JOURNAL OF EDUCATION, SCIENCE AND HEALTH – JESH
Revista de Educação, Ciência e Saúde
DOI: https://doi.org/10.52832/jesh.v6i2.705
Home page: https://bio10publicacao.com.br/jesh
e-ISSN: 2763-6119

PROTOCOLO PARA ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE MICRO-ORGANISMO NATIVO OBTIDO PRÓXIMO À NASCENTE DO CÓRREGO CAÇADOR, CATALÃO - GO

PROTOCOL FOR ISOLATION AND BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF AN NATIVE MICROORGANISM OBTAINED NEAR THE SPRING OF THE CAÇADOR STREAM, CATALÃO - GO

PROTOCOLO PARA EL AISLAMIENTO Y LA CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE UN MICROORGANISMO NATIVO OBTENIDO CERCA DEL NACIMIENTO DEL ARROYO CAÇADOR, CATALÃO - GO

Naylla Rafaela Mendes Soares[1]; **Thais Rodrigues Marcolino**[2]; **Gabriel de Melo Neto**[3]; **Jupyracyara Jandyra de Carvalho Barros**[4]

[1]Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Catalão (UFCAT). Estudante, Universidade Federal de Catalão (UFCAT), Catalão, Goiás, Brasil; [2]Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Catalão (UFCAT). Estudante, Universidade Federal de Catalão (UFCAT), Catalão, Goiás, Brasil; [3]Professor, Doutor, Instituto Federal Goiano (IFG). Docente, Catalão, Goiás, Brasil, [4]Professora, Doutora, Universidade Federal de Catalão (UFCAT). Docente e serviços administrativos, Catalão, Goiás, Brasil;
*Autor correspondente: nayprofi@gmail.com.

Recebido: 10/05/2026 | **Aprovado**: 20/07/2026 | **Publicado**: 31/08/2026

Resumo: O isolamento e caracterização de Bactérias Promotoras do Crescimento de Plantas (BPCPs) tem ganhado cada vez mais espaço nas pesquisas, pois essas constituem o grupo de micro-organismos eficientes que estabelecem relação harmônica com as plantas, auxiliando-as no crescimento e/ou defesa frente aos fitopatógenos. Geralmente, os micro-organismos eficientes são isolados de área isenta de antropização. O presente estudo teve como objetivo isolar e caracterizar micro-organismos nativos em uma Área de Preservação Permanente (APP) próxima à nascente do córrego Caçador, no perímetro urbano de Catalão - GO. Para a coleta, suportes de bambu contendo arroz foram mantidos na APP sob uma serapilheira por 5, 10 e 15 dias. Após esse período, foram selecionados os grãos de arroz nas cores alaranjado, amarelo e rosa, por se tratarem carreadores de micro-organismos regenerativos. Apenas os suportes de 5 e 10 dias apresentaram tais características. Ensaios laboratoriais foram realizados para o cultivo, isolamento e caracterização de exemplares do grupo bacteriano. Foram obtidos 22 isolados apresentando morfotipo bacilar com diversidade quanto ao arranjo, Gram positivo, aeróbios e com capacidade esporulante. A combinação do resultado fenotípico das células, esporos e caracterização bioquímica permitiu classificar os micro-organismos como pertencentes ao gênero *Bacillus*. É imprescindível realizar a prospecção tecnológica desses *Bacillus* spp em escala de bancada para confirmação da estabilidade metabólica certificar a eficiência desses isolados para fins de promoção ou proteção das plantas, como a produção de biofilme e atividade *swarming*.

Palavras-chave: *Bacillus spp*. Micro-organismos autóctones. Produção regenerativa

