



Caracterização de bactérias isoladas de sementes de milho com potencial biotecnológico na mitigação de estresse hídrico vegetal

Rayane Ormindo Miguel, Beatriz Elisa Barcelos Cyríaco, João Pedro Campos Matos, Flavio Cardoso da Silva Lopes, Fabio Lopes Olivares.

As bactérias promotoras de crescimento vegetal são microorganismos benéficos que estimulam o crescimento e desenvolvimento vegetal, podendo mitigar estresses bióticos e abióticos. Algumas dessas espécies bacterianas são capazes de sobreviver em condições de altas temperaturas e baixa disponibilidade de água. O objetivo desse trabalho é caracterizar bactérias previamente isoladas de sementes de milho tratadas por termoterapia, avaliando características de promoção de crescimento vegetal. Para avaliar a capacidade de fixação biológica de nitrogênio (FBN), os isolados serão crescidos em frascos com meio semi-sólido JNFb e LGI. O resultado positivo será avaliado pela presença de película aerotáxica característica na superfície do meio. A caracterização da morfologia de células será feita por meio da microscopia óptica de contraste de fase e realizando também a técnica de coloração de Gram, classificando os isolados em gram-positivos e gram-negativos. O DNA genômico bacteriano será extraído a partir do cultivo dos isolados em meio líquido DYGS, sendo utilizado o kit de extração Wizard® Genomic DNA Purification Kit do fabricante Promega, seguindo o protocolo descrito pelo fabricante. O gene 16S rDNA será amplificado por PCR (polymerase chain reaction), com utilização dos primers 27F e 1492R, e sequenciado para identificação taxonômica dos isolados. Para confirmação da característica de FBN, o gene *nifH* será amplificado utilizando os primers PolF e PolR e visualizado em gel de agarose 1%. A produção de compostos indólicos será avaliada através do crescimento das bactérias em meio de cultura DYGS, com e sem adição de L-triptofano e quantificado pelo método de Salkowski em espectrofotômetro. Para determinar a capacidade de solubilização de fosfato e zinco, os isolados serão crescidos em meio sólido NBRIP, com fosfato β-tricálcico insolúvel como fonte de fósforo e óxido de zinco como fonte de zinco. O índice de solubilização será calculado pela razão entre o diâmetro do halo formado e o diâmetro da colônia. Para a quantificação do biofilme, o isolado será encubado em lâ de vidro, e corada com cristal violeta, sendolavada em solução tampão fosfato 0,05M, extraído com etanol 100% e a quantificado em espectrofotômetro a 544nm. Através desses experimentos, é esperado obtermos a caracterização de isolados oriundos do microbioma da semente de milho com potencial biotecnológico frente a desafios abióticos para a agricultura, como o déficit hídrico e o aquecimento global.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: Iniciação Científica

Eixo temático: Biotecnologia Vegetal

Fomento da bolsa: CNPq

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:

APOIO:



Characterization of bacteria isolated from maize seeds with biotechnological potential in mitigating plant water stress.

Rayane Ormindo Miguel, Beatriz Elisa Barcelos Cyríaco, João Pedro Campos Matos, Flávio Cardoso da Silva Lopes, Fabio Lopes Olivares.

The plant growth-promoting bacteria are beneficial microorganisms that stimulate plant growth and development, potentially mitigating biotic and abiotic stresses. Some of these bacterial species are capable of surviving in conditions of high temperatures and low water availability. The aim of this study is to characterize bacteria isolated from maize seeds treated by heat-treatment previously, evaluating plant growth-promoting characteristics. To evaluate the capacity for biological nitrogen fixation (BNF), the isolates will be grown in glass vials with JNFb and LGI semi-solid media. A positive result will be evaluated by the presence of a characteristic aerotactic pellicle on the surface of the medium. Cell morphology characterization will be performed using phase-contrast microscopy and the Gram staining technique will be performed, classifying the isolates as gram-positive or gram-negative. Bacterial genomic DNA will be extracted from the isolates cultured in DYGS liquid medium, using Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega) according to the manufacturer's protocol. The 16S rDNA gene will be amplified by PCR (polymerase chain reaction) using the primers 27F and 1492R and the amplicon will be sequenced for taxonomic identification of the isolates. For confirmation of the BNF characteristic, the *nifH* gene will be amplified using the primers PolF and PolR and visualized on 1% agarose gel. Indolic compounds production will be evaluated by Salkowski method, growing the bacteria isolates in DYGS culture medium with and without the addition of L-tryptophan and it will be quantified on spectrophotometer. To determine the capacity for phosphate and zinc solubilization, the isolates will be grown in solid NBRIP medium, with insoluble β-tricalcium phosphate as the source of phosphorus and zinc oxide as the source of zinc. The solubilization index will be calculated as the ratio of the diameter of the halo formed to the diameter of the colony. For biofilm quantification, the isolate will be incubated on glass wool, stained with crystal violet, washed in 0.05M phosphate buffer solution, extracted with 100% ethanol, and quantified on a spectrophotometer. Through these experiments, we expect to obtain the characterization of isolates from maize seeds microbiome with biotechnological potential to overcome abiotic challenges in agriculture, such as water scarcity and global warming.

Program Institution for IC, IT or PG: Scientific Initiation

Thematic Axis: Plant Biotechnology

Scholarship Funding: CNPq

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:

APOIO: