



**GENÓTIPOS DE GIRASSOL SUBMETIDOS AO
DÉFICIT HÍDRICO E INOCULAÇÃO COM
*Herbaspirillum seropedicae***

TALITTA SILVA DOS SANTOS PAIVA

2019

TALITTA SILVA DOS SANTOS PAIVA

**GENÓTIPOS DE GIRASSOL SUBMETIDOS AO
DÉFICIT HÍDRICO E INOCULAÇÃO COM
*Herbaspirillum seropedicae***

Tese apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Doutor”.

Orientador:

D. Sc. Cláudio Lúcio Fernandes Amaral

VITÓRIA DA CONQUISTA – BA

BAHIA – BRASIL

2019

P171g Paiva, Talitta Silva dos Santos.

Genótipos de girassol submetidos ao déficit hídrico e inoculação com *Herbaspirillum seropedicae*. / Talitta Silva dos Santos Paiva, 2019. 137f.

Orientador (a): D. Sc. Cláudio Lúcio Fernandes Amaral.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Área de concentração Fitotecnia, Vitória da Conquista, 2019.

Inclui referência F. 111 – 116.

1. *Helianthus annuus* L. 2. Estresse hídrico. 3. Fixação biológica de nitrogênio. I. Amaral, Cláudio Lúcio Fernandes. II. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia

Área de concentração Fitotecnia. III. T.

CDD 635.93355

Catologação na fonte: **Juliana Teixeira de Assunção – CRB 5/1890**

UESB – Campus Vitória da Conquista – BA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
Área de Concentração em Fitotecnia

Campus de Vitória da Conquista - BA


DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: “GENÓTIPOS DE GIRASSOL SUBMETIDOS AO DÉFICIT HÍDRICO E INOCULAÇÃO COM *Herbaspirillum seropedicae*”


Autor: Talitta Silva dos Santos Paiva

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTORA EM AGRONOMIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FITOTECNIA, pela Banca Examinadora:


Prof. Cláudio Lúcio Fernandes Amaral., UESB
(Presidente)


Prof. Alcebiades Rebouças São José, D.Sc., UESB


Pesq. Adriana Dias Cardoso, D.Sc., PNP/DCAPES


Profa. Dra. Carmem Lacerda Lemos Brito, D.Sc., IFBaiano/ Valença-BA


Prof. Leandro Gonçalves dos Santos, D.Sc., IFBaiano/ Guanambi-BA

Data de realização: 31 de janeiro de 2019.

Estrada do Bem Querer, Km 4 – Caixa Postal 95 – Telefone: (77) 3425-9383
Vitória da Conquista – BA – CEP: 45031-900

Ao meu esposo Tiago e à minha filha Maria Sofia,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiro quero louvar a Deus pela oportunidade de poder trilhar o caminho da pesquisa e por meio dela obter conhecimento e poder experimentar a riqueza que é estar numa pós – graduação, além de todo sustento, amparo e força a mim concedido.

Ao meu esposo Tiago pelo suporte, ajuda nas pesquisas, palavras de ânimo, acolhimento em dias de tristeza e por compartilhar as alegrias. Amo você!

À minha família pelo apoio, principalmente a minha mãe Gildete, minha sogra Evani e minha cunhada Ana Paula por cuidar tão bem da minha filha para que eu pudesse trabalhar. Amo vocês!

Ao Professor Cláudio Lúcio pela orientação, troca de conhecimento, conselhos e suporte durante todos esses anos de pós.

À UESB e ao programa de pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia pela oportunidade de ingresso e aprimoramento profissional.

À FAPESB e CAPES pela concessão da bolsa.

Aos meus amigos queridos que a pós me presenteou: Ariana, Jhon, Raelly e Rita que foram alento, força, companhia nos momentos que mais precisei. Não há palavras para expressar a minha gratidão pela vida de cada um de vocês!

À minha amizade mais improvável, Cristina! Cris, você foi luz, paz, companhia, orientação e alegria durante esses anos de pós. Obrigada por me ajudar de inúmeras formas a executar essa pesquisa.

Aos estagiários do CETEP: Jacqueline, Pedro e Thaise pelo suporte na execução da pesquisa.

As meninas da iniciação científica: Danny, Ranielly e Ana Paula pelo acompanhamento em todas as etapas do trabalho.

Aos colegas da Biofábrica e sua coordenação: Professores Tiyoko, Abel e Alcebíades pela acolhida e apoio com as pesquisas, pelos momentos de risadas, descontração e trocas de conhecimento.

Aos meus amigos Alessandra, Flávia, Rauizi, Luana, Sara, Mateus, Priscila, Daniela, Maíra, Ronaldo e Rodrigo que torceram por mim e me ajudaram de forma direta ou indireta na finalização dessa etapa.

A minha comunidade de fé, Igreja Batista da Cidade, por contribuir me ensinando a exercer a minha fé e me ensinar valores que permeiam minha vida pessoal e se expande para minha vida profissional, bem como nas relações interpessoais. Obrigada Sinvas e Thaty, Silas e Ale pelas orações, palavras de ânimo e suporte emocional.

Aos professores que compuseram a banca e contribuíram para a melhoria da tese.

RESUMO GERAL

PAIVA, T.S.S. **Genótipos de girassol submetidos ao déficit hídrico e inoculação com *Herbaspirillum seropedicae***. Vitória da Conquista – BA: UESB, 2019. 133p. (Tese Doutorado em Agronomia: Área de Concentração em Fitotecnia) *

Na tentativa de avaliar os efeitos da seca sobre a cultura do girassol, este trabalho objetivou selecionar genótipos de girassol inoculados com *Herbaspirillum seropedicae*, ZAE94, com base nas características agronômicas, bioquímica - fisiológicas e por meio do uso de parâmetros genéticos quando submetidos ao estresse hídrico. O trabalho foi dividido em dois experimentos, sendo que no primeiro foram utilizados nove genótipos: BRS G51, BRS 324, BRS G47, BRS G49, BRS 323, BRS 390, BRS G45, SYN 045 e M 734, disposto no delineamento experimental inteiramente casualizado no esquema 9 x 2, com e sem inoculação utilizando *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe ZAE94 com quatro repetições. Foi realizada a primeira contagem da germinação, porcentagem de germinação, índice de velocidade de emergência, porcentagem de emergência, comprimento de plântula e raiz primária. Também foram estimados os parâmetros genéticos por meio da variação e coeficiente de variação (fenotípica, genotípica e ambiental), herdabilidade e ganho genético. O segundo experimento foi dividido em duas etapas: 1) análise das características agronômicas e seleção por meio dos parâmetros genéticos e 2) análise de características bioquímica e fisiológica dos genótipos de girassol. O experimento consistiu no uso de sete genótipos (BRS G51, SYN 045, BRS 323, BRS 324, BRS G45, BRS 390 e BRS G49), cultivados em ambiente protegido, submetidos a 4 níveis de irrigação: 40%, 60%, 80% e 100% da capacidade de vaso inoculados ou não com *H. seropedicae*, estirpe ZAE94. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado compondo um esquema fatorial triplo 7 x 2 x 4. Na primeira etapa foram avaliadas as seguintes variáveis: altura da planta, diâmetro de caule e de capítulo, comprimento de raiz, massa seca de parte aérea, de capítulo e de raiz e estabelecido os parâmetros genéticos. Na segunda etapa foram quantificados açúcares solúveis totais, açúcares redutores, aminoácidos, prolina, nitrogênio foliar e índice SPAD. No primeiro experimento o genótipo BRS 390 obteve maiores médias para as características comprimento de parte aérea, massa fresca e seca, altura e diâmetro, porém, o efeito da inoculação foi observado apenas para comprimento de parte aérea e altura. Todos os genótipos apresentaram baixa variância ambiental, alto coeficiente de variação genotípica, herdabilidade e alto ganho genético para as variáveis germinação, porcentagem de germinação e índice de velocidade de emergência podendo ser incluídas em programas de melhoramento para seleção das características outrora citadas. No segundo experimento, 1) o genótipo BRS 323 quando inoculado apresentou resultados

expressivos nas menores capacidades de vaso para as variáveis: comprimento de raiz, diâmetro de caule e massa seca de capítulo; altura da planta, diâmetro de caule e do capítulo, comprimento de raiz, massa seca de parte aérea e do capítulo, obtiveram elevada herdabilidade e alto ganho genético tornando esses caracteres importantes para seleção de genótipos de girassol. 2) a inoculação permitiu que alguns descritores bioquímicos como aminoácidos, prolina e açúcares totais aumentassem seus teores em condição de estresse hídrico caracterizando os genótipos BRS G51 e SYN 045 como tolerantes, no entanto, não houve simbiose planta x bactéria para a maioria dos genótipos.

Palavras-chave: estresse hídrico, fixação biológica de nitrogênio, *Helianthus annuus* L.

* **Orientador:** Cláudio Lúcio Fernandes Amaral, D.Sc., UESB

ABSTRACT

PAIVA, T.S.S. **Sunflower genotypes submitted to water deficit and inoculation with *Herbaspirillum seropedicae***. Vitória da Conquista – BA: UESB, 2019. 133p. (Thesis – Doctor's degree in Agronomy, Crop Science Concentration Area)*.

In order to evaluate the effects on sunflower cultivation, this work aimed to select of sunflower genotypes inoculated with *Herbaspirillum seropedicae*, ZAE94, based on the agronomic, biochemical and physiological characteristics and through the use of genetic parameters when applied to water estresse. The work was divided in two experiments, and in the first one, nine genotypes were used: BRS G51, BRS 324, BRS G47, BRS G49, BRS 323, BRS 390, BRS G45, SYN 045 and M 734 arranged in a completely randomized experimental design ccheme 9 x 2, with and without inoculation using *Herbaspirillum seropedicae*, strain ZAE94 with four replicates. The first germination count, germination percentage, emergency speed index, emergency percentage, seedling length, and primary root were evaluated. Genetic parameters were also estimated by variation and coefficient of variation (phenotypic, genotypic and environmental), heritability and genetic gain. The second experiment was divided into two stages: 1) analysis of agronomic characteristics and selection through genetic parameters; and 2) analysis of biochemical and physiological characteristics of sunflower genotypes. The experiment consisted in the use of seven genotypes (BRS G51, SYN 045, BRS 323, BRS 324, BRS G45, BRS 390 and BRS G49) grown in protected environment, submitted to 4 irrigation levels: 40%, 60%, 80 % and 100% of vessel capacity inoculated or not with *H. seropedicae*, strain ZAE94. In the first stage, the following variables were evaluated: plant height, stem and root diameter, root length, shoot dry matter, chapter weight and root and established genetic parameters. In the second stage, total soluble sugars, reducing sugars, amino acids, proline, leaf nitrogen and SPAD index were quantified. In the first experiment, genotype BRS 390 obtained higher averages for shoot length, fresh and dry mass, height and diameter, but inoculation effect was observed only for shoot length and height. All genotypes showed low environmental variance, high genotype variation coefficient, heritability and high genetic gain for germination, germination percentage and emergence speed index, which could be included in breeding programs to select the traits mentioned above. In the second experiment, 1) genotype BRS 323 when inoculating its units of measure of size, root volume, mass diameter and dry mass of chapter; plant height, root and shoot diameter, root length, shoot dry matter and shoot, obtained high heritability and high genetic gain, making these characters

important for the selection of sunflower genotypes 2) the inoculation allowed some biochemical descriptors such as amino acids, proline and total sugars to increase their levels under water stress condition, characterizing BRS G51 and SYN 045 genotypes as tolerant, however, there was no plant x bacterial symbiosis for most genotypes

Key words: biological nitrogen fixation, *Helianthus annus* L., water estresse

* **Advisor:** Cláudio Lúcio Fernandes Amaral, D.Sc., UESB

LISTA DE TABELAS

ARTIGO I: ESTIMATIVA DE PARÂMETROS GENÉTICOS PARA GERMINAÇÃO EM SEMENTES DE GIRASSOL INOCULADAS COM *Herbaspirillum seropedica* 45

Tabela 1.1. Caracterização do lote de sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.). UESB, Vitória da Conquista – BA, 2017. 50

Tabela 1.2: Resumo da análise de variância para primeira contagem da germinação (PC), germinação (GER), comprimento de parte aérea (CPA), porcentagem de emergência (EMERG), índice de velocidade de emergência (IVE), altura de plântula (ALT), diâmetro (DIAM), matéria fresca (MF) e matéria seca (MS). UESB, Vitória da Conquista – BA, 2017. 54

Tabela 1.3. Desdobramento da interação de genótipo x inoculação para primeira contagem e porcentagem da germinação de diferentes genótipos de girassol inoculados com *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe ZAE94. UESB, Vitória da Conquista – BA, 2017..... 55

Tabela 1.4. Desdobramento da interação de genótipo x inoculação para comprimento de parte aérea e de raiz primária de sementes de girassol inoculadas com *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe ZAE94. UESB, Vitória da Conquista – BA, 2017..... 57

Tabela 1.5. Desdobramento da interação de genótipo x inoculação para porcentagem de emergência e índice de velocidade de emergência de sementes de girassol inoculadas com *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe ZAE94. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2017..... 59

Tabela 1.6. Desdobramento da interação de genótipo x inoculação para altura e diâmetro do colo de plântulas de girassol inoculadas com

Herbaspirillum seropedicae, estirpe ZAE94. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2017..... 61

Tabela 1.7. Desdobramento da interação de genótipo x inoculação para massa fresca e seca de plântulas de girassol inoculadas com *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe ZAE94. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2017..... 63

Tabela 1.8. Quadrado médio e variação fenotípica (V_p), genotípica (V_g) e ambiental (V_e) dos genótipos de girassol. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2017 66

Tabela 1.9. Coeficientes de variação fenotípica (PVC), genotípica (GVC), ambiental (EVC), coeficiente de variação relativo (b), herdabilidade (h^2) e ganho genético (ΔG) dos genótipos de girassol. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2017. 67

ARTIGO II: PARÂMETROS GENÉTICOS E SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE GIRASSOL INOCULADOS COM *Herbaspirillum seropedicae* SOB NÍVEIS DE IRRIGAÇÃO 77

Tabela 2.1: Análise química do solo utilizado no experimento. UESB, Vitória da Conquista, 2017 82

Tabela 2.2: Análise de variância para altura da planta (AP), diâmetro do caule (DIAM), diâmetro de capítulo (DC), comprimento de raiz (CR), massa seca de parte aérea (MSPA), de capítulo (MSC) e de raiz (MSR) de genótipos de girassol em função da inoculação com *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe ZAE94 submetidos a diferentes níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista, Bahia, 2018..... 86

Tabela 2.3: Quadrados médios e estimativa de parâmetros genéticos das variáveis dos genótipos de girassol. UESB, Vitória da Conquista, Bahia, 2018 100

ARTIGO III: CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS E FISIOLÓGICAS DE GENÓTIPOS DE GIRASSOL INOCULADOS COM *Herbaspirillum seropedicae* SOB RESTRIÇÃO HÍDRICA109

Tabela 3.1: Características químicas do solo. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2017 114

Tabela 3.2: Resumo da análise de variância e coeficientes de variação de aminoácidos (AA), prolina (PROL), açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR), clorofila (SPAD) e nitrogênio foliar (NF). UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018 117

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO II: PARÂMETROS GENÉTICOS E SELEÇÃO DE GENÓTIPOS GIRASSOL INOCULADOS COM <i>Herbaspirillum seropedicae</i> SOB NÍVEIS DE IRRIGAÇÃO	77
Figura 2.1: Altura de genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com <i>Herbaspirillum seropedicae</i> , ZAE94 submetidos a diferentes níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista- BA, 2018	87
Figura 2.2: Comprimento de raiz de genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com <i>Herbaspirillum seropedicae</i> , ZAE94 submetidos a diferentes níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018	89
Figura 2.3: Diâmetro de caule de genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com <i>Herbaspirillum seropedicae</i> , ZAE94 submetidos a diferentes níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018	91
Figura 2.4: Diâmetro de capítulo de genótipos de girassol, inoculados (A) e não inoculados (B) com <i>Herbaspirillum seropedicae</i> , ZAE94 submetidos a diferentes níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018	93
Figura 2.5: Massa seca de parte aérea de genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com <i>Herbaspirillum seropedicae</i> , ZAE94 submetidos a diferentes níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018	95
Figura 2.6: Massa seca de raiz de genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com <i>Herbaspirillum seropedicae</i> , ZAE94 submetidos a diferentes níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018	97
Figura 2.7: Massa seca de capítulo de genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com <i>Herbaspirillum seropedicae</i> , ZAE94 submetidos a diferentes níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018	98

ARTIGO III: CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS E FISIOLÓGICAS DE GENÓTIPOS DE GIRASSOL INOCULADOS COM *Herbaspirillum seropedicae* SOB RESTRIÇÃO HÍDRICA 109

Figura 3.1: Estimativa do teor de aminoácidos em genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae* submetidos a níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018 118

Figura 3.2: Teor de prolina em genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae* submetidos a níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018. 121

Figura 3.3: Açúcares solúveis totais em genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae* submetidos a níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista- BA, 2018..... 123

Figura 3.4: Açúcares redutores em genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae* submetidos a níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018 124

Figura 3.5: Índice SPAD em genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae* submetidos a níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018 126

Figura 3.6: N foliar (%) em genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae* submetidos a níveis de irrigação UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018..... 128

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AA	Aminoácidos
ABA	Ácido abscísico
AIA	Ácido indol acético
AP	Altura de planta/plântula
AST	Açúcares solúveis total
AR	Açúcares redutores
BA	Bahia
BPCV	Bactérias promotoras do crescimento vegetal
CE	Condutividade Elétrica
CP	Comprimento de plântula/planta
CR	Comprimento de raiz
CRAS	Capacidade de retenção de água no solo
CV	Coefficiente de variação
CO ₂	Gás carbônico
DAE	Dias após emergência
DAS	Dias após semeadura
DC	Diâmetro do coleto/capítulo
DIAM	Diâmetro basal do caule
ECV	Coefficiente de variação ambiental
FBN	Fixação biológica de nitrogênio
GCV	Coefficiente de variação genotípica
h ²	Herdabilidade
ha	Hectare
Kg ha ⁻¹	Quilos por hectare
IVE	Índice de velocidade de emergência
MF	Massa fresca
MS	Massa seca
MSC	Massa seca de capítulo
MSPA	Massa seca de parte aérea
MSR	Massa seca de raiz
M1000	Massa de mil sementes
N	Nitrogênio
NF	Nitrogênio foliar
NO ₂ ⁻	Nitrito
NO ₃ ⁻	Nitrato
NMP	Número mais provável
PCV	Coefficiente de variação fenotípica
PROL	Prolina
Rpm	Rotação por minuto
SPAD	Soil Plant Analyzer Develop

TA	Teor de água
t ha ⁻¹	Toneladas por hectare
UFC	Unidade Formadora de Colônia
Ve	Varição ambiental
Vf	Varição fenotípica
Vg	Varição genotípica
\bar{X}	Média
ΔG	Ganho genético
Δp	Desvio padrão

SUMÁRIO

1. Introdução Geral	21
2. Referencial Teórico.....	23
2.1. Importância econômica da cultura do girassol (<i>Helianthus annuus</i> L.).....	23
2.2. Aspectos da cultura do girassol	24
2.3. Efeitos do déficit hídrico nas plantas	26
2.4. Adubação Nitrogenada	29
2.5. Fixação Biológica de Nitrogênio	31
2.6. <i>Herbaspirillum seropedicae</i>	33
3. Referências	35
ARTIGO I: ESTIMATIVA DE PARÂMETROS GENÉTICOS PARA GERMINAÇÃO EM SEMENTES DE GIRASSOL INOCULADAS COM <i>Herbaspirillum seropedicae</i>	45
RESUMO	46
ABSTRACT	47
INTRODUÇÃO	48
MATERIAL E MÉTODOS	49
RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
CONCLUSÕES	68
REFERÊNCIAS	69
ARTIGO II: PARÂMETROS GENÉTICOS E SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE GIRASSOL INOCULADOS COM <i>Herbaspirillum</i> <i>seropedicae</i> SOB NÍVEIS DE IRRIGAÇÃO	77
RESUMO	78
ABSTRACT	79

INTRODUÇÃO	80
MATERIAL E MÉTODOS	81
RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
CONCLUSÕES	101
REFERÊNCIAS	102

ARTIGO III: CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS E FISIOLÓGICAS DE GENÓTIPOS DE GIRASSOL INOCULADOS COM *Herbaspirillum seropedicae* SOB RESTRIÇÃO HÍDRICA

RESUMO	110
ABSTRACT	111
INTRODUÇÃO	112
MATERIAL E MÉTODOS	113
RESULTADOS E DISCUSSÃO	117
CONCLUSÕES	130
REFERÊNCIAS	130

1. INTRODUÇÃO GERAL

O girassol (*Helianthus annuus* L.) possui características de interesse agrônomo as quais se destacam tolerância a temperatura, a seca e larga adaptação ao fotoperíodo quando comparada com a maioria das espécies cultivadas (CAPONE e colaboradores, 2012) e, por essa razão, tem se destacado, nos últimos anos, como alternativa para a sucessão/rotação de cultura. Devido a sua ampla adaptabilidade, a região Nordeste oferece excelentes condições edafoclimáticas para a exploração da cultura sendo uma alternativa viável para a agricultura familiar.

Além de adaptar-se a diferentes regiões, é uma cultura exigente em adubação. O N é um dos nutrientes que mais limitam a produção da cultura uma vez que ele é transformado em compostos orgânicos que se acumulam em folhas e caules e depois é translocado para os grãos/sementes (LOBO e colaboradores, 2012). No Brasil foram aplicadas 4.377 mil toneladas de N como fertilizantes em diversos cultivos agrônômicos (IEA, 2018) provocando diversos efeitos negativos nos recursos naturais como acúmulo de nitrato no lençol freático e no solo.

Em busca de alternativas que reduzam os danos causados ao meio ambiente e os custos com insumos, está à fixação biológica de nitrogênio (FBN). Esta consiste na utilização de bactérias que podem promover o crescimento e que possuem a capacidade de colonizar raízes e tecidos da planta estimulando a produção de fitormônios como a giberelina, auxina e citocinina.

A utilização de bactérias diazotróficas é vantajosa, uma vez que, a interação procarioto x eucarioto não representa fonte de contaminação ambiental e pode suprir totalmente ou parcialmente as necessidades de N requerida pelas culturas reduzindo a quantidade de fertilizantes nitrogenados

(MOREIRA e colaboradores, 2010). No entanto, a eficiência da FBN pode ser afetada pelo genótipo, pH do meio, fertilidade do solo, salinidade, temperatura, dentre outros fatores (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

As bactérias estão envolvidas em diversos mecanismos que favorecem o crescimento da planta e, portanto, podem estimular o melhor desempenho dos vegetais em condições de estresse uma vez que as bactérias diazotróficas atuam na produção do ácido indolacético (AIA), favorecendo o crescimento das raízes em busca de absorção de água e nutrientes em camadas mais profundas do solo (YANG e colaboradores, 2009).

Alguns autores afirmam que apesar do girassol ser classificado como tolerantes a seca, é possível observar que há interações entre genótipos e ambientes havendo variações de comportamento entre os genótipos e diferentes regiões e época de plantio (PORTO e colaboradores, 2007) e por isso a água pode ser um fator limitante na produção.

Poucos são os trabalhos utilizando bactérias diazotróficas para a cultura do girassol os quais verificam seus efeitos sobre as características agronômicas de crescimento, bem como as de cunho fisiológico e bioquímico quando estes são submetidos ao estresse hídrico. Para tanto, este trabalho objetivou selecionar genótipos de girassol inoculados com *Herbaspirillum seropedicae*, ZAE94, com base nas características agronômicas, bioquímica - fisiológicas e por meio do uso de parâmetros genéticos quando submetidos ao estresse hídrico.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Importância econômica da cultura do girassol (*Helianthus annuus* L.)

O girassol (*Helianthus annuus* L.) apresenta características agronômicas importantes como o rápido crescimento, tolerância a baixas temperaturas e ao calor, o que lhe confere grande adaptabilidade a diferentes condições climáticas, e ainda, a depender do genótipo utilizado, tolerância à seca (CAMPONE e colaboradores, 2012).

A versatilidade da planta permite que seus aquênios sejam utilizados desde a produção de ração animal até a extração de óleo de alta qualidade para consumo humano, bem como, seus coprodutos destinados a alimentação de ruminante e produção de biodiesel, aspecto de maior valor econômico da cultura (ÁVILA e colaboradores, 2013; PEREIRA e colaboradores, 2011; RODRIGUES e RONDINA, 2013).

Segundo o Ministério de Minas e Energia (2016), o Brasil foi o segundo consumidor de biodiesel do mundo (3,8 milhões de m³) ficando atrás somente dos Estados Unidos (7,8 milhões de m³). A produção deste provinda do girassol ocupa uma parcela pouco significativa, juntamente com outras sementes oleaginosas, uma vez que, a matéria prima mais utilizada no Brasil é o óleo de soja (71,6%), seguida do uso de gordura animal (16,8%), outros materiais graxos como o óleo de palma, amendoim, girassol, mamona, dentre outros (11,3%) e por fim, óleo de algodão (0,3%) (ANP, 2018).

Além dos aspectos apontados, o girassol ainda se destaca como planta ornamental apresentando-se como uma alternativa para gerar renda, principalmente, para pequenos produtores uma vez que o cultivo de flores de corte não requer grandes áreas para cultivo, proporciona maior retorno econômico e fixa mão de obra no campo (CURTI e colaboradores, 2012).

Na produção de sementes, os países que despontam entre os anos de 2016 a 2018, são Ucrânia, Rússia e União Européia (USDA, 2019). O Brasil não se encontra no ranking de maiores produtores porque parte das sementes utilizadas, principalmente na produção de óleo, ainda são importadas (CONAB, 2018), no entanto há possibilidades de expansão da cultura visto a disponibilidade de área e de fatores climáticos favoráveis no país.

2.2. Aspectos gerais da cultura do girassol

O girassol é uma planta anual da família Asteracea pertencente a um gênero complexo que compreende 49 espécies e 19 subespécies, sendo 12 espécies anuais e 37 perenes (CAVASIN JUNIOR, 2001).

É uma planta de haste única, não ramificada, ereta, pubescente e áspera, vigorosa, cilíndrica e com interior maciço; sistema radicular pivotante, que pode chegar a 2 m de profundidade, e grande conjunto de raízes secundárias; inflorescência do tipo capítulo, o qual apresenta brácteas imbricadas, compridas e ovais, ásperas e pilosas (LEITE e colaboradores, 2005; ROSSI, 1998).

As flores são grandes e estão inseridas num receptáculo discóide ou arredondado protegido por brácteas, que podem variar de 7 a 30,5 cm na diagonal, com disco floral escuro e lígulas radiais de cor amarela, nos casos mais comuns, mas podem ser de cor vermelho mogno, laranja ou branco, e um caule que pode atingir até 3,0 m de altura (RAB e colaboradores, 2008).

É uma planta alógama, ou seja, realiza a polinização cruzada e esta, por sua vez, é realizada principalmente pelas abelhas.

Tem como característica peculiar o heliotropismo - movimento da planta em direção ao sol - da qual deriva o seu nome comum. A inflorescência contém no seu interior várias centenas de sementes, com um comprimento entre 0,8 e 1,7 cm e largura entre 0,4 e 0,9 cm, e a cor das mesmas varia de acordo com a variedade de girassol, podendo ir do preto ao

branco, passando por preto com listas verticais brancas (RAB e colaboradores, 2008).

A parte de maior importância é o fruto, comumente chamado de semente ou aquênio em função do seu tipo. O uso das suas sementes destina-se, principalmente, para a produção de óleo vegetal comestível, à produção de biodiesel, farelos, farinha, silagem, dentre outros produtos utilizados na alimentação humana ou animal.

O cultivo do girassol é datado desde 3000 a.C. sendo utilizado pelos povos indígenas da América do Norte para alimentação, no entanto, a expansão da cultura só ocorreu no século XVI quando suas sementes foram levadas para a Europa (GROMPONE, 2005) e atualmente é cultivada em todo o mundo.

No Brasil a cultura ainda está em expansão e a região de maior destaque neste cultivo é a Centro Oeste evidenciando os estados do Mato Grosso e Goiás com produção acima de 20 mil t ha⁻¹, seguindo a região Sudeste, com destaque para o estado de Minas Gerais, com produção entre 10 e 20 mil t. ha⁻¹. Os demais estados produtores são o Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul com produção entre 5 a 10 mil t ha⁻¹ e até 5 mil t ha⁻¹, respectivamente (CONAB, 2019).

Em relação a área plantada, o Brasil possui 95,5 mil ha de área plantada, produção de 1.489 kg ha⁻¹ e produtividade de 142,2 mil t ha⁻¹ na safra 2017/2018 (CONAB, 2019).

É uma cultura com ampla capacidade de adaptação de latitude, longitude e fotoperíodo e, por essa razão, tem tido sucesso na rotação e sucessão de culturas, principalmente na região Centro Oeste, após o cultivo da soja.

2.3. Efeitos do déficit hídrico nas plantas

O déficit hídrico é um dos maiores entraves na produção agrícola nos últimos tempos, de maneira que este pode comprometer o desenvolvimento e crescimento das culturas e é o principal fator que contribui para baixa produtividade da cultura em função da sua baixa eficiência do uso da água, fator que contribui para maior variabilidade dos rendimentos de grãos da cultura de um ano para outro (CASTRO e OLIVEIRA, 2005; LEITE e colaboradores, 2005).

De modo geral, o déficit hídrico afeta as respostas morfológicas e fisiológica das plantas sendo que essas respostas são desencadeadas de forma diferente, pois as mesmas competem ao genótipo utilizado, além disso, as alterações ocorridas no comportamento podem ser irreversíveis em função da duração, severidade e estágio de desenvolvimento da cultura em questão (SANTOS e CARLESSO, 1998). Segundo esses autores, a frequência e a intensidade do déficit hídrico são os fatores importantes à limitação da produção agrícola.

É sabido que a disponibilidade da água possui relação direta com a textura do solo, de modo que, solos argilosos retêm água com mais facilidade do que os arenosos devido à menor porosidade e maior área superficial (TAIZ e ZEIGER, 2017). Solos secos disponibilizam menor quantidade de água às plantas em função da sua capacidade de retenção acarretando efeitos na distribuição e desenvolvimento das raízes.

O volume de solo explorado e o contato das raízes com o solo proporcionam absorção efetiva da água pelas raízes. Em caso de déficit hídrico as raízes tendem a explorar camadas mais profundas do solo em busca de água, e essa condição de estresse abiótico causa um aumento na concentração de ácido abscísico (ABA) nas raízes justificando o crescimento destas e a formação de raízes laterais. Entretanto, o ABA não se restringe a esta parte da planta e é transportado para outras partes suprimindo o

crescimento foliar e sua abscisão, bem como, antecipando o processo reprodutivo (LARCHER, 2000; SCALON e colaboradores, 2011; TAIZ e ZEIGER, 2017).

O efeito da seca nas plantas é evidenciado em alguns processos morfofisiológicos, já em outros, esse processo é pouco observado. A resposta mais evidente ao déficit hídrico consiste no decréscimo da produção da área foliar, do fechamento dos estômatos e da aceleração da senescência das folhas (SMIT e SINGLES, 2006; TAIZ e ZEIGER, 2017). A redução da área foliar é uma estratégia para reduzir a superfície transpirante e o gasto metabólico (INMAR- BAMBER e colaboradores, 2008).

O déficit hídrico também pode reduzir o crescimento das plantas, pois esta afeta a diferenciação celular em função da redução da turgescência da célula e, por conseqüência, afeta a produção e translocação de fotoassimilados para novas áreas de crescimento. Padilha e colaboradores (2016), em experimento com pinhão manso, afirmam que a capacidade de retenção de água no solo (CRAS) foi capaz de promover redução do número de folhas e, conseqüentemente, redução da área foliar por déficit e excesso de água, aos 42 dias após emergência (DAE), com valor máximo de 69% e mínimo de 67% da CRAS, respectivamente.

É válido salientar que a senescência foliar é uma ação normal e comum em plantas em fase de maturação, no entanto, em face ao déficit hídrico essa situação pode ocorrer precocemente. A redução da área foliar é justificada por meio da redução do tamanho das folhas individuais ou com a menor produção de folhas (SANTOS e CARLESSO, 1998), o que reduz a área fotoassimilável e, por conseqüência, a transpiração e produção nas culturas. No entanto, algumas culturas como o milho e girassol possuem uma quantidade de folhas predeterminada geneticamente e que é bastante reduzido em comparação com outras culturas (BELAYGUE e colaboradores, 1996).

As plantas são seres capazes de canalizar a energia solar e promover o aumento da produtividade agrícola. No entanto, sob condições de estresse hídrico, a intensidade luminosa, a temperatura, a concentração de CO₂, de nitrogênio foliar e a umidade do solo são fatores que afetam a atividade fotossintética das culturas e conseqüentemente a produtividade (MARENCO e LOPES, 2005)

A fotossíntese possui papel importante na produção das culturas porque o enchimento de grãos é influenciado pela taxa de carboidratos acumulados nas plantas. O déficit hídrico afeta a utilização dos carboidratos uma vez que os fotoassimilados são convertidos a produção de partes novas da planta (SANTOS e CARLESSO, 1998). Os autores outrora citados, Monti e colaboradores (2007), ainda afirmam que os carboidratos no interior da planta condicionam as mesmas a desenvolverem mecanismos de adaptação e resistência, sendo que, plantas que são submetidas ao estresse hídrico desde a sua fase jovem, possuem maior capacidade de adaptação do que aquelas que submetidas de forma abrupta às condições de déficit hídrico. Comportamento semelhante a este foi observado por Cechin e colaboradores (2010), para folhas jovens e maduras de girassol, variedade Catissol-01, quando submetidas ao déficit hídrico durante seis dias e levadas a reidratação dos tecidos por 24h.

Além do ajuste e da forma de atuação dos carboidratos, o metabolismo celular também é adequado por meio do acúmulo de substâncias orgânicas, como a prolina, que contribui para a osmorregulação (SILVA e colaboradores, 2004). Segundo Cechin e colaboradores (2010), a idade da folha tem efeito significativo sobre a fotossíntese ao qual folhas jovens possuem maiores taxas fotossintéticas do que as maduras. No entanto, em trabalho mencionado pelos autores acima, folhas jovens de girassol obtiveram menor taxa fotossintética do que folhas maduras quando submetidas ao estresse hídrico.

No caso do girassol, o período de maior demanda hídrica e nutricional é após a formação do botão floral até o florescimento, sendo importante que nessa fase ocorra equilíbrio entre a quantidade de nutrientes no solo e o volume de água do sistema (CASTRO e colaboradores, 2006).

Sabe-se que o girassol é frequentemente plantado em áreas não irrigadas. Entretanto, a necessidade de água para a cultura é aumentada ao longo do seu desenvolvimento partindo de valores em torno de 0,5 a 1,0 mm dia⁻¹ durante a fase de semeadura à emergência para um máximo de 6,0 a 7,0 mm dia⁻¹ na floração e no enchimento de grãos, decrescendo após esse período (CASTRO e colaboradores, 1996).

2.4. Adubação Nitrogenada

O nitrogênio é um nutriente essencial para as culturas e é o elemento mais limitante para o desenvolvimento das plantas em solos tropicais. Pode ser absorvido pelas raízes tanto na forma nítrica (NO₃⁻) quanto na amoniacal (NH₄⁺), sendo que a forma preferencial de absorção depende de cada espécie cultivada (ZAMBOLIM e colaboradores, 2012; WILLIAMS e MILLER, 2001).

No caso do girassol, pesquisas afirmam que a absorção na forma nítrica favorece maior produção de massa seca quando comparada com a forma amoniacal (ROCHA e colaboradores, 2014; SILVA e colaboradores, 2010).

É um macronutriente absorvido em grande quantidade pela maioria das plantas, e fundamental para incrementar a produção das culturas. O nitrogênio desempenha papel de grande importância no metabolismo e nutrição das plantas, inclusive, no girassol. Ele é parte constituinte da molécula de clorofila, ácidos nucleicos, aminoácidos e proteínas (NOBRE e colaboradores, 2010). Ainda participa de processos metabólicos como a fotossíntese, respiração, multiplicação e diferenciação celular (KUSANO e

colaboradores, 2011; MALAVOLTA, 2006; ZAMBOLIM e colaboradores, 2012).

Apesar da sua complexidade, por fazer parte de diversos processos, é um elemento que não é totalmente absorvido pela cultura. Parte dele se perde por volatilização, lixiviação, erosão, desnitrificação (VARGAS, 2010).

No girassol, sua deficiência limita a produção de aquênios, enquanto que, seu excesso ocasiona decréscimo na porcentagem de óleo além de aumentar a incidência de pragas e doenças (BISCARO e colaboradores, 2008, NOBRE e colaboradores, 2011). É indicado parcelar o N para a cultura aplicando 1/3 na semeadura e o restante 30 dias após emergência das plantas (CASTRO e colaboradores, 1996).

A característica morfológica mais afetada pela adição de nitrogênio é o diâmetro do capítulo. Para alguns genótipos, o aumento em pequenas doses favorece o aumento do diâmetro das flores (SAMENI e colaboradores, 1976), no entanto, Biscaro e colaboradores (2008), observaram que o diâmetro máximo de capítulo do girassol, cultivar H 358, foi de 11,9 cm para dose máxima de 44,9 kg ha⁻¹ de nitrogênio. Os autores ainda ressaltam que apesar da importância do macronutriente, altas doses não são necessárias para o desenvolvimento de características como esta citada.

A resposta do girassol a adubação nitrogenada é relativa, depende do genótipo utilizado e das condições as quais as plantas são submetidas, pois o mesmo nem sempre responde positivamente à suplementação mineral (NOBRE e colaboradores, 2010, OLIVEIRA e colaboradores, 2012).

No mundo são aplicadas 77 milhões de t de N como fertilizante em diversos cultivos de importância agrônômica como: hortaliças, cana-de-açúcar, sorgo, milho, arroz, flores, plantas ornamentais, dentre outros (MARIN e colaboradores, 1999). Isso tem provocado efeitos negativos nos recursos naturais, como acúmulo de nitrato (NO₃⁻) no lençol freático, toxicidade nas plantas pelo alto nível de nitrito (NO₂⁻) nos solos,

contribuindo com a morte da biota e causando desequilíbrios nos processos naturais biogeoquímicos que se traduz num alto custo econômico, social e ecológico (MARIN e colaboradores, 1999).

Contudo, o tipo de solo e sua umidade, a escolha da fonte de nitrogênio utilizada, bem como, o uso de alternativas a adubação química como a fixação biológica de nitrogênio (FBN) e o manejo da adubação são alternativas que podem reduzir o impacto causado pelas perdas de N no solo e no ambiente assim como promover maior aproveitamento deste nutriente pelas plantas (MALAVOLTA, 2006).

2.5. Fixação Biológica de Nitrogênio

A fixação biológica do nitrogênio (FBN) representa uma grande economia em adubação, sendo os adubos nitrogenados substituídos pela inoculação das sementes, método alternativo de custo menor do que a adubação química (VINHAL-FREITAS e RODRIGUES, 2010). A manipulação de microrganismos tem sido integrada à necessidade de métodos agroecológicos que estimulem a produção de alimentos de alto valor nutricional, sem prejuízos ao solo e ao ambiente ou que ofereça riscos ao consumo humano.

A FBN é um método para obtenção de nitrogênio e este é um processo possível pela ação de microorganismos presentes no ambiente, conhecidos como diazotróficos, que podem ser encontrados em simbioses ou em vida livre. Com exceção das bactérias fotossintéticas e cianobactérias, que fixam nitrogênio, a maioria das bactérias diazotróficas de vida livre são heterotróficas e requer ecossistemas capazes de promover uma fonte de carbono utilizável, necessária para a fixação de nitrogênio (MARIN e colaboradores, 2003).

Vários processos estão envolvidos na interação entre planta e microrganismos e o estudo destes se intensificou ao longo dos anos dado a

importância dessa simbiose. A escolha correta da estirpe de bactéria, em determinada cultura, é capaz de promover incrementos no crescimento destas (FERREIRA e colaboradores, 2014).

As bactérias diazotróficas e endofíticas apresentam potencial para utilização na agricultura em função da sua habilidade em colonizar o interior das plantas e se localizar em regiões protegidas do oxigênio para que, assim, o nível da enzima nitrogenase permaneça no máximo (DÖBEREINER e colaboradores, 1995).

Os efeitos da utilização de bactérias na formulação de inoculantes ou biofertilizantes têm sido positivos, pois além de reduzir os impactos ambientais, as bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) estimulam a produção de fitormônios como a giberelina, auxina, citocinina; promove o aumento da redutase de nitrato e favorece a solubilização de fosfato (HUNGRIA, 2011).

As bactérias mais utilizadas nestes processos são do gênero *Azospirillum*, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Burkholderia*, *Serratia*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Azoarcus* e *Arthrobacter*. Algumas destas são encontradas nas raízes, outras colonizam tecidos das plantas e outras são encontradas no solo sem ocasionar sintomas de doenças às plantas, e por essa razão, são intituladas endofíticas (HARDOIM e colaboradores, 2008; HUNGRIA, 2011).

Estão envolvidas em diversos mecanismos que favorecem o crescimento da planta e, portanto, podem estimular melhor desempenho dos vegetais em condições de estresse uma vez que as bactérias diazotróficas atuam na produção de substâncias osmorreguladoras como o ácido indol acético (AIA), favorecendo o crescimento das raízes em busca de absorção de água e nutrientes em camadas mais profundas do solo (YANG e colaboradores, 2009).

Além disso, as BPCV podem conferir à planta características de imunidade e tolerância induzida por fatores abióticos como salinidade e seca (ARAÚJO e colaboradores, 2012).

Poucos são os trabalhos desenvolvidos com a cultura do girassol e da interação com as BPCV tornando necessário maior elucidação deste assunto. Em trabalhos com a cultura e associação com microorganismos diazotróficos, foi verificado que algumas bactérias podem promover efeito benéfico sobre as plantas e a microbiolização com *Bacillus* sp. e *Enterobacter cloacae* não aumentou a tolerância ao déficit hídrico, mas em condições normais de umidade do solo a combinação destas bactérias resultou no aumento do crescimento do girassol, além de aumentar a capacidade do ajustamento osmótico quando submetidas ao estresse hídrico (SANTOS e colaboradores, 2014).

2.6. *Herbaspirillum seropedicae*

Herbaspirillum seropedicae é uma bactéria diazotrófica endofítica, aeróbia, gram negativa, fixadora de nitrogênio e promotora de crescimento vegetal. Foi isolada das raízes de milho, arroz, sorgo, cana-de-açúcar e ainda de espécies frutíferas como a bananeira e abacaxizeiro (BALDANI e colaboradores, 1986; CRUZ e colaboradores, 2001).

Pertence a classe β -proteobacteria e é capaz de colonizar os tecidos internos das plantas sem causar prejuízos à planta hospedeira. Tem capacidade de fixar nitrogênio em condições limitada de oxigênio e amônio, produz e secreta hormônios que estimulam o crescimento vegetal, auxiliam na defesa de patógenos, e ainda, pode auxiliar na produção de grãos ou sementes (BALDANI e colaboradores, 1992; SCHMIDT e colaboradores, 2011).

A bactéria *H. seropedicae* possui características semelhantes as do gênero *Azospirillum*. No entanto, a *H. seropedicae* se diferencia em função

do tamanho celular, presença de mais de um flagelo, tipo de colônia formada, tolera maior pH na faixa ácida e alcalina e possui maior tolerância da atividade nitrogenase na presença de O₂ (BALDANI, 1986).

Em trabalho realizado por Goes e colaboradores (2012) foi observada uma diversidade genética de BPCV em plantas de girassol colonizando diversos tecidos. Tal evento aponta bactérias potenciais para a produção de inoculantes voltados para a cultura.

Contudo, estudos utilizando *H. seropedicae* ainda não foram encontrados para a cultura do girassol, sendo que a observância para esta cultura pode ser benéfica no que diz respeito à tolerância ao estresse abiótico, como seca e salinidade, e ao aumento na produção de grãos.

3. REFERÊNCIAS

ANP – Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis** – 2018. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/images/publicacoes/anuario-estatistico/2018/anuario_2018.pdf>. Acessado em 26 de mar. 2019.

ARAÚJO, F.F.; CREMONEZI, A.C.T.L.; MANRIQUE, A.E.R.; GONZAGA, E.N.; OLIVEIRA, G.C.; MAZZUCHELLI, R.C.L. Seleção de rizobactérias para promoção do crescimento de algodoeiro. **Colloquium Agrariae**, vol. 8, n. Especial, jul./dez. 2012.

ÁVILA, S.C.; MARTINS, A.A.; KOZLOSKI, G.V.; ORLANDI, T.; MEZZOMO, M.P.; STEFANELLO, C.M.; HENTZ, F.; CASTAGNINO, P.S. Suplementação com farelo de girassol para ovinos alimentados com silagem de bagaço de sorgo sacarino. **Ciência Rural**, Santa Maria, Online, 2013. ISSN 0103-8478.

BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J.I.; OLIVARES, F.; DOBEREINER, J. Identification and ecology of *Herbaspirillum seropedicae* and the closely related pseudomonas-rubrisubalbicans. **Symbiosis**, v. 13, n. 1-3, p. 65-73, 1992.

BALDANI, J. I.; BALDANI, V.L.D.; SELDIN, L.; DOBEREINER, J. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov. sp. nov. a Root-Associated Nitrogen-Fixing Bacterium. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 36, n. 1, p. 86-93, jan. 1986.

BELAYGUE, C.; WERY, J.; COWAN, A.A.; TARDIEU, F. Contribution of leaf expansion, rates of leaf appearance, and stolon branching to growth of plant leaf area under water deficit in white clover. **Crop Science**, Madison, v.36, p.1240- 1246, 1996.

BISCARO, G.A.; MACHADO, J.R.; TOSTA, M.S.; MENDONÇA, V.; SORATTO, R.P.; CARVALHO, L.A. Adubação nitrogenada em cobertura no girassol irrigado nas condições de Cassilândia – MS. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1366-1373, set./out. 2008.

CAMPONE, A.; BARROS, H.B.; SANTOS, E.R.; CASTRO, E.F.; SANTOS, A.F.; FIDELIS, R.R. Efeito de épocas de semeadura de girassol na safrinha, em sucessão à soja no Cerrado Tocantinense. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n.1, p. 102-109, jan./fev. 2012.

CASTRO, C.; MOREIRA, A.; OLIVEIRA, R.F.; DECHEN, A.R. Boro e estresse hídrico na produção do girassol. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.2, mar./abr. 2006.

CASTRO, C.; OLIVEIRA, F. A. **Nutrição e adubação do girassol**. In: LEITE, R. M. V. B. C. e colaboradores (Eds.). *Girassol no Brasil*. Campinas: Embrapa Soja, p. 317-365, 2005.

CASTRO, C. de; CASTIGLIONI, V.B.R.; BALLA, A.; LEITE, P.M.V.B. de C.; KAIRAM, D.; MELLO, H.C.; GUEDES, L.C.A.; FARIAS, J.R.B. **A cultura do girassol**. Londrina, EMBRAPA-CNPSO. 1996. 38p. (EMBRAPA-CNPSO. Circular técnica. 13).

CAVASIN JÚNIOR, C. P. **A cultura do girassol**. Guaíba, Agropecuária, 2001. 69 p.

CECHIN, I.; CORNIANI, N.; FUMIS, T.F.; CATANEO, A.C. Differential responses between mature and young leaves of sunflower plants to oxidative estresse caused by water déficit. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40 n.6, jun. 2010.

CONAB - Companhia Nacinal de Abastecimento e Renda. **Acompanhamento da Safra Brasileira: grãos**, v. 6, Safra 2018/19, n. 6, sexto levantamento. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/safra-graos/boletim-da-safra-de-graos>>. Acessado em 25 de mar. 2019.

CONAB - Companhia Nacinal de Abastecimento e Renda. **Boletim da Sociobiodiversidade**, v.2, n. 3, p.1-76, jul./ago. /set. 2018.

CRUZ, L. M., SOUZA, E.M.; WEBER, O.B.; BALDANI, J.I.; DOBEREINER, J.; PEDROSA, F.O. 16S ribosomal DNA characterization of nitrogen-fixing bacteria isolated from banana (*Musa* spp.) and pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merrill). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 5, p. 2375-2379, may. 2001.

CURTI, G.L.; MARTIN, T.N.; FERRONATO, M.L.; BENIN, G. Girassol ornamental: caracterização, pós-colheita e escala de senescência. **Revista de Ciências Agrárias**, v.35, n.1, Lisboa, jun. 2012.

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília: EMBRAPA - SPI: Itaguí : EMBRAPA-CNPAB. pp. 19-25, 1995.

FERREIRA, E. P. B.; KNUPP, A. M.; MARTIN-DIDONET, C. C. G.; Crescimento de cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) influenciado pela

inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 655-665, 2014.

FERREIRA, J.S.; GUIMARÃES, S.L.; BALDANI, V.L.D. Produção de grãos de arroz em função da inoculação com *Herbaspirillum seropedicae*. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.7, n.13, pp. 826-833, 2011.

GOES, K. C. G. P. Biochemical and molecular characterization of high population density bacteria isolated from sunflower. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Seoul, v. 22, n. 4, p. 437-447, 2012.

GROMPONE, M.A. **Sunflower oil**. In: SHAHIDI, F. Bailey's industrial oil e fat products. 6.ed. Hoboken, NJ: John Wiley e Sons, v. 2, 2005.

HARDOIM, P. R.; VAN OVERBEEK, L. S.; ELSAS, J. D. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. **Trends in Microbiology**, Netherlands, v.16, n.10, p. 463-471, 2008.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasiliense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Embrapa Soja, Londrina, 2011. 36p

IEA – Instituto de Economia Agrícola. Mercado de Fertilizantes: aumento das importações preocupa. **Análises e Indicadores do Agronegócio**, v. 13, n. 4, abr. 2018. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/ftp/iea/AIA/AIA-16-2018.pdf>> Acesso em: 07 de jan de 2019.

INMAN-BAMBER, N. G.; BONNET, G.D.; SPILMAN, M.F.; HEWITT, M.L.; JACKSON, J. Increasing sucrose accumulation in sugarcane by manipulating leaf extension and photosynthesis with irrigation. **Australian Journal of Agricultural Research**, Austrália, v. 59, p. 13-26, 2008.

KUSANO, M.; FUKUSHIMA, A. REDESTING, HHH.; SAITO, K. Metabolomic approaches toward understanding nitrogen metabolism in plants. **Journal of Experimental Botany**, v.62, n.4, p.1439-1453, 2011.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima Artes e Textos, 2000. 531p.

LEITE, R. M. V. B. C.; BRIGHENTI, A. M.; CASTRO, C. de. **Girassol no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 641 p.

LOBO, T.F.; GRASSI FILHO, H.; COELHO, H.A. Efeito da adubação nitrogenada na produtividade do girassol. **Científica**, Jaboticabal, v.40, n.1, p.59–68, 2012.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Editora Ceres; p. 631; 2006.

MARENCO, R.A.; LOPES, N.F. 2005. **Fisiologia Vegetal: Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**, Editora UFV. Viçosa, MG. 451 p.

MARIN, V.A.; BALDANI, V.L.D.; TEIXEIRA, K.; BALDANI, J.I. **Fixação biológica de nitrogênio: Bactérias fixadoras de nitrogênio de importância para a agricultura tropical**. Brasil, 1999. Disponível em <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/598661/1/doc091.pdf>>. Acesso em 23 out. 2018.

MME – Ministério de Minas e Energia: Secretaria de Petróleo, Gás natural e Biocombustíveis. **Boletim de Biocombustíveis**. Edição Nº 110, jul/ago de 2017. Disponível em:

<http://www.mme.gov.br/documents/1138769/0/Boletim+DBio+n%C2%BA+110+jul-ago+de+2017.pdf/e85a585c-10c7-4efc-bb8e-1779604f7487>>.

Acessado em 23 de mar. 2019.

MONTI, A; BARBANTI, L; VENTURI, G. Photosynthesis on individual leaves of sugar beet (*Beta vulgaris*) during the ontogeny at variable water regimes. **Annals of Applied Biology**, v.151, p.155-165, 2007.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2006, 729 p.

MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R.S.A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v.1, n2, p.74-99, 2010.

NOBRE, R.G.; GHEYI, H. R.; LOUREIRO, F. A. S.; FERREIRA, J. A. C. Produção de girassol sob estresse salino e adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 929-937, jun. 2011.

NOBRE, R.G.; GHEYI, H.R.; CORREIA, K.G.; SOARES, F.A.L.; ANDRADE, L.O. Crescimento e floração do girassol sob estresse salino e adubação nitrogenada. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 3, p. 358-365, jul.-set., 2010.

OLIVEIRA, J.T.L.; CHAVES, L.H.G.; CAMPOS, V.B.; SANTOS JÚNIOR, J.A.; GUEDES FILHO, D.H. Fitomassa de girassol cultivado sob adubação nitrogenada e níveis de água disponível no solo. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, Fortaleza, v.6, n. 1, p.23-32, 2012.

PADILHA, N.S.; SILVA, C.J.; PEREIRA, S.B.; SILVA, J.A.N.; HEID, D.M.; BOTTEGA, S.P.; SCALON, S.P.Q. Crescimento inicial do pinhão-manso submetido a diferentes regimes hídricos em latossolo vermelho distrófico. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 26, n. 2, p. 513-521, abr.-jun., 2016.

PEREIRA, E.S.; PIMENTEL, P.G.; BONFIM, M.A.D.; CARNEIRO, M.S.S.; CÂNDIDO, M.J.D. Torta de girassol em rações de vacas em lactação: produção microbiana, produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 33, n. 4, p. 387-394, 2011.

PORTO, W.S.; CARVALHO, C.G.P.; PINTO, R.J.B. Adaptabilidade e estabilidade como critérios para seleção de genótipos de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 491-499, 2007.

RAB, M., SCHEIN, C., MATTHÄUS, B. Virgin sunflower oil, **Wiley InterScience**, Alemanha, 2008.

ROCHA, J.G.; FERREIRA, L.M.; TAVARES, O.C.H.; SANTOS, A.M.; SOUZA, S.R. Cinética de absorção de nitrogênio e acúmulo de frações solúveis nitrogenadas e açúcares em girassol. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 4, p. 381-390, out./dez. 2014.

RODRIGUES, F. V.; RONDINA, D. Alternativas de uso de subprodutos da cadeia do biodiesel na alimentação de ruminantes: glicerina bruta. **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 7, n. 2, p. 91-99, 2013.

ROSSI, R.O. **Girassol**. Curitiba: Tecnapro. Curitiba, 1998. 333p.

SAMENI, A. M.; MAFTOUN, M.; HOJJATTI, S. M.; SHEIBANY, B. Effect of fertilizer-N and herbicides on the growth and N content of sunflower. **Agronomy Journal**, Madison, v. 68, p. 285-288, 1976.

SANTOS, J.F.; SACRAMENTO, B.L.; MOTA, K.N.A.B.; SOUZA, J.T.; AZEVEDO NETO, A.D. Crescimento de girassol em função da inoculação de sementes com bactérias endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 2, p. 142-150, abr./jun. 2014.

SANTOS, R.F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológicos das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.2, n.3, p.287-294, 1998.

SCALON, S.P.Q.; MUSSURY, R.M.; EUZÉBIO, V.L.M.; KODAMA, F.M.; KISSMANN, C. Estresse hídrico no metabolismo e crescimento inicial de mudas de mutambo (*Guazuma ulmifolia* Lam.). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 4, p. 655-662, out.-dez. 2011.

SCHMIDT, M. A., SOUZA, E.M.; WASSEM, R.; YATES, M.G.; PEDROSA, F.O.; MONTEIRO, R.A. Evidence for the endophytic colonization of *Phaseolus vulgaris* (common bean) roots by the diazotroph *Herbaspirillum seropedicae*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, n. 3, p. 182-185, mar 2011.

SILVA, P.C.C.; COUTO, J.L.; SANTOS, A.R. Efeito dos íons amônio e nitrato no desenvolvimento do girassol em solução nutritiva. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v.17, n.1, p. 104-114, 2010.

SILVA, E.C.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; NETO, A.D.A.; BRITO, J.Z.; CABRAL, E.L. Aspectos ecofisiológicos de dez espécies em uma área de caatinga no município de Cabaceiras, Paraíba, Brasil. **Série Botânica**, Iheringia, v. 59, n.2, p. 201-205, 2004.

SMIT, M. A.; SINGELS, A. The response of sugarcane canopy development to water estresse. **Field Crops Research**, Amsterdã, v. 98, p. 91-97, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p.

USDA - United States Department of Agriculture: Foreign Agricultural Service. **Oilseeds: Word markets and trade**. Mar. 2019. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/oilseeds.pdf>> . Acesso em 26 de mar. 2019.

VARGAS, V.P. **Manejo da adubação nitrogenada na recuperação de estresses em milho**. Dissertação. Lages, SC: Programa de pós-graduação em Ciências Agrárias/ Universidade do Estado de Santa Catarina/ 2010.

VINHAL – FREITAS, I.C.; RODRIGUES, M.B. Fixação biológica de nitrogênio na cultura do milho. **Agropecuária Técnica**, v. 31, n. 2, p. 143–154, 2010.

WILLIAMS, L. E.; MILLER, A. J. Transporters responsible for the uptake and partitioning of nitrogenous solutes. **Annual Review in Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 52, n. 1, p. 659-688, 2001.

YANG, J.; KLOPPER, J. W.; RYU, C. M. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic estresse. **Trends in Plant Science**, Estados Unidos, v.14, n.1, p. 1-4, 2009.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A.; ZANÃO-JUNIOR, L. A. **Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas**. Viçosa-MG, 2012, 321 p.

ARTIGO I

**ESTIMATIVA DE PARÂMETROS GENÉTICOS PARA
GERMINAÇÃO EM SEMENTES DE GIRASSOL INOCULADAS
COM *Herbaspirillum seropedicae*¹**

¹Artigo ajustado e submetido ao Comitê Editorial do periódico científico **Revista Semina: Ciências Agrárias**. B1 para a área de Ciências Agrárias, segundo o Qualis-Capes.

**ESTIMATIVA DE PARÂMETROS GENÉTICOS PARA
GERMINAÇÃO EM SEMENTES DE GIRASSOL INOCULADAS
COM *Herbaspirillum seropedicae***

RESUMO

A cultura do girassol possui características promissoras para a produção de sementes no Brasil e seu uso é destinado à fabricação de ração animal, óleo comestível e biodiesel, produto de maior importância e rentabilidade da cultura. Estas características são de interesse nos programas de melhoramento. Além disso, buscam-se práticas culturais de baixo custo e que contribuem com a conservação do meio ambiente, dentre elas o uso das rizobactérias, desta forma, este trabalho objetivou estimar parâmetros genéticos para germinação em sementes de girassol inoculados com *Herbaspirillum seropedicae*. Foram utilizados nove genótipos: BRS G51, BRS 324, BRS G47, BRS G49, BRS 323, BRS 390, BRS G45, SYN 045 e M 734 disposto no delineamento experimental inteiramente casualizado no esquema 9 x 2 totalizando 18 tratamentos, com e sem inoculação utilizando *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe ZAE94 com quatro repetições. Foram avaliadas as seguintes variáveis: primeira contagem da germinação, porcentagem de germinação, índice de velocidade de emergência, porcentagem de emergência, comprimento de plântula e raiz primária. A partir dos dados do índice de velocidade foi averiguada a altura da plântula, diâmetro do coleto, massa fresca e massa seca das plântulas. Também foi estimado os parâmetros genéticos por meio da variação e coeficiente de variação (fenotípica, genotípica e ambiental), herdabilidade e ganho genético. Foi observado comportamento diferente dos genótipos em função da inoculação com melhores resultados para BRS 390, nas variáveis comprimento de plântula, massa fresca e seca, altura e diâmetro da planta. Todos os genótipos apresentaram baixa variância ambiental, alto coeficiente de variação genotípica e herdabilidade e alto ganho genético para as variáveis germinação, porcentagem de germinação e índice de velocidade de emergência podendo ser incluídas em programas de melhoramento para seleção das características outrora citadas.

Palavras-chave: bactérias diazotróficas, *Helianthus annuus* L., inoculante, parâmetros genéticos.

**ESTIMATION OF GENETIC PARAMETERS FOR GERMINATION
IN INOCULATED SUNFLOWER SEEDS WITH *Herbaspirillum*
*seropedicae***

ABSTRACT

The sunflower crop has promising characteristics for a seed production in Brazil, and its use is made to the production of animal food, edible oil and biodiesel. These characteristics are of interest in breeding programs. In addition, low-cost cultural activities that contribute to the conservation of the environment, including the use of rhizobacteria, are sought. In this way, this work aimed to estimate genetic parameters for germination in sunflower seeds inoculated with *Herbaspirillum seropedicae*. Nine genotypes were used: BRS G51, BRS 324, BRS G47, BRS G49, BRS 323, BRS 390, BRS G45, SYN 045 and M 734 arranged in the completely randomized experimental design in the 9 x 2 scheme, totaling 18 treatments, with and without inoculation using *Herbaspirillum seropedicae*, strain ZAE94 with four replicates. The following variables were evaluated: first germination count, germination percentage, emergency speed index, emergency percentage, seedling length and primary root. From the velocity index data the height of the seedling, collection diameter, fresh mass and dry mass of the seedlings were determined. Genetic parameters were also estimated by variation and coefficient of variation (phenotypic, genotypic and environmental), heritability and genetic gain. It was observed different behavior of the genotypes as a function of the inoculation with better results for BRS 390, in the variables seedling length, fresh and dry mass, height and plant diameter. All genotypes showed low environmental variance, high genotype variation coefficient and heritability and high genetic gain for germination, germination percentage and emergence speed index, which could be included in breeding programs to select the traits mentioned above.

Key words: diazotrophic bacteria, genetic parameters, *Helianthus annuus* L., inoculant

INTRODUÇÃO

O girassol (*Helianthus annuus* L.) é uma planta eudicotiledônea amplamente cultivada em regiões semiáridas, tendo à seca como principal fator limitante da produção. Além disso, fatores como deficiência ou toxicidade mineral e qualidade fisiológica das sementes, também podem comprometer o crescimento da cultura (SKORIC, 2009).

A cultura do girassol possui características promissoras para a produção de sementes no Brasil, uma vez que seu uso é direcionado à fabricação de ração animal, óleo comestível, planta ornamental, e ainda, como biodiesel, coproduto de maior importância e rentabilidade da cultura (THOMAZ e colaboradores, 2012). No entanto, esta cultura não está adaptada aos diversos sistemas de produção do país e, por essa razão, merece atenção dos programas de melhoramento, de modo que a adoção de sementes vigorosas, com boa adaptabilidade e estabilidade da produção, garantam redução no uso de insumos e, assim, torne-se um estímulo para adoção da cultura pelo produtor (LEITE e colaboradores, 2005).

Além da busca do melhorista por selecionar genótipos mais aptos às variações ambientais, atualmente, pesquisas têm sido intensificadas visando práticas culturais de baixo custo e que contribuem com a conservação dos ecossistemas. Dentre elas, o uso de rizobactérias tem se mostrado alternativa viável para o estabelecimento de sistemas agrícolas sustentáveis (SPOLAOR e colaboradores, 2016). O uso destes microrganismos em leguminosas e gramíneas tem contribuído para o melhor desenvolvimento das plantas, rendimento de grãos e biocontrole de fitopatógenos (BASHAN e colaboradores, 2014; HUNGRIA e colaboradores, 2010).

Várias habilidades são utilizadas pelas bactérias para promover o crescimento da planta em cada estágio do seu ciclo de vida. O modo de ação difere de espécie para espécie, bem como de linhagem para linhagem. Logo, pode-se afirmar que essas bactérias não possuem um único mecanismo para

promover o crescimento vegetal (GLICK, 2012). Sendo assim, é de suma importância a seleção de genótipos e bactérias que possuam melhor simbiose, de modo que ambos sejam favorecidos para melhor desempenho do germoplasma.

Estatísticas informativas, adquirida por meio de estudos de natureza preditiva, aumentam a possibilidade da seleção de genótipos superiores, reduzindo tempo e recursos nos projetos de melhoramento (RIGON e colaboradores, 2012). Mediante essa afirmação, a avaliação de genótipos, por meio da avaliação da qualidade fisiológica das sementes, pode se tornar aliado no processo de seleção da cultura, uma vez que, é possível determinar variabilidade genética considerável para a germinação e vigor de sementes de diversas espécies antes mesmo da implantação no campo (CARDOSO e colaboradores, 2009). Desse modo, este trabalho objetivou estimar parâmetros genéticos da germinação em sementes de girassol inoculados com *Herbaspirillum seropedicae*.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Tecnologia e Produção de Sementes e na área experimental da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), campus Vitória da Conquista – BA, entre os meses de abril a junho de 2017.

Foram selecionados nove genótipos de girassol (BRS G51, BRS 324, BRS G47, BRS G49, BRS 323, BRS 390, BRS G45, SYN 045 e M734) provenientes da rede de ensaios oficial da Embrapa Soja, safra 2016, cultivados no Instituto Federal Baiano, campus Bom Jesus da Lapa - BA.

Previamente à implantação do experimento, foi realizada a caracterização do lote conforme Brasil, 2009 e Vieira; Krzyzanowski, 1999 (Tabela 1.1).

Tabela 1.1. Caracterização do lote de sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.). UESB, Vitória da Conquista – BA, 2017.

Genótipos	M1000 (g)	TA (%)	CE ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1} 25^\circ\text{C}$)
BRS G51	92,00	7,44	55,72
BRS 324	69,50	6,47	68,78
BRS G47	58,88	6,86	67,51
BRS G49	58,63	7,13	69,02
SYN 045	72,50	6,90	38,67
BRS 323	68,88	5,39	37,17
M 734	76,25	7,21	38,29
BRS 390	69,88	6,69	35,22
BRS G45	72,50	7,62	63,25

M1000= massa de mil sementes; TA= teor de água; CE= condutividade elétrica

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 9 x 2 com 4 repetições, constituído por nove genótipos e dois tratamentos, com e sem inoculação, utilizando *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe ZAE94.

A estirpe de *H. seropedicae*, ZAE94, foi obtida da coleção de culturas de bactérias diazotróficas da Embrapa Agrobiologia com o código BR 11417. Posteriormente, foi realizado o processo de produção do inoculante no Laboratório de Microbiologia do Solo da UESB, no qual a bactéria foi repicada em tubos de ensaio contendo meio Dygs, por 24 horas, a 30°C sob agitação a 100 rpm e em seguida riscada em placas com meio específico JNFb para verificar a pureza da cultura crescida (DOBEREINER e colaboradores, 1995).

Após a verificação da pureza, a estirpe foi multiplicada em meio Dygs e o número de células viáveis foi determinado pelo método do Número Mais Provável (NMP) no meio JNFb, e utilizada no preparo do inoculante, no qual foram ajustadas para 10^9 UFC mL⁻¹, conforme recomendação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011).

As sementes foram desinfestadas por meio de lavagem com hipoclorito a 1%, durante 1 minuto, e em seguida, foi realizada a tríplice lavagem com água destilada. Para o tratamento inoculado, as sementes foram submersas em 200 mL no meio de cultura durante seis horas (SANTOS e colaboradores, 2014) e mantidas em BOD, a 25°C.

A avaliação da germinação foi realizada por meio de rolos de papel Germitest, umedecidos com água destilada, na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco em quatro repetições de 50 sementes, para cada genótipo. Os rolos foram dispostos em câmara de germinação do tipo BOD à 25°C ± 1, com avaliações no quarto dia do início do teste para primeira contagem de germinação e décimo dia para a germinação. Os resultados foram expressos em porcentagem (BRASIL, 2009).

Foi obtido o comprimento de parte aérea (CPA) e de raiz primária (CR) utilizando-se régua graduada. O procedimento ocorreu da mesma forma da avaliação da germinação, conforme Brasil (2009), no entanto, foi utilizando quinze sementes por repetição com funículo posicionado para baixo.

O índice de velocidade de emergência (IVE) foi verificado mediante avaliações diárias na área experimental da UESB durante 14 dias. Foram semeadas 200 sementes de cada genótipo, distribuídas em quatro canteiros com 50 sementes em cada linha. A área adotada por canteiro foi de 5 m². O IVE foi calculado mediante os dados obtidos das contagens diárias do número de plântulas germinadas a partir da emergência da primeira plântula (MAGUIRE, 1962). A porcentagem de emergência foi calculada de acordo com a razão entre o número de plântulas emergidas e o número total de sementes semeadas.

Após esse período, foram avaliadas dez plântulas de cada linha para obtenção da altura de plântula (AP), com resultados expressos em centímetros; diâmetro do coleto (DC), expresso em milímetros; massa fresca

(MF) e seca (MS) total, expressa em gramas por planta. Para obtenção da MF e MS as plântulas foram submetidas a estufa a 65°C durante 72 h.

Os dados foram submetidos ao teste Cochran e de Lilliefors, respectivamente, utilizando o programa estatístico SAEG 9.1 (RIBEIRO JUNIOR, 2001). Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância, e para a comparação das médias, adotou-se o teste de Scott – Knott e teste F a 5% de probabilidade utilizando o programa SISVAR versão 5.6 (FERREIRA, 2011).

Os parâmetros genéticos foram calculados utilizando as fórmulas apresentadas por Oyiga; Urugu, (2010); Sunday e colaboradores (2007):

a) Variação genotípica, fenotípica e ambiental

$$Vg = \frac{MSg - MSe}{r} \quad Vp = \frac{MSg}{r} \quad Ve = \frac{MSe}{r}$$

Onde Vg, Vp e Ve são variâncias genotípicas, fenotípicas e ambiental, respectivamente; MSg, MSe e r são os quadrados médios dos genótipos, quadrado médio do resíduo e número de repetições, respectivamente.

b) Coeficiente de variação genotípica, fenotípica e ambiental

$$GCV = \frac{\sqrt{Vg}}{\bar{X}} \cdot 100 \quad PCV = \frac{\sqrt{Vp}}{\bar{X}} \cdot 100 \quad ECV = \frac{\sqrt{Ve}}{\bar{X}} \cdot 100$$

Onde GCV, PCV e ECV correspondem a coeficiente de variação fenotípica, genotípica e ambiental, respectivamente e \bar{X} a média geral de cada tratamento.

c) Coeficiente de variação relativo (b)

$$b = \frac{GCV}{ECV}$$

d) Herdabilidade

$$h^2 = \frac{Vg}{Vp}$$

e) Ganho genético

$$\Delta G = i\Delta ph^2$$

Onde i corresponde a constante (2,06 quando a intensidade de seleção é de 5%), Δp ao desvio padrão da variância fenotípica e h^2 a herdabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância, foi observado efeito significativo para genótipo em todas as variáveis analisadas; para bactéria efeito significativo foi observado para germinação (GER), comprimento de parte aérea (CPA) e de raiz (CR) e para a interação genótipo e bactéria, efeito significativo foi observado para a maioria das variáveis com exceção da matéria seca (MS), conforme descrito na tabela 1.2.

Tabela 1.2: Resumo da análise de variância para primeira contagem da germinação (PC), germinação (GER), comprimento de parte aérea (CPA), porcentagem de emergência (EMERG), índice de velocidade de emergência (IVE), altura de plântula (ALT), diâmetro (DIAM), matéria fresca (MF) e matéria seca (MS). UESB, Vitória da Conquista – BA, 2017.

FV	GL	Quadrados médios									
		PC	GER	CPA	CR	EMERG	IVE	ALT	DIAM	MF	MS
GEN	8	2497,38*	2057,6805*	19,79*	71,43*	754,87*	871,72*	1,28*	1,71*	339,49*	1,55*
INOC	1	0,34 ^{ns}	544,50*	2,8*	216,77*	6,05 ^{ns}	0,06 ^{ns}	29,63 ^{ns}	0,04 ^{ns}	50,26 ^{ns}	0,003 ^{ns}
GEN X INOC	8	491,47*	611,93*	11,62*	27,16*	32,92*	89,63*	4,68*	1,9*	43,96*	0,16 ^{ns}
Resíduo	54	9,77	13,12	0,44	0,31	3,77*	7,37	0,35	0,16	18,62	0,11
CV (%)	-----	6,16	4,81	10,88	5,84	5,66	4,96	5,34	10,25	11,27	11,96

* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F; ns = não significativo.

Para a primeira contagem, maior valor foi obtido para o genótipo BRS G51 quando não inoculada e para BRS 323 quando inoculado (Tabela 1.3). Ao observar o desdobramento da inoculação em função dos genótipos, é possível afirmar que houve efeito da inoculação sobre os genótipos BRS 324, SYN 045, BRS 323 e BRS 390 (Tabela 1.3).

Tabela 1.3. Desdobramento da interação de genótipo x inoculação para primeira contagem e porcentagem da germinação de diferentes genótipos de girassol inoculados com *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe ZAE94. UESB, Vitória da Conquista – BA, 2017.

Genótipos	Primeira Contagem (%)		Germinação (%)	
	Não Inoculado	Inoculado	Não Inoculado	Inoculado
BRS G51	81,00 aA	57,75 bB	90,25 aA	72,00 dB
BRS 324	34,50 fB	51,00 cA	60,00 eB	69,00 dA
BRS G47	43,75 eA	42,00 dA	74,50 dA	77,50 cA
BRS G49	56,50 dA	41,00 dB	94,75 aA	86,00 aB
SYN 045	46,75 eB	52,00 cA	58,00 eB	87,50 aA
BRS 323	73,00 bB	88,00 aA	85,00 bB	96,50 aA
M 734	25,00 gA	11,75 eB	42,25 fA	33,50 eB
BRS 390	35,50 fB	56,75 bA	80,00 cA	78,50 cA
BRS G45	61,50 cA	56,00 bB	63,00 eB	96,75 aA
Médias	50,83	50,69	71,97	78,67
CV (%)	6,16		4,85	

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na coluna não diferem pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$); Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na linha não diferem entre si pelo teste de F ($P \leq 0,05$).

Para germinação, maiores percentuais foram obtidos nas sementes dos genótipos BRS G51 e BRS G49 não inoculadas, no entanto estes não diferiram estatisticamente entre si. Quando inoculadas, maiores valores foram obtidos para BRS G49, BRS 323, SYN 045 e BRS G45 (Tabela 1.3). Para o desdobramento da interação inoculação dentro de genótipos efeito da

bactéria foi observado para os genótipos BRS 324, SYN 045, BRS 323 e BRS G45.

Os resultados de germinação assemelham-se ao da primeira contagem quando observado o efeito da inoculação sobre os genótipos. Braz; Rossetto (2009) e Nobre e colaboradores (2015) observaram que sementes de girassol com maior porcentagem de germinação foram aquelas que obtiveram maiores valores para primeira contagem de germinação. Esta é uma qualidade associada ao genótipo e, em alguns casos, ao ambiente em que este se encontra.

As bactérias endofíticas colonizam diferentes órgãos da planta e são benéficas ao seu desenvolvimento podendo promover aumento nas taxas de germinação, bem como no crescimento de órgãos e no incremento da produção das culturas (GARCIA e colaboradores, 2015; RICHARDSON e colaboradores, 2009; SILVA e colaboradores, 2012). Além disso, maior porcentagem de germinação pode ser justificada pela produção do ácido indol-acético (AIA), uma vez que a auxina é o fitoregulador de maior ocorrência quando bactérias, como a *H. seropedicae*, são associadas às plantas (PEDRINHO e colaboradores, 2010; TSAVKELOVA e colaboradores, 2006). Resultados semelhantes ao aumento na porcentagem de germinação foram descritos por Araújo e colaboradores (2010) para sementes de arroz em relação à testemunha quando inoculadas com *Azospirillum* e *Herbaspirillum*.

Observando o comprimento de parte aérea e raízes, maiores valores foram verificados para BRS G49, com e sem inoculação. Para os genótipos BRS 390 e BRS G45 foi observado incremento na parte aérea quando as sementes foram inoculadas. Maiores valores foram observados para os genótipos outrora citados no desdobramento da interação inoculação dentro de genótipo (Tabela 1.4).

Para raízes, maior comprimento foi observado para BRS G49, BRS 323 e BRS G45 quando inoculados no desdobramento da interação genótipo x inoculação. No desdobramento inoculação dentro de genótipo, observa-se efeito da mesma sobre os genótipos citados, bem como, do BRS G51, BRS G47, SYN 045 não diferindo estatisticamente os mesmos entre si (Tabela 1.4).

Tabela 1.4. Desdobramento da interação de genótipo x inoculação para comprimento de parte aérea e de raiz primária de sementes de girassol inoculadas com *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe ZAE94. UESB, Vitória da Conquista – BA, 2017.

Genótipos	Comprimento de Parte Aérea (cm)		Comprimento de Raiz Primária (cm)	
	Não Inoculado	Inoculado	Não Inoculado	Inoculado
BRS G51	6,59 bA	5,42 cB	8,18 cB	12,56 bA
BRS 324	5,21 dA	4,44 cA	6,78 dA	7,62 dA
BRS G47	4,10 dB	7,64 bA	5,35 fB	12,04 bA
BRS G49	8,45 aA	9,02 aA	14,10 aB	15,77 aA
SYN 045	6,16 cA	5,27 cA	6,15 eB	11,09 cA
BRS 323	7,33 bA	7,23 bA	6,67 dB	15,40 aA
M 734	5,05 dA	1,36 dA	4,77 fA	3,63 eB
BRS 390	5,71 cB	8,41 aA	12,29 bA	10,70 cB
BRS G45	5,02 dB	8,39 aA	6,02 eB	12,74 aA
Médias	5,95	6,35	7,81	11,28
CV (%)	10,88		5,84	

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$); Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na linha não diferem entre si pelo teste de F ($P \leq 0,05$).

O ácido indolacético é a molécula de auxina mais abundante em sistemas biológicos (CHAVES e colaboradores, 2015). Dentre seus efeitos pode-se destacar a iniciação de raízes laterais e adventícias, o estímulo à divisão celular, alongamento de raízes e colmos (TEALE e colaboradores, 2006). Chaves e colaboradores (2015) avaliando a produção de AIA em cinco estirpes de bactérias diazotróficas verificaram que o *Herbaspirillum seropedicae* e *Herbaspirillum rubrisubalbicans* apresentaram maior produção de compostos indólicos em relação às estirpes de *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Burkholderia tropica* e *Azospirillum amazonense*.

Sala e colaboradores (2005), avaliando o crescimento da raiz principal de trigo, observaram que o genótipo ITD -19, colonizado com diferentes isolados de *Azospirillum* sp. e *Herbaspirillum* sp., apresentou comprimento de raiz significante e maior em relação à testemunha, enquanto que respostas diferentes foram observadas para os outros genótipos de trigo avaliados, inclusive redução no comprimento de raiz principal.

Para porcentagem de emergência, maiores valores foram encontrados para os genótipos SYN 045 e BRS 323 tanto inoculado quanto não inoculado, no entanto, estes não diferiram estatisticamente em função da ação do *H. seropedicae*, ZAE94, sob a emergência (Tabela 1.5). Valores semelhantes foram encontrados por Santos e colaboradores (2014) para porcentagem de germinação de sementes de girassol.

Efeito da inoculação foi observado nos genótipos BRS 324, que obteve maior percentual quando inoculado; nos genótipos BRS G47 e M734, houve redução da porcentagem de emergência quando inoculado com *H. seropedicae*, ZAE94 (Tabela 1.5). Os demais genótipos não diferiram estatisticamente entre si.

