

BIOPROSPECÇÃO E ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS PRESENTES EM RAIZ DE MILHO NA REGIÃO DE MARINGÁ -PR

BIOPROSPECTING AND ISOLATION OF MICROORGANISMS PRESENT IN CORN ROOTS IN THE MARINGÁ -PR REGION

LUIZ FELIPE CABRAL FRANCISCO¹, WELISSON ANDREY DE CARVALHO BARBOSA¹, RAFAELA ELIAS GONÇALVES¹, WILLIAM DIAS CONSTANTINO¹, NAYARA REGINA CAMPANENUTE SOARES², LUCAS DIEGO FIGUEIREDO²

1. Acadêmico do curso Engenharia Agrônômica da Faculdade de Engenharias e Inovação Técnico Profissional – UNIFEITEP; 2. Professor Doutor da Faculdade de Engenharia e Inovação Técnico Profissional - UNIFEITEP

Avenida Paranavaí, 1164, Parque Industrial Bandeirantes, Maringá, Paraná, Brasil. CEP: 87070-130. prof.lucasfigueiredo@feitep.edu.br

Recebido em 17/02/2025. Aceito para publicação em 24/03/2025

RESUMO

A cultura da soja, tem alto valor econômico tanto para produtores quanto para indústria, que fazem o beneficiamento dessa oleaginosa, sendo usada em diversos seguimentos como; alimentação humana e animal, biodiesel e uso farmacêutico. Junto a isso temos a cultura do milho sendo o cereal mais produzido no mundo, gerando alto valor econômico para produtores e indústria, que além de ser usada na alimentação humana e animal, podem ser usadas para produção de etanol. Devido a produção em larga escala dessas culturas, visa-se a utilização de produtos e manejo que agreguem no aumento produtivo com baixos riscos ao meio ambiente. Tendo assim o uso de microrganismos como aliado, para controle de pragas e fungos, biorreguladores de crescimento, que agregam maior produtividade na lavoura, reduzindo assim o uso de defensivos químicos, conservando o meio ambiente. Com isso o presente estudo tem como objetivo, a descoberta de cepas benéficas para as culturas de soja e milho, extraídas do sistema radicular de gramíneas, como o milho. O trabalho foi conduzido no laboratório da UNIFEITEP, onde depois de extrair a solução da raiz do milho, foram submetidas à inoculação em plântulas de milho e soja. Com a cultura das gramíneas não se obteve diferença estatística, já na oleaginosa com a cepa 2, teve diferença estatística tendo comportamento promissor com a cultura da soja.

PALAVRAS-CHAVE: Bactéria, rizosfera, inoculação.

ABSTRACT

Soybean cultivation has high economic value for both producers and industries, which process this oilseed, and is used in various segments such as human and animal nutrition, biodiesel and pharmaceutical use. Along with this, we have corn cultivation, which is the most produced cereal in the world, generating high economic value for producers and industry, which in addition to being used in human and animal nutrition, can be used to produce ethanol. Due to the large-scale production of these crops, the aim is to use products and

management that add to the increase in production with low risks to the environment. Thus, having the use of microorganisms as an ally, to control pests and fungi, growth bioregulators, which add greater productivity to the crop, thus reducing the use of chemical pesticides, conserving the environment. Therefore, the present study aims to discover strains beneficial to soybean and corn crops, extracted from the root system of grasses, such as corn. The work was conducted in the UNIFEITEP laboratory, where after extracting the solution from the corn root, it was inoculated into corn and soybean seedlings. No statistical difference was obtained with the grass crop, but in the oilseed crop with strain 2, there was a statistical difference with promising behavior with the soybean crop.

KEYWORDS: Bacteria; rhizosphere; inoculation.

1. INTRODUÇÃO

A cultura da soja é uma grande potência na economia brasileira e mundial, com sua vasta gama de utilizações, onde podemos destacar; utilização como matéria prima para a produção de biodiesel, alimentação animal, alimentação humana como farelo e óleo de soja, matéria prima para fármacos e cosméticos, ganhando grande espaço no mercado do agronegócio¹.

No entanto a cultura do milho, devido a sua alta adaptação na lavoura, se torna o cereal mais produzido no mundo, estando na alimentação de milhares de pessoas e de animais e como matéria prima para indústria, tendo grande utilização na fabricação de etanol².

