**— Efeito da co-inoculação com isolados bacterianos promotores do crescimento de plantas (BPCP) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA) sobre o crescimento de mudas micropropagadas de abacaxizeiro ‘Pérola’, aos 90 dias após a inoculação

Tratamento com FMA	Tratamentos com BPCP				
	Sem bactéria	RAB9	ENF10	C210	Mistura BPCP
Biomassa fresca da parte aérea (g)					
Sem fungo	2,01abA	1,52abA	1,71aA	1,48aA	1,08aA
<i>Scutellospora heterogama</i>	2,07abA	1,30abA	2,16aA	1,51aA	1,06aA
<i>Glomus etunicatum</i>	1,24bA	1,41abA	2,00aA	1,41aA	1,41aA
<i>Gigaspora albida</i>	2,39aA	2,03aAB	2,00aAB	1,38aB	1,42aAB
Mistura FMA	1,76abA	0,85bA	1,78aA	2,08aA	1,23aA
Biomassa seca da parte aérea (g)					
Sem fungo	0,20abA	0,15abA	0,17aA	0,15aA	0,11aA
<i>Scutellospora heterogama</i>	0,20abAB	0,13abAB	0,22aA	0,14aAB	0,10aB
<i>Glomus etunicatum</i>	0,13bA	0,13abA	0,21aA	0,14aA	0,15aA
<i>Gigaspora albida</i>	0,24aA	0,21aAB	0,21aAB	0,15aB	0,16aAB
Mistura FMA	0,18abA	0,08bA	0,19aA	0,20aA	0,12aA
Área foliar (cm <sup>2</sup> )					
Sem fungo	65,15abA	47,75abA	52,50aA	48,22aA	37,39abA
<i>Scutellospora heterogama</i>	63,40abA	53,74abA	54,65aA	45,91aAB	19,85bB
<i>Glomus etunicatum</i>	39,28bA	40,70abA	65,55aA	47,38aA	47,48aA
<i>Gigaspora albida</i>	78,26aA	61,87aAB	60,19aAB	41,72aB	42,71abB
Mistura FMA	60,58abA	27,98bB	56,83aAB	59,97aAB	38,06abAB

Médias seguidas de mesma letra, minúsculas na vertical para cada FMA e maiúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de LSD a 5% de probabilidade. BPCP: RAB9 = *Bacillus* sp.; ENF10 = *Bacillus thuringiensis* subvar. *kurstakii*; C210 = *Bacillus cereus*. Mistura FMA = *Scutellospora heterogama* + *Glomus etunicatum* + *Gigaspora albida*

Comparando os tratamentos de co-inoculação (FMA × BPCP) verificou-se que na presença de RAB9 houve maior crescimento das mudas quando inoculadas com *G. albida* em relação à mistura de FMA, sem no entanto diferir da testemunha. Na presença da mistura de BPCP, as diferenças foram observadas apenas na área foliar das mudas inoculadas com *G. etunicatum* que apresentaram valores maiores do que àquelas inoculadas com *S. heterogama*, sem no entanto diferir da testemunha (Tabela 2).

Os resultados obtidos no estudo de germinação *in vitro* repetiram-se no estudo de co-inoculação apenas no tratamento com *G. albida* × C210 (*B. cereus*) cujas mudas apresentaram menores valores das variáveis de crescimento estudadas do que aquelas na ausência de bactérias. Aparentemente, o efeito do fungo no crescimento da planta foi inibido pela presença da bactéria. Comportamento semelhante foi observado no tratamento mistura de BPCP na presença de *G. albida* em relação à área foliar. A mistura de BPCP também proporcionou efeito negativo na co-inoculação com *S. heterogama* em relação à biomassa seca da parte aérea e área foliar (Tabela 2).

Respostas diferenciadas no crescimento de variedades de abacaxizeiro foram obtidas com a inoculação de diferentes isolados de *Glomus* e *Scutellospora* (GUILLEMIN *et al.*, 1992).