Tabela 1.5. Desdobramento da interação de genótipo x inoculação para porcentagem de emergência e índice de velocidade de emergência de sementes de girassol inoculadas com *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe ZAE94. UESB, Vitória da Conquista- BA, 2017.

Genótipo	Emergência (%)		Índice de Velocidade de Emergência	
	Não inoculado	Inoculado	Não Inoculado	Inoculado
BRS G51	34,54 cA	34,97 cA	54,17 bA	53,47 bA
BRS 324	24,63 dB	33,00 cA	42,68 cB	55,05 bA
BRS G47	38,74 bA	34,15 cB	62,94 aA	52,44 bB
BRS G49	38,53 bA	37,55 bA	59,84 aA	58,59 bA
SYN 045	43,51 aA	44,03 aA	62,94 aA	66,66 aA
BRS 323	43,32 aA	42,00 aA	62,15 aB	67,12 aA
M 734	14,25 eA	8,21 dB	32,51 dA	27,95 cB
BRS 390	37,74 bA	38,09 bA	60,23 aA	55,55 bB
BRS G45	36,37 cA	34,41 cA	54,86 bA	55,55 bA
Médias	34,62	34,04	54,76	54,70
CV (%)	5,66		4,96	

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$); Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na linha não diferem entre si pelo teste de F ($P \leq 0,05$).

Os genótipos BRS G47, SYN 045, BRS 323, BRS 390 e BRS G49 obtiveram maior IVE quando não inoculados e o BRS 323 e SYN 045 quando inoculados (Tabela 1.7), no entanto, os genótipos BRS G47, M 734 e BRS 390 reduziram o IVE ao serem inoculados.

Rocha e colaboradores (2015) verificaram valores semelhantes para velocidade de emergência em sementes de girassol. No entanto, com a diferença de comportamento das sementes inoculadas e não inoculadas é possível inferir que os genótipos respondem distintamente à inoculação podendo haver interferência de fatores externos sobre as mesmas.

Estudos em diversas culturas evidenciam um aumento na velocidade de emergência, quando as sementes foram inoculadas com rizobactérias, indicando uma eficiente simbiose entre o material genético e as bactérias. No entanto, para o girassol são poucos os estudos dessa natureza dificultando

interpretação de alguns dados, principalmente, no que diz respeito ao comportamento de sementes e resposta da planta à inoculação.

Em trabalho com feijão de inverno inoculado com *Rhizobium tropici*, Bassan e colaboradores (2001), verificaram comportamento com resultados inferiores às plantas não inoculadas. Esse comportamento, tanto para o feijão quanto para o girassol, pode ser justificado pela presença de estirpes nativas no solo mais agressivas do que a estirpe introduzida, e que competem pelo sítio de infecção de forma mais eficaz.

Para altura das plântulas, maior valor foi observado para o genótipo BRS G51 quando não inoculado, e para os genótipos BRS 324, BRS 323 e BRS 390 quando inoculados (Tabela 1.6). Ao observar o efeito da inoculação, maiores efeitos foram observados, também, para os genótipos supracitados além do BRS G49, no entanto, para o BRS G47 obteve maior altura na ausência de inoculação (Tabela 1.6).

Tabela 1.6. Desdobramento da interação de genótipo x inoculação para altura e diâmetro do colo de plântulas de girassol inoculadas com *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe ZAE94. UESB, Vitória da Conquista-BA, 2017.

Genótipo	Altura (cm)		Diâmetro (mm)	
	Não inoculado	Inoculado	Não Inoculado	Inoculado
BRS G51	13,43 aA	10,87 bB	4,17 aB	4,87 aA
BRS 324	11,57 cB	13,24 aA	4,79 aA	3,56 bB
BRS G47	12,26 bA	10,98 bB	3,73 bA	3,20 bA
BRS G49	9,02 dB	10,71 bA	2,84 cB	3,82 bA
SYN 045	11,35 cA	11,10 bA	4,39 aA	4,41 aA
BRS 323	11,77 cB	13,41 aA	4,87 aA	3,49 bB
M 734	6,99 eA	6,39 cA	2,73 cB	4,26 aA
BRS 390	12,26 bB	13,62 aA	4,46 aA	4,13 aA
BRS G45	10,70 cA	11,44 bA	3,66 bA	3,47 bA
Médias	11,03	11,30	3,96	3,91
CV (%)	5,34		10,25	

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$); Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na linha não diferem entre si pelo teste de F ($P \leq 0,05$).

Maior altura pode ser justificada pela produção do ácido indolacético uma vez que as bactérias promotoras de crescimento conseguem sintetizar de forma eficaz esse hormônio.

Em concordância com os resultados obtidos para altura, Santos e colaboradores (2014), ao inocular *Bacillus* sp.e *Enterobacter cloacae* em sementes de girassol identificou que houve incremento nas variáveis de crescimento analisadas. Para esses autores, resultados promissores foram obtidos com a junção desses dois microrganismos. Leiba Júnior e colaboradores (2015) ao inocular *Azospirillum brasilense* em sementes de girassol observaram que melhor crescimento das plantas ocorreu quando estas não foram inoculadas. Para Dartora e colaboradores (2013), a altura de planta não foi influenciada pela inoculação com *A. brasilense* e *H. seropedicae* tanto na fase vegetativa quanto reprodutiva para cultura do

milho. Comportamento semelhante pode ser observado para o genótipo BRS G51 quando não inoculado.

Para diâmetro do coleto das plântulas, maiores médias foram observadas para BRS G51, BRS 324, SYN 045, BRS 323 e BRS 390 quando não inoculado e para M 734, SYN 045, BRS 390 e BRS G51 quando inoculadas, sendo que os três últimos obtiveram maiores médias tanto com quanto sem inoculação (Tabela 1.6). Efeito da inoculação foi observado para BRS G51, BRS G49 e M734 com aumento do diâmetro quando inoculado. Para BRS 324 e BRS 323 houve redução da variável na presença da inoculação. Os genótipos BRS G47, SYN 045 BRS 390 e BRS G45 não diferiram estatisticamente sendo possível afirmar que, para esta variável, não houve interferência do *H. seropedicae*, ZAE94.

Aumento no diâmetro foi verificado por Gírio e colaboradores (2015) quando avaliado o desenvolvimento inicial de cana-de-açúcar, no entanto, resultados ainda mais expressivos foram observados quando a inoculação com as bactérias *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Azospirillum amazonense*, *Burkholderia tropica*, *Herbaspirillum seropedicae* e *Herbaspirillum rubrisubalbicans* foi realizada em conjunto com a adubação nitrogenada.

A redução de valores ou a ausência de respostas, relacionados ao diâmetro, de sementes inoculadas com *H. seropedicae* também foi observada por outros autores (DOTTO e colaboradores, 2010). De forma similar Reis e colaboradores (2000) relatam que a ausência de resposta à inoculação está relacionada à seleção de linhagens inadequadas, sendo a escolha do genótipo o fator chave para obtenção dos resultados positivos da simbiose genótipo-bactéria.

Outro fator influenciado pela interação das bactérias com a planta é o incremento na massa fresca ou seca das mesmas. No que se refere a essa variável, os genótipos de girassol que obtiveram maiores resultados para

massa fresca foram: BRS 324, SYN 045, BRS 323, BRS 390 e BRS G45 quando inoculados (Tabela 1.7). Observa-se que para a maioria dos genótipos, não houve diferença estatística entre as sementes inoculadas e não inoculadas com *H.seropedicae*, ZAE94, com exceção do BRS G51 e BRS 323, indicando que a planta nem sempre é responsiva a inoculação e que esta pode desencadear diferentes respostas na planta.

Tabela 1.7. Desdobramento da interação de genótipo x inoculação para massa fresca e seca de plântulas de girassol inoculadas com *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe ZAE94. UESB, Vitória da Conquista- BA, 2017.

Genótipo	Massa Fresca (g)		Massa Seca (g)	
	Não inoculado	Inoculado	Não Inoculado	Inoculado
BRS G51	41,31 bA	34,90 bB	3,30 aA	2,98 bA
BRS 324	42,37 bA	45,57 aA	3,09 aA	3,24 bA
BRS G47	33,47 cA	36,20 bA	2,54 bA	2,79 bA
BRS G49	33,80 cA	33,75 bA	2,48 bA	2,40 cA
SYN 045	39,92 bA	37,85 aA	2,77 bA	2,54 cA
BRS 323	54,45 aB	42,75 aA	3,46 aA	3,00 bA
M 734	26,20 dA	25,22 cA	1,99 cA	2,17 cA
BRS 390	41,05 bA	41,22 aA	3,26 aA	3,67 aA
BRS G45	39,62 bA	39,70 aA	2,99 aA	2,99 bA
Médias	39,13	37,46	2,87	2,86
CV (%)	11,27		11,96	

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$); Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na linha não diferem entre si pelo teste de F ($P \leq 0,05$).

Nunes (2013) também observaram maior incremento na matéria fresca de plantas de arroz irrigado quando inoculado com *H. seropedicae* do que quando utilizou isolados de *Azospirillum* sp. e a testemunha. Araújo e colaboradores (2013) observaram que houve respostas diferentes em plantas de milho inoculadas com a estirpe ZAE94, sendo que alguns híbridos utilizados responderam positivamente, mas outra parte, respondeu de forma

negativa à interação planta-microrganismo corroborando com os resultados deste trabalho.

Com relação à massa seca, apenas o genótipo BRS 390 apresentou maior massa quando inoculado (Tabela 1.7). Quando não inoculado, os genótipos BRS G51, BRS 324, BRS 323, BRS 390 e BRS G54 obtiveram maior massa não diferindo estatisticamente entre si.

A interação estirpe e planta está diretamente ligada com a complexidade da resposta à inoculação. Essa resposta é variável e reflete a especificidade da interação genótipo e bactéria. Desse modo, as bactérias podem se comportar de diversas formas, para promover incremento na planta, dentre eles, alguns mecanismos que favorecem o crescimento das plantas são a adesão destas nas raízes através de mecanismos como: adsorção, aderência fraca intermediada por proteínas e ancoragem, aderência forte e mediada por polissacarídeos (HORI; MATSUMOTO, 2010; RODRÍGUEZ-NAVARRO e colaboradores, 2007).

A interação entre planta e bactérias trazem benefícios no crescimento de ampla variabilidade e por isso são considerados complexos e ainda não foram totalmente elucidados, principalmente no que diz respeito à inoculação do girassol. A seleção de bactérias produtoras de AIA e que tenham potencial para fixação de nitrogênio é de grande importância nesse quesito, pois o uso das mesmas promove o aumento da produtividade nas culturas e ainda promove a economia por meio da redução o uso de adubos nitrogenados. (TEIXEIRA e colaboradores 2007).

Goes (2012) avaliou a diversidade genética de microrganismos associados ao girassol e verificou que muitas bactérias têm potencial para colonizar tecidos e a rizosfera da planta de modo que promova o crescimento. Por outro lado, Hanada e Romero (1998) afirmam que de um total de 88 rizobactérias nativas encontradas na rizosfera do girassol apenas uma foi capaz de promover o crescimento da planta.

Os genótipos de girassol respondem de forma diferente à inoculação, de modo que alguns apresentam respostas negativas sendo, portanto, interessante que a inoculação com *H. seropedicae* seja realizada em junção com outro microorganismo ou com a adição de pequenas doses de nitrogênio afim de que esses resultados sejam potencializados.

As respostas dos genótipos ao efeito da inoculação também podem ser justificadas mediante análise dos parâmetros genéticos, expostos nas tabelas 1.8 e 1.9. Esses parâmetros são de grande importância ao melhoramento, pois estes permitem inferir a variabilidade da população, bem como, apontar o potencial de uma população para seleção e melhoramento genético.

Verifica-se que a variação fenotípica (V_p) foi próxima da variação genotípica (V_g) e superior a variação ambiental (V_e), para todas as variáveis, indicando baixa influência do ambiente sobre o genótipo (Tabela 1.8). Este fator é relevante para o melhoramento, pois indica que há muita variabilidade genética e baixa influência do ambiente sobre as características avaliadas fator de interesse para seleção de espécies cultivada.

Resultado semelhante ao exposto foi observado por Santos e colaboradores, (2017) para germinação de genótipos de girassol.

Tabela 1.8. Quadrado médio e variação fenotípica (V_p), genotípica (V_g) e ambiental (V_e) dos genótipos de girassol. UESB, Vitória da Conquista- BA, 2017.

Variável	QM	Média	V_p	V_g	V_e
Geminção	2057,68	74,72	514,42	511,14	13,13
Porcentagem de germinação	2497,39	50,76	624,35	621,90	9,77
IVE	871,73	54,73	217,93	216,09	7,37
Porcentagem de emergência	754,88	34,34	188,72	187,78	3,77
Altura de plântula	29,64	11,18	7,41	7,32	0,36
Diâmetro do coleto	1,72	3,94	0,43	0,39	0,16
Massa fresca	339,50	38,30	84,87	80,22	18,63
Massa seca	1,56	2,88	0,39	0,36	0,12
Comprimento de parte aérea	19,79	6,16	4,95	4,84	0,45
Comprimento de raiz primária	71,43	9,55	17,86	17,78	0,31

A variabilidade entre as características pode ser mensurada através do coeficiente de variação, seja ela genotípica, fenotípica ou ambiental. Sua classificação pode ser baixa (0-10%), média (10-20) ou alta ($\geq 20\%$) (KUMAR e colaboradores, 1985).

Nas variáveis analisadas para o girassol valores do coeficiente de variação fenotípica (PCV) variaram entre 16,63 a 49,22%, apontando que o coeficiente da variação genética (GCV), para a maioria das análises, foram altos, o que possibilita a seleção para o melhoramento (Tabela 1.9).

Tabela 1.9. Coeficientes de variação fenotípica (PCV), genotípica (GCV), ambiental (ECV), coeficiente de variação relativo (*b*), herdabilidade (h^2) e ganho genético (ΔG) dos genótipos de girassol. UESB, Vitória da Conquista- BA, 2017.

Variável	PCV (%)	GCV (%)	ECV (%)	<i>b</i>	h^2 (%)	ΔG (%)
Geminação	30,35	30,26	4,85	6,24	99,36	38,18
Porcentagem de germinação	49,22	49,13	6,16	7,98	99,61	41,95
IVE	26,97	26,86	4,96	5,41	99,15	20,30
Porcentagem de emergência	40,00	39,90	5,66	7,05	99,50	22,06
Altura de plântula	24,35	24,21	5,34	4,53	98,80	4,43
Diâmetro do coleto	16,63	15,82	10,24	1,54	90,51	5,24
Massa Fresca	24,05	23,39	11,27	2,08	94,51	14,84
Massa Seca	21,72	20,88	11,96	1,75	92,41	1,01
Comprimento de parte aérea	36,12	35,71	10,88	3,28	97,73	3,99
Comprimento de raiz pimária	44,25	44,15	5,84	7,56	99,56	7,78

Outro fator importante a ser abordado é que o coeficiente de variação fenotípica (PCV) e o coeficiente de variação genotípico (GCV) apresentaram resultados próximos e alta herdabilidade (h^2), sugerindo que a possibilidade de seleção é mais efetiva para o caráter. Além disso, a proximidade nos valores determina que a seleção deve ser feita pelos parentais e, posteriormente, a hibridação.

Quanto ao coeficiente de variação relativo (*b*) observou-se a magnitude dos dados entre 1,54 para diâmetro do coleto e 7,98 para porcentagem de germinação. Dados superiores a 1 indicam que a V_g é superior a V_e , dessa forma, esse coeficiente aponta que há grande possibilidade de sucesso na seleção dos caracteres avaliados (VENCOVSKY, 1987). Segundo Faluba e colaboradores, (2010) esta relação verifica a influência do ambiente sobre o desempenho dos genótipos, e este é considerado um parâmetro de confiabilidade na seleção de plantas superiores.

A estimativa de herdabilidade (h^2) foi alta para todas as variáveis, de modo que o fenótipo reflete o genótipo, pois esta aponta a intensidade das variações, de origem genética e ambiental, que afetam o caráter refletindo o efeito cumulativo dessas variações (YANKOV; TAHSIN, 2015; DA SILVA e colaboradores, 2011). Portanto, a partir da herdabilidade pode-se antever o progresso na seleção para uma característica e quanto mais próximo de 100% for esse parâmetro, mais segura é a seleção desse traço (FALCONER; MACKAY, 1996).

O ganho genético (ΔG) é um parâmetro que sinaliza uma melhor resposta ao melhoramento e a herdabilidade deve estar atrelado a ela. Nesse quesito foi observado que para germinação, porcentagem de germinação e IVE o ganho genético foi alto; para a variável massa fresca de plântulas, médio e para altura, diâmetro, massa seca, vigor de parte aérea e raiz obteve-se baixo ganho genético. Desse modo, é possível afirmar que para as variáveis com alto ganho genético, possuem ação gênica aditiva com características altamente influenciada pelo genótipo e essas devem ser as características de seleção para programas de melhoramento.

CONCLUSÕES

O genótipo BRS 390 obteve maiores médias para as características comprimento de parte aérea, massa fresca e seca, altura e diâmetro quando comparado com os demais genótipos. No entanto, efeito da inoculação foi observado apenas para comprimento de parte aérea e altura.

O genótipo BRS G51 respondeu negativamente à inoculação com *H. seropedicae*, ZAE94 para as características de primeira contagem, porcentagem de germinação, comprimento de parte aérea e altura.

Todos os genótipos apresentaram baixa variância ambiental, alto coeficiente de variação genotípica, elevada herdabilidade e alto ganho

genético para as variáveis germinação, porcentagem de germinação e índice de velocidade de emergência.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, A.E.S.; ROSETTO, C.A.V.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. Germinação e vigor de sementes de arroz inoculadas com bactérias diazotróficas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p. 932-939, jul./ago. 2010.

ARAÚJO, F.F.; FOLONI, J.S.S.; WUTZKE, M.; MELEGARI, A.S.; RACK, E. Híbridos e variedades de milho submetidos à inoculação de sementes com *Herbaspirillum seropedicae*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 1043-1054, mai./jun. 2013.

BASHAN, Y.; BASHAN, L. E.; PRABHU, S. R.; HERNANDEZ, J. B. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998- 2013). **Plant and Soil**, v. 378, p. 1-33, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-013-1956-x>.

BASSAN, D.A.Z.; ARF, O.; BUZETTI, S.; CARVALHO, M.A.C.; SANTOS, N.C.B.; SÁ, M.E. Inoculação de sementes e aplicação de nitrogênio e molibdênio na cultura do feijão de inverno: produção e qualidade fisiológica de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 23, nº 1, p.76-83, 2001.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº13 de 24 de março de 2011**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 24 março, Seção 1; p-3-7.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura; 2009. 395 p.

BRAZ, M.R.S.; ROSSETTO, C.A.V. Correlação entre testes para avaliação da qualidade de sementes de girassol e emergência das plântulas em campo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.7, p.2004-2009, out. 2009.

CARDOSO, D.L.; SILVA, R.F.; PEREIRA, M.G., VIANA, A.P.; ARAÚJO, E.F. Diversidade genética e parâmetros genéticos relacionados à qualidade fisiológica de sementes em germoplasma de mamoeiro. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 56, n.5, p. 572-579, set./out. 2009.

CHAVES, V.A.; SANTOS, S.G.; SCHULTZ, N.; PEREIRA, W.; SOUSA, J.S.; MONTEIRO, R.C.; REIS, V.M. Desenvolvimento inicial de duas variedades de ana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.39, n.6, nov./dec. 2015.

DA SILVA, J.A.G.; SCHWERTNER, D.V.; KRUGER, C.A.M.B.; CARBONERA, R.; MAIXNER, A.R.; GARCIA, D.C.; CRESTANI, M.; GAVIRAGHI, F.; MARTINS, J.A.K.; MATTE, E. Estimativas de herdabilidade e correlações para caracteres agronômicos em girassol. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.17, n.1-4, p.51-59, jan./mar. 2011.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V.F.; MARINIA, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, n.10, p.1023–1029, 2013.

DOBEREINER, J.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. BRASÍLIA: EMBRAPA-SPI, 1995. 60p.

DOTTO, A. P.; LANA, M. do C.; STEINER, F.; FRANDOLOSO, J. F. Produtividade do milho em resposta à inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 3, jul-set, 2010, pp. 376-382.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. 4.nd. Longman Edit. Malasya, 1996. 464p.

FALUBA, J.S.; MIRANDA, G.V.; DELIMA, R.O.; SOUZA, L.V.; DEBEM, E.A.; OLIVEIRA, A.M.C. Potencial genético da população de milho UFV 7 para o melhoramento em Minas Gerais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.6, p.1250-1256, jun. 2010.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.1039-1042, 2011.

GARCIA, T.V.; KNAAK, N.; FIUZA, L.M. Bactérias endofíticas como agentes de controle biológico na orizicultura. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.82, p. 1-9, 2015.

GÍRIO, L.A.S.; DIAS, F.L.F.; REIS, V.M.; URQUIAGA, S.; SCHULTZ, N.; BOLONHEZI, D.; MUTTON, M.A. Bactérias promotoras de crescimento e adubação nitrogenada no crescimento inicial de cana-de-açúcar proveniente de mudas pré-brotadas. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.50, n.1, p.33-43, jan. 2015.

GLICK, B.R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientica**, Article ID 963401, 15 p, 2012.

GOES, K. C. G. P. Biochemical and molecular characterization of high population density bacteria isolated from sunflower. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Seoul, v. 22, n. 4, p. 437-447, 2012.

HANADA, R.; ROMEIRO, R. Seleção preliminar de rizobactérias como promotoras de crescimento e como indutoras de resistência sistêmica a *Xanthomonas campestris* em girassol. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 209, 1998.

HORI, K.; MATSUMOTO, S. Bacterial adhesion: from mechanism to control. **Biochemical Engineering Journal**, Netherlands, v. 48, p. 424-434, 2010.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, 331, 413-425, 2010.

KUMAR, A.; MISRA, S. C.; SINGH, V. P.; CHAAHAN, B. P. S. Variability and correlation studies in triticale. **Journal of the Maharashtra Agricultural University**, v. 10, p. 273-275, 1985.

LEIBA JÚNIOR, A.S. SOARES, M.R.C.; ZUCARELI, V. Uso de lodo de esgoto e *Azospirillum brasilense* no crescimento e na produção de girassol. 24º Encontro Anual de Iniciação Científica – **Resumo**. set. 2015.

LEITE, R.M.V.B.C.; BRIGHENTHI, A.M.; CASTRO, C.; **Girassol no Brasil**. 1 ed. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 641p.

MAGUIRE, J.D Speed of germination – and in selection for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2, p.176-177, 1962.

NUNES, R.S.G. **Isolamento e inoculação de bactérias diazotróficas e promotoras de crescimento em arroz irrigado**. Dissertação. Santa Maria, RS: Programa de pós-graduação em Agrobiologia/ Universidade Federal de Santa Maria/ 2013.

OYIGA, B. C.; UGURU, M. I. Genetic variations and contributions of some floral traits to pod yield in bambara groundnut under two cropping seasons in the derived savanna of the South-East Nigeria. **International Journal of Plant Breeding**, n. 5, v. 1, p. 58-63, 2010.

PEDRINHO, E.A. N.; GALDIANO JÚNIOR, R.F.; CAMPANHARO, J.C.; ALVES, L.M.C., LEMOS, E.G.M. Identificação e avaliação de rizobactérias isoladas de raízes de milho. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 4, p905-911, 2010.

REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L.; DÖBEREINER, J. Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 19, n.3, p. 227-247, 2000.

RIBEIRO JÚNIOR, J.I. **Análises estatísticas no SAEG** (Sistema para análises estatísticas). Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 301p.

RICHARDSON, A.E.; BARE, J.M.; MCNEILL, A.M.; COMBARET, C.P. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. **Plant Soil**, v. 321, p. 305-339, 2009.

RIGON, J.P.G.; CAPUANI, S., CHÉRUBIN, M.R.; ROSA, G.M.; WASROWSKI, A.D. Dissimilaridade genética de girassol por meio de caracteres quantitativos. **Ciência Rural**, v.42, n.11, nov. 2012.

ROCHA, C.R.M.; SILVA, V.N.; CÍCERO S.M. Avaliação do vigor de sementes de girassol por meio de análise de imagens de plântulas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.45, n.6, p.970-976, jun. 2015.

RODRÍGUEZ-NAVARRO, D.N., DARDANELLI, M.S., RUÍZ-SAÍNZ, J.E. Attachment of bacteria to the roots of higher plants. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 272,p. 127-136, 2007.

SALA, V.M.R.; FREITAS, S.S.; DONZELI, V.P. FREITAS, J.G. GALLO, P.B.; SILVEIRA, A.P.D. Ocorrência de bactérias diazotróficas em genótipos de trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, p. 345-352, 2005.

SANTOS, J.F.; SACRAMENTO, B.L.; MOTA, K.N.A.B.; SOUZA, J.T.; AZEVEDO NETO, A.D. Crescimento de girassol em função da inoculação de sementes com bactérias endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 2, p. 142-150, abr./jun. 2014.

SANTOS, L.G.; MEIRA, A.L.; PÚBLIO, A.P.P.B.; MENDES, H.T.A.; SOUZA, U.O.; AMARAL, C.L.F. Parâmetros genéticos da germinação de sementes e emergência de plântulas em girassol. **Magistra**, Cruz das Almas – BA, V. 29, N.2, p.47-55, jan./mar. 2017.

SILVA, M.O.; FREIRE, F.J.; LIRA JÚNIOR, M.A.; KUKLINSKY-SOBRAL, J.; COSTA, D.P.; LIRA-CADETE, L. Isolamento e prospecção de bactérias endofíticas e epifíticas na cana-de-açúcar em áreas com e sem cupinicida. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 36, p.1113-1121, 2012.

SKORIC, D. Sunflower breeding for resistance to abiotic stresses. **Helia**, v.32, n.50, p.1-16, 2009.

SPOLAOR, L.T.; GONÇALVES, L.S.A.; SANTOS, J.A.P.; OLIVEIRA, A.L.M.; SCAPIM, C.A.; BERTAGNA, F.A.B.; KUKI, M.C. Bactérias promotoras de crescimento associadas a adubação nitrogenada de cobertura no desempenho agrônômico de milho pipoca. **Bragantia**, Campinas v. 75, n. 1, p.33-40, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4499.330>

SUNDAY, O. F.; AYODELE, A. M.; BABATUNDE, K. O.; OLUWOLE, A. M. Genotypic And Phenotypic Variability For Seed Vigour Traits And Seed Yield In West African Rice (*Oryza sativa* L.) Genotypes. **Journal of American Science**, v. 3, n. 3, p. 34-41, 2007.

TEALE, W.D.; PAPONOV, I.A.; PALME, K. Auxin in action: signalling, transport and the control of plant growth and development. **Nature Reviews: Molecular Cell Biology**, v.7, n.11, p. 847-59, 2006.

TEIXEIRA M.A; MELO, I.S.; VIEIRA, R.F.; COSTA, F.E.C.; HARAVAKA, R.. Microrganismos endofíticos de mandioca de áreas comerciais e etno-variedades em três estados brasileiros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 1 p. 43-49, 2007.

THOMAZ, G.L.; ZAGONEL, J.; COLASANTE, L.O.; NOGUEIRA, R.R. Produção do girassol e teor de óleo nas sementes em diferentes épocas de semeadura no Centro-Sul do Paraná. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.2, p.203-208, fev. 2012.

TSAVKELOVA, E. A.; KLIMOVA, S.YU.; CHEDYNTSEVA, T.A.; NETRUSOV, A.I.; Microbial Producers of Plant Growth Stimulators and Their Practical Use: A Review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 42, p. 117–126, 2006.

VENCOVSKY, R. Herança Quantitativa. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. P. **Melhoramento e produção de milho no Brasil**. Fundação Cargill, Campinas, 2. ed., p. 137-214, 1987.

VIEIRA R. D.; KRZYZANOWSKI F.C.; Teste de Condutividade Elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA, J.B. No. **Vigor de Sementes: Conceitos e Testes**. Londrina: ABRATES; 1999. p. 4-2.

YANKOV, B.; TAHSIN, N. Genetic variability and correlation studies in some drought-resistant sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes. **Journal of Central European Agriculture**, v.16, n.2, p.212-220, 2015.

ARTIGO II

PARÂMETROS GENÉTICOS E SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE GIRASSOL INOCULADOS COM *Herbaspirillum seropedicae* SOB NÍVEIS DE IRRIGAÇÃO²

² Artigo a ser ajustado e submetido ao Comitê Editorial da **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. B1 para a área de Ciências Agrárias, segundo o Qualis-Capes

Parâmetros genéticos e seleção de genótipos de girassol inoculados com *Herbaspirillum seropedicae* sob níveis de irrigação

RESUMO

Este trabalho objetivou estimar parâmetros genéticos e avaliar respostas de genótipos de girassol inoculados sob níveis de irrigação. O experimento foi conduzido em cultivo protegido e os tratamentos consistiram de 4 níveis de irrigação: 40, 60, 80, 100% da capacidade de vaso, utilizando os genótipos BRS G51, SYN 045, BRS 323, BRS 324, BRS G45, BRS 390, BRS G49 inoculados ou não com *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe ZAE94, dispostos no delineamento inteiramente casualizados, com 4 repetições, compondo um fatorial triplo 7 x 2 x 4. Aos 90 dias após semeadura foi estabelecido altura da planta, diâmetro de caule e de capítulo, comprimento de raiz, massa seca de parte aérea, de capítulo e de raiz. Os parâmetros genéticos foram estimados por meio da variação e coeficiente genotípico, fenotípico e ambiental; coeficiente de variação relativo; herdabilidade e ganho genético. O genótipo BRS 323 apresentou resultados expressivos quando inoculado e com o uso de menores capacidades de vaso para as variáveis comprimento de raiz, diâmetro de caule e massa seca de capítulo; alta herdabilidade foi observado para as variáveis: altura, diâmetro de caule e capítulo, comprimento de raiz, massa seca de parte aérea e capítulo tornando esses caracteres importantes para recomendar os genótipos avaliados para programas de melhoramento.

Palavras-chave: déficit hídrico, *Helianthus annuus* L.; herdabilidade

**Genetics parameters and selection of genotypes sunflowers inoculated
with *Herbaspirillum seropedicae* under irrigation levels**

ABSTRACT

This research aimed to estimate genetic parameters and to evaluate responses of sunflower genotypes inoculated under irrigation levels. The experiment was conducted in protected cultivation and the treatments consisted of 4 irrigation levels: 40, 60, 80, 100% of the pot capacity, using BRS G51, SYN 045, BRS 323, BRS 324, BRS G45, BRS 390, BRS G49 inoculated or not with *Herbaspirillum seropedicae*, strain ZAE94, arranged in the completely randomized design, with 4 replicates, composing a 7 x 2 x 4 triple factorial. At 90 days after sowing, plant height, stem and root diameter, root length, dry shoot, root and shoot mass were established. From these data the genetic parameters were estimated through the variation and genotypic, phenotypic and environmental coefficient; coefficient of relative variation; heritability and genetic gain. The genotype BRS 323 presented expressive results when inoculated and with the use of lower vessel capacities for the variables root length, stem diameter and dry mass of chapter; high heritability was observed for the variables: height, stem and root diameter, root length, shoot dry matter and chapter making these important characters to recommend these genotypes for breeding programs.

Key words: *Helianthus annuus* L.; heritability, water deficit

INTRODUÇÃO

O girassol é uma cultura anual que se destaca por sua ampla aptidão. Sua funcionalidade vai desde a produção de massa seca para fabricação de ração animal até a extração de óleo das suas sementes ao qual é empregada na indústria farmacêutica, alimentícia e de bicompostíveis; além do uso das sementes *in natura*, suas flores podem ter finalidade ornamental (AMABILE e colaboradores, 2002).

É uma cultura que possui larga adaptabilidade sendo capaz de tolerar diferenças de temperatura e estresse hídrico (LEITE e colaboradores, 2005), e por essas razões, pode ser uma opção de cultivo na região Nordeste.

A seca destaca-se como principal entrave na produção das culturas, no entanto, o girassol possui capacidade de explorar grande volume de solo o que aumenta a possibilidade da planta ser mais tolerante quando comparada a outras espécies produtoras de grãos (BORSUK e colaboradores, 2011). Dos efeitos causados pela seca é possível citar decréscimo na produção da área foliar, fechamento de estômatos e aceleração da senescência foliar (TAIZ e ZEIGER, 2017; MORANDO et al, 2014). Outros fatores como a redução da produção ou do enchimento de grãos, em função da redução da área fotossintética, ocorre em plantas quando submetidas a esta condição de estresse abiótico.

No girassol, o período de maior demanda hídrica e nutricional é após a formação do botão floral até o florescimento, sendo importante que nessa fase ocorra equilíbrio entre a quantidade de nutrientes no solo e o volume de água do sistema (CASTRO e colaboradores, 2006).

Em relação à nutrição, o nitrogênio (N) é um dos macronutrientes requerido em maior quantidade pelas plantas e que possui potencial para limitar o crescimento. Este é componente de proteínas, ácidos nucléicos e outros constituintes celulares como membranas e hormônios vegetais, porém

a forma em que se encontra disponível às plantas é por meio de adubos químicos.

As recomendações de N para o girassol, em cobertura, variam entre 40 e 80 Kg ha⁻¹ (ALVAREZ e RIBEIRO, 1999). Como possibilidade de reduzir a adubação química além dos custos e promover equilíbrios dos ecossistemas, o uso de bactérias fixadoras de nitrogênio tem sido adotado como uma prática viável e de grande aceitação em culturas como da soja (COSTA e colaboradores, 2014), pois estão envolvidas em diversos mecanismos que favorecem o crescimento da planta e, portanto, podem estimular melhor desempenho dos vegetais em condições de estresse (COSTA e colaboradores, 2013; MARRA e colaboradores, 2012; DIMKPA e colaboradores, 2009).

Na cultura do girassol, a seleção de genótipos capazes de desenvolverem-se melhor quando associados à FBN é incipiente. Dessa forma, o uso dos parâmetros genéticos pode ajudar a selecionar caracteres de interesse, de caráter herdável, por meio das variações de origem genética e ambiental, sobretudo a herdabilidade, em curto espaço de tempo e de forma segura (AMORIM e colaboradores, 2008).

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi estimar parâmetros genéticos e avaliar respostas de genótipos de girassol inoculados sob níveis de irrigação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em cultivo protegido entre os meses de novembro de 2017 a fevereiro de 2018 na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), no *campus* de Vitória da Conquista - BA, situado a 850 m de altitude, com as seguintes coordenadas geográficas: 14°51' Sul e 40°50' Oeste. O clima regional é classificado como tropical de altitude (Cwb), de acordo com a classificação de Köppen.

Foram utilizados vasos de 14,8 L, e previamente a semeadura, a capacidade de vaso foi mensurada, para assim, estipular o volume de água de cada tratamento pelo método da retenção de água no solo (CASAROLI e JONG VAN LIER, 2008).

O solo utilizado como substrato foi proveniente da UESB, *campus* de Vitória da Conquista – BA. Este foi classificado como Latossolo Amarelo típico do tipo franco argilo arenoso, coletado na profundidade 0-20 cm do perfil do solo. O solo foi encaminhado ao Laboratório de Solos da UESB para análise química a qual apresentou as características químicas descritas na tabela 2.1.

Tabela 2.1: Análise química do solo utilizado no experimento. UESB, Vitória da Conquista, 2017.

pH	mg dm ⁻¹	cmol _c dm ⁻³ de solo									%	
(H ₂ O)	P	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H ⁺	Na ⁺	S.B.	t	T	V	M
5,5	2	0,18	1,6	0,8	0,1	2,4	-	2,6	2,7	5,1	51	4

S.B = Soma das bases; t = SB + Al³⁺; T= Capacidade de Troca de Cátion; V = Saturação de base; M = Saturação de alumínio.

Para as correções do solo, foram seguidas as recomendações da Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais (ALVAREZ e RIBEIRO, 1999) aplicando-se 30 kg ha⁻¹ de N.; 50 kg ha⁻¹ de K e 70 kg ha⁻¹ de P. Os nutrientes N e K foram aplicados 1/3 na semeadura e o restante em cobertura 30 dias após a emergência das plantas utilizando uréia, cloreto de potássio como fonte de nutriente. O P foi aplicado no ato da semeadura utilizando o super simples.

Os tratamentos consistiram de 4 níveis de irrigação: 40, 60, 80, 100% (controle) da capacidade de vaso, utilizando os genótipos provenientes da Rede Oficial de Ensaios de Girassol da Embrapa Soja (Safrá 2016), cultivados no Instituto Federal Baiano (IFBaiano), *campus* Bom Jesus da

Lapa – BA, os quais, BRS G51, SYN 045, BRS 323, BRS 324, BRS G45, BRS 390, BRS G49 foram inoculados ou não com *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe ZAE94, dispostos no delineamento inteiramente casualizados, com 4 repetições, compondo um fatorial triplo 7 x 2 x 4.

A estirpe de *H. seropedicae* ZAE94 foi obtida da coleção de culturas de bactérias diazotróficas da Embrapa Agrobiologia com o código BR 11417. Posteriormente, foi realizado o processo de produção do inoculante no laboratório de microbiologia do solo da UESB, no qual a bactéria foi repicada em tubos de ensaio contendo meio Dygs, por 24 horas, a 30°C sob agitação a 100 rpm e em seguida riscada em placas com meio específico JNFb para verificar a pureza da cultura crescida (DOBEREINER e colaboradores, 1995).

Após a verificação da pureza, a estirpe foi multiplicada em meio Dygs e o número de células viáveis foi determinado pelo método do Número Mais Provável (NMP) no meio JNFb, e utilizada no preparo do inoculante, no qual foram ajustadas para 10^9 UFC mL⁻¹, conforme recomendação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011).

As sementes de girassol foram desinfetadas por meio de lavagem com hipoclorito a 1% durante 1 minuto, em seguida foi realizada a tríplice lavagem com água destilada. Para o tratamento inoculado, as sementes foram submersas em 200 mL no meio de cultura durante seis horas (SANTOS e colaboradores, 2014) e mantidas em BOD, a 25°C. A semeadura ocorreu imediatamente após esse período.

A irrigação foi realizada diariamente na capacidade de vaso de 100% até o 30º dia, após este período, foi iniciado o estresse hídrico utilizando-se a capacidade de vaso de 40,60 e 80% até o final do experimento, exceto para as plantas controle.

Aos 90 DAS foi realizada a colheita do girassol e mensurada as seguintes variáveis: altura da planta (ALT); comprimento de raiz principal

(CR), com auxílio de régua graduada; diâmetro de caule (DC); diâmetro de capítulo (DCAP), por meio do paquímetro. Para obtenção da massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de capítulo (MSC) e massa seca de raiz (MSR), as partes da planta foram separadas, dispostas em sacos de papel e estes foram acondicionados em estufa de circulação de ar a $70^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ até atingir a massa seca constante (± 72 h). Após este período, procedeu-se a pesagem utilizando balança analítica de precisão.

Os dados foram submetidos ao teste Cochran e de Lilliefors, respectivamente, utilizando o programa estatístico SAEG 9.1 (RIBEIRO JUNIOR, 2001). Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão polinomial e para a comparação das médias, adotou-se o teste de Scott – Knott a 5% de probabilidade utilizando o programa SISVAR versão 5.6 (FERREIRA, 2011).

As estimativas de parâmetros genéticos foram determinadas utilizando as fórmulas apresentadas por OYIGA e UGURU (2010); SUNDAY e colaboradores (2007):

a) Variação genotípica, fenotípica e ambiental:

$$V_g = \frac{MSg - MSe}{r} \quad V_p = \frac{MSg}{r} \quad V_e = \frac{MSe}{r}$$

Onde V_g , V_p e V_e são variâncias genotípicas, fenotípicas e ambiental, respectivamente; MSg , MSe e r são os quadrados médios dos genótipos, quadrado médio do resíduo e número de repetições, respectivamente.

b) Coeficiente de variação genotípica, fenotípica e ambiental

$$GCV = \frac{\sqrt{V_g}}{\bar{X}} \cdot 100 \quad PCV = \frac{\sqrt{V_p}}{\bar{X}} \cdot 100 \quad ECV = \frac{\sqrt{V_e}}{\bar{X}} \cdot 100$$

Onde GCV, PCV e ECV correspondem a coeficiente de variação fenotípica, genotípica e ambiental, respectivamente e \bar{X} a média geral de cada tratamento.

c) Coeficiente de variação relativo (*b*)

$$b = \frac{GCV}{ECV}$$

d) Herdabilidade

$$h^2 = \frac{Vg}{Vp}$$

e) Ganho genético

$$\Delta G = i\Delta p h^2$$

Onde *i* corresponde à constante (2,06 quando a intensidade de seleção é de 5%), Δp ao desvio padrão da variância fenotípica e h^2 a herdabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na análise de variância mostraram que houve diferença significativa na fonte de variação genótipo em todas as características de crescimento. Com relação à inoculação, ocorreu diferença nas variáveis: altura, comprimento de raiz e massa seca de raiz e para irrigação, ocorreu diferença significativa para a maioria das características, com exceção de massa seca de parte aérea (Tabela 2.2).

Para a interação genótipo x inoculação, diferença significativa foi observada, também, para a maioria das variáveis, com exceção de massa seca de raiz. Na interação genótipo x irrigação houve diferença significativa para todas as características avaliadas; na fonte de variação inoculação x irrigação, a variável massa seca de capítulo não apresentou valor significativo (Tabela 2.2).

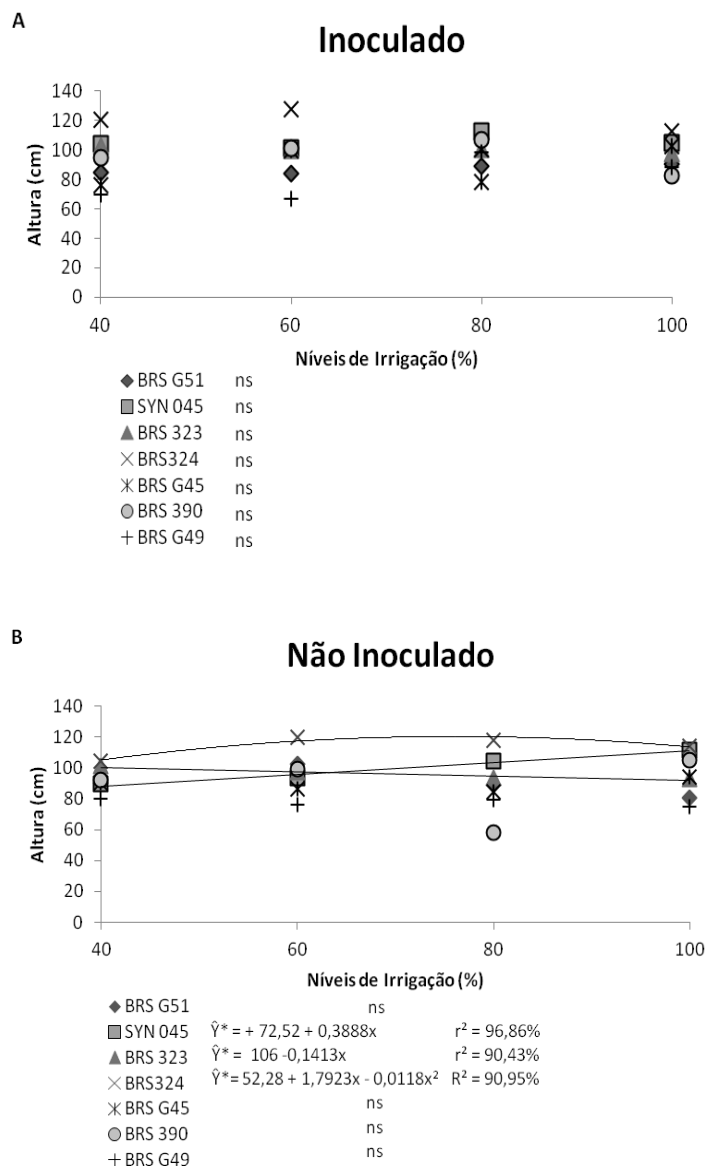
Na interação tripla genótipo x inoculação x irrigação todas as variáveis apresentaram diferença significativa (Tabela 2.2). Esta interação que será discutida no presente trabalho.

Tabela 2.2: Análise de variância para altura da planta (AP), diâmetro do caule (DIAM), diâmetro de capítulo (DC), comprimento de raiz (CR), massa seca de parte aérea (MSPA), de capítulo (MSC) e de raiz (MSR) de genótipos de girassol em função da inoculação com *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe ZAE94 submetidos a diferentes níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista, Bahia, 2018.

FV	GL	Quadrados médios						
		AP	DIAM	DC	CR	MSPA	MSC	MSR
GEN	6	4166,81*	3,76*	8,06*	67,70*	497,59*	100,25*	9,36*
INOC	1	378,71*	0,33 ^{ns}	0,86 ^{ns}	22,96*	47,06 ^{ns}	0,27 ^{ns}	13,69*
IRRIG	3	221,91*	2,57*	10,17*	15,59*	24,27 ^{ns}	29,79*	15,05*
GEN X INOC	6	111,94*	1,45*	2,23*	19,61*	130,62*	13,87*	5,06 ^{ns}
GEN X IRRIG	18	336,78*	2,13*	6,06*	28,88*	53,74*	32,58*	12,62*
INOC X IRRIG	3	221,91*	2,47*	11,10*	79,89*	161,22*	15,80 ^{ns}	10,19*
GEN X INOC X IRRIG	18	540,14*	2,22*	5,81*	41,49*	87,27*	45,50*	17,27*
Resíduo	168	45,21	0,16	0,3	5,05	17,05	6,65	3,68
CV (%)	---	7,08	4,29	9,43	16,61	12,59	16,86	17,06

ns = não significativo; * Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Para altura da planta, não houve modelo significativo quando as sementes foram inoculadas (Figura 2.1A). Para os genótipos com sementes não inoculadas, o modelo que melhor se ajustou foi o linear para BRS 323 (101,12 cm), SYN 045 (111,84 cm) e quadrático para BRS 324 (120,00 cm) nas capacidades de vaso de 40; 100 e 76 % (Figura 2.1B). O ponto máximo para altura dos genótipos Syn 045 e BRS 324, ocorreu quando houve maior oferta de água indicando que a estirpe, ZAE94, não induz maior desenvolvimento sobre essa característica, quando os genótipos são submetidos ao estresse hídrico.



*Significativo a 5% de probabilidade pela análise de regressão

Figura 2.1: Altura de genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae*, ZAE94 submetidos a diferentes níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018.

Os resultados de altura corroboram com os descritos por Alves e colaboradores (2017) e diferem dos apresentados por Santana e colaboradores (2016) ao avaliar genótipos de girassol. Santos e colaboradores (2014), ao inocular sementes de girassol, híbrido Olisun 3, afirmam que houve redução da altura das plantas, da massa seca e fresca da parte aérea quando submetida a capacidade de vaso de 30% independente da inoculação.

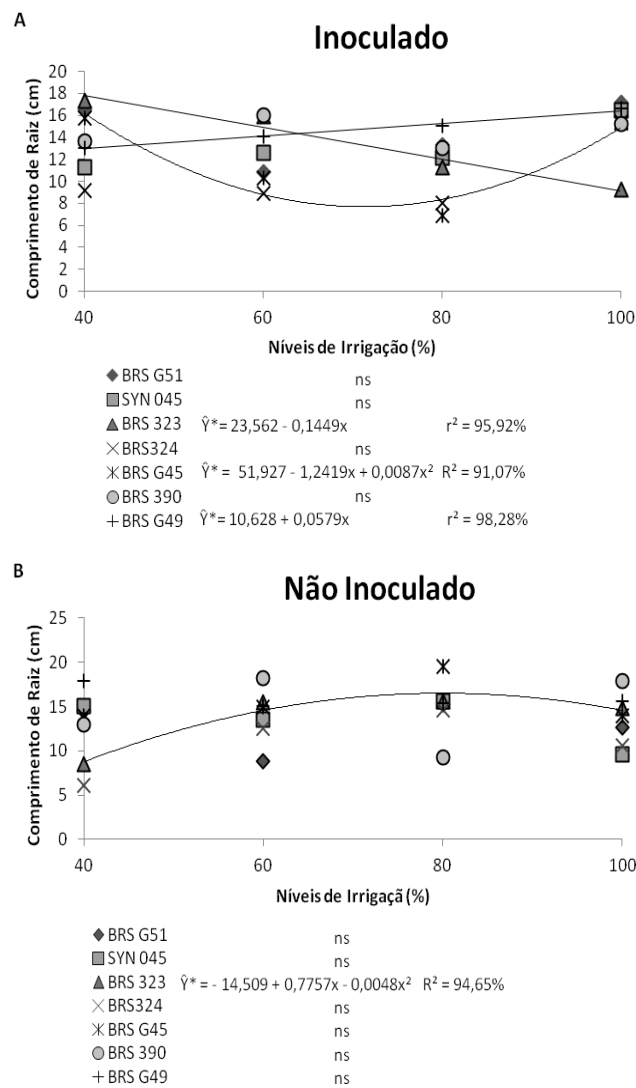
A altura das plantas possui relação direta com a fotossíntese, assim, menor altura pode ser justificada em função da redução da fotossíntese, pois para evitar a perda de água, ocorre o fechamento dos estômatos, reduzindo a taxa fotossintética, e por fim, ocorre a redução de fotoassimilados resultando em menor desenvolvimento vegetativo (TAIZ e ZEIGER, 2017).

Maiores alturas são desejadas quando os genótipos estão em regiões com baixo controle de doenças e baixa fertilidade, no entanto, plantas baixas, com valores próximos ao encontrado no presente trabalho, facilitam a colheita e evitam acamamento em regiões com alto uso de fertilizantes e fortes ventos (LEITE e colaboradores, 2005).

Para que uma planta se desenvolva em ambiente estressante é necessário que esta realize ajustes fisiológicos e bioquímicos que maximizem a absorção de carbono e apresentem maior eficiência do uso da água (TAIZ e ZEIGER, 2017). Dentre os efeitos observados pela seca, pode-se notar o aumento do comprimento de raiz em busca de água e nutrientes em camadas mais profundas do solo de modo que a planta encerre o ciclo vegetativo com a produção esperada.

Dessa maneira, avaliando comprimento de raiz para os genótipos BRS G45, BRS 323, BRS G49, provenientes de sementes inoculadas, os valores obtidos foram 17,32, 16,60 e 15,26 cm na capacidade de vaso de 40% e 100% para os dois últimos, respectivamente (Figura 2.2A). No entanto, os genótipos BRS 323 e BRS G49 também obtiveram comprimento

de raiz, quando as sementes não foram inoculadas, atingindo 16,50 e 15,00 cm, respectivamente, utilizando 80% da capacidade de vaso para ambos (Figura 2.2B).



*Significativo a 5% de probabilidade pela análise de regressão

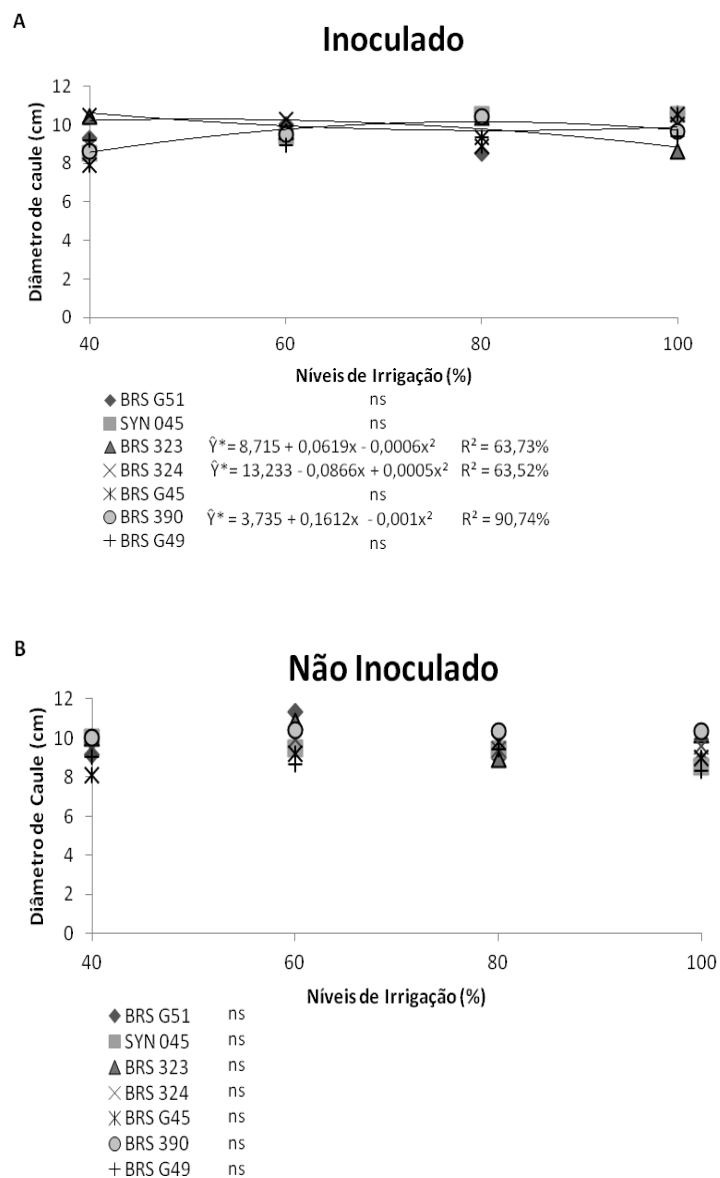
Figura 2.2: Comprimento de raiz de genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae*, ZAE94 submetidos a diferentes níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018.