Na safra de soja 23/24 o Brasil alcançou uma produção de 147.353,5 mil toneladas, já no estado do Paraná alcançou uma produção de 18.351,4 mil toneladas. Na produção total de milho (incluindo todas as safras) o Brasil chegou à marca 114.114,3 mil toneladas de produção, já na região sul, especificamente no estado no Paraná, teve-se uma produção de 15.672,3

mil toneladas³.

Devido à alta produção de soja e milho, a busca por tecnologias que potencialize ainda mais essa produção, sem que prejudique o meio ambiente, como o uso de microrganismos benéficos a agricultura, torna-se cada vez maior e mais sustentável, mantendo a microbiota do solo sempre ativa. Os fungos são àqueles microrganismos que possuem mais vasto uso, sendo utilizados no controle de insetos como entomopatogênicos, (*Beauveria bassiana*, *Cordyceps javanica*, *Cordyceps fumosorosea*, e *Metarhizium anisopliae*)^{4,5}; como micopatogênicos, (*Dicyma pulvinata*, *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma asperellum*)^{6,7}; pode ainda ser empregado no controle de doenças fúngicas causadas por *Rhizoctonia solani* ou *Sclerotinia sclerotiorum*^{8,9}; possui vasto uso como nematicidas contra *Meloidogyne spp.* e *Pratylenchus brachyurus*^{10,11}.

As bactérias também possuem grande uso na agricultura como bioinsumos. Tendo capacidade de fixação de nitrogênio como o caso da *Bradyrhizobium japonicum*, no controle de pragas como o *Bacillus thuringiensis*, no controle de nematoides como os *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus firmus* ou *Bacillus methylotrophicus* e no controle de doenças, onde estudos mostram grande eficiência do *B. subtilis* sobre o patógeno *Fusarium sp* (responsável pela diminuição de produtividade em diversas culturas), onde obteve-se um controle de 60% sobre o crescimento do patógeno^{12,13}. Algumas cepas de bactérias podem ainda produzir compostos que ajudam na ciclagem de nutriente e produção de fitohormônios na planta¹⁴.

A bioprospecção de microrganismos consiste na coleta, isolamento e identificação de um grupo de microrganismo da diversidade microbiana, existente em determinado local, tendo como objetivo o descobrimento de cepas benéficas para a agricultura. A coleta desses microrganismos pode ser realizada nos lugares onde ficam inseridos, como solo, rizosfera, endosfera e matéria orgânica, de modo que no isolamento podemos chegar em grupos distintos. Esses grupos se diferenciam pela facilidade em que eles podem ser cultivados¹⁵.

Na bioprospecção a identificação dos microrganismos é bem criteriosa. Associado a esse controle de qualidade, deve haver o mapeamento da origem de forma a permitir identificar outras possíveis relações que possam interferir nos resultados¹⁶.

Devido aos grandes custos que são destinados aos insumos na lavoura, esse trabalho teve como por objetivo o isolamento de microrganismos da raiz do milho, tentando descobrir cepas benéficas para a cultura da soja e milho através de teste de crescimento e plântula e depois isolamento com os microrganismos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no laboratório de microbiologia da universidade UNIFEITEP, situada na cidade de Maringá-Pr nas coordenadas Latitude: -23.4273, Longitude: -51.9375, 23° 25' 38" Sul, 51°

56' 15" Oeste. O solo da região é classificado como Argissolo Vermelho eutroférrico de textura argilosa¹⁷. O clima predominante na região segundo a classificação de Köppen é o Cfa.

O isolamento foi realizado seguindo a metodologia de Santos, *et al* (2010)¹⁸ com modificações. Foram retiradas 20g de raiz da planta de milho coletada e lavada levemente em água corrente para desprender o solo que estava mais frouxamente aderido e posteriormente as raízes foram colocadas em frasco Erlenmeyer, com solução salina esterilizada (solução de MgSO₄-7H₂O 0,01M). O conjunto raiz-solo que permaneceu aderido foi denominado ambiente rizosférico. Amostras de 25mL foram retiradas do frasco e foram submetidas a diluições seriadas de 1:4 (solução e água destilada estéril). O plaqueamento foi realizado em placas de Petri, com alíquotas de 1 ml da solução contendo os microrganismos, em meio BDA (BATATA DEXTROSE ÁGAR) com incubação por 48 horas, em estufa a 28° C. Os microrganismos formadores de colônias nas placas, foram isolados até obtermos culturas pura. Para a separação das colônias de bactérias e fungos, foi utilizado amoxicilina para controle das colônias bacterianas e fungicida (Azoxistrobina + Epoxiconazol) para controle de fungo nas placas de meio de cultivo, para que assim fossem obtidas culturas puras.

Após obter-se culturas puras foi realizado o teste em plântulas de milho e soja. As sementes foram submetidas ao processo de assepsia com 2% de hipoclorito a 5 minutos, depois foram germinadas por 72 horas em papel germiteste estéril. Após as 72 horas as sementes estavam com 4 cm de raiz, onde foram colocadas em tubos de ensaio com meio BDA (diluído 1:2, BDA e água destilada estéril) contendo as bactérias selecionadas para continuarem seu desenvolvimento durante cinco e sete dias, sendo milho e soja, respectivamente. Utilizando o teste TUKEY à 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS

Durante a coleta foi obtido uma grande diversidade de microrganismos, tanto da endosfera e rizosfera. Notou-se várias ilhas de microrganismos com colorações variadas nas duas porções da raiz.



Figura 1. A) microrganismos da rizosfera; B) microrganismos da endosfera. **Fonte:** Autoria própria.

Na endosfera foram encontradas colônias mais densas, isoladas e mais pontuadas, já na rizosfera teve-se um misto em colônias mais densas, com grande

expansão horizontal e algumas colônias com delimitações na placa de Petri, já na parte fúngica foram encontrados várias hifas e esporos de colorações variadas, que não foram obtidos na endosfera, conforme mostra a Figura 1 A e B abaixo.

O isolamento de diferentes colônias de microrganismos, coletados na fase inicial, foi realizado através de separação morfológica e inoculado em novas placas, conforme a Figura 2. Após sucessivos isolamentos destas colônias, obtivemos um total de seis cepas. Dentro destas seis cepas, isoladas, constatamos que 4 são colônias de bactérias e 2 são fungos.

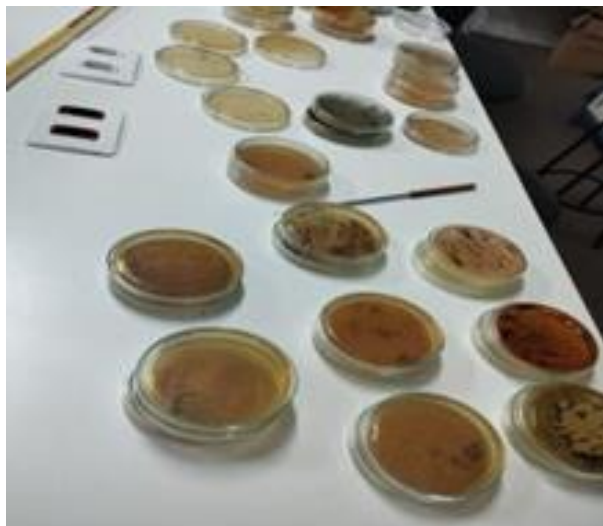


Figura 2. Isolamento dos microrganismos.

Fonte: Autoria própria.

A inoculação em meio de BDA é uma técnica para rápida identificação dos efeitos de microrganismos sobre o desenvolvimento vegetal. Foi observado que a inoculação das plântulas de milho em meio enriquecido com diferentes cepas bacterianas, não promoveu diferença significativa sobre o desenvolvimento das plantas, conforme a Figura 3.



Figura 3. Plântulas de milho, inoculadas com quatro cepas de bactérias.

Fonte: Autoria própria.

Através da análise estatísticas conseguimos comprovar que a interação das quatro cepas de bactérias não obteve diferença significativa, em relação ao

controle, conforme a Tabela 1.

Tabela 1. Comprimento médio de plântulas de milho, inoculadas com quatro cepas de bactérias, utilizando o teste de médias Tukey à 5% de probabilidade. Letras iguais não se diferenciam estatisticamente.

TRATAMENTOS	RESULTADO TESTE DE MÉDIAS
CEPA_4	2,50 A
CEPA_3	2,75 A
CEPA_1	3,0 A
CEPA_2	3,0 A
CONTROLE	7,0 B

Fonte: Autoria própria.

Foi avaliado também o crescimento das plântulas de soja cultivadas em meio BDA enriquecido com 4 diferentes cepas bacterianas. Nessa fase do experimento, foi identificado que a cepa, aqui identificada como CEPA_2, promoveu um maior crescimento do epicótilo das plantas em relação ao controle, conforme a Figura 4.