Abstract: The isolation and characterization of *Plant Growth Promoting Bacteria* (PGPB) has increasingly gained space in research, as these constitute a group of efficient microorganisms which establish harmonious relationships with plants, assisting them in growth and/or defense against phytopathogens. Typically, efficient microorganisms are isolated from areas free from anthropogenic influence. The present study aimed to isolate and characterize native microorganisms in a Permanent Preservation Area (PPA) near the spring of the Caçador stream, within the urban perimeter of Catalão - GO. For sampling, bamboo supports containing rice were kept in the PPA under a layer of leaf litter for 5, 10, and 15 days. After this period, rice grains showing orange, yellow, and pink colors were selected, as they act as carriers of regenerative microorganisms. Only the supports kept for 5 and 10 days displayed these characteristics. Laboratory tests were performed for the cultivation, isolation, and characterization of bacterial specimens. A total of 22 isolates exhibiting bacillary morphotypes with diversity in arrangement were obtained; they were Gram-positive, aerobic, and spore-forming. The combination of phenotypic results from cells, spores, and biochemical characterization allowed the classification of these microorganisms as belonging to the genus *Bacillus*. It is essential to carry out technological prospecting of these *Bacillus spp.* at the bench scale to confirm metabolic stability and ensure the efficiency of these isolates for purposes of plant promotion or protection, such as biofilm production and swarming activity.

Keywords: *Bacillus spp.* Autochthonous microorganisms. Regenerative production.

Resumen: El aislamiento y la caracterización de Bacterias Promotoras del Crecimiento de Plantas (BPCP) han ganado cada vez más espacio en la investigación, ya que constituyen el grupo de microorganismos eficientes que establecen una relación armónica con las plantas, auxiliándolas en su crecimiento y/o defensa frente a los fitopatógenos. Generalmente, los microorganismos eficientes se aíslan de áreas libres de antropización. El presente estudio tuvo como objetivo aislar y caracterizar microorganismos nativos en un Área de Preservación Permanente (APP) próxima al nacimiento del arroyo Caçador, en el perímetro urbano de Catalão - GO. Para la recolección, soportes de bambú con arroz se mantuvieron en la APP bajo una capa de hojarasca durante 5, 10 y 15 días. Después de este período, se seleccionaron los granos de arroz de color anaranjado, amarillo y rosa, por ser portadores de microorganismos regenerativos. Solo los soportes de 5 y 10 días presentaron tales características. Se realizaron ensayos de laboratorio para el cultivo, aislamiento y caracterización de ejemplares del grupo bacteriano. Se obtuvieron 22 aislados con morfotipo bacilar, diversidad en el arreglo, Gram positivos, aerobios y con capacidad esporulante. La combinación de los resultados fenotípicos de las células, esporos y la caracterización bioquímica permitió clasificar los microorganismos como pertenecientes al género *Bacillus*. Es imprescindible realizar la prospección tecnológica de estos *Bacillus* spp. a escala de laboratorio para confirmar la estabilidad metabólica y certificar la eficiencia de estos aislados para fines de promoción o protección de las plantas, como la producción de biofilm y la actividad "swarming".

Palabras-clave: *Bacillus spp.* Microorganismos autóctonos. Producción regenerativa.

1 INTRODUÇÃO

Os micro-organismos eficientes têm sido estudados como alternativa para o manejo do solo destinado à produção de alimentos. Neste propósito, destacam-se as Bactérias Promotoras do Crescimento de Plantas (BPCPs), que são exemplares epifíticos e endofíticos não fitopatógenos (Alori et al., 2017; Zaeim et al., 2017; Alori; Babalola, 2018) capazes de realizar a bioconversão de nutrientes do solo como fósforo, nitrogênio e potássio, facilitando a absorção desses pela planta (Vieira et al., 2020).

As BPCPs podem ser aplicadas nos diversos estágios do cultivo vegetal, desde o preparo da semente até a pós-colheita. Na condição de inoculantes, as BPCPs podem ser aplicadas de forma isolada, com apenas uma espécie, ou em consórcio, quando há mais de uma espécie envolvida (Mariano et al., 2004; Nakatani et al., 2024).

Nas plantas, o efeito das BPCPs pode ser direto ou indireto. A ação direta está associada a nutrição vegetal como a biossolubilização de fósforo, assimilação de nitrogênio e síntese de fitohormônios (Souza et al., 2015). Por outro lado, considera-se como efeito indireto quando as BPCPs conferem ao hospedeiro a proteção ou tolerância a estresse biótico, ação de agentes patogênicos, e abiótico, condições de acidez, salinidade e temperatura (Tonelli et al., 2010; Radhakrishnan et al., 2014; Vieira et al., 2020). Dentre os gêneros bacterianos que integram as BPCPs estão *Bacillus, Bradyrhizobium, Burkholderia, Enterobacter, Rhizobium, Streptomyces* (Mariano et al., 2004, Oliveira et al., 2014; Aquino et al., 2019; Dias; Santos, 2022).

