

Promoção de crescimento e atividade da redutase do nitrato em mudas de cana-de-açúcar, variedade RB966928 inoculadas com bactérias diazotróficas

Flaviane da Silva Ribeiro¹; Letícia Castro Nogueira²; Silvana Gomes dos Santos³ & Verônica Massena Reis⁴

1. Bolsista de Iniciação científica FUNARB, Discente do curso de Agronomia IA/UFRRJ; 2. Bolsista de Iniciação Científica EMBRAPA, Discente do Curso de Engenharia Florestal, IF/UFRRJ; 3. Discente de Doutorado CPGA-CS, UFRRJ; 4. Pesquisadora Embrapa Agrobiologia/ Docente CPGA-CS, UFRRJ.

Palavras-chave: cana-de-açúcar, bactérias diazotróficas; nitrato redutase.

Introdução

A cultivar RB966928 de cana-de-açúcar, lançada em 2010, possui ciclo de maturação precoce e elevada sanidade às principais doenças, excelente adaptabilidade fenotípica e brotação (RIDESA, 2010). Estudos mostraram que a combinação de estirpes diazotróficas pode ser uma estratégia viável para melhorar o desenvolvimento, crescimento e produtividade da cultura (SILVA et al. 2009). Diferentes mecanismos podem estar envolvidos no crescimento das plantas por essas bactérias, como fixação biológica de nitrogênio (FBN), produção de fitohormônios, alteração na absorção e assimilação de nutrientes pelas plantas, seja por aumento radicular e/ou estímulos a modificações bioquímicas e moleculares, como aumento da atividade de redutase do nitrato (aRN), enzima envolvida na transformação de nitrato em amônio (Donato et al. 2004). O objetivo do trabalho foi avaliar a promoção de crescimento e atividade da enzima redutase do nitrato na variedade RB966928 em sistema hidropônico inoculada com diferentes estirpes de bactérias diazotróficas.

Metodologia

O experimento foi desenvolvido em condições de casa-de-vegetação na Embrapa Agrobiologia, Seropédica-RJ. Mudas de cana de açúcar, variedade RB966928 inoculadas com bactérias diazotróficas constituintes do inoculante misto indicado para a cultura (*Bulkolderia tropica*-BR11366T; *Herbaspirillum seropedicae*-BR11335; *Herbaspirillum rubrisubalbicans* BR-11504; *Azospirillum amazonense* -BR11145; *Gluconacetobacter diazotrophicus* BR-11281T) foram cultivadas em sistema hidropônico. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições. Os tratamentos adotados foram três bactérias separadamente, uma mistura com as cinco bactérias do inoculante, e uma testemunha. Para produção das mudas os colmos de cana de açúcar foram cortados em mini toletes com gema individualizadas (1 gema), logo depois imersos por 30 minutos em inoculantes (turfa inoculada) diluído em água destilada na proporção de 1:100 1 Kg do inoculante para 100 litros de água. O tratamento controle consistiu na imersão dos toletes em solução contendo turfa inoculada apenas com meio de cultivo utilizado para crescimento das bactérias e na mesma proporção. Os colmos foram dispostos em caixas contendo areia e vermiculita (2:1) e após a brotação transplantados para tubetes com substrato comercial multiplant, e aos 35 dias as mudas apresentando sistema radicular secundário foram transferidas para o sistema hidropônico, que consistiu em vasos de 5,5 L contendo solução nutritiva de Hoagland modificada com 3 mM de N. O pH da solução nutritiva foi corrigido a cada 2 dias e a troca semanalmente. Aos 45 dias após o cultivo em sistema hidropônico realizou-se a coleta da folha + 1 e a partir de 0,5 g de tecidos foliares quantificou-se a atividade da enzima nitrato redutase pelo método *in vivo* JAWORSKI (1971) e adaptado para cana-de-açúcar. A atividade da enzima foi obtida pela quantidade de nitrito liberada pelos tecidos vegetais em uma solução de incubação por meio de uma curva padrão e foi expressa em $\mu\text{moles de NO}_2^- \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de matéria fresca. Foi determinado também a biomassa seca das plantas por vaso e o teores de clorofila totais (Índice de Clorofila Falker - ICF) utilizando um clorofilômetro marca ClorofiLOG® modelo CFL 1030 pela média de quatro medições no terço médio da folha +1.

Resultados e Discussão

As bactérias promoveram crescimento das mudas e aumentaram a atividade da enzima RN (Tabela 1). Observou-se incrementos de aproximadamente 20% na massa seca das raízes (MSR) pela inoculação da mistura e da estirpe *H. rubrisubalbicans* quando comparadas ao controle. Esses mesmos tratamentos apresentaram maiores atividades da enzima nitrato redutase, diferindo estatisticamente dos demais. A mistura das cinco estirpes também aumentou a área foliar e a massa seca dos colmos (MSC) em 31% e 40% respectivamente. Já foi observado que bactérias diazotróficas podem apresentar resultados variados dependente da especificidade na interação genótipo e bactéria. Desta forma, Oliveira et al.(2002) verificaram que as estirpes *A. amazonense* e *Herbaspirillum spp.* e a mistura das cinco estirpes apresentaram incrementos na biomassa de plantas micropropagadas da variedade SP701143 de cana-de-açúcar. No presente estudo, assim como observado por Oliveira et al.(2002) a promoção de crescimento das plantas por essas bactérias pode estar relacionada a diferentes mecanismo como FBN e produção de substâncias reguladoras de crescimento vegetal. Além disso, de acordo com Donato et al. 2004 o incremento na biomassa das plantas inoculadas com diazotróficas ocorre devido a possível inferência dessas bactérias na atividade de enzimas envolvidas no metabolismo do nitrogênio permitindo melhor assimilação e incorporação deste elemento.

Tabela 1. Promoção de crescimento de mudas de cana-de-açúcar cultivada em sistema hidropônico por bactérias diazotróficas: *Bulkolderia tropica*-BR11366T; *Herbaspirillum seropedicae*-BR11335; *Herbaspirillum rubrisubalbicans* BR-11504 e um tratamento contendo o inoculante misto (mistura) com as cinco estirpes indicadas para a cultura: *Bulkolderia tropica*-BR11366T; *Herbaspirillum seropedicae*-BR11335; *Herbaspirillum rubrisubalbicans* BR-11504; *Azospirillum amazonense* -BR11145; *Gluconacetobacter diazotrophicus* BR-11281T. Valores médios de quatro repetições.

Tratamentos	Área foliar cm ²	MSPA -----g.vaso-----	MSC	MSR	Clorofila ICF	ARNF μmol NO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹
Controle	928.04 b	8.78 a	9.98 b	9.84 b	53.95 a	0.12 b
BR11366T	1052.58 b	8.02 a	9.62 b	9.00 b	52.05 a	0.16 b
BR11335	1042.82 b	8.47 a	8.99 b	10.09 b	54.37 a	0.15 b
BR-11504	1076.81 b	8.32 a	10.88 b	12.40 a	55.75 a	0.19 a
Mistura	1224.60 a	8.58 a	14.00 a	12.76 a	55.15 a	0.21 a
CV %	8.76	11.83	14.07	11.77	5.71	16.63

*Massa seca da parte aérea - MSPA; Massa seca de colmos - MSC; Massa seca de raízes - MSR; Atividade da redutase do nitrato em folhas - ARNF

Conclusão

A inoculação da estirpe *Herbaspirillum rubrisubalbicans* e a mistura das cinco estirpes promoveram o crescimento das mudas de cana-de-açúcar e o aumento da atividade da enzima nitrato redutase .

Referências Bibliográficas

- JAWORSKI, E. K. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. Biochemical and Biophysical Research Communications, New York, v. 43, p. 1274-1279, 1971.
- RIDESA – Programa de melhoramento genético de cana-de-açúcar. Liberação nacional de novas variedades “RB” de cana-de-açúcar – março 2010. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2010. 64 p.
- DONATO, V.; ANDRADE, A. D.; SOUZA, E. D.; FRANÇA, J. D.; MACIEL, G. A. Atividade enzimática em variedades de cana-de-açúcar cultivadas in vitro sob diferentes níveis de nitrogênio. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.39, p. 1087-1093, 2004.
- OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; DOBEREINER, J.; BALDANI, J. I. The effect of inoculating endophytic N₂-fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. Plant and Soil, v.242, p. 205-215, 2002.