EFEITO DE INOCULAÇÃO COM *Variovorax sp.* NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE MILHO

Isabele Caroline de Lima (PIBIC/FA), Paulo Sérgio Alves (Orientador). E-mail: psabueno2@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Bioquímica / **Bioquímica dos Microorganismos**
o
Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio; Trocas gasosas; Endófitos.

RESUMO

O uso de bactérias benéficas destaca-se como alternativa sustentável à adubação sintética. Este estudo objetivou avaliar o potencial do isolado endofítico *Variovorax sp.* na promoção do crescimento e modulação de parâmetros fisiológicos de plantas de milho (*Zea mays* L.) sob diferentes disponibilidades de nitrogênio (0; 0,5 e 5 mM). Sementes germinadas foram inoculadas com suspensão bacteriana (3×10^8 células/mL) e cultivadas em vermiculita com solução nutritiva. Avaliaram-se variáveis biométricas, índice SPAD, área foliar e trocas gasosas via analisador de gás infravermelho. A identificação taxonômica por sequenciamento do gene 16S rRNA confirmou a estirpe como *Variovorax sp.* Os resultados indicaram que o estímulo biológico foi dependente da dose de nitrogênio: sob 5 mM de N, a inoculação aumentou a massa fresca foliar (19,7%), a massa fresca caulinar (33,4%), o comprimento do caule (15,4%) e a área foliar (30,7%). Na dose de 0,5 mM de N, houve elevação de 17,5% no índice SPAD. Quanto às trocas gasosas, a inoculação incrementou a assimilação líquida de CO_2 e a condutância estomática em 5 mM de N. Conclui-se que a inoculação com *Variovorax sp.* promove o crescimento e melhora o desempenho fotossintético do milho, atuando de forma dependente do aporte nitrogenado.

INTRODUÇÃO

A Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) e o emprego de Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal (BPCV) constituem alternativas sustentáveis ao uso de adubos nitrogenados. O milho (*Zea mays* L.), por sua relevância econômica e alta exigência nutricional, demanda suprimento constante de N. A bioprospecção realizada no Parque dos Pioneiros (Maringá-PR) buscou isolar estirpes endofíticas adaptadas a restrições nutricionais. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial do isolado *Variovorax sp.* no crescimento e na fisiologia do milho sob diferentes disponibilidades de nitrogênio.

MATERIAIS E MÉTODOS

Isolamento e identificação Taxonômica:

Bactérias endofíticas foram isoladas de tecidos vegetais (raiz, caule e folha) de gramíneas coletadas no Parque dos Pioneiros. A identificação taxonômica foi realizada via amplificação da região V4 do gene 16S rRNA e sequenciamento de nova geração na plataforma Illumina iSeq 100. A análise bioinformática utilizando a ferramenta DADA2 e o banco de dados SILVA confirmou a identificação da estirpe pertencente ao gênero *Variovorax sp.*

Padronização do Inóculo e Germinação:

A bactéria *Variovorax sp.* foi cultivada em meio líquido NFbHP-malato a 30 ºC sob agitação a 130 rpm por 24 horas, suplementada com solução de fosfatos (50 mM) e cloreto de amônio (20 mM). O inóculo final foi preparado em meio NFb (1/4 da força, pH 7,0) ajustado para a concentração de 3×10^8 células/mL. Sementes de milho (Cultivar IPR 164 - IAPAR) foram desinfestadas superficialmente em hipoclorito de sódio a 2% por 15 minutos, lavadas com água destilada e germinadas em papel germitest em câmara a 30 ºC com fotoperíodo de 12h. Após 96 horas, plântulas com raízes de 20 a 30 mm foram submetidas ao inóculo de *Variovorax sp.* por 30 minutos.

Condições de Cultivo e Doses de Nitrogênio:

As plantas foram cultivadas em vasos contendo 100% de substrato vermiculita irrigados com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) diluída duas vezes, suplementada com três diferentes doses de nitrogênio: 0 mM (ausência de N), 0,5 mM (restrição moderada) e 5 mM de N (suprimento adequado). O cultivo estendeu-se por 14 a 30 dias.



Figura 1. Teste do substrato vermiculita durante o cultivo de milho na ausência de nitrogênio (0 mM) e na presença de 0,5 mM e 5 mM de nitrogênio.

Avaliações Biométricas e Fisiológicas:

Nas avaliações biométricas e fisiológicas, determinaram-se a altura, o comprimento radicular e a massa fresca e seca dos órgãos vegetativos. Mensuraram-se o índice relativo de clorofila (SPAD-502) e a área foliar (LiCor 3100C), enquanto as trocas gasosas (A, g_{sw}, E e P_{sat}) foram analisadas via analisador de gás por infravermelho (IRGA - Li-6800-F2).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Identificação e Perfil do Isolado e Parâmetros

A identificação taxonômica confirmou a estirpe isolada como pertencente ao gênero *Variovorax sp.*, o qual demonstrou capacidade de desenvolvimento mesmo sob baixa concentração de nitrogênio (0,2 mM). A inoculação promoveu ganhos biométricos expressivos e dependentes da disponibilidade nitrogenada. Na dose adequada de nitrogênio (5 mM de N), as plantas inoculadas registraram aumentos significativos na massa fresca da folha (19,7%), massa fresca do caule (33,4%) e comprimento caulinar (15,4%) em comparação ao controle.

