

II Congresso Internacional das **Ciências Agrárias** COINTER - PDVAgro 2017

MORFIOLOGIA DE MANJERICÃO EM CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO ASSOCIADO com BACTÉRIAS *Burkholderia* spp.

Apresentação: Comunicação Oral

Rita de Cássia Monteiro Batista¹; Jesimiel Gomes Barbosa²; Júlia Kuklinsky-Sobral³; Josabete Salgueiro Bezerra de Carvalho⁴

Resumo

O manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) conhecido também por basílico, alfavaca e alfava-cheirosa é uma planta da família Lamiaceae, sendo originária da Índia e cultivada em todo o mundo. Possui propriedades medicinais, além de importância na indústria de cosméticos, perfumaria, farmacêutica e condimentos. A água é um dos fatores que limitam a produção agrícola, na qual são observadas respostas morfofisiológicas em plantas expostas a condição de déficit hídrico, sendo estas respostas a redução da taxa fotossintética, turgescência celular, processos de abertura e fechamento de estômatos, divisão e expansão celular, fornecimento de compostos orgânicos e inorgânicos para síntese de parede celular, o que afeta o crescimento e desenvolvimento dos vegetais. As bactérias do gênero *Burkholderia* apresentam aptidão para fixação biológica através da produção de auxinas, na qual ocorre alongamento celular resultando no crescimento vegetal. O trabalho objetivou avaliar a influência das bactérias do gênero *Burkholderia* sobre as características morfofisiológicas do manjeriço sob condições de estresse hídrico. O experimento foi conduzido em casa de vegetação na UAG-UFRPE, em delineamento inteiramente casualizado sendo 10 tratamentos e 5 repetições. Os tratamentos consistiram na inoculação de linhagens bacterianas a G1, G2, G29 e um mix (G1+G2+G29) em sementes de manjeriço. Após o desenvolvimento das plantas, as mesmas foram expostas a condições diferentes de regas (plantas irrigadas e plantas não irrigadas por cinco dias). Verificou-se que a linhagem G2 apresentou maior eficiência na germinação das sementes (80%). Em relação ao índice de clorofila, observou-se que as plantas sob estresse hídrico sem bactérias apresentaram o menor índice (29,34). O crescimento em altura foi maior nas plantas *mix* sem estresse hídrico (23,9 cm) e menor nas plantas G29 com estresse hídrico (14,0 cm). Foi observado que independente das bactérias o estresse hídrico reduziu significativamente a massa seca da parte aérea, não foi observado diferenças significativas na massa seca das raízes. O estresse hídrico provocou redução no crescimento e desenvolvimento das plantas de *Ocimum basilicum* L. e as linhagens G1, G2, G29 e o *mix* não mostraram efeitos positivos no crescimento dessas plantas.

Palavras-Chave: Estresse hídrico, auxinas, crescimento, manjeriço

¹ Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, cassiamonteiro19@hotmail.com

² Mestre em Produção Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco, jesimielgb@live.com

³ Professora adjunta, Universidade Federal Rural de Pernambuco, jksobral@outlook.co

⁴ Professora adjunta, Universidade Federal Rural de Pernambuco, josabetecarvalho@gmail.com

Introdução

Ocimum basilicum L., também conhecido popularmente como manjeriço, alfavaca, alfavaca-cheirosa, basílico. Tem origem na Índia pertence à família Lamiaceae, sendo a espécie mais cultivada dessa família no Brasil (RODRIGUES et al., 2005). Devido as suas propriedades medicinais e a produção do óleo essencial essa planta possui grande importância para as indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética (TESKE e TRENTINI, 1995; NOLASCO, 1996).

A Água é um dos fatores limitantes da produção agrícola, em regiões com baixa disponibilidade de água, o período de germinação e o estabelecimento das plântulas no campo são afetados (AZERÊDO et al., 2016). Nem sempre as condições que as sementes encontram no solo para a germinação são ótimas, ocorrendo condições de solos salinos ou com déficit hídrico, que são de ocorrência natural nas regiões áridas e semiáridas (ROSA et al., 2005).

O estresse hídrico é caracterizado quando o conteúdo de água de um tecido ou célula vegetal está abaixo do que é encontrado em um maior estado de hidratação (TAIZ e ZEIGER, 2013; AZERÊDO et al., 2016).