Avaliando os genótipos inoculados e não inoculados é possível afirmar que houve ação simbiótica entre planta e bactéria uma vez que os genótipos obtiveram maiores valores quando as sementes foram inoculadas. Entretanto, no caso do BRS 323 ainda é possível ressaltar que ao ser inoculado, menor aporte hídrico foi utilizado para obtenção de maior comprimento de raiz.

Nesse quesito, pesquisas utilizando bactérias diazotróficas, apontam que o uso das mesmas na formulação de inoculantes ou biofertilizantes favorece o desenvolvimento das plantas, inclusive, em condições de estresse hídrico (SANTOS e colaboradores, 2014).

Para diâmetro de caule, foi definido modelo quadrático para os genótipos BRS 323 (10,30 cm); BRS 324 (10,50 cm) e BRS 390 (10,16 cm), quando suas sementes foram inoculadas, e irrigados com 50, 40 e 80% da capacidade de vaso para os dois últimos genótipos, respectivamente. A partir desses dados pode-se inferir que os genótipos BRS 323 e BRS 324 responderam de forma mais efetiva a ação do *H.seropedicae*, ZAE94, uma vez que este utilizou menor volume de água para obter diâmetro com valores próximos àquele que utilizou maior aporte hídrico (Figura 2.3A).

Para as plantas provenientes de sementes não inoculadas, não foi encontrado modelo de regressão para a característica diâmetro de caule (Figura 2.3B).



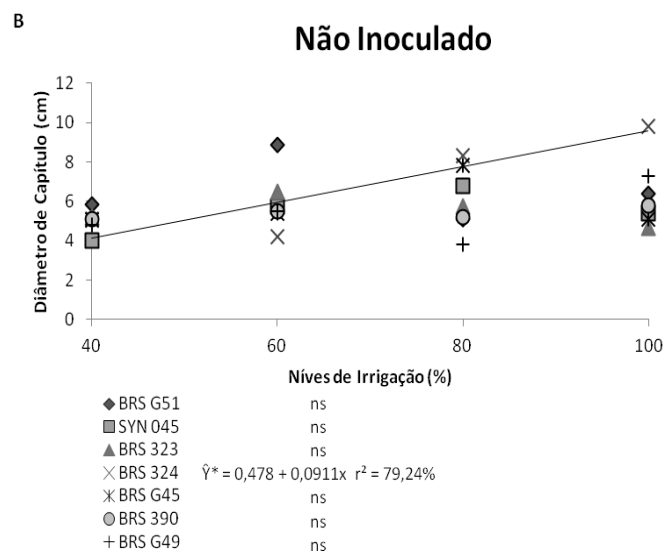
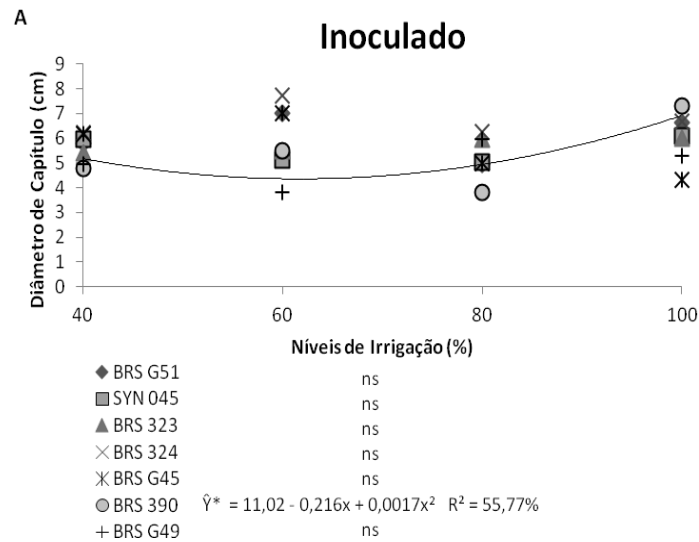
*Significativo a 5% de probabilidade pela análise de regressão

Figura 2.3: Diâmetro de caule de genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae*, ZAE94 submetidos a diferentes níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018.

Tal fator pode ser justificado em função da resposta de cada genótipo a inoculação visto que há genótipos mais responsivos a ação de BPCV. PEREIRA e colaboradores (2016), afirmam que a inoculação em solos sob estresse hídrico pode ser prejudicada devido a não colonização das raízes visto que a temperatura do solo eleva-se com a ausência de água tornando um lugar não propício a presença de microrganismos.

Comportamento semelhante para diâmetro de caule foi observado por Dutra e colaboradores (2012) para variedade de girassol e por Silva e colaboradores (2002) em cultivares de *Melaleuca alternifolia* quando submetidas a estresse hídrico. No caso do girassol, o diâmetro de caule é uma característica importante, pois previne o acamamento, facilita a colheita, bem como manejo e a execução dos tratos culturais (BISCARO e colaboradores, 2018).

Outra característica importante nesta cultura é o diâmetro de capítulo, pois este pode proporcionar maior número de aquênios em razão do seu tamanho, e também, aquênios maiores (SOUZA e colaboradores, 2015). Neste sentido, os genótipos BRS 390 quando inoculado (Figura 2.4A) e o BRS 324 (Figura 2.4B) quando não inoculado, apresentaram valores máximos de 7,3 cm e 9,8 cm quando irrigados com 100% da capacidade de vaso, respectivamente.



*Significativo a 5% de probabilidade pela análise de regressão

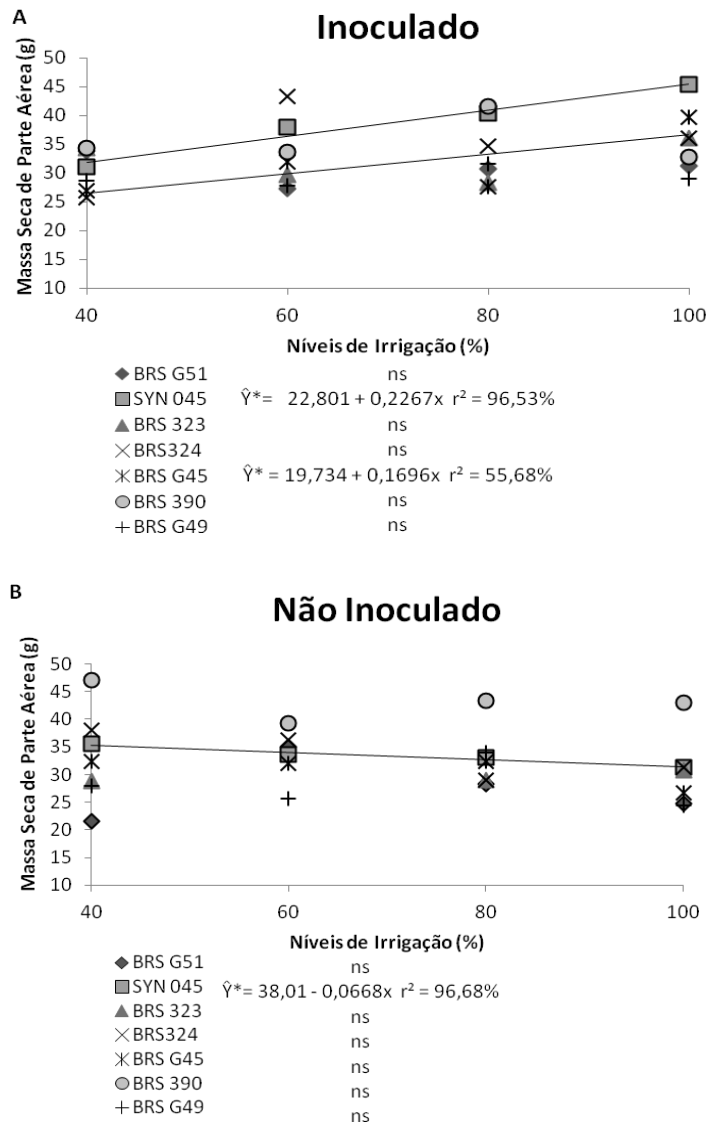
Figura 2.4: Diâmetro de capítulo de genótipos de girassol, inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae*, ZAE94 submetidos a diferentes níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista- BA, 2018.

Os valores apresentados para diâmetro de capítulo diferem dos expostos por Nunes e colaboradores (2013), Souza e colaboradores (2015) e Schwerz e colaboradores (2015) que atingiram médias em torno de 20 cm por capítulo. Tal fator pode ser justificado em função da retirada precoce das plantas devido ao ataque de oídio no final do ciclo, o que comprometeu o desenvolvimento final dos genótipos.

Analisando a massa seca de parte aérea, observa-se que houve efeito da inoculação apenas para os genótipos SYN 045 e BRS G45. Ambos apresentaram comportamento linear e crescente com valor máximo de 45,33 e 39,75 g, respectivamente, quando submetidos a 100% da capacidade de vaso (Figura 2.5A).

O genótipo SYN 045, proveniente de sementes não inoculadas, apresentou modelo linear decrescente, com comportamento oposto, ao apresentado acima e valor máximo de 35,5 g ao ser submetido a 40% da capacidade de vaso (Figura 2.5B).

Resultado semelhante foi observado por Bulegon e colaboradores (2016) para MSPA quando inoculado com *B. japonicum* + *A. brasilense* para dois genótipos de soja: BMX Turbo e Coodec 250, sendo que o primeiro foi responsivo a inoculação e para o último, houve redução da massa seca de parte aérea.



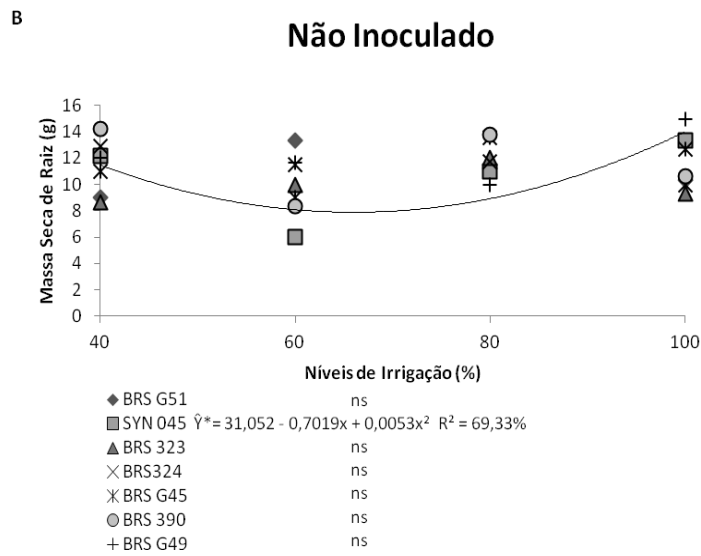
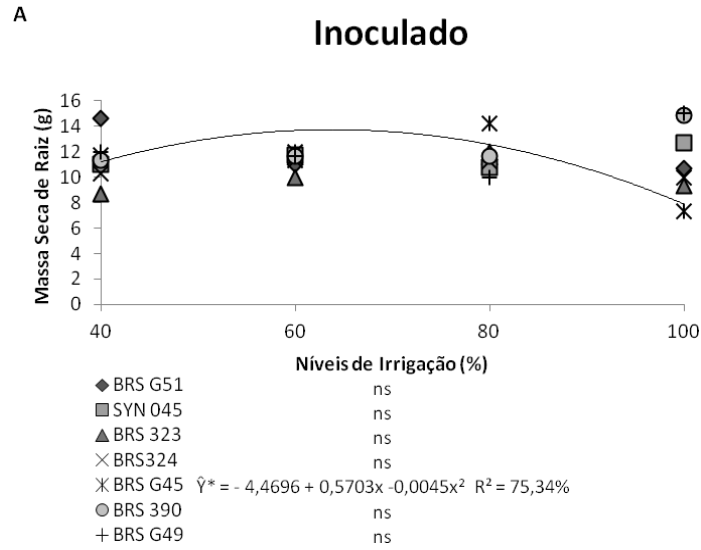
*Significativo a 5% de probabilidade pela análise de regressão

Figura 2.5: Massa seca de parte aérea de genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae*, ZAE94 submetidos a diferentes níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018.

A resposta à inoculação é inerente a cada genótipo e a ausência desta está relacionada com a escolha de linhagens inadequadas (REIS e colaboradores, 2000). São inúmeras as vantagens voltadas ao desenvolvimento da planta quando relacionada à FBN, no entanto, a eficiência à inoculação pode ser prejudicada, devido às bactérias estarem associadas livremente ao vegetal tornando-as vulneráveis ao ambiente (GYANESHWAR e colaboradores, 2002); além deste fator, a característica do solo também possui influência sobre a resposta à inoculação, como por exemplo, há possibilidade de competição entre as estirpes nativas do solo com as inoculadas nas sementes.

Dartora e colaboradores (2013) afirmam que a interação combinada de *H. seropedicae* com outras estirpes em plantas de milho foi fundamental na obtenção de respostas positivas à inoculação. Moreira e colaboradores (2010) asseguram que esta bactéria possui baixa influência na promoção do crescimento vegetal quando comparada com outros microrganismos que possuem esta função, pois possui maior habilidade em colonizar nichos específicos do tecido vegetal e baixa sobrevivência no solo.

Efeito quadrático foi observado para BRS G45 com valor máximo de 13,73 g para massa seca de raiz quando submetido a 64% da capacidade de vaso e redução de 6,4 g quando irrigado com 100% da capacidade de vaso (Figura 2.6A). Quando não inoculado, foi observado efeito quadrático decrescente para o genótipo SYN 045 com maiores valores a 40% da capacidade de vaso seguida de decréscimo, a 60%, e aumento para as próximas capacidades de vaso (Figura 2.6B).

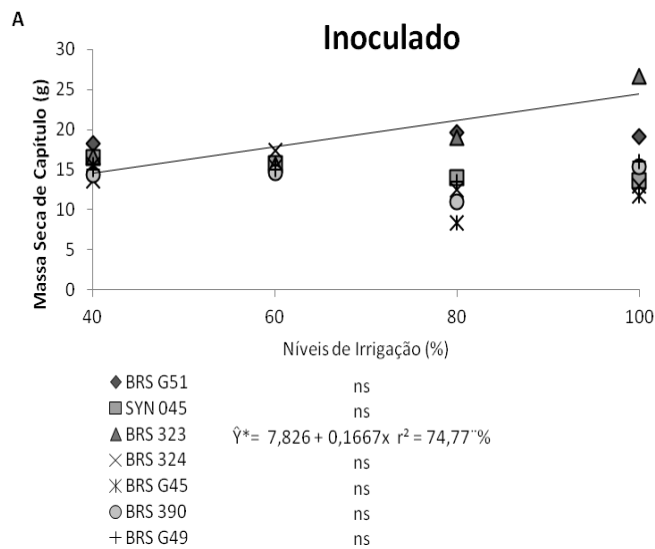


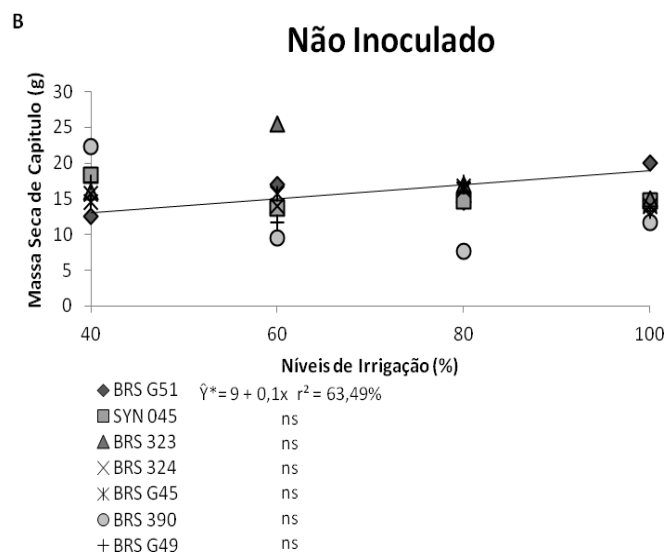
*Significativo a 5% de probabilidade pela análise de regressão

Figura 2.6: Massa seca de raiz de genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae*, ZAE94 submetidos a diferentes níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018.

Para massa seca de capítulo, efeito linear crescente foi observado para o genótipo BRS 323, quando inoculado, alcançando 26,6 g a 100% da capacidade de vaso (Figura 2.7A). O genótipo BRS G51 não inoculado apresentou modelo linear crescente com valor máximo estimado em 20 g a 100% da capacidade de vaso (Figura 2.7B). Os demais genótipos provenientes das sementes inoculadas e não inoculadas não apresentaram modelo de regressão significativo.

Cada genótipo expressa seu potencial de acordo com sua adaptação ambiental, portanto, é válido salientar que o genótipo não inoculado apresentou valores aproximados daquele que respondeu ao processo de inoculação. Entretanto, os valores de massa seca de capítulo apresentaram-se positivos e crescentes quando comparado com o resultado exposto por Vidal e colaboradores (2016) que obtiveram incremento até o nível de 48,8% da reposição hídrica.





*Significativo a 5% de probabilidade pela análise de regressão

Figura 2.7: Massa seca de capítulo de genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae*, ZAE94 submetidos a diferentes níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018.

As estimativas de parâmetros genéticos para as variáveis estudadas são apresentadas na Tabela 2.3. Dentre os componentes da variação fenotípica (V_p), observou-se que maior contribuição adveio da variação genotípica (V_g); este parâmetro indica que há maior facilidade na execução da seleção e pouca influência ambiental além de que esse é um princípio básico para obtenção do ganho genético (ΔG) no desenvolvimento de novos híbridos ou variedades de polinização aberta (DA SILVA e colaboradores, 2011a).

Tabela 2.3: Quadrados médios e estimativa de parâmetros genéticos das variáveis dos genótipos de girassol. UESB, Vitória da Conquista, Bahia, 2018.

Variável	Vp	Vg	Ve	h ² (%)	PCV (%)	GCV (%)	ECV (%)	<i>b</i>	ΔG (%)
ALT	1041,70	906,67	135,04	87,04	33,98	31,70	12,23	2,59	33,07
DIA	0,94	0,90	0,04	95,74	10,13	9,91	2,09	4,74	17,11
DC	2,02	1,94	0,08	96,28	24,22	23,77	4,67	5,09	44,85
CR	16,93	15,66	1,26	92,54	30,41	29,25	8,30	3,52	63,22
MSPA	124,40	120,14	4,26	96,57	34,00	33,42	6,29	5,31	80,01
MSC	25,06	23,40	1,66	93,37	32,74	31,64	8,43	3,75	54,71
MSR	2,34	1,42	0,92	60,68	13,60	10,59	8,53	1,24	52,26

ALT = altura da planta; DIA = diâmetro de caule; DC = diâmetro de capítulo; CR = comprimento de raiz; MSPA = matéria seca de parte aérea; MSC = matéria seca de capítulo; MSR = matéria seca de raiz; Vp = Variação fenotípica; Vg = Variação genotípica; Ve = Variação ambiental; h² = Herdabilidade; CVP = Coeficiente de variação fenotípica; CVG = Coeficiente de variação genotípica, CVE = Coeficiente de variação ambiental, *b* = relação entre Coeficiente de variação genotípica e Coeficiente de variação ambiental e ΔG = Ganho genético.

A herdabilidade (h²) foi alta para todas as variáveis, com exceção da massa seca de raiz, que é classificada como média. Resultados discrepantes foram observados por Alves e colaboradores (2017) para altura e diâmetro de capítulo e Da Silva e colaboradores (2011b) para diâmetro de capítulo e massa de capítulo.

O coeficiente de variação fenotípica (PCV) foi alto para as variáveis: altura (33,98%), diâmetro de capítulo (24,22%), comprimento de raiz (30,41%), massa seca de parte aérea (34%) e massa seca de capítulo (32,74%); média para massa seca de raiz (13,6%) e baixa para diâmetro de caule (10,13%). A amplitude dos valores para PCV foram de 10,3 a 34% e para GCV foram de 9,91 a 33,42%.

Quando o PCV é mais alto que GCV indica que o ambiente influenciou a expressão fenotípica em maior ou menor grau, entretanto, segundo Vasconcelos e colaboradores (2012), o GCV pode apresentar menor eficiência em ambientes conjuntos do que individuais e pode ser aplicado para variáveis como altura, diâmetro de capítulo e da haste, massa de aquênios, dentre outros caracteres relacionados à produção e que podem ser avaliadas quanto a h^2 (RIGON e colaboradores, 2013).

O coeficiente de variação relativo (b) foi maior que 1 para todas as variáveis analisadas, o que indica que há maior influência genotípica do que ambiental nas características herdadas. Deste modo, Alves e colaboradores (2017) afirmam que estas variáveis possuem maior possibilidade de ganho genético e são favoráveis ao melhoramento.

Foi possível classificar o ganho genético como alto para as variáveis altura de planta, diâmetro de capítulo, comprimento de raiz, massa seca de parte aérea, massa seca de capítulo e massa seca de raiz, pois os mesmos obtiveram índice acima de 20%, e médio para diâmetro de caule (KUMAR e colaboradores, 1985). Esta variável é de suma importância no melhoramento do girassol uma vez que a obtenção do ganho genético contribui para o desenvolvimento de híbridos ou variedades de polinização aberta (DA SILVA e colaboradores, 2011a).

CONCLUSÕES

O genótipo BRS 323 quando inoculado apresentou resultados expressivos nas menores capacidades de vaso para as variáveis: comprimento de raiz, diâmetro de caule e massa seca de capítulo sendo, portanto, recomendado para programas de melhoramento.

O genótipo BRS G51 foi o menos responsivo à inoculação apresentando resposta positiva apenas para diâmetro de capítulo;

Altura da planta, diâmetro de caule e do capítulo, comprimento de raiz, massa seca de parte aérea e do capítulo, obtiveram elevada herdabilidade e alto ganho genético tornando esses caracteres importantes para seleção de genótipos de girassol.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ V., V.H.; RIBEIRO, A.C. Calagem. In: RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G. e ALVAREZ V., V.H., eds. **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. 5ª aproximação. Viçosa, MG, 1999. 359p.

ALVES, R.M.; HUSNY, J.C.E.; RIBEIRO A.S.; BASTOS, A.J.. Avaliação da produção e estimativa de parâmetros genéticos em genótipos de girassol no Nordeste do Estado do Pará. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 118**, Belém, Embrapa Amazônia Oriental, 2017. 30 p.

AMABILE, R.F.; FERNANDES, F.D.; SANZONOWICZ, C. **Girassol como alternativa para sistema de produção do cerrado**. Circular Técnica, Brasília, mar. 2002.

AMORIM, E. P.; RAMOS, N. P.; UNGARO, M. R. G.; KIIHL, T. A. M. Correlações e análise de trilha em girassol. **Bragantia**, v. 67, n. 2, p.307-316, 2008.

BORSUK, L.J. SCHLINDWEN, S.L.; MARTINS, S.R. Viabilidade econômica e fatores limitantes do cultivo de girassol no período da safrinha em Abelardo Luz/SC. **Revista Brasileira de Agrocência**, Pelotas, v.17, n.2-4, p.277-283, abr./jun. 2011.

BISCARO, G. A.; MACHADO, J. R.; TOSTA, M. da S.; MENDONÇA, V.; SORATTO, R. P.; CARVALHO, L. A. Adubação nitrogenada em cobertura no girassol irrigado nas condições de Cassilândia – MS. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1366-1373, 2008.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº13 de 24 de março de 2011. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 24 março, Seção 1; p-3-7.

BULEGON, L.G.; RAMPIM, L.; KLEIN, J.; KETRIN, D. Componentes de produção e produtividade da cultura da soja submetida à inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. **Terra Latinoamericana**, v. 34, n.2 p. 169-176, 2016.

CASAROLI, D.; JONG van LIER, Q. Critérios para determinação da capacidade de vaso. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v.32, p.59-66, 2008.

CASTRO, C.; MOREIRA, A.; OLIVEIRA, R.F.; DECHEN, A.R. Boro e estresse hídrico na produção do girassol. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.2, mar./abr. 2006.

COSTA, E.M.; CARVALHO, F.C.; ESTEVES, J.A.; NÓBREGA, R.S.A.; MOREIRA, F.M.S. Resposta da soja a inoculação e c-inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal e *Bradyrhizobium*. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.10, n.19; p. 1678- 1689, 2014.

COSTA, E. M.; NÓBREGA, R. S. A.; DE CARVALHO, F.; TROCHMANN, A.; FERREIRA, L. V. M.; MOREIRA, F. M. S. Promoção

do crescimento vegetal e diversidade genética de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 9, p. 1275-1284, 2013.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V.F.; MARINIA, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, n.10, p.1023–1029, 2013.

DA SILVA, J.A.G.; SCHWERTNER, D.V.; CARBONERA, R.; KRUGER, C.A.M.B.; CRESTANI, M.; GAVIRAGHI, F.; SCHIAVO, J.; ARENHARDT, E.G. Distância genética em genótipos de girassol. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.17, n.3-4, p.326-337, jul./set. 2011a.

DA SILVA, J.A.G.; SCHWERTNER, D.V.; KRUGER, C.A.M.B.; CARBONERA, R.; MAIXNER, A.R.; GARCIA, D.C.; CRESTANI, M.; GAVIRAGHI, F.; MARTINS, J.A.K.; MATTER, E. Estimativas de herdabilidade e correlações para caracteres agronômicos em girassol. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.17, n.1-4, p.51-59, jan./mar. 2011b.

DIMKPA, C.; WEINAND, T.; ASCH, F. Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. *Plant, Cell and Environment*, v.32, p.1682–1694, 2009.

DÖBEREINER J.; BALDANI V.L.D.; BALDANI J.I. Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, Brasília, 1995.

DUTRA, C.C.; PRADO, E.A.F.; PAIM, L.R.; SCALON, S.P. Desenvolvimento de plantas de girassol sob diferentes condições de fornecimento de água. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, suplemento 1, p. 2657-2668, 2012.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.1039-1042, 2011.

GYANESHWAR, P.; KUMAR, G. N.; PAREKH, L. J.; POOLE, P. S. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. **Plant Soil**, v.245, p.83-93, 2002.

KUMAR, A.; MISRA, S. C.; SINGH, V. P.; CHAAHAN, B. P. S. Variability and correlation studies in triticale. **Journal of the Maharashtra Agricultural University**, v. 10, p. 273-275, 1985.

