

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

MICRORGANISMOS BENÉFICOS COM FENÓTIPOS DE TERMOTOLERÂNCIA E SEU POTENCIAL USO NA AGRICULTURA

**Pedro Henrique de Paula, Marcella Augusta Falci Demarque, Vanessa Sessa
Dian, Serli de Oliveira Cabral, Dalila da Costa Gonçalves, Willian Bucker
Moraes, André da Silva Xavier.**

Universidade Federal do Espírito Santo - *Campus* Alegre, Alto Universitário, s/n Guararema, Alegre -
ES, 29500-000- Brasil, pedro1901ze@gmail.com, marcela.falcci@gmail.com,
vanessasessa2@gmail.com, biologiaserli@gmail.com, dalilant@hotmail.com, willian.fito@gmail.com,
andre.s.xavier@ufes.br

Resumo

As futuras mudanças climáticas e o crescimento populacional exercerão maior pressão sobre a eficiência dos sistemas agrícolas. A temperatura limita a produção agrícola, e adaptações às mudanças climáticas são essenciais para atender às necessidades alimentares da humanidade. Microrganismos termotolerantes podem ser fundamentais para ferramentas biotecnológicas que auxiliem cultivos em condições desfavoráveis. Nesse contexto, esta pesquisa busca identificar bactérias tolerantes ao estresse térmico e salino, visando promover o crescimento de plantas. Os microrganismos foram coletados em plantas xerófitas e solos nas regiões de Alegre e Marataízes, no Espírito Santo. Isolados bacterianos foram testados em diferentes condições de estresse térmico para avaliar sua tolerância frente a elas. As bactérias selecionadas nesta pesquisa contribuirão para o desenvolvimento de testes em plantas expostas ao estresse térmico em futuros projetos.

Palavras-chave: Estresse térmico. Mudanças climáticas. Microrganismos benéficos. Crescimento de plantas. Biotecnologia.

Área do Conhecimento: Engenharia agrônoma

Introdução

Os impactos do clima instável, incluindo o aumento da temperatura, têm se tornado uma preocupação significativa em diversas regiões ao redor do globo. Especificamente, as mudanças climáticas têm agravado os fatores abióticos e bióticos que afetam as colheitas, resultando em consequências negativas para a produtividade agrícola (KUMAR, 2020; SALWAN; SHARMA; SHARMA, 2019; BLUM, 2010).

Entre os fatores abióticos estressantes, o aumento das temperaturas se apresenta como um desafio crucial para a agricultura em várias regiões do mundo (LOBELL e GOURDJI, 2012). Com o acréscimo das temperaturas, a germinação e os padrões de frutificação são afetados (BITA *et al.*, 2013; SIDDIQUI *et al.*, 2015), também ocorrem danos celulares graves e a morte das células vegetais em períodos relativamente curtos, desencadeando o colapso da estrutura celular e resultando em redução da disponibilidade de água e crescimento das plantas, podendo expor famílias de pequenos agricultores à insegurança alimentar devido à variabilidade climática (ASARE-NUAMAH, 2021).

Em vista disso, é de extrema importância enfrentar os desafios impostos pelas variações climáticas, implementando práticas agrícolas adaptativas e sustentáveis que possam reduzir os impactos negativos nas colheitas e garantir a segurança alimentar global.

Uma alternativa promissora e ecologicamente correta para melhorar a produtividade das culturas agrícolas, mitigando os efeitos negativos das altas temperaturas em espécies vegetais de importância econômica, é o uso de bactérias endofíticas promotoras do crescimento de plantas (BEPKP). A vasta biodiversidade do Brasil proporciona uma ampla gama de microrganismos, incluindo bactérias termofílicas e termotolerantes com potenciais aplicações agrícolas relevantes.

Em pesquisas anteriores, diversos cientistas têm documentado o uso de bactérias endofíticas promotoras do crescimento de plantas (BEPKP) para melhorar a tolerância ao estresse térmico em diferentes culturas, como sorgo (ALI *et al.*, 2009), grão-de-bico (SRIVASTAVA *et al.*, 2014), trigo (ALI

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

et al., 2011; ABD EL-DAIM *et al.*, 2014), tomate (ISSA *et al.*, 2018) e batata (BENSALIM, 1998). Além disso, a aplicação de BPCPs pode estimular a síntese de fitohormônios, que auxiliam no aumento da tolerância ao estresse térmico, por meio da formação de biofilme, da redução dos níveis de ABA (ácido abscísico) e do aumento dos níveis de HSP (PARK *et al.*, 2017; ALI *et al.*, 2009; ABD EL-DAIM *et al.*, 2014; EGAMBERDIEVA *et al.*, 2017). Frente ao exposto, objetivou-se com essa pesquisa realizar a seleção de bactérias termotolerantes em nas temperaturas de 28 e 40 °C e selecioná-las para testes em plantas em futuros projetos.