As BPCPs compreendem bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas (Orem, 2019), com distribuição cosmopolita, sendo encontrados em solo, superfície e raízes das plantas (Dias; Santos, 2022). Em condições ambientais estressantes, algumas bactérias entram em estágio latente, também denominado esporulado, condição em que podem preservar o material genético da célula (Drick, 2002; Piggot et al., 2004; Cavalcante, 2014). Em

condições laboratoriais, as BPCPs, são comumente cultivadas em meio líquido e sólido a base de triptona de soja, caldo (TSB) e ágar (TSA), respectivamente. De modo geral, nestes meios, a homeostase celular é assegurada pelos aminoácidos e peptídeos que são os nutrientes e pelo cloreto de sódio que confere o equilíbrio osmótico (SILVA et al., 2011).

No meio sólido, as células formam agrupamentos chamados unidade formadora de colônia (UFC) ou colônia, visíveis a olho nu, permitindo visualizar características macroscópicas como borda, brilho, consistência, cor, elevação, forma, tamanho, textura e transparência (NOSOLINE et al., 2010). As células individualizadas de BPCPs podem ser observadas em microscopia simples sendo classificados como bastonetes Gram negativo ou Gram positivos isolados ou em arranjos (VELLOSO, 2019).

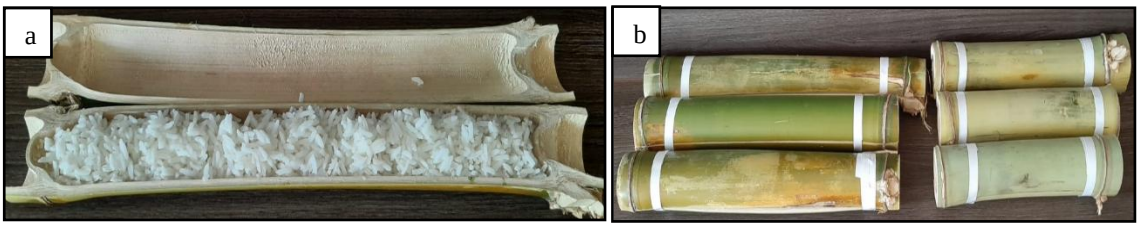
Face ao exposto e considerando a população microbiana presente no bioma cerrado, este estudo teve como objetivo isolar e caracterizar micro-organismos nativos do solo próximo à nascente do córrego Caçador em Catalão - GO.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo do suporte para coleta dos micro-organismos

Para a coleta de micro-organismos, foram utilizados arroz cozido sem condimentos e bambu com cerca de 20 cm de comprimento, previamente posicionado de forma longitudinal. Inicialmente, em um bécker, 700 gramas de arroz foram homogeneizadas com água deionizada, seguido do tratamento com vapor fluido em autoclave até o completo cozimento. Logo após, 100 gramas foram transferidas cuidadosamente para uma das faces do bambu.

Figura 1 – Suportes para coleta de micro-organismos nativos
(a: bambu cortado com 100g de arroz cozido; b: bambu fechado e pronto para disposição à campo).



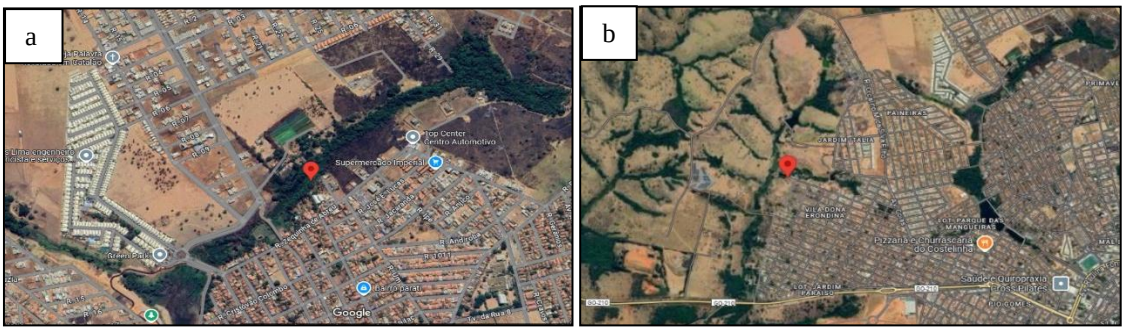
Fonte: Soares (2024)

O bambu, foi devidamente fechado com a outra face com auxílio de uma fita e barbante de modo a impedir o extravasamento do arroz. Em seguida, os suportes de bambu foram encaminhados para a área de coleta (ANDRADE, 2020). Foram organizados 3 suportes de bambu com arroz para cada ponto de coleta.

2.2 Área de estudo e coleta dos micro-organismos no ambiente

No mês de setembro de 2024, foram selecionados dois pontos para o estudo, próximos ao Córrego Caçador no perímetro urbano de Catalão - GO (Figura 2). Em cada ponto, as amostras foram posicionadas de modo a preservá-las do fluxo de água do córrego.

Figura 2 – Imagens via satélite *Google Maps* das áreas de coleta (a: Ponto 1; b: Ponto 2).



Fonte: *Google Maps,* 2024.

O primeiro está localizado na Rua Travessa Zequinha de Abreu, 41 - Bairro Dos Lucas - 18°09'35.6"S 47°58'38.9"W e trata de uma área de preservação ambiental (APP) em que parte da área há atividades de cunho filantrópico (Figura 2a). O segundo está localizado na Rua Treze de Maio - Jardim Paraíso - 18°09'03.5"S 47°57'30.9"W (Figura 2b). Para a coleta, com auxílio de um sancho, em cada ponto demarcado, foi realizada uma perfuração no solo de aproximadamente 15 cm de profundidade para deposição do suporte de bambu. Posteriormente, esse suporte foi coberto com solo e serrapilheira disponível no local e mantidos neste ambiente por 5, 10 e 15 dias (ANDRADE, 2020) para posterior ensaios no Centro de Excelência em Bioinsumos - Unidade de Transferência e Tecnologia (UTT) Catalão e Laboratório de Bioquímica da Universidade Federal de Catalão (LABIM-UFCAT).

2.3 Avaliação e seleção dos grãos de arroz

Para a seleção de micro-organismos nativos com potencial regenerativos, apenas os grãos de cores amarelo, alaranjado e rosa foram selecionados e transferidos, cuidadosamente, com auxílio de uma pinça aço inox devidamente higienizada para um frasco contendo 30 mL de caldo infusão cérebro e coração - CICC (do inglês BHI - *Brain Heart Infusion*). Após rápida homogeneização, os frascos foram incubados a 37°C por 24 horas. Os grãos de arroz nas cores cinza, marrom e preto foram descartados na natureza, por representarem o grupo de micro-organismos decompositores.

2.4 Cultivo e isolamento no meio sólido

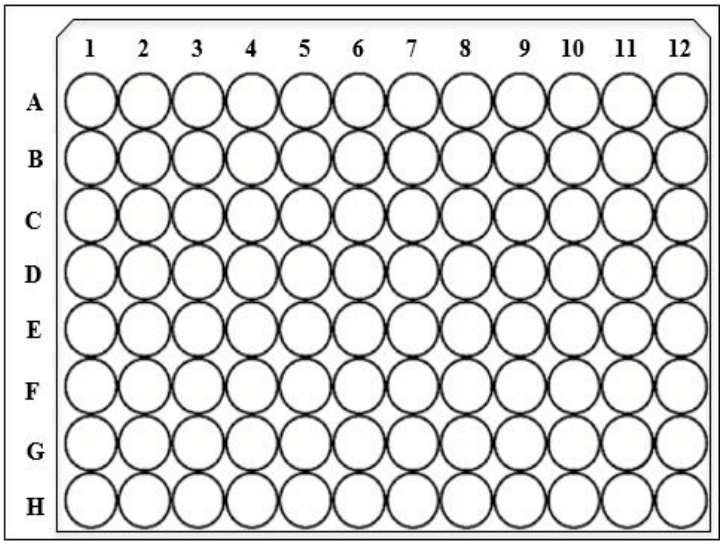
Em placas contendo meio ágar TSA, cada amostra foi submetida ao isolamento por estrias compostas utilizando alça de platina. Em seguida, as placas foram incubadas de forma invertida a 30°C até o aparecimento e

desenvolvimento das colônias. Posteriormente, as unidades formadoras de colônias (UFC) isoladas foram devidamente caracterizadas.

