

CONSÓRCIO BACTERIANO ENDOFÍTICO PROMOTOR DE DESENVOLVIMENTO VEGETAL COMO INOCULATE PARA RESISTÊNCIA A ESTRESSE HÍDRICO EM PLANTAS DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris*) E TOMATE (*Solanum lycopersicum*)

Gabriel Urbainski Valesi (PIBIC/FA/UEM), Jesieli Beraldo-Borrazzo (Co-orientador/ DBC-UEM), Maria de Fátima Pires da Silva Machado (Orientador/ DBC-UEM).

E-mail: mfpsmachado@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas/Microbiologia, Microbiologia Aplicada

Palavras-chave: Bactérias endofíticas; soja; análises *in silico*

RESUMO

A soja é uma cultura agrícola muito importante economicamente, que sofre muito com as secas. Fitohormônios e exopolissacarídeos (EPS) produzidos por bactérias endofíticas, se mostram um grande potencial para combater o estresse hídrico sofrido pela soja, além de aumentar o seu crescimento. O foco deste estudo foi avaliar se o consórcio de bactérias produtoras de EPS e fitohormônios, isoladas do cacto *Cereus peruvianus* Mill. conseguem atuar benéficamente combatendo o estresse hídrico das plantas. De acordo com análises *in silico* as bactérias endofíticas *Bacillus subtilis* (CR04), *Bacillus licheniformis* (CR09); *Bacillus amyloliquefaciens* (CR10) apresentaram uma perda de 22%, 17% e 23,2% em seu crescimento quando colocadas em comunidade, sendo que apenas a *Corynebacterium mycetoides* (CS02) não sofreu perda de crescimento quando colocada em comunidade.

INTRODUÇÃO

O estresse hídrico influencia em muitas culturas em todo o mundo e com as mudanças climáticas isso se torna cada vez mais preocupante, gerando um grande impacto na agricultura, pois muitos alimentos são perdidos, causando altos prejuízos econômicos. A seca causa um estresse do tipo abiótico na planta influenciando negativamente seu metabolismo, sendo que a capacidade das plantas de sobreviver a ambientes áridos possui grande influência de seus mecanismos fisiológicos e bioquímicos.

A soja é uma das maiores cultivares no mundo, e de extrema importância, pois além de servir para a produção de óleos, serve como alimento para animais nas fazendas, além de que sua proteína vegetal é uma das únicas que equivale a proteína animal e sua composição nutricional é altamente rica em proteína, sais minerais e fibras. O Brasil é o maior produtor de soja, sendo ela uma das maiores responsáveis pelo crescimento do agronegócio no Brasil. Além disso, o Brasil é um dos maiores

exportadores de soja, gerando um grande impacto em sua economia (Garrett; Rausch, 2016).

As bactérias endofíticas, são um grupo de microrganismos que habitam o interior das plantas não sendo consideradas fitopatogênas, pois não causam danos às plantas e em muitos casos promovem o seu crescimento. Muitas bactérias endofíticas produzem exopolissacarídeos (EPS) que dentre muitas funções a de maior benefício para a planta é a retenção de água, por meio do biofilme criado mantendo um alto potencial hídrico em suas raízes protegendo contra estresse hídrico (El-Saadony *et al.*, 2024). Outra biomolécula que as bactérias produzem é o ácido 3-indol-acético (AIA), um fitohormônio, que ajuda no crescimento da planta aumentando o desenvolvimento de raízes, a proliferação de raízes laterais e aumentando a absorção de nutrientes e água.

O *Cereus peruvianus* Mill. é uma planta que pertence à família das cactáceas, que cresce em ambientes áridos, e o microbioma de uma planta está intrinsecamente ligada com seu metabolismo. No caso do cacto *C. peruvianus*, isso pode indicar que suas bactérias apresentam uma capacidade de sobreviver a ambientes de seca, através da produção de metabólitos secundários, que são de grande interesse comercial, principalmente na indústria farmacêutica. As bactérias endofíticas isoladas do *C. peruvianus* pertencentes às espécies de *Bacillus subtilis* (CR04), *Bacillus licheniformis* (CR09); *Bacillus amyloliquefaciens* (CR10); *Micrococcus luteus* (CS02); *Pseudomonas stutzeri* (CS11) e *Corynebacterium mycetoides* (CS12), possuem uma alta capacidade de produzir EPS e AIA (Beraldo-Borrazzo *et al.*, 2021). O objetivo no presente estudo foi avaliar o efeito do consórcio de bactérias isoladas do *C. peruvianus* e produtora de AIA e EPS, para mitigar o estresse hídrico em plantas de soja.