Metodologia

Nesse estudo foram utilizadas 38 bactérias pertencentes à coleção de microrganismos do Laboratório de Biotecnologia Agrícola e Ambiental (Biota) na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), *campus* de Alegre-ES. Os isolados foram obtidos a partir de amostras de solo, água, regiões rizosféricas e partes vegetativas pertencentes ao grupo das Xerófitas, Orchidaceae e Poaceae. Os acervos biológicos foram coletados de locais onde as condições de sobrevivência são desfavoráveis para a maioria dos cultivos agrícolas, como tronco de árvores, regiões costeiras, locais rochosos e de característica de ecossistema de restinga. As amostras coletadas seguiram o protocolo de isolamento epifítico proposto por Kavamura *et al.* (2013), e o isolamento dos microrganismos endofíticos foi realizado conforme descrito por Costa *et al.* (2012). Após o protocolo de isolamento, colônias puras diferenciadas morfológicamente foram identificadas e preservadas em glicerol a - 80 °C para posterior análise.

As 38 cepas bacterianas foram reativadas em meio TSA (10%) e após 3 dias as colônias foram repicadas em tubos de ensaio contendo meio de cultura caldo nutriente (Nutrient Broth) e levados para crescimento em incubadora tipo Shaker regulada para condição de 30 °C $\pm$ 2 °C e 160 RPM (Rotações Por Minuto), mantidas *overnight*.

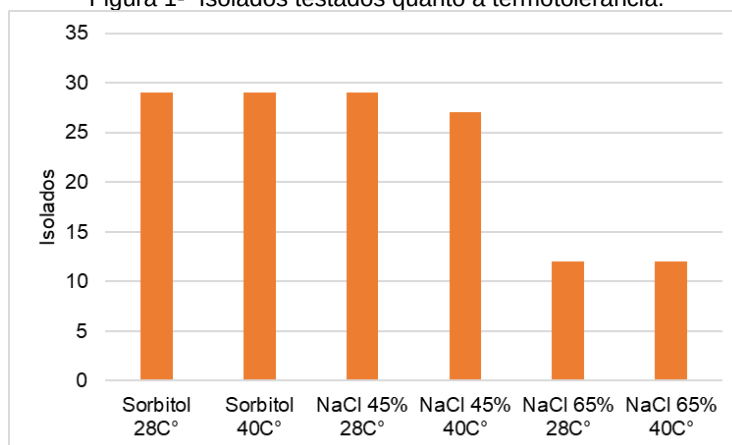
Para a triagem de termotolerância as 38 bactérias foram inoculadas em placas de Petri em meio TSA (10%) enriquecido com sorbitol a 28,5 % (285 g L⁻¹) e meio TSA (10%) suplementado com duas concentrações de NaCl: 45 g L⁻¹ e 65 g L⁻¹ (HALLSWORTH *et al.*, 1998; UPADHYAY; MAURYA; SINGH, 2012; KAVAMURA *et al.* 2013). Após a inoculação, as placas foram colocadas em câmara de crescimento bacteriano nas temperaturas de 28 e 40°C por 72 horas. A adição de sorbitol ao meio de cultura foi realizada de modo a selecionar bactérias com capacidade de crescerem em meio com reduzida atividade de água e a temperatura elevada (40 °C) como forma de simular uma condição de estresse hídrico. As amostras capazes de crescer nas temperaturas mais altas foram selecionadas para futuros estudos de promoção de crescimento vegetal em condições extremas.

Resultados

Os resultados apresentados na Figura 1 mostram que um número maior de microrganismos suportou o crescimento em sorbitol e em altas temperaturas, assim como em NaCl a 45% (45 g L⁻¹). Mas quando expostos a 65% (65 g L⁻¹) de NaCl, o crescimento de microrganismos foi limitado, independente da temperatura de 28 °C ou 40 °C.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Figura 1- Isolados testados quanto a termotolerância.



Fonte: o autor.

