Avaliação da capacidade de crescimento dos microrganismos isolados da rizosfera do Sabiá (Mimosa caesalpiniifolia) em meio com atividade de água reduzida e temperatura elevada

Pereira, J.C.G[1], Galvão, I.L[2], Santos, S. F. de M.[2]

[1] *Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil (juliocesarg.2003@gmail.com)*
[2] *Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil*

Resumo: O uso excessivo de fertilizantes químicos na agricultura geram sérios danos ambientais. Como alternativa sustentável, os bioinoculantes microbianos têm se destacado. Este estudo utilizou oito microrganismos isolados da rizosfera do Sabiá (Mimosa caesalpiniifolia) e avaliou seu crescimento em meio com atividade de água reduzida a 40°C. Apenas Sb2A e Sb8 cresceram, indicando potencial para formulação de bioinoculantes visando à segurança alimentar em regiões semiáridas.

Palavras-chave: Bioinoculantes; Caatinga; Atividade de água; Rizosfera.

INTRODUÇÃO

A sustentabilidade é um tema recorrente nas discussões sobre desenvolvimento de uma sociedade mais saudável. Esse conceito está relacionado ao desenvolvimento de tecnologias que causem um menor impacto no meio ambiente, pois com o crescimento expressivo da população mundial, o uso de fertilizantes químicos foi amplamente difundido, gerando inúmeros problemas ambientais, pois, diferentemente dos fertilizantes orgânicos, os fertilizantes químicos têm ações prejudiciais relacionadas à água, ao solo e ao ar (Khan et al., 2024; Panday et al., 2024).

Porém não é possível simplesmente deixar de utilizá-los, devido à necessidade agroalimentar da população, sendo de suma importância pensar no pequeno agricultor que é o mais afetado pela não utilização dos fertilizantes nitrogenados (Jyoti Tyagi et al. ,2022; Yan Wang et al., 2018; Haixia Wu e Yan Ge, 2019).

Os bioinoculantes correspondem aos inoculantes agrícolas à base de microrganismos e seus produtos, são relacionados à promoção do crescimento vegetal e representam alternativas para os fertilizantes nitrogenados, por serem capazes de fixar nutrientes e contribuir para a saúde da planta (Mallick et al., 2018), sendo assim essa tecnologia possui um potencial para o desenvolvimento da agricultura de forma mais sustentável e saudável para o meio ambiente e a saúde da população (Satish Kumar et al.,2021; Durre Shahwar et al., 2023; Anirban Basu et al., 2021). Além disso, a formulação de novos produtos nacionais pode reduzir a dependência de importação de insumos agrícolas, gerando assim um possível desenvolvimento econômico.

O desenvolvimento de novos bioinoculantes é um tema de grande importância, uma vez que seu funcionamento contribui para o alcance dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU), estando especificamente relacionado aos ODS 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável), 13 (Ação Contra a Mudança Climática Global) e 15 (Vida Terrestre). Esses objetivos representam um apelo global à ação para acabar com a pobreza, proteger o meio ambiente e o clima e garantir que as pessoas, em todos os lugares, possam desfrutar de paz e de prosperidade (Nações Unidas, 2018).

A Caatinga é um bioma exclusivo do Brasil, sendo principalmente encontrado na Região Nordeste, sendo caracterizado por prolongados períodos de baixo índice pluviométrico, consequentemente, a vegetação da região adapta-se para sobreviver às situações críticas, os microrganismos endêmicos associados às plantas demonstram características essenciais para a sua sobrevivência, relacionadas à otimização do uso da água e à disponibilização de nutrientes (Mahmound F. Seleiman et al., 2021;Hameeda et al., 2008; Young et al., 2013). Para esse estudo foi escolhida a espécie Sabiá (Mimosa caesalpiniifolia), que é uma planta característica da Caatinga.

A rizosfera é a região do solo diretamente afetada pelas raízes das plantas, constituindo uma região biologicamente diversa, abrigando microrganismos diversos (Rodrigo Mendes et al., 2013).