2.5 Padronização do inóculo e caracterização dos isolados

As colônias foram repicadas em meio TSB e incubadas a 30°C por 24 horas. Em seguida, cada isolado foi padronizado em solução fisiológica a 0,85 % (m/v) estéril para a escala 0,5 de McFarland, correspondendo a $1x10^8$ células por mililitro (mL). O inóculo padronizado foi submetido a ensaios de bioquímicos e fisiológicos. Para os ensaios descritos nas seções 2.5.1 a 2.5.5 foram empregadas microplacas de polipropileno, fundo chato, estéril apresentando 96 poços com capacidade volumétrica de 200 µL (microlitros) organizados em 12 colunas identificadas por números arábicos e 8 linhas identificadas por letras do alfabeto (Figura 3).

Figura 3 – Esquema da microplaca de polipropileno com 96 poços empregada nos ensaios descritos em 2.5.1 a 2.6.4.



Fonte: Google, 2024.

As cepas *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus, Bacillus subtilis, Bacillus thuringiensis, Chromobacterium subtsugae, Priestia aryabattai, Priestia megaterium* da SOLUBIO e *Geobacillus stearothermophilus* da Biological Tests foram utilizados como controle. Todos os ensaios foram realizados em triplicata e em condições assépticas utilizando o fluxo laminar.

2.5.1 Teste do citrato, crescimento em aerobiose/anaerobiose e sal

Para verificar a capacidade do micro-organismo em utilizar o citrato como única fonte de carbono, 10µL de cada isolado foi inoculado em 190µL de meio citrato suplementado com o corante azul de bromotimol a 0,001%. Após incubação a 30°C por 24 horas sem agitação, a alteração da cor verde inicial para azul, indica uso do citrato, portanto teste positivo. A ausência de alteração indica teste negativo.

O crescimento em condição aeróbica foi avaliado a partir da inoculação de 10µL de cada isolado em 190µL de TSB suplementado com o corante azul de metileno à 0,001%. Após incubação a 30°C por 24 horas sem agitação, a alteração da cor azul escuro inicial para azul claro, indica positividade, ou seja, micro-organismo aeróbio. A ausência de alteração indica teste negativo. Para o teste de anaerobiose, 10 µL de cada isolado foi inoculado em 180µL de TSB suplementado com o corante azul de metileno a 0,001% e selado com 10 µL de glicerina estéril para conferir condição anaeróbica. Posteriormente, a microplaca foi colocada em jarra de anaerobiose juntamente com gerador de dióxido de carbono (CO_2). Após incubação a 30°C por 24 horas sem agitação, a alteração da cor azul escuro inicial para azul claro, indica positividade, ou seja, micro-organismo anaeróbio. A ausência de alteração indica teste negativo.

A capacidade do micro-organismo de crescer em condições de alta salinidade foi avaliada a partir da inoculação de 10µL de cada isolado em 190µL de TSB contendo 7,5% e 10% de cloreto de sódio (NaCl) suplementado com vermelho de fenol a 0,001%. Após incubação a 30°C por 24 horas sem agitação, a alteração da cor alaranjado inicial para amarelo, indica positividade, ou seja, micro-organismo halotolerante. A ausência de alteração indica teste negativo.

2.5.2 Síntese de enzimas

Para esta etapa, foi avaliada a capacidade do micro-organismo produzir a enzima catalase e nitrato redutase. No teste da catalase, em uma lâmina previamente higienizada, foi depositado 10uL da cultura overnight, seguida da adição de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 3%. A leitura foi realizada imediatamente e o resultado anotado como negativo diante a ausência de desprendimento de bolhas ou positivo frente a presença de bolhas.

O caldo nitrato foi utilizado para o teste nitrato redutase. Nos poços da microplaca de polipropileno de fundo chato contendo 141µL do caldo foram adicionados 10µl do micro-organismo. Após incubação a 30°C por 24 horas sem agitação, foram adicionados 12µL da solução 0,8% ácido sulfanílico e 12µL 0,5% α-naftol. Após 10 minutos, a presença da cor vermelha indicou que o micro-organismo foi capaz de redução de nitrato (NO_3) a nitrito (NO_2), ou seja, produção da enzima. Diante da ausência dessa cor, em cada amostra foi adicionada uma pitada de pó de zinco, sendo que o resultado incolor indicou que o micro-organismo produziu a enzima, pois foi capaz de reduzir nitrato (NO_3) a amônia (NH_3) e a presença de cor rósea indicava ausência da enzima.

2.5.3 Decomposição de aminoácidos e metabolismo de açúcares

Neste teste, foram preparadas, individualmente, 180µL dos aminoácidos arginina e tirosina e carboidratos glicose a 10%. Em seguida, foram inoculados 10µL de cada isolado seguido da adição de 10µL do corante azul de metileno a 0,001%. Após incubação a 30°C por 24 horas sem agitação, a alteração da cor azul

escuro inicial para azul claro, indica positividade, ou seja, micro-organismo capaz degradar os aminoácidos e metabolizar os substratos. A ausência de alteração indica teste negativo.

2.5.4 Coloração diferencial de Gram

Neste ensaio, procedeu-se ao esfregaço de cada isolado na superfície de uma lâmina previamente higienizada. Após fixação por calor, o esfregaço foi submetido à técnica de coloração diferencial de Gram. Após, cada lâmina foi observada em objetiva de imersão e verificada a assimilação da cor rósea-avermelhada ou violeta, indicando a presença de micro-organismos Gram negativos ou Gram positiva, respectivamente.

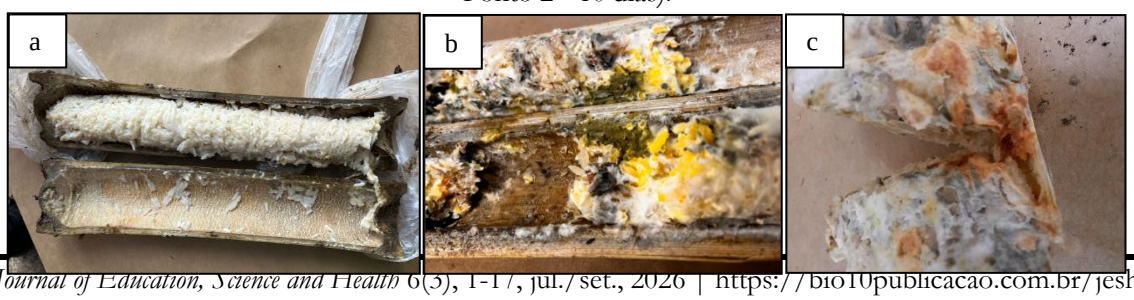
2.5.5 Capacidade esporulante dos isolados

Os isolados foram repicados em meio TSA inclinado e incubados a 30°C por 24 horas. Após, os tubos foram mantidos em temperatura ambiente por 3 dias para promover o envelhecimento da cultura com consequente formação de esporos e a lise. Posteriormente, procedeu-se ao esfregaço de cada isolado na superfície de uma lâmina previamente higienizada. Após fixação por calor, o esfregaço foi coberto de corante azul brilhante de Comassie por 3 minutos seguido do enxágue com água deionizada. Em seguida, a lâmina foi seca e observada em objetiva de imersão. Foram verificadas a presença de esporos livres (incolores), células vegetativas (coradas em azul), bacilos corados em azul e cristais livres corados de azul intenso, tetragonais e bem menores que as células vegetativas, células vegetativas com esporos e cristais no interior (esporos e cristais incolores).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, foi possível observar que o tempo e local de exposição ao solo interferiu na coleta de micro-organismos regenerativos do ambiente a partir da matriz de arroz. Para a amostra de 5 dias do Ponto 1, o arroz se apresentou com uma massa de cor branco leitoso com odor característico de esgoto domiciliar (Figura 4a). Provavelmente, seja resultado da elevada umidade encontrada no solo, mesmo sem registro de chuva para aquele período. Essa amostra foi descartada.

Figura 4 – Suportes de bambu após 5 e 10 dias sob a serrapilheira em uma Área de Preservação Permanente (APP) próxima à nascente do córrego Caçador, no perímetro urbano de Catalão – GO (a: Ponto 1 - 5 dias; b: Ponto 2 - 5 dias; c: Ponto 2 - 10 dias).



Fonte: Soares (2024).