Por outro lado, resultados positivos da inoculação de abacaxizeiros com FMA sobre o crescimento de plantas da cultivar ‘Pérola’ foram obtidos após 12 meses de manutenção no campo; no entanto, durante o período de aclimatização, não houve benefício da inoculação sobre o vigor das mudas (MATOS e SILVA, 1996). Esses resultados indicam que as respostas da simbiose são diferenciadas de acordo com o genótipo da planta e do fungo, entre outros fatores, o que também foi verificado em aceroleiras (COSTA *et al.*, 2001). Devem ser consideradas ainda as diferenças entre as condições adotadas nos experimentos e o tempo decorrido entre a inoculação e a avaliação dos experimentos. É possível que maior efeito da inoculação fosse evidenciado caso as plantas tivessem permanecido mais tempo em casa-de-vegetação. Conforme observado por Guillemín *et al.* (1992), efeito positivo da micorrização sobre o crescimento de abacaxizeiros foi observado só após 150 dias do início do experimento. Do mesmo modo, Matos e

Silva (1996) obtiveram resultados com a micorrização de abacaxizeiros quando estes foram mantidos no campo por, no mínimo, seis meses. No experimento aqui relatado optou-se por colher as plântulas aos 90 dias para caracterizar o efeito da inoculação apenas no período de aclimatização das mudas.

Na ausência dos FMA, as bactérias não influenciaram significativamente o crescimento das mudas do abacaxi cv. Pérola. Resultados positivos da inoculação da bactéria diazotrófica *Burkholderia bogorensis* AB219, isolada de abacaxizeiro, foram obtidos por Weber *et al.* (2004) que verificaram aumentos de 19,4 e 17,3% na massa fresca dos frutos, respectivamente, com e sem coroa, do abacaxi cv. Cayenne Champac. Estes autores observaram também menores taxas de crescimento (9,9%) na associação com *B. cepacia* AB213 e associaram a inoculação bacteriana à adubação nitrogenada.

Desde que existem interações específicas bactéria-hospedeiro, nem sempre ocorre promoção de crescimento. Desta forma, RAB9, C210 e ENF10, isoladas de hospedeiros diversos, também não promoveram para crescimento significativo da biomassa seca da parte aérea e área foliar em mudas de abacaxizeiro 'Pérola' (MELLO *et al.*, 2002). Similarmente, RAB9 e C210 também não promoveram o crescimento de mudas orgânicas de alface 'Verônica' e de pepino, respectivamente após 21 dias de bacterização de sementes e substrato (GOMES *et al.*, 2003) ou após 10 dias da bacterização de sementes (SILVEIRA *et al.*, 2004).

Os valores de biomassa fresca e seca da parte aérea das mudas de abacaxi cv. Pérola foram inferiores aos referidos por Guillemain *et al.* (1992) para 'Smooth Cayenne', 'Queen Tahiti' e 'Spanish'. No entanto, naquele trabalho, além da cultivar de abacaxizeiro ser diferente, as plantas foram irrigadas semanalmente com solução de Hoagland isenta de fósforo.

Embora não quantificada, a colonização pelos FMA foi constatada pela presença de micélio externo em todas as raízes inoculadas; células auxiliares também foram formadas nos tratamentos com *G. albida* e *S. heterogama*. Em experimento com mudas micropropagadas de abacaxizeiro 'Pérola', Matos e Silva (1996) não mencionaram dados de colonização micorrízica. Fortes (1993) e Siqueira *et al.* (1996) verificaram que embora *G. etunicatum* tenha colonizado raízes de abacaxi da cv. Smooth Cayenne, não beneficiou o crescimento das plantas.

## CONCLUSÕES

Houve interação entre FMA e BPCP, tanto para germinação de esporos como para promoção de crescimento das plantas. A germinação de *G. albida* é estimulada na presença de *Bacillus* sp. (RAB9), mas é reduzida por *Bacillus cereus* (C210) e *B. thuringiensis* (ENF10). *B. thuringiensis* favorece a germinação de *G. etunicatum*. Em geral, nos dois períodos, *G. albida* apresentou maior taxa de germinação. Na ausência de

BPCP, *G. albida* induziu melhores respostas de crescimento das mudas do que *G. etunicatum*. A atuação de *G. albida* em mudas de abacaxizeiro 'Pérola' é melhor que a de *G. etunicatum*, sendo diminuída em presença de *Bacillus cereus* (C210) e pela mistura de bactérias. Confirmou-se que a germinação de FMA pode ser estimulada ou inibida em presença de BPCP enquanto a simbiose micorrízica pode ser inibida. Em geral, não houve benefício da co-inoculação de FMA e BPCP sobre o abacaxizeiro cv. Pérola, até 90 dias de aclimatização.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZCÓN-AGUILAR, R. C.; BAREA, I. M. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.68, p.1-24, 1997.