Por conseguinte, é notável o potencial de estudos com microrganismos nesta região, pois eles têm relação direta com a promoção do crescimento vegetal por meio da fixação de nutrientes, proteção às raízes e produção de hormônios benéficos para as plantas (Sughra Hakim et al., 2021; Rodrigo Mendes et al., 2013; Ning Ling et al., 2022).

Ademais, estudando os microrganismos da rizosfera da região da Caatinga, será possível entender as suas características e utilizá-los como insumo na formulação de possíveis bioinoculantes, assim possibilitando a sustentabilidade da região. A partir dessas informações foram isolados microrganismos da rizosfera do Sabiá (Mimosa caesalpiniifolia), culminando em isolamento de oito microrganismos sendo diferenciados de forma qualitativa, utilizando os visuais de textura, tamanho de colônia, nitidez e cor (Runyon, 1970; Sousa et al., 2013).

A atividade de água (Aw) é um parâmetro que indica a relação entre a pressão parcial de água no produto e a pressão parcial da água pura (Mohamed Mathlouthi, 2001). Encontrar microrganismos que crescem em meios com atividade de água reduzida é de extrema importância, pois permite futuras pesquisas de como podem ser utilizados para promover o crescimento vegetal em ambiente sujeito a condições abióticas severas (Joshua P. Schimel, 2018).

$$Aw = \frac{P}{Po} \qquad (1)$$

P= pressão parcial de água no produto

Po= pressão parcial da água pura

Antes de qualquer teste, a manutenção dos microrganismos estudados é de suma importância para o estudo aprofundado, devido à quantidade de testes, pode ser utilizado por um tempo muito prolongado, que pode acarretar na perda das características fisiológicas, invalidando o estudo e a sua repetibilidade (Gerhardt et al., 1981).

Este estudo tem como objetivo avaliar a capacidade de crescimento dos microrganismos isolados do Sabiá (Mimosa caesalpiniifolia) em meio com atividade de água reduzida na temperatura de 40 °C e obter o valor de atividade de água do meio ágar nutriente com adição de 202,5 g de Sorbitol e 260 g de Sorbitol nas temperaturas de 25 °C e 40 °C.

MATERIAL E MÉTODOS

Os microrganismos foram previamente isolados e identificados como Sb1, Sb2A, Sb2B, Sb4, Sb5, Sb6, Sb7 e Sb8. Esses foram os isolados utilizados nos experimentos deste estudo.

Determinação da Atividade de Água (Aw) do meio

Antes de iniciar os testes para o crescimento dos microrganismos isolados do Sabiá (Mimosa caesalpiniifolia), deve-se obter a atividade de água (Aw), utilizando o analisador de atividade de água LabSwift da marca Novasina.

Para o preparo do meio, foram seguidas as indicações do fornecedor descritas no frasco do produto, inicialmente, foram pesados 28 g de Ágar nutriente, para assim preparar 1 L de meio. Posteriormente, 1 L de água destilada foi transferida para a uma proveta de 1000 mL e em seguida para o Erlernmeyer de 1000mL, junto com o meio já pesado (Döbereiner et al., 1999). Após a adição de todos os itens, foi utilizado um bastão para agitar e solubilizar todo o meio e assim garantir a homogeneidade de todas as placas.

Preparo do meio de cultura

Além disso, com o volume de meio obtido, foi dividido em dois Erlenmeyers de 600 mL, sendo colocado 500 mL em cada um deles. Posteriormente, foram pesadas duas massas de sorbitol diferentes sendo elas: 202,5 g e 260 g. Essas massas foram calculadas a partir da metodologia da Natalia Caetano Vasques (2024), somente modificando o meio utilizado, as massas pesadas foram adicionadas a um meio preparado e cada Erlenmeyer foi identificado com a sua respectiva concentração utilizando caneta permanente.