LEITE, R. M. V. B. C.; BRIGHENTI, A. M.; CASTRO, C. **Girassol no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2005.

MARRA, L. M.; SOARES, C. R. F. S.; OLIVEIRA, S. M.; FERREIRA, P. A. A.; SOARES, B. L.; CARVALHO, R. F.; LIMA, J. M.; MOREIRA, F. M. S. Biological nitrogen fixation and phosphate solubilization by bacteria isolated from tropical soils. **Plant and Soil**, v. 353, n. 1, p. 289-307, 2012.

MORANDO, R.; DA SILVA, A.O; CARVALHO, L.C.; PINHEIRO, M.P.M.A. Déficit hídrico: efeito sobre a cultura da soja. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v.3, n. especial, p.114-129, 2014.

MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: Diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v.1, p.74-99, 2010.

NUNES, B.T.; PILON, A.; FLUMINHAN, A. Avaliação do desempenho agrônômico de genótipos de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivados na região oeste paulista e análise do rendimento de óleo, matéria seca e proteína bruta. **Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 9, n. 1, pp. 150-165, 2013.

OYIGA, B. C.; UGURU, M. I. Genetic variations and contributions of some floral traits to pod yield in bambara groundnut under two cropping seasons in the derived savanna of the South-East Nigeria. **International Journal of Plant Breeding**, n. 5, v. 1, p. 58-63, 2010.

PEREIRA, C.S.; SERAFIM, R.C.; ZANOTTO, I.B.; FIORINI, I.V. Germinação e crescimento inicial de plantas de soja submetidas ao déficit hídrico. **Global Science and Technology**, Rio Verde, v.09, n.01, p.33 – 40, jan./abr. 2016.

REIS, V.M.; BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.; DÖBEREINER, J. Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.19, p. 227-247, 2000.

RIBEIRO JÚNIOR, J.I. **Análises estatísticas no SAEG** (Sistema para análises estatísticas). Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 301p.

RIGON, C.A.G.; RIGON, J.P.G.; CAPUANI, S. Parâmetros genéticos entre caracteres quantitativos no girassol como critério de seleção para

produtividade de aquênios. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 5, p. 1120 – 1125, 2013.

SANTANA, M.S.; SOUZA, V.N.; SANTOS, G.M.S.S.; SANTOS, L.G.; PEIXOUTO, L.S. Desempenho agrônomico de genótipos de girassol no sudoeste baiano para produção de biocombustíveis. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.13 n.23; p.422-431, 2016.

SANTOS, J.F.; SACRAMENTO, B.L.; MOTA, K.N.A.B.; SOUZA, J.T.; AZEVEDO NETO, A.D. Crescimento de girassol em função da inoculação de sementes com bactérias endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 2, p. 142-150, abr./jun. 2014.

SCHWERZ, T. JAKELAITIS, A.; TEIXEIRA, M.B.; SOARES, F.A.L.; TAVARES, C.J. Produção de girassol cultivado após soja, milho e capim-marandu, com e sem irrigação suplementar. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.19, n.5, p.470–475, 2015.

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**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1363-1368, 2002.

SOUZA, F.R. SILVA, I.M.; PELLIN, D.M.P.; BERGAMIN, A.C.; SILVA, R.P. Características agrônomicas do cultivo de girassol consorciado com *Brachiaria ruziziensis*. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 46, n. 1, p. 110-116, jan./mar., 2015

SUNDAY, O. F.; AYODELE, A. M.; BABATUNDE, K. O.; OLUWOLE, A. M. Genotypic And Phenotypic Variability For Seed Vigour Traits And Seed Yield In West African Rice (*Oryza sativa* L.) Genotypes. **Journal of American Science**, v. 3, n. 3, p. 34-41, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 6^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p.

VASCONCELOS, E. S., REIS, M. S., SEDIYAMA, T., CRUZ, C. D. Estimativas de parâmetros genéticos da qualidade fisiológica de sementes de genótipos de soja produzidas em diferentes regiões de Minas Gerais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.33, n. 1, 65-76, 2012.

VIDAL, V.M.; SOARES, F.A.L.; TEIXEIRA, M.B; OLIVEIRA NETO, S.A.S.; MORAIS, W.A.; GOMES, F.H.F.; SILVA, N.F.; CUNHA, F.N. Produção e partição de biomassa na cultura do girassol submetido ao déficit hídrico. **Water Resources and Irrigation Management**, Salvador, v.5, n.2, p.67-73, set./dez., 2016.

ARTIGO III

CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS E FISIOLÓGICAS DE GENÓTIPOS DE GIRASSOL INOCULADOS COM *Herbaspirillum* *seropedicae* SOB RESTRIÇÃO HÍDRICA³

³Artigo a ser ajustado e submetido ao Comitê Editorial do periódico científico **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. B1 para a área de Ciências Agrárias, segundo o Qualis-Capes.

Características bioquímicas e fisiológicas de genótipos de girassol inoculados com *Herbaspirillum seropedicae* sob restrição hídrica⁵

RESUMO

O déficit hídrico é um dos estresses abióticos mais comuns e que promove efeitos críticos na maioria das culturas. Em resposta à seca, as plantas desenvolvem mecanismos fisiológicos que podem amenizar os efeitos deletérios. Com isso, este trabalho objetivou avaliar respostas bioquímicas e fisiológicas de genótipos de girassol inoculados com *Herbaspirillum seropedicae* e níveis de irrigação. Foram selecionados sete genótipos, os quais BRS G51, SYN 045, BRS 323, BRS 324, BRS G45, BRS 390, BRS G49 inoculados ou não com *Herbaspirillum seropedicae*, estirpe ZAE94 e submetidos a 4 níveis de irrigação: 40, 60, 80, 100% da capacidade de vaso dispostos no delineamento experimental inteiramente casualizado, com 4 repetições, compondo um fatorial triplo 7x2x4. Após 90 dias foram realizadas avaliações para quantificar açúcares solúveis totais, açúcares redutores, aminoácidos, prolina, nitrogênio foliar e clorofila. Os genótipos BRS G51 e SYN 045, proveniente de sementes inoculadas, apresentaram aumento nos teores de aminoácidos, prolina e açúcares totais em condição de estresse.

Palavras-chave: déficit hídrico, fixação biológica de nitrogênio, *Helianthus annuus* L.

Biochemical and physiological characteristics of sunflower genotypes inoculated with *Herbaspirillum seropedicae* under water

ABSTRACT

Water deficit is the most common abiotic stress that promotes critical effects in most cultures. In response to drought, the plants develop physiological mechanisms that can lessen deleterious effects. This work aimed to evaluate biochemical and physiological responses of sunflower genotypes inoculated with *Herbaspirillum seropedicae* and irrigation levels. Seven genotypes were inoculated with or without *Herbaspirillum seropedicae*, strain ZAE94, and submitted to 4 irrigation levels: 40, 60, 80, 100% of the pot capacity arranged in the completely randomized experimental design, with 4 replicates, composing a 7 x 2 x 4 triple factorial. After 90 days evaluations were performed to quantify total soluble sugars, reducing sugars, amino acids, proline, leaf nitrogen and chlorophyll. The genotypes BRS G51 and SYN 045, from inoculated seeds, presented increased levels of amino acids, proline and total sugars under estresse conditions

Key words: biological nitrogen fixation, *Helianthus annus* L., water deficit

INTRODUÇÃO

O déficit hídrico é um dos estresses abióticos mais comuns e que promove efeitos críticos na maioria das culturas. Seus efeitos podem ser percebidos em qualquer estágio fenológico variando de acordo com a severidade e duração do estresse (FAROOQ e colaboradores, 2009; PEREIRA e colaboradores, 2012).

Em resposta à seca, as plantas desenvolvem mecanismos fisiológicos que podem amenizar os efeitos deletérios causados pela restrição do aporte hídrico dentre eles, o ajustamento osmótico, com o intuito de manter o potencial hídrico e a turgescência celular com os níveis próximo ao adequados à cultura. Estes processos ocorrem por meio do acúmulo de solutos orgânicos de baixo peso molecular no citosol destacando os açúcares solúveis, aminoácidos livres e prolina (BIANCHI e colaboradores, 2016; VERBRUGGEN e HERMANS, 2008)

Os pigmentos fotossintéticos também são afetados pela seca e sua concentração varia de acordo com a espécie vegetal. Seu teor indica adaptabilidade das plantas às condições de estresse (TAIZ e ZEIGER, 2017), além disso, o teor de clorofila está relacionado ao de N foliar e este, por sua vez, é um nutriente essencial que está ligado diretamente ao desenvolvimento e produtividade das culturas e, portanto, seu uso é indispensável nas mesmas (SILVA e colaboradores, 2012).

O N é um macronutriente absorvido em grande quantidade pela maioria das culturas e está envolvido em diversos processos metabólicos como fotossíntese, respiração, multiplicação e diferenciação celular (KUSANO e colaboradores, 2011; ZAMBOLIM e colaboradores, 2012). Na cultura do girassol, o N possui influência direta com a produção de aquênios e diâmetro das flores (BISCARO e colaboradores, 2008), porém altas doses promovem efeitos indesejados no solo e no meio ambiente não apenas para a cultura citada, mas para aquelas que virão em sucessão. Como

forma de atenuar os efeitos oriundos desta adubação, tem-se utilizado nos últimos anos, principalmente em gramíneas e leguminosas, bactérias promotoras do crescimento que são capazes de realizar a fixação biológica de nitrogênio - FBN (SANGOI e colaboradores, 2015). Esta ação tem a finalidade de reduzir os impactos causados pela perda de N ao se utilizar a adubação química e aumentar a produtividade e resistência das plantas a diversos estresses abióticos como a seca.

Sabe-se que o girassol é uma planta de grande versatilidade e adaptabilidade, se encaixando em vários eixos do mercado agropecuário (OLIVEIRA e colaboradores, 2014; MACIEL e colaboradores, 2012; NEUMANN e colaboradores, 2009; THOMAZ e colaboradores, 2012). No entanto, são poucos os trabalhos que fazem uma investigação bioquímica para averiguar os efeitos da seca na cultura quando esta é inoculada com bactérias promotoras de crescimento. Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar respostas bioquímicas e fisiológicas de genótipos de girassol inoculados com *Herbaspirillum seropedicae* sob restrição hídrica.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em cultivo protegido entre os meses de novembro de 2017 a fevereiro de 2018 na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), *campus* de Vitória da Conquista - BA, situado a 850 m de altitude, com as seguintes coordenadas geográficas: 14° 51' Sul e 40° 50' Oeste. O clima regional é classificado como tropical de altitude (Cwb), de acordo com a classificação de Köppen.

Foram utilizados vasos de 14,8 L, e previamente a semeadura, foi mensurada a capacidade de vaso, para assim, estipular o volume de água de cada tratamento pelo método da retenção de água no solo (CASAROLI e JONG VAN LIER, 2008).

O solo utilizado foi do tipo franco argilo arenoso, coletado na área experimental da UESB, o qual foi classificado como Latossolo Amarelo típico na profundidade de 0-20 cm. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Solos da UESB para análise química e seu resultado está expresso na tabela 3.1.

Tabela 3.1: Características químicas do solo. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2017.

pH (H ₂ O)	mg dm ⁻¹ P	cmol _c dm ⁻³ de solo									%	
		K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H ⁺	Na ⁺	S.B.	T	T	V	M
5,5	2	0,18	1,6	0,8	0,1	2,4	-	2,6	2,7	5,1	51	4

S.B = Soma das bases; t = SB +Al³⁺; T= Capacidade de Troc de Cátion; V = Saturação de base; M = Saturação de alumínio.

Para as correções do solo, foram seguidas as recomendações da Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais (ALVAREZ e RIBEIRO, 1999) aplicando 30 kg ha⁻¹ de N, 70 kg ha⁻¹ de P e 50 kg ha⁻¹ de K. Os nutrientes N e K foram aplicados 1/3 na semeadura e o restante, em cobertura, 30 dias após a emergência das plantas, utilizando uréia, cloreto de potássio, respectivamente, como fonte de nutrientes. O P foi aplicado na semeadura utilizando o super simples como fonte de nutriente.

Os tratamentos consistiram de 4 níveis de irrigação: 40, 60, 80, 100% (controle) da capacidade vaso, utilizando os genótipos provenientes da Rede Oficial de Ensaios de Girassol da Embrapa Soja (Safrá 2016), cultivados no Instituto Federal Baiano, campus Bom Jesus da Lapa – BA, os quais, BRS G51, SYN 045, BRS 323, BRS 324, BRS G45, BRS 390, BRS G49 foram inoculados ou não com *H. seropedicae*, estirpe ZAE94, dispostos no delineamento experimental inteiramente casualizado, com 4 repetições, compondo um fatorial triplo 7 x 2 x 4.

A estirpe utilizada foi proveniente da coleção de culturas de bactérias diazotróficas da Embrapa Agrobiologia com o código BR 11417. Esta foi repicada em tubos de ensaio contendo meio Dygs, por 24 horas a 30°C sob agitação a 100 rpm em seguida riscada em placas com meio específico JNFb para verificar a pureza da cultura crescida (DOBEREINER e colaboradores, 1995). Após a verificação da pureza, a estirpe foi multiplicada em meio Dygs e utilizada no preparo do inoculante, conforme recomendação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011).

As sementes de girassol foram desinfectadas por meio de lavagem com hipoclorito a 1% durante 1 minuto, em seguida foi realizada a tríplice lavagem com água destilada. Para o tratamento inoculado, as sementes foram submersas em 200 mL no meio de cultura durante seis horas (SANTOS e colaboradores, 2014) e mantidas em BOD, a 25°C.

A semeadura ocorreu imediatamente após a inoculação utilizando-se 10 sementes por vaso, e após 15 dias, foi realizado o desbaste deixando apenas as 2 plantas mais vigorosas.

A irrigação foi realizada diariamente na capacidade de vaso de 100% até o 30º dia, após este período, foi iniciado o estresse hídrico utilizando-se a capacidade de vaso de 40,60 e 80% até o final do experimento (90 dias), exceto para as plantas controle.

Em seguida foram avaliadas as seguintes características:

a) Quantificação de açúcares solúveis totais (AST): conforme metodologia descrita por Yemm e Willis (1954). Foi realizada a leitura em espectrofotômetro, a 620 nm, cujos resultados foram expressos em mg de AST g⁻¹ massa seca.

b) Quantificação de açúcares redutores (AR): conforme descrição de Miller (1959). A leitura foi realizada em espectrofotômetro, a 540 nm, e os resultados foram expressos em mg de AR g⁻¹ massa seca.

c) Quantificação de aminoácidos totais (AA): conforme Yemm e Coccking (1955). A leitura foi realizada em espectrofotômetro, a 570 nm, e os resultados foram expressos em mg de AA g⁻¹ massa seca.

d) Quantificação de prolina (PROL): baseada em metodologia descrita por Bates (1973). A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 520 nm e os valores expressos em mg de PROL g⁻¹ de massa seca.

e) Determinação do teor de clorofila (índice SPAD): a intensidade da coloração verde das folhas (índice SPAD) foi determinada utilizando-se um clorofilômetro portátil ClorofiLog CFL1030 (Falker Automação, Porto Alegre, RS). Realizaram-se leituras em dois pontos da primeira folha totalmente expandida, a partir do ápice da planta, com posterior média.

f) Quantificação de N foliar (NF): a porcentagem de N foi determinada pela digestão de Kjeldahl, conforme descrito por Bremner e Mulvaney (1982).

Os dados foram submetidos ao teste Cochran e de Lilliefors, respectivamente, utilizando o programa estatístico SAEG 9.1 (RIBEIRO JUNIOR, 2001). Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão polinomial e para a comparação das médias, adotou-se o teste de Scott – Knott a 5% de probabilidade utilizando o programa SISVAR versão 5.6 (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado na análise de variância mostra que houve diferença significativa para os fatores isolados (genótipo, inoculação e níveis de irrigação), bem como, para as interações duplas e triplas para todas as variáveis analisadas (Tabela 3.2).

Tabela 3.2: Resumo da análise de variância e coeficientes de variação de aminoácidos (AA), prolina (PROL), açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR), clorofila (SPAD) e nitrogênio foliar (NF). UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018.

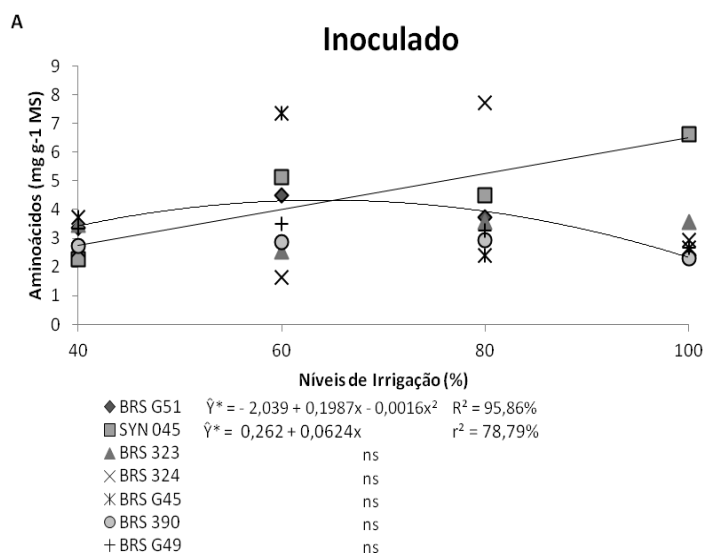
FV	Quadrados médios						
	GL	AA	PROL	AST	AR	SPAD	NF
GEN	6	4,98*	240,80*	44085,52*	1545,92*	46,30*	0,13*
INOC	1	53,89*	2,31*	10064,74*	54,60*	4,68*	0,01*
IRRIG	3	8,60*	56,35*	76470,04*	669,45*	14,12*	0,11*
GEN X INOC	6	5,71*	593,83*	35666,53*	564,36*	21,07*	0,09*
GEN X IRRIG	18	7,62*	183,31*	51174,77*	439,64*	12,43*	0,05*
BAC X IRRIG	3	3,95*	212,01*	97358,97*	216,04	20,51*	0,09*
GEN X BAC X IRRIG	18	12,09*	192,35*	58587,09*	420,84*	22,19*	0,06*
Resíduo	168	0,05	0,05	1,57	0,08	0,46	0,003
CV (%)	----	5,91	2,62	0,90	1,46	3,62	6,86

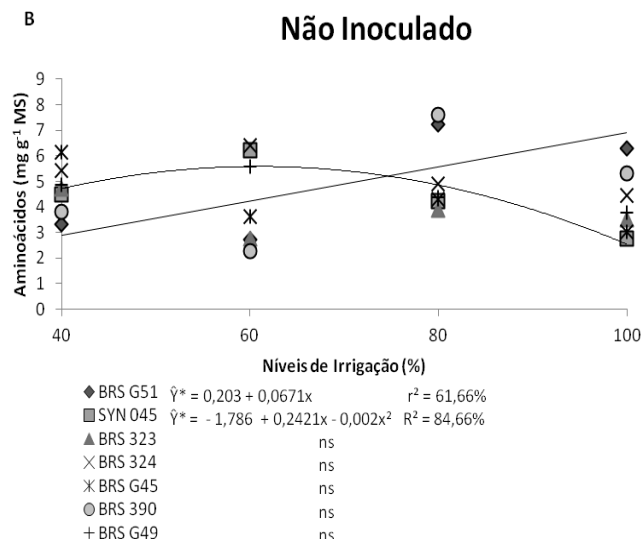
*significativo pelo teste F a 5% de probabilidade

Resultado significativo para teor de aminoácidos foi observado para os genótipos BRS G51 e SYN 045 tanto inoculado quanto não inoculado (Figura 3.1). Quando inoculado, o genótipo BRS G51 apresentou comportamento quadrático decrescente com valor máximo de 4,33 mg g⁻¹ MS quando irrigado com a capacidade de vaso de 64% e o genótipo SYN 045 apresentou comportamento quadrático crescente atingindo 5,54 mg g⁻¹ MS quando irrigado com 60,5% da capacidade de vaso (Figura 3.1A).

Quando não inoculado os genótipos, com resultados significativos, apresentaram comportamento matemático diferenciado do inoculado (Figura 3.1B). Para o BRS G51 foi definido modelo linear decrescente com valor

máximo de 7,23 mg g⁻¹ MS quando irrigado com 80% da capacidade de vaso, e o SYN 045 apresentou comportamento quadrático decrescente obtendo valor máximo de 6,63 mg g⁻¹ MS quando irrigado com 100% da capacidade de vaso.





*Significativo a 5% de probabilidade pela análise de regressão

Figura 3.1: Estimativa do teor de aminoácidos em genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae* submetidos a níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018.

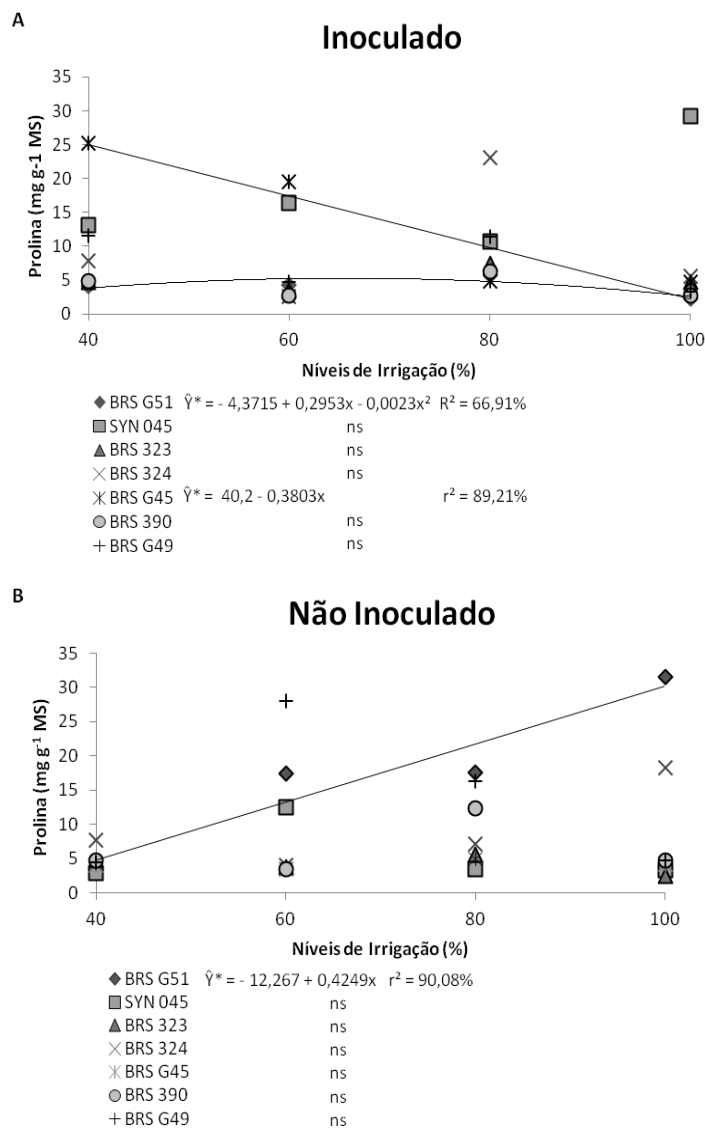
O genótipo BRS G51 apresentou maior teor de aminoácidos quando inoculado e submetido a 40% da cv e menor concentração do mesmo para 100% da capacidade de vaso. Comportamento inverso foi observado no genótipo SYN 045 indicando que não há efeito da inoculação para esta variável no genótipo outrora citado, uma vez que, maior concentração de AA foi obtida quando a planta não foi inoculada e estava sob regime hídrico intenso. Azevedo Neto e colaboradores (2010) observaram comportamento semelhante ao BRS G51 para genótipos de amendoim sob estresse hídrico, o qual plantas submetidas a déficit hídrico obtiveram médias superiores para solutos orgânicos do que as plantas controle.

Possivelmente, o aumento na concentração de aminoácidos no genótipo BRS G51 é decorrente do uso de compostos como solutos nitrogenados, proteína, e ainda os aminoácidos, para realizar a regulação

osmótica sob condição hídrica mais severa (MCCORMICK e colaboradores, 2008).

Um importante mecanismo de tolerância à seca desenvolvido pelas plantas em condições de estresse hídrico é o acúmulo intracelular de solutos orgânicos destacando os carboidratos solúveis e aminoácidos livres como principais componentes envolvidos no ajustamento osmótico (AZEVEDO NETO e colaboradores, 2004; CHAVES FILHO e STACCIARINI-SERAPHIN, 2001). Tal mecanismo auxilia a planta a manter a turgescência tornando possível manter o potencial hídrico e a pressão de turgescência da célula; fator que pode contribuir para a manutenção dos processos fisiológicos como fotossíntese, alongamento e divisão celular (SERRAJ e SINCLAIR, 2002).

Referindo-se aos teores de prolina, houve significância na interação tripla dos fatores analisados. No entanto, apenas os genótipos BRS G51 e BRS G45 foram significativos apresentando modelo linear decrescente com redução de 45 e 81,4%, respectivamente na medida em que se aumentou o aporte hídrico das plantas provenientes de sementes inoculadas (Figura 3.2A). Quando não inoculado, o genótipo BRS G51 apresentou comportamento linear crescente com aumento no teor de prolina em 89,6% (Figura 3.2B).



*Significativo a 5% de probabilidade pela análise de regressão

Figura 3.2: Teor de prolina em genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae* submetidos a níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018.