Dessa forma, o presente trabalho objetivou avaliar a influência das bactérias do gênero *Burkholderia* sobre as características morfofisiológicas de *Ocimum basilicum* L. em condições de estresse hídrico.

Fundamentação Teórica

Em situação de estresse hídrico, são observadas respostas morfofisiológicas através da redução da taxa fotossintética, turgescência celular, processos de abertura e fechamento de estômatos, divisão e expansão celular, fornecimento de compostos orgânicos e inorgânicos para síntese de parede celular o que afeta o crescimento e desenvolvimento dos vegetais (LARCHER, 2000; AKINCI e LÖSEL, 2012; TAIZ & ZEIGER, 2013).

Oliveira et al., (2014) comentam que a inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) é uma alternativa viável de promover uma maior estabilidade nos sistemas agrícolas, por serem produzidas e atuarem em uma baixa demanda de energia. A exploração e o conhecimento dos mecanismos de interação entre bactérias e plantas podem ser utilizados para a produção sustentável de diversas culturas (SILVA et al., 2007). Segundo Moreira et al. (2010) a colonização das bactérias promotoras de crescimento vegetal ocorre em diferentes nichos, tais como a rizosfera, interagindo no solo próximo as raízes, e as endofíticas, colonizando o interior dos tecidos vegetais, de todos os órgãos da planta .

Kasim et al. (2013) afirmam que pode haver um aumento de genes relacionados com o estresse hídrico na presença das BPCV e com isso promoverem tolerância às condições de estresse. Além

disso, o crescimento vegetal pode também está relacionado devido à produção de fitohormônios e fixação biológica de nitrogênio, que em conjunto com outras características induzidas por esses microrganismos promoveram positivamente o crescimento e desenvolvimento das plantas (ZAIED et al., 2003; POTTERS et al., 2007)

As bactérias do gênero *Burkholderia*, destacam-se dentro do grupo de microrganismo diazotróficoendofítico por apresentam aptidão para Fixação Biológica de Nitrogênio (YABBUCHI; KOSAKO et al.,1992) e promovem o crescimento vegetal por meio da produção de auxinas (KUKLINSKY-SOBRAL et al., 2004).

Metodologia

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG) - UFRPE, no período de outubro a dezembro de 2015. A caracterização química do solo foi a seguinte: pH= 6,5; P= 64,6 mg kg⁻¹; K= 0,77 cmolckg⁻¹; Na= 0,47 cmolckg⁻¹; Ca = 2,90 cmolckg⁻¹; Mg = 2,60 cmolckg⁻¹; Al= 0,40 cmolckg⁻¹; H + Al = 1,48 cmolckg⁻¹; SB = 6,74 cmolckg⁻¹; CTC = 8,23 cmolckg⁻¹; V(%)= 82; CC= 0,110 g g⁻¹; PMP = 0,057 g g⁻¹ e AD= 0,053 g g⁻¹, não houve necessidade de adubação complementar.

A inoculação das linhagens bacterianas[(G1,G2,G29 e mix (G1+G2+G29)] nas sementes de *O.basilicum* foi realizada no Laboratório de Genética e Biotecnologia Microbiana da UAG-UFRPE, inicialmente foram isoladas as colônias bacterianas, cujo meio de cultura utilizado foi o TSA (Tryp case Soy Agar) de 10%. Após a obtenção das colônias isoladas, foram repicadas em TSA líquido, em seguida submetidos a agitação constante (mesa agitadora 128 rpm) por um período de 24 horas. Posteriormente as colônias bacterianas foram diluídas em solução tampão PBS (8g\L de NaCl; 0,2g\L de KCL; 1,44g\L de NH₂HPO₄; KH₂PO₄ 0,24g; pH 7,4) com o objetivo de atingir a densidade óptica de (DO_{600nm}) de 0,0095 (LIMA, 2012). Feito a preparação do inoculante, foram realizadas as inoculações nas sementes, ficando estas submersas por um período de 30 minutos, sendo o material agitado a cada 10 minutos. As sementes do tratamento controle sem inóculo bacteriano também passaram pelo mesmo processo de imersão na solução tampão (LIMA, 2012). Logo após, foi realizado a semeadura de 5 sementes por vasos de capacidade de 5 L. Nos primeiros 45 dias decorrentes da germinação, todos os tratamentos foram irrigados diariamente mantendo as condições hídricas satisfatórias (100% da capacidade de campo), após esse período foram submetidos a uma condição de estresse hídrico, por meio da irrigação em intervalos de cinco dias nos tratamentos T6, T7, T8, T9 e T10 durante 45 dias.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 10 tratamentos e 5 repetições, totalizando assim 50 vasos. Os tratamentos consistiram em: T1- Plantas G1 sem estresse