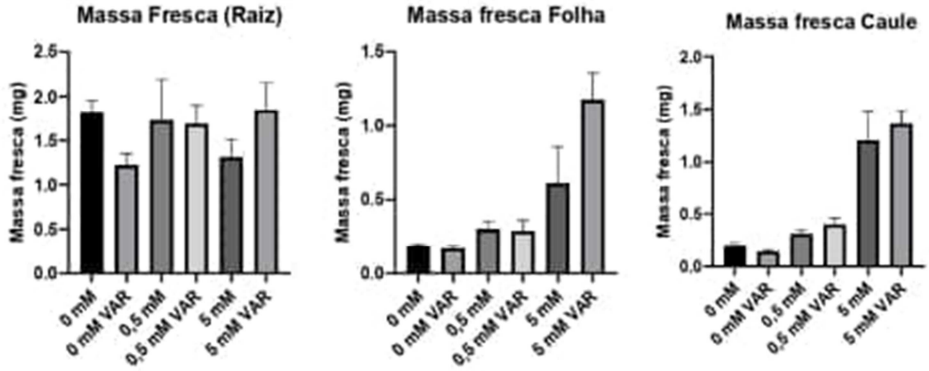


Figura 2. Biomassa fresca de raiz, folha e caule de plantas de milho controle e inoculadas sob 0 mM, 0,5 mM e 5 mM de N.

Sob restrição moderada de nitrogênio (0,5 mM de N), o índice SPAD aumentou 17,5%, evidenciando maior acúmulo relativo de clorofila nas folhas. A área foliar das plantas tratadas expandiu-se em 30,7% na dose de 5 mM de N, ampliando a superfície de intercepção de luz.

Em relação às trocas gasosas, a inoculação estimulou a assimilação líquida de CO_2 (*A*), a capacidade fotossintética sob saturação luminosa (*Psat*) e a condutância estomática (*gsw*) na condição de 5 mM de N. Na dose de 0,5 mM de N, a maior abertura estomática não resultou em aumento equivalente na assimilação de carbono, indicando uma limitação bioquímica modulada pela deficiência de N. A taxa de transpiração (*E*) manteve-se estável, confirmando ganho de eficiência no uso do carbono sem elevação na perda hídrica.

CONCLUSÕES

A inoculação com *Variovorax sp.* promove a promoção do crescimento e a otimização de parâmetros fisiológicos e fotossintéticos em plantas de milho, com ganhos expressivos de biomassa fresca, comprimento de caule, índice de clorofila e área foliar. *Variovorax sp.* atua modulando a eficiência fotossintética e metabólica da planta hospedeira. O efeito benéfico da bactéria é dependente da disponibilidade de nitrogênio, mostrando que a bactéria atua de forma cooperativa com o suprimento nitrogenado, otimizando a eficiência do uso do nitrogênio e potencializando o desenvolvimento da cultura.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária (FA) pela concessão da bolsa de iniciação científica e pelo fomento ao projeto. À Universidade Estadual de Maringá (UEM), ao Centro de Ciências Biológicas (CCB) e ao Departamento de Bioquímica (DBQ) pelo suporte institucional e pela infraestrutura disponibilizada para a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

GENTY, B.; BRIANTAIS, J. M.; BAKER, N. R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, v. 990, n. 1, p. 87-92, 1989.

GLICK, B. R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientifica (Cairo)**. v.2012, p.1–15 2012.

HOAGLAND, D.R. AND ARNON, D.I. The Water-Culture Method for Growing Plants without Soil. **California Agricultural Experiment Station**, v.7 n.12, 1950.

OLIVEIRA, M.A.S.; GERHARDT, E.C.; HUERGO, L.F.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O.; CHUBATSU, L.S. 2-Oxoglutarate levels control adenosine nucleotide binding by *Herbaspirillum seropedicae* PII proteins. **FEBS J**., v. 282, p. 4797-4809, 2015.

TOMAZINI, L.F.; LOPES, E.S.; NOGUEIRA, B.B.; CALSAVARA, G.C.; SILVA, A.P.S.; LUCREDI, N.C.; GERHARDT, E.C.M.; HUERGO, L.F.; OLIVEIRA, M.A.S. Modulation of Glutamine Synthetase adenylylation by nitrogen availability enables one-step purification in distinct post-translational states. **Protein Expr Purif**. V. 235, n. 106779, 2025.