Ao final da etapa anterior, retirou-se uma amostra de 15 mL de cada concentração sendo retirada em duplicata e transferida para um tubo falcon de 15 ml, para ser possibilitado o teste do meio com a mesma concentração em duas temperaturas distintas sendo as de 25 °C e 40 °C. As análises foram realizadas utilizando o analisador de atividade de água LabSwift da marca Novasina, tendo dois compartimentos para que uma amostra seja testada e a outra tenha sua temperatura modificada para a da análise, assim minimizando o tempo de espera da análise, sendo aconselhável começar a análise pela menor temperatura.

Preparo e plaqueamento em câmara de fluxo laminar

Após a obtenção do resultado de Aw, começamos a esterilização do meio, utilizando a autoclave a 120°C e por 15 minutos. Após o término dessa etapa, os erlenmeyers, alça, caneta permanente para marcação e placas de Petri já esterilizadas foram transferidos para a câmara de fluxo laminar, que já havia sido higienizada e submetida à esterilização por luz ultravioleta por 15 minutos (Kato et al., 2018).

Ademais, foi vertido o meio em oito placas com 202,5 g de Sorbitol e aguardou-se sua solidificação, cada placa foi dividida em duas metades por uma linha desenhada verticalmente, onde cada lado terá um microrganismo diferente, assim realizando dois repiques por placa e fazendo em duplicata seguindo a metodologia da Natalia Caetano Vasques (2024), sendo feito a cada término de microrganismo a ligação da luz ultravioleta por 15 minutos, assim evitando a contaminação cruzada.

Incubação e análise do crescimento

Após o término do passo anterior, todas as placas foram vedadas com plástico filme e transferidas para a estufa a 40 °C onde permaneceram por sete dias. O crescimento foi analisado diariamente e feito registros por meio de fotos para registrar o crescimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como previsto no planejamento, o primeiro experimento consistiu na análise da atividade de água (Aw). Começando pela análise na temperatura de 25 °C por se aproximar da temperatura ambiente no momento da análise, tivemos como resultado em 202,5 g de sorbitol o valor de 0,973 e com 260 g de sorbitol, foi obtido o valor de 0,945. Na temperatura de 40 °C tivemos como resultado para 202,5 g de sorbitol o valor de 0,966 e com 260 g de sorbitol, obtivemos o valor de 0,952.

Decorridas 24 horas desde a finalização do experimento foi feita a análise de cada uma das placas, o crescimento foi registrado por meio de fotografia, as amostras Sb2A e Sb8 apresentaram os crescimentos mais expressivos, mantendo as características dos microrganismos utilizados, as demais não cresceram no primeiro dia de análise.

No segundo dia o crescimento se manteve igual ao primeiro dia, sendo mantido o mesmo perfil de crescimento até o último dia de análise, não tendo uma mudança significativa do aspecto dos microrganismos.

Sendo assim o crescimento no meio com água reduzida foi observado crescimento em dois diferentes microrganismos e em ambas as concentrações de Sorbitol. Além disso, não foi observada contaminação visível nos meios de cultura.

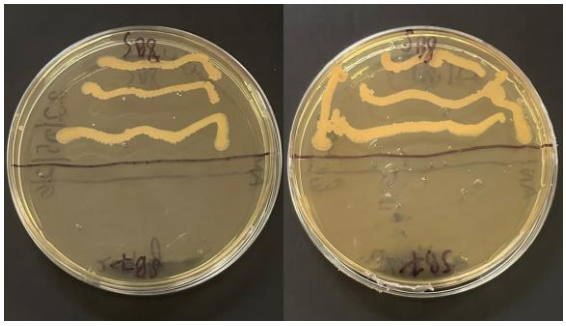

Figura 1. Sb8 e Sb7 no meio com adição de 202,5g de Sorbitol após 7 dias de incubação.