MATERIAIS E MÉTODOS

Simulação de estresse hídrico

Três tipos de substratos com diferentes concentrações de areia foram testados para a germinação da soja. Em um dos substratos continha apenas areia, em outro ½ de areia e ½ de terra e no último ⅔ de areia e ⅓ de terra. Todos os substratos foram autoclavados (120 °C por 1 h) e as sementes adquiridas comercialmente, foram desinfetadas superficialmente com solução de hipoclorito de sódio, etanol 70% e água destilada autoclavada, em câmara de fluxo laminar. As sementes foram colocadas em vasos de Leonard adaptados e deixadas em estufa a 28°C com o fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, que posteriormente foi aumentado para 16 horas claro e 8 horas escuro.

Parâmetros Biométricos

As avaliações biométricas foram obtidas através de valores da biomassa fresca da parte aérea (BFPA) e raiz (BFR) e biomassa seca da parte aérea (BSPA) e raiz (BSR) no final do experimento. Para isso, as plantas foram coletadas por método destrutivo, separando-se partes aéreas e raízes em sacos de papel devidamente

identificados e pesadas em balança para a obtenção da massa fresca. Após a pesagem, foram devolvidas aos seus devidos sacos e levados para estufa de circulação forçada de ar à 60°C por 24 horas. Posteriormente, o material foi pesado novamente em balança obtendo-se a biomassa fresca.

Análise *in silico*

Foi realizada análises de predição *in silico* das espécies bacterianas endofíticas avaliadas neste estudo. Através de genomas de referências baixadas do NCBI, modelos metabólicos foram gerados, utilizando a plataforma online KBase, por meio de informações do genoma bacteriano é capaz de gerar modelos metabolômicos. Após, análises das interações em comunidade das espécies avaliadas foram realizadas utilizando o software COBRApy (Ebrahim *et al.*, 2013), que através de modelo de restrição, gera dados a partir de complexidades de processos biológicos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise realizada com o COBRApy demonstrou que as bactérias apresentam um comportamento de amensalismo e competição entre si. As bactérias do grupo CR, apresentaram o pior desempenho quando colocadas em comunidade, sofrendo uma redução de crescimento de 23,2% para a CR10 (*Bacillus amyloliquefaciens*), 22% para a CR04 (*Bacillus subtilis*) e 17% para CR09 (*Bacillus licheniformis*). A linhagem CS02, (*Corynebacterium mycetoides*), mostrou ser a mais efetiva em interagir com a comunidade, como é mostrado na Figura 1.

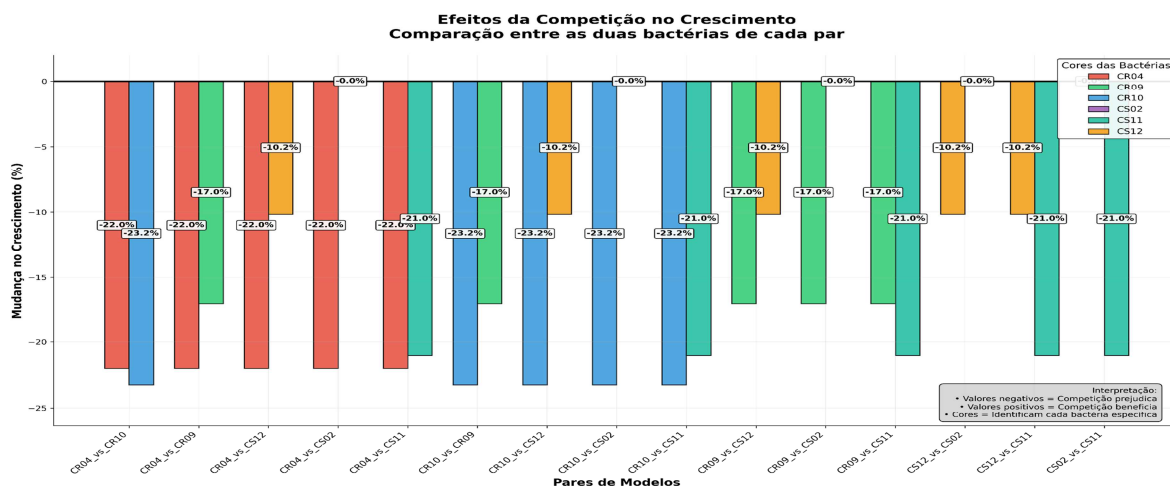


Figura 1- Modelo *in silico* de efeitos do crescimento em conjunto (em pares) das bactérias endofíticas isoladas de *C. peruvianus*.

