



Efeito da salinidade sob crescimento de Microrganismos Eficientes

(EM)

Effect of salinity on efficient microorganisms (EM) growth

Glécio Oliveira Barros*, Alex Batista Trentin[†],
Scheila Mara Varaschini[§], Deborah Catharine de Assis Leite[†]

RESUMO

Atualmente estudos envolvendo a biorremediação e a aplicação de EMs na agricultura aumentou significativamente devido a sua otimização de processos biológicos. É importante ressaltar que para a eficácia desses EMs alguns fatores são determinantes, como por exemplo pH, temperatura e salinidade. Nesse sentido, faz-se necessário verificar o impacto da salinidade no crescimento dos EMs, visando verificar se estes podem ser aplicados em ambiente salinos. Este trabalho teve como objetivo verificar o efeito de diferentes níveis de salinidade em diferentes tipos de Microrganismos Eficientes (EMs). Desta forma, 2 tipos distintos de EMs foram incubados em BHI com diferentes concentrações de NaCl a saber: 0,5; 1; 2; 3 e 5 g.L⁻¹ e incubados a 30°C por até 48 horas sob agitação constante de 150 rpm. O crescimento dos EMs foi verificado por meio da densidade ótica (DO), em espectrofotômetro a 600 nm. As leituras foram realizadas em períodos de 24 e 48 horas após a inoculação, em triplicata. Verificou-se que cada microrganismo eficiente (EM) tem um comportamento diferente, contudo houve uma tendência de queda de EMs a partir da concentração de 3,5% de NaCl, sendo observado um impacto maior em 5% de NaCl. Os EMs estudados possuem dificuldade de crescimento no ambiente mais salino, acima de 5%, mais ainda apresentam certa tolerância a ambientes salinos como água do mar ou lagoas salgadas com concentração próximas a 3,5%.

Palavras-chave: concentração de sal, microrganismos eficazes, tolerância.

ABSTRACT

Currently studies involving bioremediation and the application of EMs in agriculture have increased significantly due to their optimization of biological processes. It is important to emphasize that for the effectiveness of these MEs, some factors are decisive, such as pH, temperature and salinity. In this sense, it is necessary to verify the impact of salinity on the growth of MEs, specifying whether these may be necessary in a saline environment. This work aimed to verify the effect of different salinity levels on different types of Efficient Microorganisms (EMs). Thus, 2 different types of EMs were incubated in BHI with different NaCl systems: 0.5; 1; two; 3 and 5 g.L⁻¹ and incubated at 30°C for up to 48 hours under constant conditions of 150 rpm. The growth of EMs was verified by optical density (OD) in a spectrophotometer at 600 nm. The readings were taken at periods of 24 and 48 hours after inoculation, in triplicate. It was found that

* Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; glediobarros@alunos.utfpr.edu.br

[†] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos; alexrentin@alunos.utfpr.edu.br

[‡] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; varaschini@alunos.utfpr.edu.br

[§] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; deborahleite@utfpr.edu.br



each efficient microorganism (EM) has a different behavior, however there was a tendency for MEs to fall from the concentration of 3.5% of NaCl, with a greater impact being observed in 5% of NaCl. The MEs studied are difficult to grow in a more saline environment, above 5%, but they still have tolerance to saline environments such as sea water or salt lakes with a concentration close to 3.5%.

Keywords: salt concentration, effective microorganisms, tolerance.

1 INTRODUÇÃO

O estudo sobre os Microrganismos Eficientes (do inglês, “Effective Microorganisms” - EM) foi iniciado na década de 70 pelo Dr. Teruo Higa, professor da Universidade de Ryukyus (Japão). O objetivo era melhorar a utilização da matéria orgânica na produção agrícola. Em 1982 foram feitas experimentações com EM em campo, nas várias regiões do Japão, com resultados positivos. Posteriormente, em outros países, inclusive no Brasil, foi confirmada a eficiência do EM na ciclagem da matéria orgânica. A utilização do EM, como prática agrícola adequada ao ambiente e a saúde humana, aproximou muito da Agricultura Natural Messianica preconizada por Mokiti Okada, em 1935, no Japão (ANDRADE, 2011).

No entanto, os EMs possuem diversas finalidades sendo uma delas a biorremediação. O uso do EM tem sido uma opção pois os mesmos transformam a matéria orgânica de maneira equilibrada e com redução na demanda de tempo e energia, mantendo o sistema estável, oferecendo segurança, reduzindo custos e ajudando no crescimento da produção de alimentos limpos, constituindo numa ferramenta eficiente na agroecologia (PEREIRA et al., 2014).

A biorremediação é um processo que ocorre naturalmente pela ação de bactérias, fungos e plantas, onde os processos metabólicos destes organismos são capazes de utilizar estes contaminantes como fonte de carbono e energia. (UNIFESP, 2021). A utilização de microrganismos em estações de tratamento de esgoto já vem sendo praticada desde a década de 70 do desenvolvimento dos processos biológicos de tratamento. A biorremediação é uma tecnologia bastante utilizada em reatores biológicos, propondo a recuperação e adequação dos mesmos através da utilização de culturas de microrganismos selecionados que, adicionados ao esgoto bruto, podem degradar a matéria orgânica presente com mais rapidez e eficiência (RODRIGUES, 2005).

Atualmente estudos envolvendo a aplicação de EMs na agricultura e na biorremediação aumentou significativamente uma vez que o uso destes microrganismos tem sido bastante promissores. É importante ressaltar que a eficácia dos EMs nesses processos, fatores como pH, temperatura e salinidade, são determinantes. Nesse sentido, faz-se necessário verificar o impacto da salinidade no crescimento dos EMs, visando verificar se estes podem ser aplicados em ambiente salinos.

Alguns microrganismos são capazes de emitir uma resposta adaptativa produzida como consequência de uma situação de estresse hídrico pelo aumento na salinidade externa (BROWN, 1990). No solo, por exemplo, a salinidade afeta o crescimento e o desenvolvimento das plantas por meio de estresse osmótico, efeitos prejudiciais dos íons tóxicos Na^+ e Cl^- e, em certa medida, Cl^- e SO_4^{2-} de Mg^{2+} e desequilíbrio de nutrientes causado pelo excesso de Na^+ e Cl^- (SAIRAM, 2004). A necessidade de usar EMs em locais com diferentes concentrações de sais se deve aos mecanismos de produção de metabólitos que ajudam na adaptação. Estes utilizam pigmentos em seus processos de obtenção de energia e podem ser peças-chaves para processos de biorremediação, uma vez que muitos agentes químicos poluidores formam altas concentrações de sais no ambiente, que pode inibir o crescimento de outras formas de vida (adaptado de MARTINS, 2021).



Desta forma, esse estudo teve como objetivo verificar o impacto da salinidade no crescimento de diferentes tipos de Microrganismos Eficientes (EM).

2 MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório Microbiologia localizado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR-DV).

Os microrganismos eficientes (EMs) utilizados neste estudo foram previamente produzidos pelo Grupo de Estudos em Ecologia e Biotecnologia Microbiana da UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos. Para realização do teste de tolerância ao sal foi utilizada a metodologia descrita por PEREIRA (2012) usando as seguintes concentrações de NaCl: 0; 0,5; 1; 2; 3 e 5 g.L⁻¹ e incubados a 30°C sob agitação constante de 150 rpm. O crescimento dos Microrganismos eficientes (EM1 e EM2) foi acompanhado por meio da densidade ótica (DO), em espectrofotômetro a 600 nm. As leituras foram realizadas em períodos de 24 e 48 horas após a inoculação, em triplicata.

Foram preparados 54 tubos de ensaio com 10 mL cada de caldo NA que foram fracionados da seguinte forma: 9 tubos sem NaCl; 9 tubos contendo 0,045g de NaCl; 9 tubos contendo 0,09g de NaCl; 9 tubos contendo 0,18g de NaCl; 9 tubos contendo 0,0931g de NaCl e 9 tubos contendo 0,45g de NaCl. Como foram utilizados 2 tipos de EMs (EM1 e EM2), foram preparados 5 erlenmeyers com 50 mL cada de BHI, sendo um erlenmeyer para cada microrganismo e um para controle, onde foi adicionado 1 mL de cada EM, exceto o controle. Após isso os erlenmeyers ficaram sob agitação no shaker a 30° C e 150 rpm por 24h. Para a leitura da OD, foi transferido 1mL para cada tudo de ensaio após 24 horas e depois 48 horas.

3 RESULTADOS

Ao analisar o crescimento dos microrganismos após 48 horas não foi verificada diferença de crescimento dos EMs nas concentrações de 0,5%, 1% e 2% quando comparado ao controle. Observou-se, ainda, que houve uma queda no crescimento dos EMs na concentração 3,5% de NaCl, sendo uma redução maior a 5%. Os EMs estudados possuem dificuldade de crescimento no ambiente mais salino, acima de 5%, mas ainda apresentam certa tolerância a ambientes salinos como água do mar ou lagoas salgadas com concentrações próximas a 3,5%.

Na tabela 1, apresenta os dados de quantificação de microrganismos em cada concentração de de NaCl. Vale ressaltar que as amostras de cada diluição foram analisadas em triplicatas, visando uma maior linearidade nos valores. Pode-se analisar que no período de 48 horas não há uma diferença significativa entre 0,5%, 1% e 2%, mas mantem-se o declínio no crescimento em 3,5% e 5%. Observa-se ainda que para as concentrações 0,5%, 1% e 2% no período de 24 horas, para o EM1 a média é 1,45; 1,68 e 1,58, respectivamente. Enquanto eu para o EM2 é de 1,41; 1,62; 1,51, respectivamente. Enquanto que para as concentrações de 3,5% e 5%, para o EM1 é de 1,14 e 0,33 e para o EM2, 1,31 e 0,28, respectivamente. Já para o período de 48 horas houve um aumento no crescimento para as concentrações 0,5%, 1% e 2%, sendo de 1,76; 1,73 e 1,66 para o EM1 e de 1,40; 1,59 e 1,63 para o EM2, respectivamente. E para as concentrações de 3,5% e 5% o aumento foi de 1,13 e 0,62 para o EM1 e de 1,33 e 0,74 para o EM2, respctivamente.