hídrico; T2 –PlantasG2 sem estresse hídrico; T3 –Plantas G29 sem estresse hídrico; T4 –Plantas *mix* sem estresse hídrico; T5 –Plantas sem estresse hídrico; T6 –Plantas G1 com estresse hídrico; T7 –Plantas G2 com estresse; T8 –Plantas G29 com estresse hídrico; T9 –Planta *mix* com estresse hídrico e T10 –Plantas com estresse hídrico.

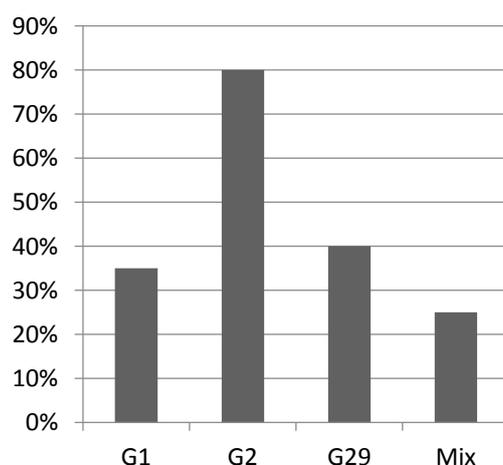
Foi avaliado o percentual de germinação, realizado através da contagem do número de plântulas germinadas por tratamento; índice de clorofila, mensurado com auxílio do Medidor EletrônicoClorofilogCFL1030; a altura das plantas (cm), medida com o auxílio de uma trena, da base do caule até o ápice da maior ramificação da planta; e a massa seca (g) a 65°C em estufa de circulação forçada de ar, até o peso constante por um período de 48h, sendo determinado em balança analítica.

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com auxílio do Software SISVAR 5.3.

Resultados e Discussão

A linhagem bacteriana que se mostrou mais eficiente em relação à porcentagem de germinação de sementes de *O.basilicum* foi a linhagem G2, na qual obteve 80% de germinação (Figura 1). Dartoraet al. (2013) relatam que os benefícios da inoculação com microrganismos em sementes podem ser tanto diretos através da absorção de nutrientes, quanto indiretos pela biorremediação.

Figura 1. Percentual de germinação de *Ocimumbasilicum* L. com inoculação de diferentes linhagens bacterianas de *Burkholderia* spp.



Com relação ao índice de clorofila, a tabela 1 mostra que não houve diferenças significativas entre as plantas estressadas com e sem bactérias. Entretanto as plantas com estresse hídrico sem bactérias apresentaram uma redução de 62,49% em relação as plantas do *mix* não

estressadas. Massaciet al. (2008) relatam que em condições de deficiência hídrica severa torna-se mais evidentes os danos causados ao processo da fotossíntese em *Gossypium hirsutum*. Carvalho (2003) afirma que plantas de Artemísia, a concentração de clorofila tende a diminuir quando submetidas à deficiência hídrica. De acordo com Santos (2013) o déficit hídrico afetou negativamente os teores de pigmentos cloroplastídicos de *Ocimum africanum* Lour.

Tabela 1. Índices de clorofila em plantas de *Ocimum basilicum* L. aos 45 dias de *deficit* hídrico. Fonte: Própria

TRATAMENTOS	ÍNDICE DE CLOROFILA
Plantas G1 sem estresse hídrico	46,78 a
Plantas G2 sem estresse hídrico	48,02 a
Plantas G29 sem estresse hídrico	41,67 ab
Plantas <i>mix</i> sem estresse hídrico	46,95 a
Plantas sem estresse hídrico	39,87 ab
Plantas G1 com estresse hídrico	39,12 ab
Plantas G2 com estresse hídrico	38,55 ab
Plantas G29 com estresse hídrico	39,25 ab
Plantas <i>mix</i> com estresse hídrico	47,06 ab
Plantas com estresse hídrico	29,34 b
CV%	17,8

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com a tabela 2 as plantas *mix* sem estresse hídrico mostraram um maior crescimento (23,9cm) enquanto as plantas *mix* com estresse hídrico um menor crescimento (14,2cm). É possível observar que as plantas *mix* com estresse hídrico tiveram seu crescimento afetado, podendo ser visualmente verificada pela acentuada redução de sua parte aérea (Figura 2). A diminuição da altura das plantas quando expostas aos tratamentos de deficiência hídrica moderada e severa pode estar ligada ao alongamento celular causada pela perda da turgescência celular (LARCHER, 2006).

