

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DA MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES DE CANOLA COM RIZOBACTÉRIAS

DOUGLAS ANTÔNIO POSSO¹; ANELISE TESSARI PERBONI¹; ANDRÉA BITTENCOURT MOURA²; EMANUELA GARBIN MARTINAZZO¹; MARCOS ANTONIO BACARIN¹

¹Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Biologia, Instituto de Botânica
douglasposso@hotmail.com ² Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Fitossanidade,
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel.

1. INTRODUÇÃO

A canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*), é planta oleaginosa pertencente à família *Brassicaceae*. No Brasil, é cultivada em uma área aproximada de 45 mil hectares, responsáveis pela produção anual de 60 mil toneladas, sendo o estado do Rio Grande do Sul o maior produtor de grãos, com 30 mil hectares cultivados anualmente (CONAB, 2014).

Microrganismos benéficos exercem papel fundamental na produção vegetal e algumas espécies podem ser usadas como inoculantes para melhorar o crescimento e a sanidade das plantas (VESSEY, 2003). Neste grupo, estão incluídas as rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (PGPR), as quais podem promover aumento no rendimento das culturas pela maximização do crescimento das plantas. O efeito da microbiolização das sementes com rizobactérias é o resultado de complexas interações que ocorrem entre estes microrganismos e seus hospedeiros.

A fotossíntese, metabolismo chave para o crescimento e desenvolvimento da planta, é o processo inicial para a produção de biomassa (ASHRAF & HARRIS, 2013). Entre os parâmetros utilizados para o estudo do comportamento fotossintético, destaca-se a fluorescência da clorofila *a* como método não invasivo e facilmente mensurável. A combinação desta técnica com medidas biométricas pode ser alternativa para o estudo dos amplos benefícios ocasionados pela associação das PGPR aos vegetais.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a fluorescência da clorofila *a* e características de crescimento de plantas de canola originadas de sementes microbiolizadas com bactérias promotoras de crescimento.

2. METODOLOGIA

Foram utilizadas sementes do híbrido de canola Hyola 61, as quais foram imersas em suspensões bacterianas de isolados provenientes da coleção do Laboratório de Bacteriologia Vegetal, FAEM, UFPEL. Os isolados utilizados foram: DFs 104, DFs 320, DFs 628 e DFs 513. A imersão das sementes ocorreu durante quatro horas, sob agitação constante e temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, em suspensão salina esterilizada (NaCl 0,85%) de cada isolado bacteriano com 24 horas de crescimento em meio 523 de KADO & HESKETT (1970). A concentração da suspensão bacteriana foi ajustada em espectrofotômetro para $A_{540}=0,5$ e a testemunha imersa somente em solução salina esterilizada.

As sementes microbiolizadas foram semeadas em vasos de polietileno, contendo mistura de solo e areia como substrato (proporção 2:1) e mantidas em casa de vegetação, onde as plantas foram irrigadas diariamente. As avaliações da fluorescência da clorofila *a* e do índice de clorofila tiveram início aos 35 dias após

a semeadura (DAS) e foram repetidas em intervalos de 14 dias. Em cada avaliação foram coletadas plantas para determinação dos parâmetros de crescimento.

O índice de clorofila, conforme descrito por Cassol et al. (2008), foi mensurado por meio de um medidor portátil de clorofila CL-01 (Hansatech Instruments, UK). A fluorescência transiente polifásica da clorofila *a* foi registrada utilizando-se um fluorômetro portátil modelo Handy PEA (Hansatech Instruments, UK). As intensidades de fluorescência a 50, 100, 300 μ s, 2 ms (F_J) e 30 ms (F_i) e F_M (fluorescência máxima) foram utilizadas para os cálculos dos parâmetros de Índices de performance, PI_{abs} e PI_{total} , estabelecidos pelo Teste JIP (STRASSER & STRASSER, 1995).

A área foliar foi avaliada utilizando-se um medidor de área foliar modelo LI-3100 (Li-Cor Inc., Lincoln, NE, USA) e a massa seca obtida pela pesagem do material vegetal, após secagem em estufa com circulação de ar forçada, a 70°C até obtenção da massa constante.

O delineamento do experimento foi o inteiramente casualizado onde a unidade experimental foi constituída por um vaso contendo uma planta, com quatro repetições por tratamento.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O índice de clorofila não apresentou alterações entre os tratamentos (Figura 1). Porém, diferenciações foram identificadas aos 105 DAS, onde DFs 513 apresentou tendência de redução do índice de clorofila em 10% e aos 146 DAS, onde se visualizou uma tendência de aumento de 15% desta variável em comparação ao seu valor no tratamento testemunha.