Tabela 1: Densidade ótica dos Microrganismos Eficientes (EMs) submetidos a diferentes concentrações de NaCl após 24 e 48 horas.

Concentração de NaCl (%)	EM (OD 600 nm)			
	24 horas		48 horas	
	EM1	EM2	EM1	EM2



0%	1,49 ± 0,16	0,81 ± 0,43	1,56 ± 0,08	1,92 ± 0,49
0,5%	1,45 ± 0,10	1,41 ± 0,07	1,76 ± 0,09	1,40 ± 0,34
1%	1,68 ± 0,06	1,62 ± 0,11	1,73 ± 0,03	1,59 ± 0,13
2%	1,58 ± 0,12	1,51 ± 0,05	1,66 ± 0,05	1,63 ± 0,13
3,5%	1,14 ± 0,11	1,31 ± 0,11	1,13 ± 0,10	1,33 ± 0,08
5%	0,33 ± 0,04	0,28 ± 0,02	0,62 ± 0,18	0,74 ± 0,39

Fonte: Autoria própria, 2021.

4 CONCLUSÃO

Verificou-se que cada microrganismo eficiente (EM) tem um comportamento diferente, contudo houve uma tendência de queda de EMs no ambiente salino. Os EMs possuem dificuldades de crescimento no ambiente mais salino 5%, mas que ainda podem ser usados com sucesso em com a salinidade próxima a água do mar ou lagoas salgadas (3,5%). Contudo, há necessidades de realizar novos estudos com outros microrganismos eficientes.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná pela oportunidade de executar a iniciação científica.

REFERÊNCIAS

AGRONEGÓCIO, Portal do. **Entenda os impactos da salinidade para a microbiota do solo e como evitá-los**: o uso de fertilizantes com alta salinidade pode causar impactos negativos no solo. O uso de fertilizantes com alta salinidade pode causar impactos negativos no solo. 2021. Disponível em: <https://www.portaldoagronegocio.com.br/agricultura/outros/artigos/entenda-os-impactos-da-salinidade-para-a-microbiota-do-solo-e-como-evita-los>. Acesso em: 26 ago. 2021.

ANDRADE, F.M.C. **Caderno dos microrganismos eficientes (EM) - Instruções práticas sobre o uso ecológico e social do EM**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2011. 32p. Disponível em: <http://estaticog1.globo.com/2014/04/16/caderno-dos-microrganismos-eficientes.pdf>. Acesso em 09 de set. 2021.

KUSHNER, D.J. **Life in high salt and solute concentrations: halophilic bacteria**. En: **Microbial life in Extreme Environments**. Hushner, D. J. (ed). Academic Press: London, p. 317-368, 1978.

MARTINS, Bianca. **Biorremediação: uma solução sustentável**. Blog do Profissão Biotec (ISSN 2675-6013), Ciência, Sustentabilidade, V.4 (2019). Disponível em: <https://profissaobiotec.com.br/biorremediacao-solucao-sustentavel/>. Acessado em 14 de set. de 2021.

PEREIRA, Ricardo B. et al. Resistência de populações de cenoura à queima-das-folhas com diferentes níveis de germoplasma tropical. *Horticultura Brasileira*, v. 30, p. 489-493, 2012.



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um
mundo em transformação

XI Seminário de Extensão e Inovação
XXVI Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica
08 a 12 de Novembro - Guarapuava/PR



PEREIRA, A. P. A. et al. Influência da salinidade sobre o crescimento e a produção de ácido indol acético de *burkholderia spp.* endofíticas de cana-de-açúcar. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 28, Supplement 1, p. 112-121, Mar. 2012.

PIUBELI, Francine Amaral. **Caracterização da comunidade microbiana em ambientes salinos e suas possíveis aplicações biotecnológicas.** 2011. 240 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

RODRIGUES, F. P. **Utilização da técnica da biorremediação em sistemas de esgotamento sanitário. Aplicação na cidade de Juazeiro do Norte, Ceará.** 2005. 90 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil: Saneamento Ambiental)-Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

SAIRAM, R.K., TYAGI, A., 2004. **Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants.** *Curr. Sci.* 86, 407e421.

UNIFESP. **Biorremediação.** Campus Baixada Santista. Disponível em: <https://www.unifesp.br/campus/san7/ppgbb-linhas-de-pesquisa/579-ppgbb-biorremediacao>. Acesso em: 26 ago. 2021.