Discussão

A triagem de termotolerância realizada neste experimento revelou que 29 bactérias conseguiram crescer tanto em 28 °C quanto em 40 °C em meio TSA enriquecido com sorbitol a 28,5% (285 g L⁻¹). Além disso, nas concentrações de NaCl a 45 g L⁻¹, essas bactérias mantiveram sua capacidade de crescimento em ambas as temperaturas. No entanto, quando a concentração de NaCl foi aumentada para 65 g L⁻¹, apenas 12 bactérias foram capazes de crescer nas duas temperaturas testadas.

Esses resultados são consistentes com estudos anteriores que destacam a importância da tolerância a condições adversas em bactérias benéficas para a agricultura. Por exemplo, Emami *et al.* (2021) demonstraram que certas bactérias do gênero *Bacillus* apresentaram crescimento favorável em diferentes concentrações de salinidade, sugerindo uma maior adaptação a ambientes salinos.

A capacidade das bactérias em crescer tanto em 28 °C quanto em 40 °C em meio contendo sorbitol indica que elas possuem uma boa tolerância ao estresse térmico. Isso é relevante, pois as mudanças climáticas podem levar a variações de temperatura nas lavouras, e microrganismos termotolerantes podem ser mais eficazes em condições de estresse térmico (LEITE *et al.*, 2013).

A influência do NaCl na capacidade de crescimento das bactérias também é relevante, pois a salinidade pode afetar a disponibilidade de água e nutrientes no solo, afetando a sobrevivência e a eficácia das bactérias como agentes de controle biológico (Begum *et al.*, 2018). A presença de bactérias capazes de crescer em altas concentrações de NaCl pode ser uma vantagem em ambientes salinos, como solos afetados pela irrigação com água salobra (Shen *et al.*, 2020).

No contexto da fitopatologia, a resistência de bactérias a condições adversas pode ser uma característica importante para seu potencial uso como agentes de controle biológico de fitopatógenos. Bactérias termotolerantes e capazes de tolerar altas concentrações de sal podem sobreviver em ambientes desafiadores e competir com fitopatógenos, reduzindo a disseminação de doenças em culturas agrícolas (Kumar *et al.*, 2021).

Esses resultados fornecem uma base importante para a seleção de bactérias com potencial para o controle biológico de fitopatógenos em condições desfavoráveis. A identificação de bactérias termotolerantes e tolerantes à salinidade pode direcionar futuras pesquisas em busca de novos agentes de controle biológico para enfrentar os desafios da agricultura sob condições climáticas adversas.

O estresse térmico provoca alterações em níveis bioquímicos, fisiológicos, moleculares e morfológicos, capazes de afetar negativamente o crescimento, a biomassa, a produtividade e o rendimento das plantas, tanto individualmente quanto quando combinado com outros estresses abióticos (BITA *et al.*; HASANUZZAMAN *et al.*, 2013). Essas mudanças bioquímicas envolvem variações na fluidez das membranas, reorganização da estrutura celular, alterações estruturais nos aminoácidos, ajustes na concentração de metabólitos e osmólitos, além do aumento nos hormônios do estresse, como o ácido abscísico (ABA), e a diminuição dos hormônios de defesa, como o ácido salicílico (AS). A ocorrência de espécies reativas de oxigênio (ERO) prejudiciais e antioxidantes também é observada (AWASTHI *et al.*, 2015).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Estudos, como os conduzidos por Srivastava *et al.* (2014), Park *et al.* (2017), Abd El-Daim *et al.* (2014) e Ali *et al.* (2009, 2011), enfatizaram o uso de microrganismos benéficos capazes de suportar o estresse térmico, o que resultou em maior crescimento e produtividade das plantas cultivadas. Essas pesquisas demonstraram consistentemente que a associação simbiótica entre plantas e microrganismos benéficos resultam em um aumento notável no crescimento e na produtividade de plantas cultivadas sob condições desfavoráveis de estresse térmico.

Os ensaios subseqüentes se concentrarão em investigar com maior detalhe as características das bactérias mais eficazes e seu potencial para estimular o crescimento das plantas em condições de estresse. Além disso, iremos examinar de forma abrangente as características morfofisiológicas dessas cepas promissoras, utilizando abordagens metagenômicas. Acreditamos que essas análises aprofundadas nos permitirão desvendar os mecanismos subjacentes que favorecem o desenvolvimento das plantas em tais condições desafiadoras. Como resultado, estaremos melhor preparados para desenvolver estratégias agrícolas mais eficazes que promovam a segurança alimentar e a sustentabilidade em ambientes desafiadores.

Conclusão

Dos 38 isolados, 29 apresentaram bom crescimento em altas temperaturas na presença de sorbitol e NaCl 45%, mas quando expostos a NaCl 65%, o crescimento microbiano foi reduzido e apenas 12 isolados suportaram esta condição. Estes resultados geraram um banco de informações sobre os microrganismos analisados, com os quais serão desenvolvidos futuros estudos direcionados à termotolerância e halotolerância.

Referências

ABD EL-DAIM IA, BEJAI S, MEIJER J. Improved heat stress tolerance of wheat seedlings by bacterial seed treatment. **Plant Soil**. 2014;379(1):337–50. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2063-3>. Acesso em: 20 jul. 2023.

ALI SZ, SANDHYA V, GROVER M, KISHORE N, RAO LV, VENKATESWARLU B. Pseudomonas sp. strain AKM-P6 enhances tolerance of sorghum seedlings to elevated temperatures. **Biol Fertil Soils**. 2009;46(1):45–55. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00374-009-0404-9>. Acesso em 20 jul. de 2023.

ALI SZ, SANDHYA V, GROVER M, LINGA VR, BANDI V. Effect of inoculation with a thermotolerant plant growth promoting Pseudomonas putida strain AKMP7 on growth of wheat (Triticum spp.) under heat stress. **J Plant Interact**. 2011; 6(4):239–46. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17429145.2010.545147>. Acesso em: 21 de jul. 2023.

ASARE-NUAMAH, Peter. Climate variability, subsistence agriculture and household food security in rural Ghana. **Heliyon**, v. 7, n. 4, p. e06928, 2021. Disponível em: [https://www.cell.com/heliyon/pdf/S2405-8440\(21\)01031-8.pdf](https://www.cell.com/heliyon/pdf/S2405-8440(21)01031-8.pdf). Acesso em: 15 jul. 2023.

AWASTHI R, BHANDARI K, NAYYAR H. Temperature stress and redox homeostasis in agricultural crops. **Front Environ Sci**. 2015;3:11. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fenvs.2015.00011/full>. Acesso em: 15 jul. 2023.

BEGUM, N., Qin, C., AHANGER, M. A., RAZA, S., KHAN, M. I. R., & ASHRAF, M. (2018). Induction of salt tolerance in cucumber through application of lipopolysaccharides-producing rhizobacteria: cross-talk and adaptive mechanisms under salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, 153, 39–52.

BENSALIM S, NOWAK J, ASIEDU SK. A plant growth promoting rhizobacterium and temperature effects on performance of 18 clones of potato. **Am J Potato Res**. 1998;75(3):145–52. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF02895849>. Acesso em: 15 jul. 2023.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

BITA C, GERATS T. Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. **Front Plant Sci.** 2013; 4:273. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2013.00273/full>. Acesso em: 16 jul. 2023.

BLUM, Abraham. Drought Resistance and Its Improvement. In: Plant Breeding for Water-Limited Environments. **Springer**, New York, NY, 2011. p. 53-152. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4419-7491-4_3. Acesso em: 20 jul. 2023.

COSTA, L. E. D. O.; QUEIROZ, M. V. D.; BORGES, A. C.; MORAES, C. A. D.; ARAÚJO, E. F. D. Isolation and characterization of endophytic bacteria isolated from the leaves of the common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 4, p. 1562- 1575, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400041>. Acesso em: 16 jul. 2023.

EGAMBERDIEVA D, WIRTH SJ, ALQARAWI AA, ABD ALLAH EF, HASHEM A. Phytohormones and Beneficial Microbes: Essential Components for Plants to Balance Stress and Fitness. **Front Microbiol.** 2017;8:2104. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.02104/full>. Acesso em: 16 jul. 2023.

EMAMI, S., ESMAEILZADEH BAHABADI, S., MAHESHWARI, D. K., & MALBOOBI, M. A. (2021). Evaluation of native isolates of *Bacillus* spp. for their plant growth promotion and stress tolerance traits to identify potential bioinoculants for sustainable agriculture. **Microbial Pathogenesis**, 152, 104662.

HALLSWORTH, J. E; NOMURA, Y.; IWAHARA, M. Ethanol-induced water stress and fungal growth, **Journal of Fermentation and Bioengineering**, Osaka, v.86, n. 5, p. 451-456, 1998. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0922-338X\(98\)80150-5](https://doi.org/10.1016/S0922-338X(98)80150-5). Acesso em: 16 de jul. 2023.

HASANUZZAMAN M, NAHAR K, ALAM MM, ROYCHOWDHURY R, FUJITA M. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. **Int J Mol Sci.** 2013;14(5):9643–84. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms14059643>. Acesso em: 16 jul. 2023.