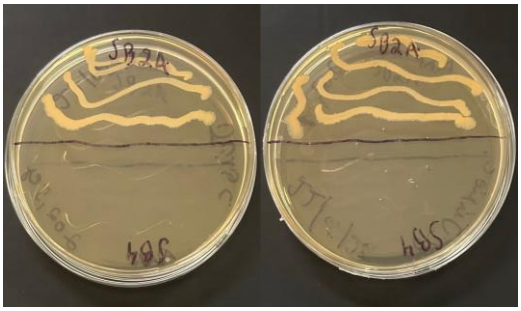

Figura 2. Sb2A e Sb4 no meio com adição de 202,5g de Sorbitol após 7 dias de incubação.



Figura 3. Sb1 e Sb2B no meio com adição de 202,5g de Sorbitol após 7 dias de incubação.

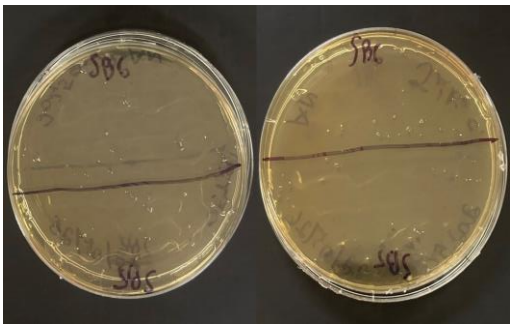

Figura 4. Sb5 e Sb6 no meio com adição de 202,5g de Sorbitol após 7 dias de incubação.



Figura 5. Sb4 e Sb2A no meio com adição de 260g de Sorbitol após 7 dias de incubação.

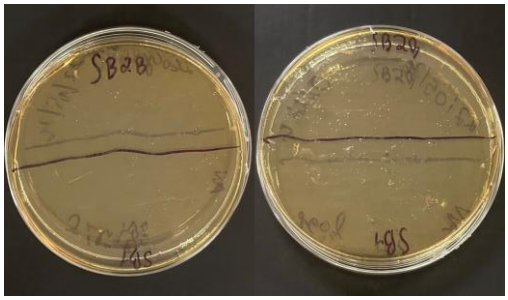

Figura 6. Sb2B e Sb1 no meio com adição de 260g de Sorbitol após 7 dias de incubação.

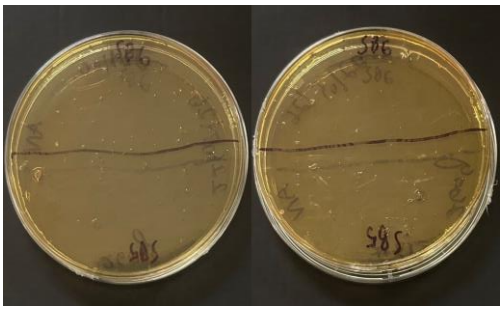

Figura 7. Sb5 e Sb6 no meio com adição de 260g de Sorbitol após 7 dias de incubação.

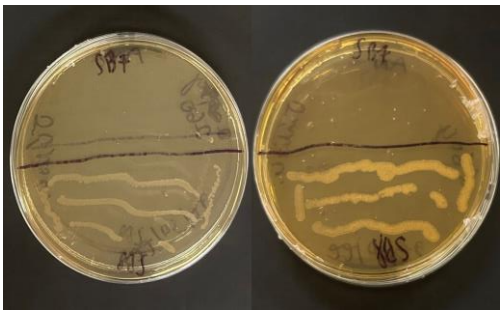

Figura 8. Sb7 e Sb8 no meio com adição de 260g de Sorbitol após 7 dias de incubação.

Tabela 1. Crescimento dos microrganismos isolados do Sabiá no meio com 202,5 g de Sorbitol.

Microrganismos	Resultado
Sb1	Negativo
Sb2A	Positivo
Sb2B	Negativo
Sb4	Negativo
Sb5	Negativo
Sb6	Negativo
Sb7	Negativo
Sb8	Positivo

Tabela 2. Crescimento dos microrganismos isolados do Sabiá no meio com 260 g de Sorbitol.

Microrganismos	Resultado
Sb1	Negativo
Sb2A	Positivo
Sb2B	Negativo
Sb4	Negativo
Sb5	Negativo
Sb6	Negativo
Sb7	Negativo
Sb8	Positivo

Grande parte dos inúmeros microrganismos já isolados e catalogados não são capazes de crescer e manter suas características em meios com água reduzida e em altas temperaturas (Schimel, 2018; Hallsworth et al., 1998). Logo, o resultado obtido indica potencial para a formulação de um possível bioinoculante para a promoção de crescimento vegetal.

CONCLUSÃO

Conclui-se primeiramente que a análise de atividade de água (AW) no meio de Ágar nutriente com 202,5g e 260g de Sorbitol, foi determinada com sucesso, podendo subsidiar pesquisas futuras, com microrganismos compatíveis. Além disso, apenas dois microrganismos apresentaram crescimento nas condições avaliadas no teste, logo essa análise será considerada para as demais etapas de testes de microrganismos para a possível utilização na formulação de um bioinoculante para a promoção de crescimento vegetal. Mesmo necessitando de mais testes, os resultados encontrados contribuem para o avanço de novas tecnologias capazes de promover a segurança alimentar da população, pois os dois microrganismos que apresentaram capacidade de crescimento em meios acometidos por escassez hídrica prolongada.

REFERÊNCIAS

Basu, A. , Prasad, P., Das, S., Kalam, S., Sayyed, R., Reddy, M., & Enshasy, H. (2021). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Green Bioinoculants: Recent Developments, Constraints, and Prospects. *Sustainability*. https://doi.org/10.3390/su13031140

Döbereiner, J. ; Andrade, V. O.; Baldani, V. L. D. (1999). *Protocolos para preparo de meios de cultura da Embrapa Agrobiologia*. Seropédica: Embrapa Agrobiologia.

Gerhardt, P. ; Murray, R. G. E.; Costilow, R.N.; Nester, E. W.; Wood, W. A.; Krieg, N. R.; Phillips, G. B. (1981). *Manual of methods for general bacteriology*. Washington: American Society for Microbiology.

Hakim, S. , Naqqash, T., Nawaz, M., Laraib, I., Siddique, M., Zia, R., Mirza, M., & Imran, A. (2021). Rhizosphere Engineering With Plant Growth-Promoting Microorganisms for Agriculture and Ecological Sustainability. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.617157

Hallsworth, J. E. ; Nomura, Y.; Iwahara, M. (1998). Ethanol-induced water stress and fungal growth. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, v. 86, n. 5, p. 451-456. DOI: 10.1016/S0922-338X(98)80150-5.

Hameeda, B. ; Harini, G.; Rupela, O. P.; Wani, S. P.; Reddy, G. (2008). Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. *Microbiological Research*, v. 163, n. 2, p. 234-242. DOI: 10.1016/j.micres.2006.05.009.

Kato, S. , Yamagishi, A., Daimon, S., Kawasaki, K., Tamaki, H., Kitagawa, W., Abe, A., Tanaka, M., Sone, T., Asano, K., & Kamagata, Y. (2018). Isolation of Previously Uncultured Slow-Growing Bacteria by Using a Simple Modification in the Preparation of Agar Media. *Applied and Environmental Microbiology*, 84. https://doi.org/10.1128/aem.00807-18.

Khan, M. , Aleinikovienė, J., & Butkevičienė, L. (2024). Innovative Organic Fertilizers and Cover Crops: Perspectives for Sustainable Agriculture in the Era of Climate Change and Organic Agriculture. *Agronomy*.https://doi.org/10.3390/agronomy14122871.

Kumar, S. , Sindhu, S., & Kumar, R. (2021). Biofertilizers: An ecofriendly technology for nutrient recycling and environmental sustainability. *Current Research in Microbial Sciences*, 3. https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100094 .

Ling, N. , Wang, T., & Kuzyakov, Y. (2022). Rhizosphere bacteriome structure and functions. *Nature Communications*, 13. https://doi.org/10.1038/s41467-022-28448-9.

Mallick, I. ; Bhattacharyya, C.; Mukherji, S.; Dey, D.; Sarkar, S. C.; Mukhopadhyay, U. K.; Ghosh, A. (2018). Effective rhizoinoculation and biofilm formation by arsenic immobilizing halophilic plant growth promoting bacteria (PGPB) isolated from mangrove rhizosphere: a step towards arsenic rhizoremediation. *Science of The Total Environment*, v. 610-611, p. 1239-1250. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.07.234.

Mathlouthi, M. (2001). Water content, water activity, water structure and the stability of foodstuffs. *Food control*, v. 12, n. 7, p. 409-417.

Mendes, R. , Garbeva, P., & Raaijmakers, J. (2013). The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 634-63. https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028

Nações Unidas (2018). Sobre o nosso trabalho para alcançar os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável no Brasil. *NU Brasil*. Disponível em: https://brasil.un.org/pt-br/sdgs. Acesso em: 30 maio 2026.

Panday, D. , Bhusal, N., Das, S., & Ghalehgolabbehbahani, A. (2024). Rooted in Nature: The Rise, Challenges, and Potential of Organic Farming and Fertilizers in Agroecosystems. *Sustainability*. https://doi.org/10.3390/su16041530.

Runyon, E. (1970). Identification of mycobacterial pathogens utilizing colony characteristics. *American Journal of Clinical Pathology*, 54(4), 578-86. https://doi.org/10.1093/ajcp/54.4.578.

Schimel, J. (2018). Life in Dry Soils: Effects of Drought on Soil Microbial Communities and Processes. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*.https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110617-062614

Seleiman, M. , Al-Suhaibani, N., Ali, N., Akmal, M., Alotaibi, M., Refay, Y., Dindaroğlu, T., Abdul-Wajid, H., & Battaglia, M. (2021). Drought Stress Impacts on Plants and Different Approaches to Alleviate Its Adverse Effects. *Plants*, 10. https://doi.org/10.3390/plants10020259.

Shahwar, D. , Mushtaq, Z., Mushtaq, H., Alqarawi, A., Park, Y., Alshahrani, T., & Faizan, S. (2023). Role of microbial inoculants as bio fertilizers for improving crop productivity: A review. *Heliyon*, 9. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16134.

Sousa, A. , Machado, I., Nicolau, A., & Pereira, M. (2013). Improvements on colony morphology identification towards bacterial profiling. *Journal of Microbiological Methods*, 95(3), 327-35. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2013.09.020.

Tyagi, J. , Ahmad, S., & Malik, M. (2022). Nitrogenous fertilizers: impact on environment sustainability, mitigation strategies, and challenges. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 19, 11649-11672. https://doi.org/10.1007/s13762-022-04027-9.

Vasques, N.C. , Cerezini, P., Nogueira, M.A., Hungria, M. (2024). *Bioprospecção de microrganismos para o uso em bioinsumos: métodos para triagem inicial de bioativos visando à nutrição de plantas e à tolerância a estresses abióticos e bióticos*. Londrina: Embrapa Soja. Disponível em: http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1164913. Acesso em: 30 maio 2026.

Wang, Y. , Zhu, Y., Zhang, S., & Wang, Y. (2018). What could promote farmers to replace chemical fertilizers with organic fertilizers? *Journal of Cleaner Production*.https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.07.222.

Wu, H. , & Ge, Y. (2019). Excessive Application of Fertilizer, Agricultural Non-Point Source Pollution, and Farmers' Policy Choice. *Sustainability*. https://doi.org/10.3390/su11041165.

Young, L. S. ; Hameed, A.; Peng, S. Y.; Shan, Y. H.; Wu, S. P. (2013). Endophytic establishment of the soil isolate Burkholderia sp. CC-Al74 enhances growth and P-utilization rate in maize (Zea mays L.). *Applied Soil Ecology*, v. 66, p. 40-47. DOI: 10.1016/j.apsoil.2013.02.001.