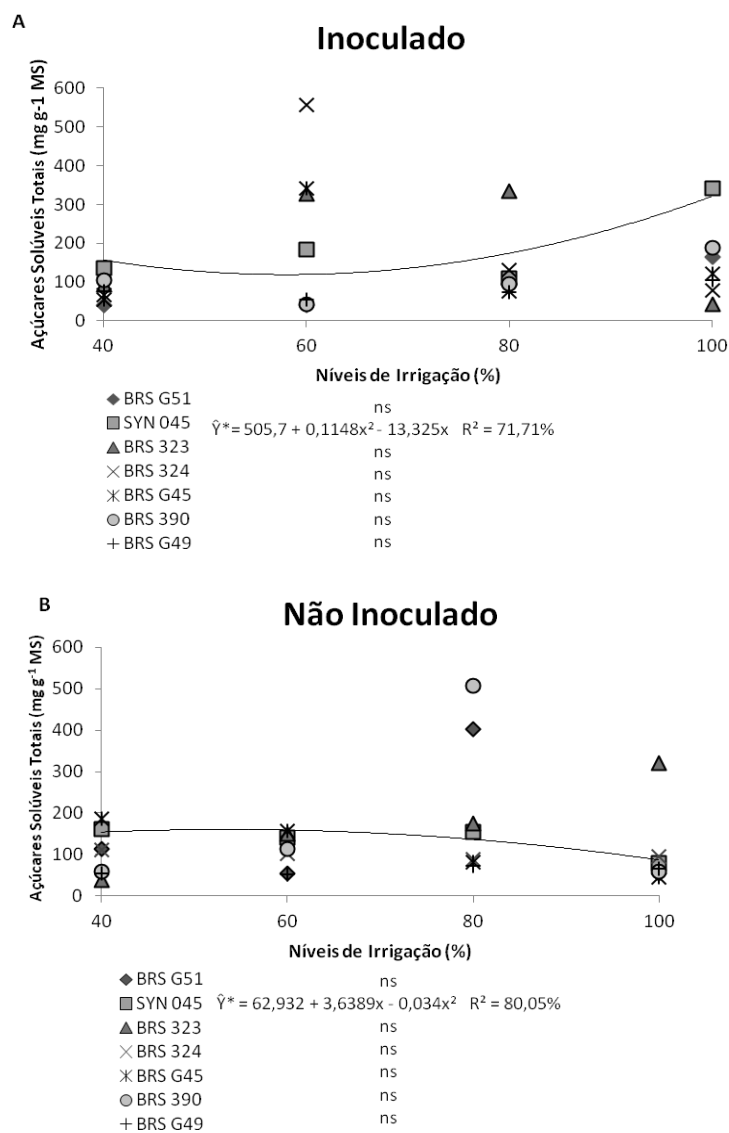
As plantas de girassol inoculadas apresentaram maior concentração de prolina quando submetida a 40% da capacidade de vaso, enquanto que as

plantas não inoculadas apresentaram maior concentração a 100% da capacidade de vaso. Estes resultados corroboram com os descritos por Santos e colaboradores (2014) indicando que o uso de BPCV contribui para reduzir os efeitos da seca sob plantas de girassol, portanto, é possível afirmar que o genótipo BRS G51 tornou-se mais tolerante ao ser inoculado com *H. seropedicae*, ZAE94.

O aumento de aminoácidos livres está relacionado diretamente com a resposta da planta ao estresse hídrico com forma de reduzir o potencial hídrico e promover a absorção de água pela planta (TAIZ e ZEIGER, 2017), portanto, há forte relação entre a concentração de prolina e a tolerância ao estresse hídrico (ASHAD e FOOLAND, 2013).

Diversos trabalhos têm mostrado que o estresse hídrico reduz, de forma geral, a atividade fotossintética das plantas e o crescimento foliar (CHAVES e colaboradores, 2009). Os carboidratos advindos da fotossíntese desempenham papel importante no suprimento de esqueletos de carbono. No entanto, as relações de fotossíntese e estresse são complexas, uma vez que o metabolismo de carboidratos, após o a fotossíntese, podem assumir diversas rotas metabólicas (MCCORMICK e colaboradores, 2008; SOUSA e colaboradores, 2012).

A curva para a concentração de açúcares solúveis totais no genótipo SYN 045 foi oposta quando inoculado e não inoculado (Figura 3.3A e B). Nota-se que ao inocular, o modelo matemático adotado foi quadrático crescente, pois houve aumento de açúcares solúveis totais com valor máximo de 342,60 mg g⁻¹ MS quando irrigado em 100% da capacidade de vaso (Figura 3.3A). Quando não inoculado, o modelo matemático adotado foi o quadrático decrescente com valor máximo obtido até a capacidade de vaso de 53,5% seguida de decréscimo com valor de 160,3 mg g⁻¹ MS (Figura 3.3B).



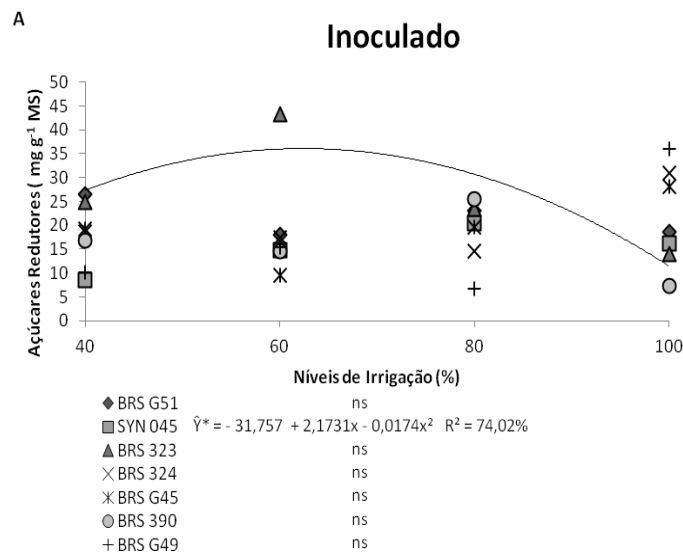
*Significativo a 5% de probabilidade pela análise de regressão

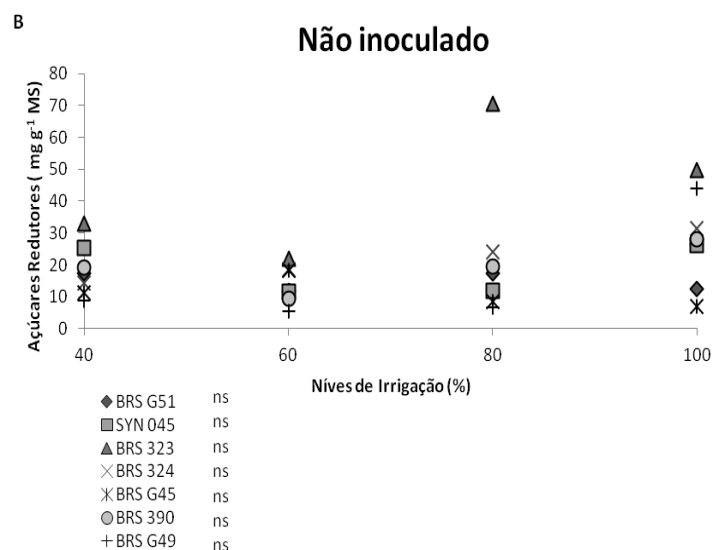
Figura 3.3: Açúcares solúveis totais em genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae* submetidos a níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018.

Plantas em condições de seca tendem a aumentar o teor de açúcares solúveis totais e açúcares redutores, no entanto, o genótipo SYN 045 quando

inoculado (Figura 3.4A) apresentou valor baixo sob a menor capacidade de vaso o que permite inferir que a bactéria *H.seropedicae* auxiliou nos processos de regulação osmótica de modo que o genótipo reduziu os danos causados pelo estresse.

Resultados para açúcares redutores são apresentados na figura 3.4A e B, porém não foi encontrado modelo matemático que se adequasse aos genótipos provenientes de sementes não inoculadas. Para as sementes inoculadas, resultado significativo foi observado para o genótipo BRS 323, pois houve aumento no teor de açúcares redutores até 60% da cv com valor máximo estimado em 43,22 mg g⁻¹ MS seguido de decréscimo na medida em que se aumenta a disponibilidade hídrica (Figura 3.4A). Neste caso, é possível afirmar que a ação simbiótica planta x bactéria é variável e que os solutos orgânicos apresentam efeito fisiológico diferente nos vegetais podendo estes contribuir para o balanço osmótico parcial da planta evitando acúmulo de solutos inorgânicos enquanto outros podem proteger enzimas e estruturas em órgãos específicos (GARCIA e colaboradores, 1997).



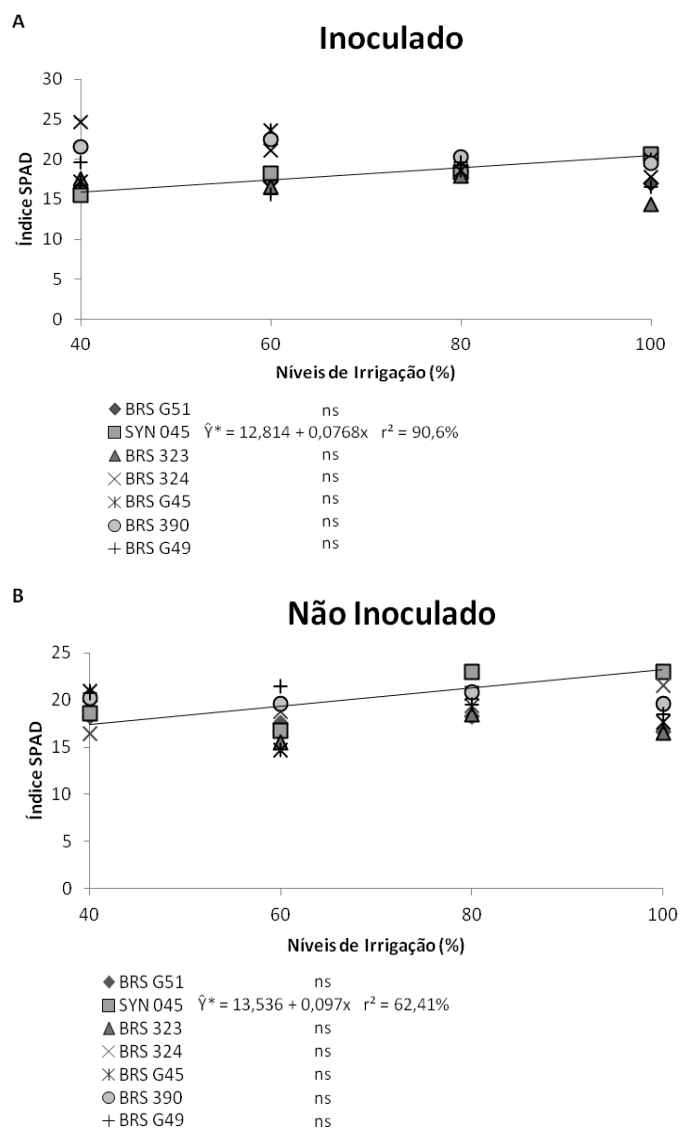


*Significativo a 5% de probabilidade pela análise de regressão

Figura 3.4: Açúcares redutores em genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae* submetidos a níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista - BA, 2018.

Para índice SPAD, o genótipo SYN 045, proveniente de semente inoculada, apresentou comportamento linear crescente na medida em que se aumentou o aporte hídrico, para tanto, observou-se aumento de 25% da menor para a maior capacidade de vaso (Figura 3.4A). Quando não inoculado, observa-se acréscimo de 19% para as mesmas condições outrora citadas, porém, maiores valores foram obtidos quando o genótipo não foi inoculado (Figura 3.5B).

Os demais genótipos não obtiveram resultados significativos para a condição inoculada e não inoculada.



*Significativo a 5% de probabilidade pela análise de regressão

Figura 3.5: Índice SPAD em genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae* submetidos a níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista- BA, 2018.

O aumento do índice SPAD pode ser justificado em razão da disponibilidade de nitrogênio no solo, pois é possível que o mesmo ao

126

receber uma quantidade de água próxima à capacidade de vaso, promova mudanças físico-químicas alterando a disponibilidade de nutrientes, principalmente de N.

Além disso, as características fisiológicas da folha como as estruturas celulares e seu estado hídrico podem alterar as propriedades ópticas da folha e, conseqüentemente, o índice SPAD (MARTINEZ e GUIAMET, 2004).

O aumento no índice SPAD foi descrito por Maia Júnior e colaboradores (2017) ao submeter genótipos de girassol ao déficit hídrico, no entanto, o teor de clorofila obtido no presente trabalho foi superior ao apresentado pelos autores supracitados.

As clorofilas são pigmentos que estão diretamente relacionados à cor verde, a atividade fotossintética, bem como, com o teor de N foliar. Alta eficiência fotossintética pode ser um indicador de aumento na produtividade da cultura e está relacionada com o aproveitamento da radiação disponível por estes pigmentos (SILVA e colaboradores, 2014).

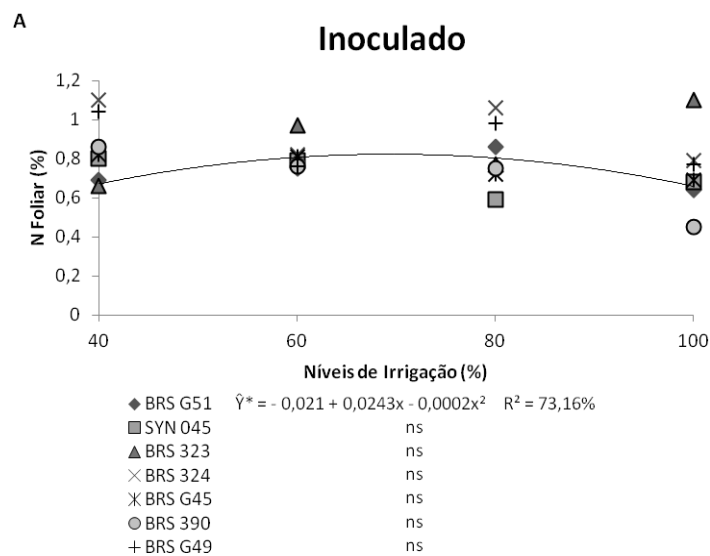
O estresse hídrico é um dos fatores responsáveis pela redução da clorofila e declínio na capacidade fotossintética das plantas, portanto, a análise dos pigmentos fotossintéticos é uma alternativa para avaliar a sanidade e integridade celular (RONG-HUA e colaboradores, 2006) além de permitir classificar a planta como tolerante ao estresse hídrico (JABEEN e colaboradores, 2008).

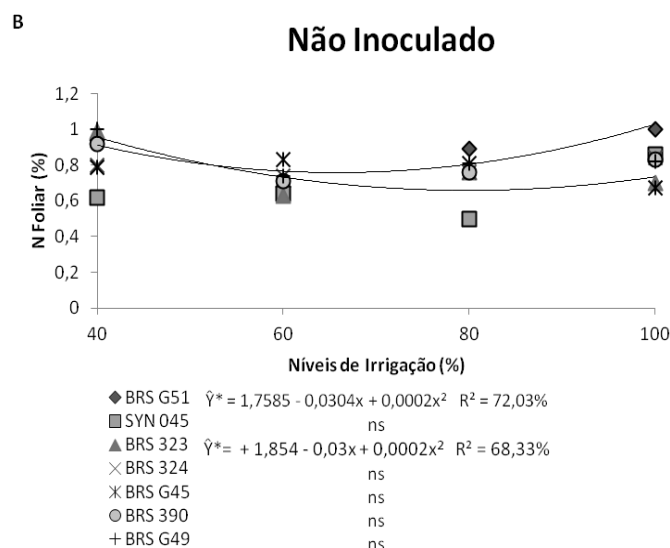
Dutra e colaboradores (2012) obtiveram comportamento distinto ao exposto nesta pesquisa, uma vez que, as plantas de girassol apresentaram redução do teor de clorofila acima da capacidade de vaso de 60% por meio da ocorrência de abscisão foliar em função do aporte hídrico ser superior ao suportado pelos genótipos avaliados. Quadros e colaboradores (2014) também expõem comportamento diferente aos desta pesquisa, pois os

mesmos observaram que híbridos de milho inoculados apresentaram maior teor de clorofila do que quando não inoculado.

Sabe-se que o déficit hídrico pode acarretar em disfunção hormonal, bem como, na redução de clorofila induzindo a senescência foliar (TAIZ e ZEIGER, 2017), além da redução de minerais como o nitrogênio. O teor de clorofila correlaciona-se com a concentração de N nas plantas e com a produtividade das culturas (LEONARDO e colaboradores, 2013; SILVA e colaboradores, 2012).

Quanto ao percentual de nitrogênio, adotou-se modelo quadrático decrescente com redução do teor nas folhas do genótipo BRS G51 quando inoculado. O valor máximo obtido foi de 0,82% quando a planta foi irrigada com 72,15% da capacidade de vaso (Figura 3.6A).





*Significativo a 5% de probabilidade pela análise de regressão

Figura 3.6: N foliar (%) em genótipos de girassol inoculados (A) e não inoculados (B) com *Herbaspirillum seropedicae* submetidos a níveis de irrigação. UESB, Vitória da Conquista- BA, 2018.

Este comportamento assemelha-se ao descrito por Santos e colaboradores (2015), os quais observaram que houve decréscimo na massa seca de parte aérea de plantas de milho quando esta foi inoculada com ZAE94. Os autores supracitados afirmam que as plantas inoculadas diferiram das não inoculadas apenas quando adubado com 100 Kg N ha⁻¹.

O N e o K são os nutrientes que mais limitam a produção do girassol; O N é transformado em compostos orgânicos que se acumulam em folhas e caules e depois é translocado para os grãos (LOBO e colaboradores, 2012). Os autores ainda afirmam que 53% de N são exportados para os grãos e nos tecidos sua concentração varia entre 35 a 50 g Kg⁻¹ nas folhas e 4 a 10 g Kg⁻¹ no caule no período de início de florescimento e enchimento de sementes podendo variar em razão do genótipo, fase a qual este trabalho se encontrava.

De modo geral, pode-se afirmar que neste trabalho o teor de N foi relativamente baixo independente da inoculação. Esse fator pode ser justificado por diversos fatores dentre eles pelo déficit hídrico que pode ter indisponibilizado o nutriente, pelo solo pobre em matéria orgânica e por fim pelas plantas apresentarem no final do ciclo deficiência de N.

CONCLUSÕES

A inoculação com *Herbaspirillum seropedicae*, ZAE94 aumentou os teores de aminoácidos e prolina no genótipo BRS G51 e de açúcares solúveis totais para o genótipo SYN 045 sendo estes fatores indicativo de tolerância à seca;

Não houve simbiose para todos os genótipos analisados indicando que os genótipos respondem de forma diferenciada à ação das bactérias.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ V., V.H. e RIBEIRO, A.C. Calagem. In: RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G. e ALVAREZ V., V.H., eds. **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. 5ª aproximação. Viçosa, MG, CFSEMG, 1999. 359p.

ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic estresse resistance. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, n. 2, p. 206-216, 2007.

AZEVEDO NETO, A.D.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; MELO FILHO, P.A.; SANTOS, R.C. Physiological and biochemical responses of peanut genotypes to water déficit. **Journal of Plant Interactions**, v.5, n.1, p. 1-10, mar. 2010.

AZEVEDO NETO, A. D.; PRISCO, J.T.; ENÉAS-FILHO, J.; LACERDA, C.F.; SILVA, J.V.; COSTA, P.H.A.; GOMES-FILHO, E.. Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 31-38, 2004.

BATES, L. S. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.

BIANCHI, L.; GERMINO, G.H.; SILVA, M.A. Adaptação das Plantas ao Déficit Hídrico. **Acta Iguazu**, Cascavel, v.5, n.4, p. 15-32, 2016.

BISCARO, G.A.; MACHADO, J.R.; TOSTA, M.S.; MENDONÇA, V.; SORATTO, R.P.; CARVALHO, L.A. Adubação nitrogenada em cobertura no girassol irrigado nas condições de Cassilândia – MS. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1366-1373, set./out. 2008.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº13 de 24 de março de 2011. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 24 março, Seção 1; p-3-7, 2011.

BREMNER, J.M. AND MULVANEY, C.S. Nitrogen-Total. In: **Methods of soil analysis**. Part 2. Chemical and microbiological properties, Page, A.L., Miller, R.H. and Keeney, D.R. Eds. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, 595-624, 1982.

CASAROLI, D.; JONG van LIER, Q. Critérios para determinação da capacidade de vaso. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v.32, p.59-66, 2008.

CHAVES, M.M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, v.103, p.551-560, 2009.

CHAVES FILHO, J. T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas de lobeira (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 199-204, 2001.

DOBEREINER, J.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. BRASÍLIA: EMBRAPA-SPI, 1995. 60p.

DUTRA, C.C.; PRADO, E.A.F.; PAIM, L.R.; SCALON, S.P. Desenvolvimento de plantas de girassol sob diferentes condições de fornecimento de água. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, suplemento 1, p. 2657-2668, 2012.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; KOBAYASHI, N.; FUJITA, D.; BASRA, S.M.A. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable and Development**, v. 29, n. 01, p. 185-212, 2009.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.1039-1042, 2011.

GARCIA, A. B.; ENGLER, J. A.; IYER, S.; GERATS, T.; VAN MONTAGU, M.; CAPLAN, A. B. Effects of osmoprotectants upon NaCl estresse in rice. **Plant Physiology**, v. 115, n. 1, p.159-169, set. 1997.

JABEEN, F.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Discriminating some prospective cultivars of maize (*Zea mays* L.) for drought tolerance using gas exchange characteristics and proline contents as physiological markers. **Pakistan Journal of Botany**, Islamabad, v. 40, n. 6, p. 2329-2343, 2008.

KUSANO, M.; FUKUSHIMA, A. REDESTING, HHH.; SAITO, K. Metabolomic approaches toward understanding nitrogen metabolism in plants. **Journal of Experimental Botany**, v.62, n.4, p.1439-1453, 2011.

LEONARDO, F.A.P.; PEREIRA W.E.; SILVA, S.M.; COSTA, J.P. Teor de clorofila e índice SPAD no abacaxizeiro cv. Vitória em função da adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 2, p. 377-383, jun. 2013.

LOBO, T.F.; GRASSI FILHO, H.; COELHO, H.A. Efeito da adubação nitrogenada na produtividade do girassol. **Científica**, Jaboticabal, v.40, n.1, p.59-68, 2012.

MACIEL, M.P.; SOARES, T.M.; GHEYI, H.R.; REZENDE, E.P.L. OLIVEIRA, G.X.S. Produção de girassol ornamental com uso de águas salobras em sistema hidropônico NFT1. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, n.2, p.165-172, 2012.

MAIA JÚNIOR, S.O.; ANDRADE, J.R.; FERREIRA, R.S.; ARAÚJO, D.L.; GUERRA, H.O.C.; SILVA, F.G. Teores de pigmentos, fluorescência da clorofila a e índice SPAD em cultivares de girassol sob regimes hídricos. **Revista Agrarian**, v.10, n.36, p. 105-112, Dourados, 2017.

MARTÍNEZ, D.E.; GUIAMET, J.J. Distortion of the SPAD 502 chlorophyll meter readings by changes in irradiance and leaf water status. **Agronomie**, Les Ulis, v.24, n.1, p.41-46, 2004.

MCCORMICK, A. J.; CRAMER M. D.; WATT, D. A. Differential expression of genes in the leaves of sugarcane in response to sugar accumulation. **Tropical Plant Biology**, v. 1, n. 2, p. 142-158, jun. 2008.

MILLER, G. L. Use dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Biochemistry**, Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, mar. 1959.

NEUMANN, M.; OLIBONI, R.; OLIVEIRA, M.R.; GÓRSIK, S.C.; FARIA, M.V.; UENO, R.K.; MARAFON, F. Girassol (*Helianthus annuus* L.) para produção de silagem de planta inteira. **Pesquisa Aplicada e Agrotecnologia**, v. 2, n.3, set./ dez. 2009.

OLIVEIRA, T.M.M.; NUNES, R.V.; MARCATO, S.M.; BERWANGER, E.; BAYERLE, D.F.; SCHONE, R.A.; FRANK, R.; SANGALI, C.P. Farelo de girassol para aves: composição química e alterações metodológicas na determinação dos valores energéticos e de aminoácidos digestíveis . **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 6, p. 3415-3428, nov./dez. 2014.

PEREIRA, J.W.L.; MELO FILHO, P.A.; ALBUQUERQUE, M.B.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; SANTOS, R.C. Mudanças bioquímicas em genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico moderado. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 4, p. 766-773, out./dez. 2012.

QUADROS, P.D.; ROESCH, L.F.W.; SILVA, P.R.F.; VIEIRA, V.M.; ROEHRS, D.D.; CAMARGO, F.A.O. Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n.2, p. 209-218, mar./abr. 2014.

RIBEIRO JÚNIOR, J.I. **Análises estatísticas no SAEG (Sistema para análises estatísticas)**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 301p.

RONG-HUA, L.I.; PEI-POL, G.U.O.; BAUMZ, M.; GRANDO, S.; CECCARELLI, S. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. **Agricultural Sciences in China**, Oxford, v. 5, n. 10, p. 551-557, 2006.

SANGOI, L.; SILVA L.M.M.; MOTA, M.R.; PANISON, F.; SCHIMITT, A.; SOUZA, N.M.; GIORDANI, W.; SCHENATTO, D.E. Desempenho agrônômico do milho em razão do tratamento de sementes com *Azospirillum* sp. e da aplicação e doses de nitrogênio mineral. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v.39, n.4, jul./ago. 2015.

SANTOS, J.F.; SACRAMENTO, B.L.; MOTA, K.N.A.B.; SOUZA, J.T.; AZEVEDO NETO, A.D. Crescimento de girassol em função da inoculação de sementes com bactérias endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 2, p. 142-150, abr./jun. 2014.

SANTOS, J.S.; VIANA, T.O.; JESUS, C.M.; BALDANI, V.L.D.; FERREIRA, J.S. Inoculation and isolation of plant growth-promoting bacteria in maize grown in Vitória da Conquista, Bahia, Brazil. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.39, p. 78-85, 2015.

SERRAJ, R.; SINCLAIR, T. R. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 333-341, 2002.

SILVA, M.A.; SANTOS, C.M.; VITORINO, H.S.; RHEIN, A.F.L. Pigmentos fotossintéticos e índice SPAD como descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em cana-de-açúcar. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 173-181, jan./fev. 2014.

SILVA, M.A.G.; MANNIGEL, A.R.; MUNIZ, A.S.; PORTO, S.M.A.; MARCHETTI, M.E.; NOLLA, A.; BERTANI, R.M. A. Ammonium sulphate on maize crops under no tillage. **Bragantia**, Campinas, v.71, n.1, p. 90-97, 2012.

SOUSA, A.E.C.; SILVEIRA, J.A.G.; GHEYI, H.R.; LIMA NETO, M.C.; LACERDA, C.F.; SOARES, A.L. Trocas gasosas e conteúdo de carboidratos e compostos nitrogenados em pinhão-mansão irrigado com águas residuária e salina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.47, n.10, p.1428-1435, out. 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p.

THOMAZ, G.L.; ZAGONEL, J.; COLASANTE, L.O.; NOGUEIRA, R.R. Produção do girassol e teor de óleo nas sementes em diferentes épocas de semeadura no Centro-Sul do Paraná. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.2, p.203-208, fev, 2012.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. **Amino Acids**, v. 35, p. 753–759, 2008.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The determination of amino acid with ninhydrin. **Analyst**, London, v. 80 p. 209-213, 1955.

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v. 57, n. 3, p. 508-514, 1954.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A.; ZANÃO-JUNIOR, L. A. **Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas**. Viçosa-MG, 2012, 321 p.