Tabela 2. Valores médios para altura e massa seca (MS) da parte aérea e das raízes de plantas de *O. basilicum* em diferentes tratamentos de linhagens bacterianas de *Burkholderia* spp. em diferentes regimes hídricos

TRATAMENTOS	Altura (cm)	MS da parte aérea (g)	MS das raízes (g)
Plantas G1 sem estresse hídrico	23,1 a	17,60 a	1,12 bc
Plantas G2 sem estresse hídrico	23,2 a	20,60 a	1,09 bc
Plantas G29 sem estresse hídrico	21,6 bc	16,80 a	1,18 bc
Plantas <i>mix</i> sem estresse hídrico	23,9 a	19,80 a	1,08 bc
Plantas sem estresse hídrico	22 a	25,00 a	1,21 c
Plantas G1 com estresse hídrico	23,5 a	3,60 b	0,31 ^a
Plantas G2 com estresse hídrico	15 ab	6,80 b	0,56 ab
Plantas G29 com estresse hídrico	14bc	3,00 b	0,35 a
Plantas <i>mix</i> com estresse hídrico	14,2 c	5,80 b	0,72 abc
Plantas com estresse hídrico	21,2 ab	5,20 b	0,34 a
CV%	15,17	40,45	44,41

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 2. Diferenças visuais na altura das plantas de *O.basilicum* entre os tratamentos T4 (Tratamento *mix* sem estresse hídrico) e T9 (tratamento *mix* com estresse hídrico)



Independente das bactérias, o estresse hídrico reduziu significativamente à massa seca da parte aérea das plantas. Silva et al, (2002) observou que a deficiência hídrica severa resultou na diminuição do crescimento, na produção de massa fresca e seca e no teor de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. Em relação ao sistema radicular, observou-se que plantas estressadas, independente da linhagem bacteriana, apresentaram reduções no crescimento, Marchese et al.,(2010) relata redução da massa vegetal em *Artemisia annua* L.

Conclusões

- O estresse hídrico provocou redução no crescimento e desenvolvimento das plantas de *O.basilicum* ;
- A linhagem G2 mostrou-se eficiente na germinação de sementes de *O. basilicum*;
- As linhagens G1, G2, G29 e o *mixn*ão mostraram efeitos positivos em plantas de *O. basilicum* em condições normais da capacidade de campo e sob condições de deficiência hídrica.

Referências

AKINCI, S.; LÖSEL, D.M .Plant water stress response mechanisms.In; RAHMAN, I. M..M. & HASEGAWA, H. Water Stress.(Ed.) AgriculturalandBiologicalSciences: Hard cover, p.300. 2012
AZERÊDO, G. A.; PAULA, R. C.; VALERI, S. V. Germinação de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. Sob estresse hídrico. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 26, n. 1, p. 193-202, 2016.

CARVALHO, L.M.; CASALI, V. W. d.; SOUZA, M. A.; CECON, P.R; Disponibilidade de água no solo e crescimento de Artemísia. **Horticultura Brasileira**, Campinas, v.21, n.4, p. 726-730, 2003.

DARTORA, J.; MARINI, D.; GUIMARÃES, V. F.; PAULETTI, D. R.; SANDER, G. Germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plantas de milho e trigo inoculadas com estirpes de *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*.**Global Science and Technology**, v.6, n.3, p.190-201, 2013.

KASIM, W. A.; OSMAN, M. E.; OMAR, M. N.; EL-DAIM, I. A. A.; BEJAI, S.; MEIJER, J. Control of Drought Stress in Wheat Using Plant-Growth-Promoting Bacteria. **Journal of Plant Growth Regulation**, Egypt, v.32, n.1, p. 122-130, 2013.