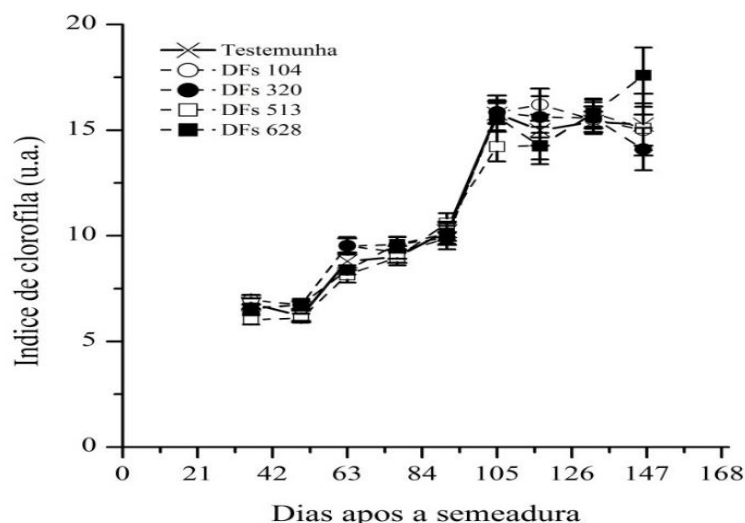


Figura 1. Índice de clorofila, expresso em unidade absoluta (u.a.), de plantas de canola do híbrido Hyola 61 originadas de sementes microbiolizadas com diferentes isolados bacterianos. As barras representam o erro padrão das médias.

Dentre os parâmetros do Teste JIP obtidos a partir da análise da fluorescência da clorofila *a*, optou-se por representar apenas os valores dos índices de performance. O comportamento do PI_{abs} (Figura 2A) e PI_{total} (Figura 2B) ao longo do ciclo de desenvolvimento da planta foi semelhante em todos os tratamentos.

Os índices de performance fotossintéticos, PI_{abs} e PI_{total} , são produtos de parâmetros que expressam potenciais parciais para a conservação de energia de excitação na redução dos aceptores de elétrons do intersistema e dos aceptores finais do fotossistema I, respectivamente (YUSUF et al., 2010). Ambos englobam parâmetros relacionados à densidade de centros de reação do fotossistema II, rendimento quântico fotoquímico e as reações de oxi-redução do intersistema de transporte de elétrons. O PI_{total} envolve também um parâmetro relacionado as reações de oxi-redução que ocorrem no fotossistema I, indicando assim, a performance de toda cadeia de transporte de elétrons, desde a absorção da de energia luminosa pelo fotossistema II até a redução dos aceptores finais de elétrons no fotossistema I.

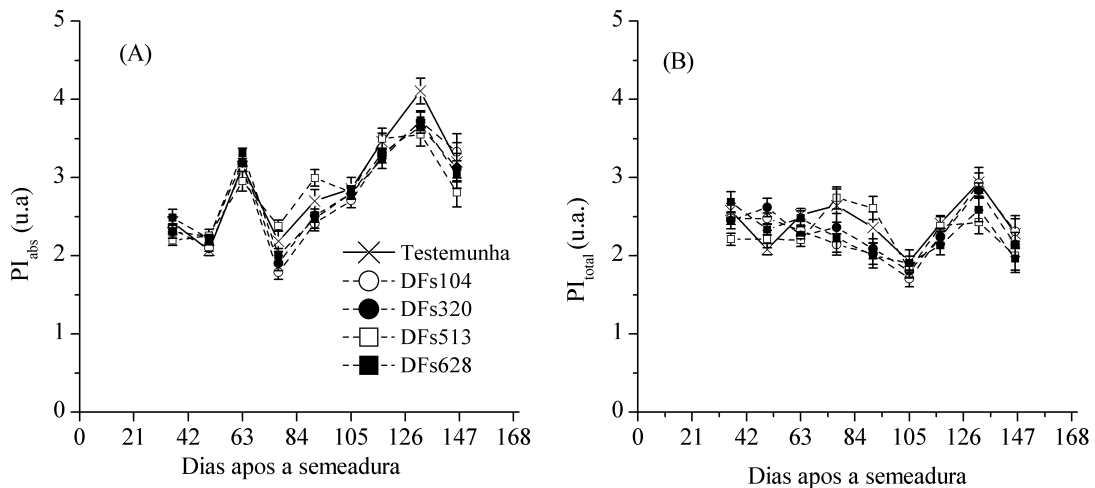


Figura 2. Índice de performance por absorção, PI_{abs} , (A) e índice de performance total, PI_{total} , (B), expressos em unidade absoluta (u.a.), de plantas de canola do híbrido Hyola 61 originadas de sementes microbiolizadas com diferentes isolados bacterianos. As barras representam o erro padrão das médias.

