



**Categoria: Doutorado**

**Fixação biológica de nitrogênio**

## **Associação entre cana-de-açúcar da variedade RB867515 e bactérias do gênero *Herbaspirillum* analisada com uso de gene repórter GFP**

Anita Bueno de Camargo Nunes<sup>1</sup>, Stefan Schwab<sup>2</sup>, Veronica Massena Reis<sup>2</sup>, José Ivo Baldani<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bolsista CAPES, Doutoranda em Fitotecnia UFRRJ, [anitabueno@hotmail.com](mailto:anitabueno@hotmail.com)

<sup>2</sup>Pesquisador Embrapa Agrobiologia, [sschwab@cnpab.embrapa.br](mailto:sschwab@cnpab.embrapa.br), [veronica@cnpab.embrapa.br](mailto:veronica@cnpab.embrapa.br), [ibaldani@cnpab.embrapa.br](mailto:ibaldani@cnpab.embrapa.br)

A planta de cana-de-açúcar é naturalmente colonizada por vários microrganismos, dentre eles as bactérias diazotróficas do gênero *Herbaspirillum*. A partir de colmos e raízes esterilizadas dessa planta, foram isoladas as estirpes HCC103 de *H. rubrisubalbicans* e de HRC54 de *H. seropedicae*, respectivamente, as quais fazem parte do inoculante de cana-de-açúcar da Embrapa Agrobiologia e que foram utilizadas neste estudo. Para um melhor detalhamento da colonização dos vasos xilemáticos da planta por essas bactérias, utilizou-se marcação molecular com a proteína verde fluorescente (GFP), expressa a partir do plasmídeo pHc60, com o objetivo de diferenciar as bactérias inoculadas experimentalmente daquelas pré-existentes na planta. Colmos com 56 gemas foram cortados na base e dispostos imediatamente em frascos contendo um litro de cultura, para que a bactéria ascendesse pelos vasos xilemáticos. Após 12 horas de incubação, em casa de vegetação de biossegurança, os colmos foram seccionados (25-50  $\mu$ m) em cortador semi-automático de tecidos e avaliados por microscopia óptica de epifluorescência. Foram detectados biofilmes, tanto de HCC103 quanto de HRC54, colonizando parte dos vasos xilemáticos do primeiro e segundo entrenós, não havendo, aparentemente, obstrução total do vaso em nenhuma das seções observadas, indicando que a invasão dos tecidos das plantas pelas bactérias foi de caráter associativo. Acredita-se que os vasos xilemáticos sejam utilizados como nicho, devido à baixa taxa de circulação de oxigênio molecular no mesmo, o que beneficia a condição de microaerofilia, necessária para a fixação biológica do nitrogênio na associação entre as Poaceas e as bactérias diazotróficas.

**Palavras-chave:**

FBN; GFP; inoculante de cana.