BAGYARAJ, D. J.; MENGE, J. A. Interaction between a VA Mycorrhiza and *Azotobacter* and their effects on rhizosphere microflora and plant growth. **New Phytologist**, Cambridge, v.80, p.567-573, 1978.

BALOTA, E. L.; LOPES, E. S.; HUNGRIA, M.; DÖBEREINER, J. Inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos-arbusculares na cultura da mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, p.1335-1345, 1997.

BAREA, J. M.; ANDRADE, G.; BIANCIOTTO, V.; DOWLING, D.; LOHRKE, S.; BONFANTE, P.; O'GARA, F.; AZCÓN-AGUILAR, C. Impact on arbuscular mycorrhiza formation of *Pseudomonas* strains used as inoculants for biocontrol of soil-borne fungal plant pathogens. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.64, p.2304-2307, 1998.

BUEE, M.; ROSSIGNOL, M.; JAUNEAU, A.; RANJEVA, R.; BÉCARD, G. The pre-symbiotic growth of arbuscular mycorrhizal fungi is induced by a branching factor partially purified from plant root exudates. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Chester, v.13, p.693-698, 2000.

CARPENTER-BOGGS, L.; LOYNACHAM, T. E.; STAHL, P. D. Spore germination of *Gigaspora margarita* stimulated by volatiles of soil-isolated actinomycetes. **Soil Biology and Biochemistry**, Exeter, v.27, p.1445-1451, 1995.

COLOZZI FILHO, A.; SIQUEIRA, J. O.; OLIVEIRA, E. Desinfestação superficial de esporos de fungos micorrízicos vesicular-arbusculares. I- Efeito da concentração e tempo de exposição de agentes desinfestantes e antibióticos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, p.1119-1127, 1994.