Em se tratando dos tempos de exposição, apenas os suportes de 5 e 10 dias do Ponto 2, revelaram a presença de micro-organismo com potencial regenerativo, pois foram os únicos que tiveram grãos de arroz nas cores alaranjado, amarelo e rosa (Figura 4b, 4c). De acordo com Andrade (2022), o tempo de exposição permite a colonização e proliferação dos micro-organismos.

Todo micro-organismo experimenta uma fase de adaptação, também denominada fase Lag (Madigan; Martinko; Parker, 2004). É nesta etapa em que a célula reconhece, por sinais químicos, os fatores abióticos e bióticos que podem favorecer ou comprometer a perpetuação da espécie. Em ambientes antropizados por exemplo, o acúmulo de matéria orgânica é facilmente degradado por micro-organismos com propriedades decompositoras, resultando em um ambiente parcial ou totalmente anóxico e com acúmulo de ácidos orgânicos que deixa o ambiente ácido (Kennedy; Papendick, 1995; Stenberg, 1999; Tótola; Chaer, 2002). A escassez de oxigênio, pode dificultar a proliferação de micro-organismos regenerativos, como *Bacillus* spp que apresentam melhor desempenho em ambientes aeróbicos.

A afirmação anterior, possivelmente explique a maior presença de micro-organismos regenerativos no Ponto 2, por se tratar de um ambiente com menor ação antrópica quando comparada ao Ponto 1. Neste último ponto, embora se apresente com APP foi possível perceber a contaminação por fezes de animais de grande porte, resíduos sólidos (parte de móveis, sacolas plásticas, ferragens) facilmente dispensada na área.

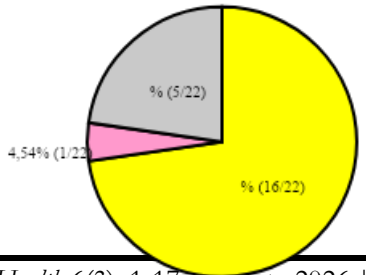
Na coleta de 15 dias, as amostras estavam em total processo de deterioração, apresentando forte odor, com os grãos de arroz apresentando coloração cinza e preto. A amostra foi descartada.

3.1 Caracterização dos isolados a partir da cor do arroz

Neste estudo, foi possível isolar 22 (100%) exemplares e a cor do arroz foi o ponto de partida para a categorização dos micro-organismos (Figura 5). O arroz de cor amarelo foi o predominante e a partir deste foi possível isolar 72,73% (16/22) de bactérias (Figura 5), sendo MM_1, MM_2, MM_3, MM_4, MM_5, MM_6, MM_7, MM_{17}, MM_{18}, MM_{19}, MM_{20L}, MM_{20B}. Todos esses exemplares foram isolados do ponto 2 após 5 dias.

Para os suportes de bambu com 10 dias, houve o surgimento de arroz alaranjado, equivalente a 22,73% (5/22) dos isolados. Neste período também foi possível isolar 4,54% (1/22) exemplar resultante do arroz rosa.

Figura 5 – Categorização dos micro-organismos com potencial regenerativo a partir da cor do arroz.



Fonte: Soares (2025).

Um estudo sobre a interferência antrópica em diferentes solos brasileiros aponta que essas ações podem modificar significativamente o perfil natural do solo, resultando na formação de camadas com materiais distintos, variando em espessura, composição, pH, atividades físico-químicas. Essas alterações antropogênicas afetam diretamente o microbioma do solo, alterando sua composição, diversidade e funcionalidade (LADEIRA, 2012. QUEVEDO et al., 2023).

3.2 Caracterização bioquímica

Diversos métodos estão sendo utilizados em uma abordagem interprofissional, para obter uma classificação mais completa dos micro-organismos estudados, desde a sua relação direta ao ambiente de origem, metabolismo em condições controladas de laboratório e após sua reintegração ao bioma de origem ou outros espaços.

No ambiente laboratorial, foi possível perceber diferenças dos isolados quanto à bioconversão dos substratos empregados para fins de diagnóstico. Na Tabela 1, é possível observar os testes empregados na caracterização dos isolados: aerobiose (ae), anaerobiose (an), citrato (cit), sal (7,5% e 10%), glicose (gli), lactose (lac), arginina (arg), manitol (man.), sacarose (sac), tirosina (tir), xilose (xil) e nitrato redutase (nit).

Tabela 1 – Caracterização bioquímica dos isolados.