Figura 4. Plântulas de soja, inoculadas com quatro cepas de bactérias.

Fonte: Autoria própria.

Através da análise estatística conseguimos constatar, diferença significativa da CEPA_2, inoculada com plântulas de soja, conforme a Tabela 2.

Tabela 2. Comprimento médio de plântulas de soja, inoculadas com quatro cepas de bactérias, utilizando o teste de médias Tukey à 5% de probabilidade. Letras iguais não se diferenciam estatisticamente.

TRATAMENTOS	RESULTADO TESTE DE MÉDIAS
CONTROLE	4,37 A
CEPA_3	4,62 A
CEPA_1	5,12 A
CEPA_4	5,25 A
CEPA_2	11,25 B

Fonte: Autoria própria.

A avaliação do crescimento das plântulas cultivadas em meio enriquecido com diferentes cepas bacterianas, indicou que a CEPA_2 promoveu o crescimento do epicótilo das plantas, em relação ao controle, sendo este um indicativo de que está sendo produzido algum tipo de substância que está induzindo ao alongamento celular. Em função disso, uma nova avaliação foi realizada com maior número de repetições. Onde a CEPA_2 neste novo teste não se diferenciou do controle, conforme a Figura 5 A e B.

Através da análise estatística conseguimos comprovar que a interação da CEPA_2 com plântulas de

soja não obteve diferença significativa do controle, conforme a Tabela 3.



Figura 5. A) Controle; B) Plântula de soja inoculada com a CEPA_2.
Fonte: Autoria própria.

Tabela 3. Comprimento médio de plântulas de soja, inoculadas com a CEPA_2., utilizando o teste de médias Tukey à 5% de probabilidade. Letras iguais não se diferenciam estatisticamente.

TRATAMENTOS	RESULTADO TESTE DE MÉDIAS
CONTROLE	4,87 A
CEPA_2	4,60 A

Fonte: Autoria própria.

4. DISCUSSÃO

O crescimento dessas culturas demanda novas tecnologias que aumentem a produtividade sem comprometer o meio ambiente. Uma das soluções que tem ganhado destaque é o uso de bioinsumos, como fungos e bactérias, para promover uma agricultura mais sustentável. Os fungos têm mostrado um vasto campo de aplicação no controle de pragas e doenças agrícolas, como os entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*^{4;5}, bem como os micopatógenos *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma asperellum*.^{6;7} Além disso, fungos como *Trichoderma* também são eficazes no controle de doenças fúngicas como as causadas por *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*.^{8;9}

Entre as bactérias, o *Bradyrhizobium japonicum* tem papel crucial na fixação de nitrogênio na soja, enquanto o *Bacillus thuringiensis* é amplamente utilizado no controle de pragas. O uso de bactérias solubilizadoras de fosfato, fixadoras de nitrogênio e produtoras de auxina (AIA), como observado por Tomazeli (2022)¹⁹, tem sido

um recurso promissor para melhorar o desenvolvimento das plantas.

O isolamento e a bioprospecção de microrganismos são processos fundamentais para identificar novas cepas benéficas para a agricultura. Conforme descrito por¹⁵, essa prospecção visa o isolamento e a identificação de microrganismos a partir de diferentes ambientes, como o solo e a rizosfera, visando maximizar os benefícios agrícolas. A identificação cuidadosa, como observada por Iwanicki *et al* (2022), é necessária para garantir que cepas promissoras possam ser aplicadas com eficiência.

Os resultados mostraram uma grande diversidade de microrganismos isolados da raiz do milho, tanto da endosfera quanto da rizosfera. Os testes com sementes de milho e soja demonstraram que, enquanto não houve diferença significativa nas plântulas de milho, o uso da cepa bacteriana CEPA_2 promoveu um crescimento superior nas plântulas de soja, sugerindo o potencial dessa cepa para o desenvolvimento agrícola.

5. CONCLUSÃO

A conclusão deste estudo aponta que, entre as cepas testadas, a CEPA_2 foi a única que promoveu uma diferença estatisticamente significativa no crescimento das plântulas de soja, em comparação com o controle. Esse resultado indica que a CEPA_2 está produzindo algum composto capaz de interagir com mecanismos fisiológicos da planta, induzindo ao aumento do epicótilo, provavelmente por meio do estímulo ao alongamento celular.

Esse achado sugere que a CEPA_2 tem um potencial promissor como bioinsumo para uso agrícola, pois seu efeito positivo sobre o crescimento das plântulas de soja pode estar relacionado à produção de substâncias que favorecem o desenvolvimento vegetal. Essa característica pode ser explorada em futuras pesquisas, buscando entender melhor os mecanismos pelos quais a cepa atua e sua possível aplicação em larga escala para melhorar o desempenho de culturas agrícolas, como soja e milho.

6. AGRADECIMENTOS

Agradecemos à UNIFEITEP pela estrutura.

7. REFERÊNCIAS

- [1] Silva FL da, *et al.* (org.). Soja: do plantio à colheita. 2. ed. São Paulo, SP: Oficina de Textos, 2022. *E-book*, pg () Disponível em: <https://plataforma.bvirtual.com.br>. Acesso em: 20 out. 2024.
- [2] Oliveira MDe, Lang GH, Ferreira CD (org.). Milho: química, tecnologia e usos. São Paulo, SP: Blucher, 2022. *E-book*, pg () Disponível em: <https://plataforma.bvirtual.com.br>. Acesso em: 20 out. 2024.
- [3] CONAB Companhia Nacional de Abastecimento. Safras. 2024. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/>. Acesso em: 18 set. 2024.
- [4] Faria MR De and Magalhães BP. O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil, *Biotecnol. Cien. e Desenvol.* 2001; (22):18–21.
- [5] Zappellini LO. *et al.* Seleção De Isolados Do Fungo

- Entomopatogênico *Metarhiziu*. Anisopliae (Metsch.) Sorok. Visando O Controle Da Broca Da Cana-De-Açúcar *Diatraea Saccharalis* (Fabr., 1794)', *Arquivos do Instituto Biológico*. 2010; 77(1):75–82. doi:10.1590/1808-1657v77p0752010.
- [6] Nonohay JS de Transformação genética em cevada por bombardeamento de partículas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2002.
- [7] Agostinho DP. Produção de hidrolases pelo fungo *Dicyma pulvinata*, e purificação de uma beta-glucanase do isolado CEN62. Universidade de Brasília. 2007.
- [8] Huang X, *et al.* Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off disease in cucumber with *Bacillus pumilus* SQR-N43', *Microbiological Research*. 2012; 67(3):135–143. doi:10.1016/j.micres.2011.06.002.
- [9] Dias A. *et al.* Efeito do substrato sobre a incidência e biocontrole do tombamento de chicória causado por *Rhizoctonia solani*. 2013.
- [10] Poveda J, Abril-Urias P. and Escobar, C. Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes by Filamentous Fungi Inducers of Resistance: Trichoderma, Mycorrhizal and Endophytic Fungi', *Frontiers in Microbiology*. 2020; 11(May):1–14. doi:10.3389/fmicb.2020.00992.
- [11] Benedetti T, *et al.* Microorganisms in the biological control of root-knot nematode: A metanalytical study', *Research, Society and Development*. 2021; 10(6):e39310615209. doi:10.33448/rsd-v10i6.15209.
- [12] Monnerat R. *et al.* Manual de produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de bactérias do gênero *Bacillus* para uso na agricultura. 2020.
- [13] Gonçalves OS, *et al.* Prospecção de *Bacillus subtilis* como agente de biocontrole contra *Fusarium sp.* *Revista Mirante* (ISSN 1981-4089), 10(1):132-142.
- [14] Ikeda AC, *et al.* Bioprospecção de bactérias elite promotoras do crescimento vegetal para a cultura do milho. *Acta Scientiarum. Agronomy*. 2020; 42: e44364.
- [15] De Almeida JRM, Collares DG, Barbosa PFD. Bioprospecção microbiana. 2015.
- [16] Iwanicki NS, *et al.* Controle de qualidade de produtos microbiológicos', in *Bioinsumos na cultura da soja*. 2022; p.550.
- [17] Dos Santos HG, *et al.* Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, DF: Embrapa, 2018.
- [18] Santos EA, *et al.* Bioprospecção de rizobactérias promotoras do crescimento em alfaca. In: *Colloquium Agrariae*. ISSN: 1809-8215. 2010; 08-13.
- [19] Tomazeli LM. Microrganismos solubilizadores de fosfatos e fontes de fósforo na cultura da aveia-branca cultivada em latossolo vermelho. Universidade Federal da Fronteira Sul. 2022.