ISSA A., ESMAEEL Q., SANCHEZ L., COURTEAUX B., GUISE J-F, GIBON Y., BALLIAS P., CLÉMENT C, JACQUARD C, VAILLANT-GAVEAU N, *et al.* Impacts of Paraburkholderia phytofirmans strain PsJN on tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) under high temperature. **Front Plant Sci.** 2018;9:1397. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2018.01397/full>. Acesso em: 17 jul. 2023.

KAVAMURA, V. N.; SANTOS, S. N.; DA SILVA, J. L.; PARMA, M. M.; ÁVILA, L. A.; VISCONTI, A.; ZUCCHI, D.; TAKETANI, R. G.; ANDREOTE, F. D.; DE MELO, I. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. **Microbiological research**, v. 168, n. 4, p. 183-191, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.12.002>. Acesso em: 17 jul. 2023.

KUMAR, R., VYAS, D., & SHARMA, M. (2021). Potential of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) to Mitigate Abiotic Stress in Plants: A Review. **Agronomy**, 11(8), 1528.

KUMAR, S. B. P. Salinity stress, its physiological response and mitigating effects of microbial bio inoculants and organic compounds. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 9, n. 4, p. 1397-1303, 2020. Disponível em: <https://www.phytojournal.com/archives/2020.v9.i4.R.11925/salinity-stress-its-physiological-response-and-mitigating-effects-of-microbial-bio-inoculants-and-organic-compounds>. Acesso em 17 jul. 2023.

LEITE, H.A.C., SILVA, A.B., GOMES, F.P. *et al.* *Bacillus subtilis* e endófitos de *Enterobacter cloacae* de árvores saudáveis de *Theobroma cacao* L. podem colonizar sistemicamente plântulas e promover o crescimento. **Appl Microbiol Biotechnol** **97**, 2639–2651 (2013). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4574-2>. Acesso em: 17 jul. 2023.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

LOBELL DB, GOURDJI SM. A influência das mudanças climáticas na produtividade agrícola global. **Plant Physiol** 160: 1686–1697, Mittler R, Finka A, 2012.

PARK Y-G, MUN B-G, KANG S-M, HUSSAIN A, SHAHZAD R, SEO C-W, KIM A-Y, LEE S-U, OH KY, LEE DY, *et al.* *Bacillus aryabhattai* SRB02 tolerates oxidative and nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones. **PLoS One**. 2017;12(3):e0173203. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173203>. Acesso em: 17 de jul. 2023.

SALWAN, R.; SHARMA, A.; SHARMA, V. Microbes mediated plant stress tolerance in saline agricultural ecosystem. **Plant Soil**, v. 442, p. 1–22, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04202-x>. Acesso em 20 jul. 2023.
SHEN, H., SONG, T., YAN, H., WANG, Q., & LIU, J. (2020). High salinity decreases the biocontrol activity of *Pseudomonas fluorescens* against cucumber *Fusarium wilt* by changing bacterial community structure and function. **Biological Control**, 143, 104174.

SIDDIQUI MH, AL-KHAISHANY MY, AL-QUTAMI MA, AL-WHAIBI MH, GROVER A, ALI HM, AL-WAHIBI MS. Morphological and physiological characterization of different genotypes of faba bean under heat stress. **Saudi J Biol Sci**. 2015; 22(5):656–63. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.06.002>. Acesso em: 20 jul. 2023.

SRIVASTAVA S, YADAV A, SEEM K, MISHRA S, CHAUDHARY V, NAUTIYAL CS. Effect of high temperature on *Pseudomonas putida* NBRI0987 biofilm formation and expression of stress sigma factor RpoS. **Curr Microbiol**. 2008;56(5):453–7. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00284-008-9105-0>. Acesso em: 21 de jul. 2023.

UPADHYAY, S. K.; MAURYA, S. K.; SINGH, D. P. Salinity tolerance in free living plant growth promoting rhizobacteria. **Indian Journal of Scientific Research**, v. 3, n. 2, p. 73-78, 2012. Disponível em: <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ijsr1&volume=3&issue=2&article=013>. Acesso em: 16 jul. 2023.

Agradecimentos

Ao Centro de Ciências Agrárias Engenharias, ao Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) da Universidade Federal do Espírito Santo, Campus Alegre, nas dependências dos quais os experimentos ocorreram, ao Laboratório de Biotecnologia Agrícola e Ambiental (BIOTA), o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).