- COSTA, C. M. C.; MAIA, L. C.; CAVALCANTE, U. M. T.; NOGUEIRA, R. J. M. Influência dos fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de dois genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* DC). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, p.893-901, 2001.
- EXPÓSITO, G. L. A.; DOMÍNGUEZ, M. Q.; GONZALEZ, R. R.; MARTINEZ, R. T.; HIDALGO, S. M.; GONZALEZ, O. J. L. Efectividad de seis hongos MVA en vitro plantas de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr) cv. Cayena Lisa. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.16, p.41-47, 1994.
- FORTES, S. T. **Identificação de espécies nativas de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares e seus efeitos sobre mudas micropropagadas de abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill) cv. Smooth Cayenne**. 1993. 133f. Dissertação (Mestrado em Criptógamos) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1993.
- GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v.46, p.235-244, 1963.
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, Cambridge, v.84, p.489-500, 1980.
- GOMES, A. 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**, Brasília, v.21, p.699-703, 2003.
- GRAÇA, J.; MACHADO, J. O.; RUGGIERO, C.; ANDRIOLI, J. L. Eficiência de fungos endomicorrízicos e da bactéria *Azospirillum brasiliensis* sobre o desenvolvimento de mudas de maracujá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.13, p.25-130, 1991.
- GRANADA, G.G.; ZAMBLAZI, R.C.; MENDONÇA, C.R.B. Abacaxi: produção, mercado e subprodutos. **Boletim Ceppa**, Curitiba, v.22, p. 405-422, 2004.
- GUILLEMIN, J. P.; GIANINAZZI, S.; TROUVELOT, A. Screening of arbuscular endomycorrhizal fungi for establishment of micropropagated pineapple plants. **Agronomie**, Paris, v.12, p.831-836, 1992.
- JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-floatation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v.48, p.692, 1964.
- LOVATO, P. E.; TROUVELOT, A.; GIANINNAZZI-PEARSON, V.; GIANINNAZZI, S. Micorrização de plantas micropropagadas. In: SIQUEIRA, J. O. (ed.) **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, DCS/DCF, 1996. p.195-201.
- MAIA, L.C.; YANO-MELO, A.M. Germination and germ tube growth of the arbuscular mycorrhizal fungi *Gigaspora albida* in different substrates. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.32, p.281-285, 2001.
- MATOS, R. M. B.; SILVA, E. M. R. Effect of inoculation by arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of micropropagated pineapple plants. **Fruit**, Paris, v.51, p.115-119, 1996.
- MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (eds.). **Controle Biológico**. EMBRAPA: Jaguariúna, 1998. v.1, p.262.
- MELLO, M. R. F. **Efeito de bactérias na promoção de crescimento e fusariose em mudas de abacaxi micropropagadas**. 2001. 92f. (Dissertação de Mestrado em Fitossanidade) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- MELLO, 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**, Jaboticabal, v.28, p.222-228, 2002.
- MUTHUKUMAR T.; UDAIYAN K.; RAJESHKANNAN V. (2001) Response of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) to indigenous arbuscular mycorrhizal fungi, phosphate-solubilizing and asymbiotic nitrogen-fixing bacteria under tropical nursery conditions. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 34, p.417-426, 2001.
- NOWAK, J. Benefits of *in vitro* “biotization” of plant tissue cultures with microbial inoculants. **In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, Wallingford, v.34, p.122-130, 1998.
- NUTILA, A. M.; VEDTBERG, M.; KAUPPINEN, V. Infection of hair roots strawberry (*Fragaria × ananana* Duch.) with arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant Cell Report**, Berlin, v.14, p.505-509, 1995.
- PAULA, M. A.; PINTO, J. E. B. P.; SIQUEIRA, J. O.; PASQUAL, M. Benefícios da suspensão de células vegetais para os fungos micorrízicos vesículo-arbusculares *in vitro*. II-Efeitos da concentração e da

viabilidade das células. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.25, p.1109-1116, 1990a.

PAULA, M. A.; PINTO, J. E. B. P.; SIQUEIRA, J. O.; PASQUAL, M. Benefícios da suspensão de células vegetais para os fungos micorrízicos vesículo-arbusculares *in vitro*. III-Efeitos de diferentes meios de cultivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.25, p.1117-1124, 1990b.

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v.55, p.158-161, 1970.

ROMERO, A. G. F.; SIQUEIRA, J. O. Atividade de flavonóides sobre esporos do fungo micorrízico *Gigaspora gigantea in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.31, p.517-522, 1996.

SILVEIRA, E. B.; GOMES, A. A.; MARIANO, R. L. R.; SILVA NETO, E. B. Bacterização de sementes e desenvolvimento de mudas de pepino. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, p.217-221, 2004.

SIQUEIRA, J. O.; HUBBELL, D. H.; SCHENCK, N. C. Spore germination and germ tube growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *in vitro*. **Mycologia**, New York, v.74, p.952-959, 1982.

SIQUEIRA, J. O.; SYLVIA, D. M.; GIBSON, J.; HUBBELL, D. H. Spores, germination, and germ tubes of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.31, p.965-972, 1985.

SIQUEIRA, D. L.; ZAMBOLIM, L.; CARDOSO, A. A. Crescimento vegetativo do abacaxizeiro, associado a fungos micorrízicos com diferentes doses de fósforo. **Revista Ceres**, Viçosa, v.43, n.248, p.409-425, 1996.

STATSOFT. **Statistica for windows, version 5.0**. 1995. Copyright Statsoft.

TYLKA, G. L.; HUSSEY, R. S.; RONCADORI, R. W. Axenic germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi: effects of selected *Streptomyces* species. **Phytopathology**, St. Paul, v.81, p.754-759, 1991.

WEBER, O. B.; TERAPO, D.; ROCHA, L. S.; CORREIA, D.; SANTOS, F. J. S. Efeito de bactérias diazotróficas na produção de abacaxizeiro 'Cayenne Champac', sob irrigação em dois níveis de adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, p.249-253, 2004.