Os ensaios *in silico* mostraram que a simulação de consórcio entre as espécies avaliadas, não traz benefícios em condição de co-cultivo, mas sim um prejuízo, com exceção da bactéria CS02 que não se mostrou afetada pelas outras bactérias, indicando que ela apresenta uma maior probabilidade de ser utilizada em consórcios microbianos. Isso mostra que para a montagem de consórcios microbianos para serem

utilizados como bionoculantes, é preciso que as bactérias demonstrem pouca competitividade e muita complementaridade. Assim, os testes *in silico* se mostram como uma ferramenta de bioinformática de grande importância para a determinação de testes *in vivo* (Gonçalves; Fernandes; Santana, 2024).

CONCLUSÃO

Através das análises *in silico* foi possível observar que a linhagem bacteriana isolada de *C. peruvianus* para ser usada em consórcio com as outras espécies avaliadas, é a *Corynebacterium mycetoides* (CS02), pois o seu crescimento não foi afetado quando previsto a sua associação com outras espécies (crescimento em comunidade). Assim, a linhagem CS02 pode ser recomendada como inoculante para resistência a estresse hídrico em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) e tomate (*Solanum lycopersicum*). Esses resultados demonstram a importância do uso das ferramentas de bioinformática na predição de delineamentos experimentais *in vivo*, sobretudo para o desenvolvimento de bioinoculantes agrícolas, que possuem seu melhor rendimento quando estabelecidos a partir de consórcios microbianos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a UEM pela estrutura, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação Araucária pelo aporte financeiro para a realização deste estudo.

REFERÊNCIAS

- BERALDO-BORRAZZO, J.; POLONIO, J.C.; SCHOFFEN, R.P.; OLIVEIRA, J.A.S., POLLI, A.D., ABREU FILHO, B.A., CRUZ, E.; CORRÊA, J.L.; MANGOLIN, C.A.; MACHADO, M.F.P.S. Communities of endophytic bacteria from *Cereus peruvianus* Mill. (Cactaceae) plants obtained from seeds and from in vitro-regenerated somaclone. **South African Journal of Botany**, v. 142, p. 335–343, nov. 2021.
- DE SOUZA, L.T.; CASTRO, S.A.Q.C.; ANDRADE, J.F.; POLITANO, A.A.; MENEGHETTI, E.C.; FAVARIN, J.L.; ALMEIDA, M.; MAZZAFERA, P. Drought stress induces changes in the physiology and root system of soybean plants. **Brazilian Journal of Botany**, v. 44, n. 4, p. 779–789, dez. 2021.
- EL-SAADONY, M.T.; SAADB, A.M.; MOHAMMEDC, D.M.; FAHMYA, M.A.; ELESAWIB, I.E.; AHMEDD, A.E.; ALGOPISHID, U.B.; ELYRSE, A.S.; DESOKYF, EL-S.M.; MOSAG, W.F.A.; EL-MAGEEDH, T.A.A.; ALHASHMII, F.I.; MATHEWI, B.T.; ABUQAMARI, S.F.; EL-TARABILY, K.A. Drought-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria alleviate drought stress and enhance soil health for sustainable agriculture: A comprehensive review. **Plant Stress**, v. 14, p. 100632, dez. 2024.

GARRETT, R D.; RAUSCH, L.L. Green for gold: social and ecological tradeoffs influencing the sustainability of the Brazilian soy industry. **The Journal of Peasant Studies**, v. 43, n. 2, p. 461–493, 3 mar. 2016.

GONÇALVES, O.S.; FERNANDES, A.S.; SANTANA, M.F. The reverse ecology-based approach to design a bacterial consortium as soybean bioinoculant. **Current Microbiology**, v. 81, n. 12, p. 421, dez. 2024.