KUKLISKY-SOBRAL, J.;ARAÚJO, W.L.; MENDES, R.; GERALDI, I.O.; PIZZIRANI-KLEINER, A.A.; AZEVEDO, J.L. Isolation and characterization of soybean associated bacteria and their potential for plant growth promotion. **Environmental Microbiology**. v.12, p.1244 - 1251, 2004.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2006. 531 p.

MARCHESE, J. A.; FERREIRA, J.F.S; REHDER, V.L.G; RODRIGUES, O. Water deficit effect on the accumulation of biomass and artemisinin in annual wormwood (*Artemisia annua* L., Asteraceae). **Brazilian Society of Plant Physiology**. v.22, p.1-9, 2010.

MASSACCI, A.; NABIEV, S.M.; PIETROSANTI L.; NEMATOV S. K.; CHERNIKOVA, T.N.; THOR K.; LEIPNER J.; Response of the photosynthetic apparatus of cotton (*Gossypium hirsutum*) to the onset of drought stress under field conditions studied by gas-exchange analysis and chlorophyll fluorescence imaging. **Plant Physiology Biochemistry**, New Delhi, v. 46, p.189-1995, 2008.

MOREIRA, F.M.S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R.S.A. CARVALHO, F.; Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicação. **Comunicata Scientiae**, v.2, p.74-99, 2010.

NOLASCO, F. Deficiências nutricionais em manjeriço (*Ocimum* spp) sob hidroponia. 1996. 19 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia)-Universidade Federal de Viçosa, Vicososa, MG, 1996.

OLIVEIRA, A. L. M.; COSTA, K. R.; FERREIRA, D. C.; MILANI, K. M. L.; SANTOS, O. J. A. P.; SILVA, M. B.; ZALUAGA, M. Y. A. Biodiversidade bacteriana do solo e agricultura sustentável. **Biochemistry and Biotechnology reports**, v.3, n.1, p. 56-77, 2014.

POTTERS, G.; PASTERNAK, T. P.; GUISEZ, Y.; PALME, K. J.; JANSEN, M. A. K. Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble. **Trends in Plant Science**, Spain, v. 12, n. 3, p.98-105, 2007.

RODRIGUES MF; DOS SANTOS EC .Estudo da viabilidade financeira: implantação da cultura do manjeriço para exportação. **UPIS**, 2005.

ROSA, L. S.; FELIPPI, M.; NOGUEIRA, A.C.; GROSSI, F.; Avaliação da germinação sob diferentes potenciais osmóticos e caracterização morfológica da semente e plântula de *Ateleia glazioviana* Baill (Timbó). **Cerne**, Lavras, v.11, n.3, p.306-314, 2005.

SANTOS, M. S. Efeitos do déficit hídrico no crescimento, morfoanatomia, ultraestrutura foliar e produção de óleo essencial de *Ocimum africanum* Lour. (Lamiaceae). 2013. 95 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Curso de Bacharel em Agronomia, Departamento de Ciências Agrárias, UESC, Bahia, 2013.

SILVA, D.M.; ANTONIOLLI, Z.I.; JACQUES, R.J.S.; VOSS, M.; Bactérias Diazotróficas nas folhas e colmos de plantas de arroz irrigado (*Oryza sativa* L.) **Bras. Agrobiologia**, Pelotas, v.13, n.2, p.181-187, abr-jun, 2007.

SILVA, S. R. S.; DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. A.; CASALI, V. W. D.; NASCIMENTO, E. A.; PINHEIRO, A. L. Efeito do estresse hídrico sobre características de crescimento e a produção de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 24, n. 5, p. 1363-1368, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium: compendio de fitoterapia**. 2. ed. Curitiba: **Herbarium**, 1995. p. 19-21

YABBUCHI, E.; KOSAKO, Y. Proposal of Burkholderiagen nov and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology group II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Holmes, 1981) com. nov. **Microbiology and Immunology**, Tokyo, v.36, p.1251-1275, 1992.

ZAIED, K. A.; EL-HADY, A. H.; AFIFY, A. H.; NASSEF, M. A. Yield and nitrogen assimilation of winter wheat inoculated with new recombinant inoculants of *Rhizobacteria*. **Pakist Journal of Biological Sciences**, USA, v.6, n 4, p.344-358, 2003.