As diferenças nos valores de área foliar entre as plantas originadas de sementes microbiolizadas e as plantas do tratamento testemunha começaram a ser verificadas a partir dos 50 DAS, onde todos isolados bacterianos promoveram aumento da área foliar (Figura 3A). Em geral, os maiores incrementos na área foliar foram obtidos nos tratamentos DFs 513 e DFs 628 até os 118 DAS.

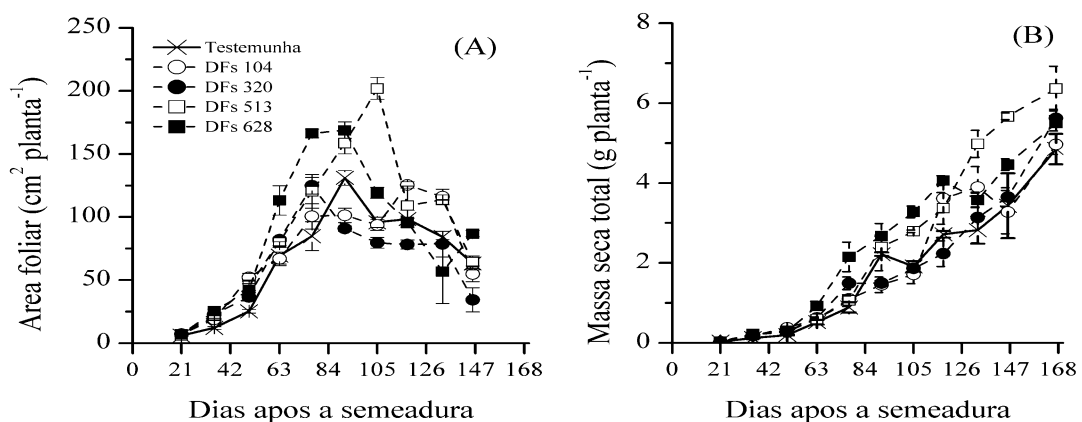


Figura 3. Área foliar (A), expressa em $cm^2 planta^{-1}$ e massa seca total (B) expressa em $g planta^{-1}$, de plantas de canola do híbrido Hyola 61 originadas de sementes microbiolizadas com diferentes isolados bacterianos. As barras representam o erro padrão das médias.

A massa seca total das plantas também aumentou em função dos tratamentos que incrementaram a área foliar (Figura 3B). Observa-se que DFs 628 promoveu o aumento da variável em relação aos valores da testemunha a partir dos 63 DAS, sendo observada esta resposta para DFs 513 apenas aos 105 DAS.

O aumento da área das folhas pode aumentar o potencial da fonte pela maior captação de energia luminosa para o processo fotossintético, maximizando a produção de material orgânico destinado à manutenção estrutural e crescimento vegetal, conseqüentemente, maior matéria seca é acumulada pela planta.

4. CONCLUSÕES

Não foram observadas diferenças nos índices de performance nas plantas originadas de sementes microbiolizadas com os diferentes isolados bacterianos utilizados no experimento.

Os isolados DFs 513 [*Pseudomonas veronii*] e DFs 628 [*Bacillus* sp] são as bactérias capazes de promover maior crescimento das plantas de canola.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASHRAF, M.; HARRIS, P.J.C. Photosynthesis under stressful environments: An overview. **Photosynthetica**, v.51, p.163-190, 2013.
- CASSOL, D.; SILVA F.S.P.; FALQUETO, A.R.; BACARIN, M.A. An evaluation of non-destructive methods to estimate total chlorophyll content. **Photosynthetica**, v.46, p.634-636, 2008.
- CONAB. **Canola maio de 2014 - conjuntura mensal**. Companhia Nacional de Abastecimento. Acessado em: 25 Jun. 2014. Online. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_06_09_16_36_09_canolamaio2014.pdf>
- KADO, C.I.; HESKETT, M.G. Selective media for isolation of Agrobacterium, Corynebacterium, Erwinia, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, v.60, p.24-30, 1970.
- STRASSER, B. J.; STRASSER, R. J. Measuring fast fluorescence transient to address environmental questions: The JIP-test. In: MATHIS, P. (Ed.), **Photosynthesis: from light to biosphere**, Kluwer Academic Publisher: Dordrecht, The Netherlands, p. 977-980, 1995.
- YUSUF, M.M.; KUMAR, D.; RAJWANSHI, R.; STRASSER, R.J., TSIMILLI-MICHAEL, M.; GOVINDJEE; SARIN, N.B. Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic Brassica juncea plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll fluorescence measurements. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1797, p.1428-1438, 2010.
- VESSEY, J.K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v.255, p.571-586, 2003.