Isolados	An.	Ae.	Cit.	$NaCl_{7,5\%}$	$NaCl_{10\%}$	Gli.	Lac.	Arg.	Man.	Sac.	Tir.	Xil.	Nit.
MM_1; MM_2	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
MM_{3-6}, MM_{13-16}, MM_{21}	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+/-
MM_7	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
MM_8 e MM_{20}	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
MM_9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
MM_{10}	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
MM_{11}	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
MM_{12}; MM_{19}	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+
MM_{17}; MM_{18}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MM_{22}*(Bacillus amyloliquefaciens)*	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+

MM_{23} *(Bacillus pumilus)*	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
MM_{24} *(Bacillus subtilis)*	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+
MM_{25} *(Bacillus thuringiensis)*	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+
MM_{26} *(B.Chromobacterium subtsugae)*	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+
MM_{27} *(Priestia aryabattai)*	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+
MM_{28}*(Priestia megaterium)*	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+
MM_{29}*(Geobacillus stearothermophilus)*	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+

Fonte: Soares (2025).

Ao serem cultivados em aerobiose e anaerobiose, 95,45% (21/22) e 95,45% (21/22) dos isolados cresceram nestas condições. Os isolados MM_{10} e MM_{24} (*Bacillus subtilis*) foram os únicos incapazes de crescer em anaerobiose, indicando a dependência por ambiente tóxico. Em condições anaeróbicas, as BPCPs sintetizam compostos orgânicos voláteis (COV), fator importante para assegurar a tolerância da planta ao estresse abiótico como o déficit hídrico (Narayanasamy; Uthand, 2024).

No contexto nutricional bacteriano, o carbono é considerado macronutriente pois é necessário para constituir as três grandes macromoléculas, carboidratos, lipídeos e proteínas (Madigan, Martinko; Parker, 2004) imprescindíveis ao metabolismo primário. Neste estudo, 95,45% dos isolados foram capazes de utilizar o citrato como fonte de carbono. Os isolados também foram capazes de utilizar glicose 100% (22/22), lactose 81,81% (18/22), sacarose 68,18% (15/22) e xilose 54,54,% (12/22) como fonte de carbono. Os isolados MM_1, MM_2, MM_9 e MM_{11}, não foram capazes de fermentar a xilose.

Com exceção dos isolados MM_1, MM_2, MM_7, MM_8, MM_{10} e MM_{20}, os demais 72,72% (16/22) foram capazes de crescer em salinidade igual a 7,5%, enquanto MM_9, MM_{17} e MM_{18} também foram capazes de crescer em salinidade de 10%. Micro-organismos possuem capacidade de tolerar e adaptar-se ao estresse osmótico causado pela salinidade, demonstrando sua tendência de se ajustar às mudanças ambientais para evitar a morte ou inatividade.

Em um estudo sobre estresse salino, Rietz e Haynes (2003) menciona que o menor teor de salinidade resulta em uma comunidade microbiana menos estressada e mais eficiente no uso de carbono como recurso. Além disso, independente da salinidade inicial, a respiração diminui com o aumento da salinidade (Asgha et al., 2012. Yan; Maschner, 2012).

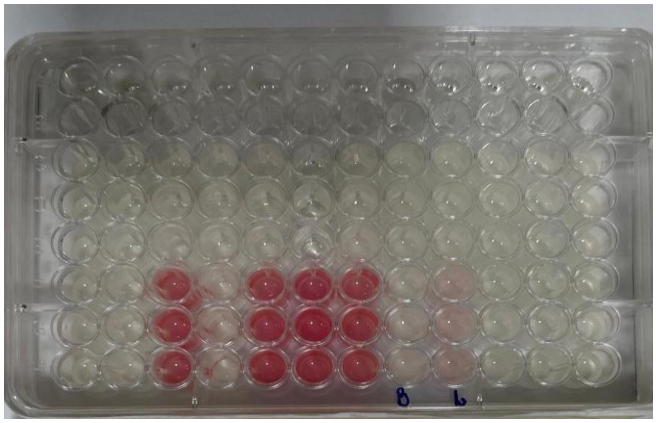
Ambientes salinos, geralmente são habitados por diversos grupos de organismos halotolerantes, que apresentam modificações fisiológicas e estruturais adaptadas às condições de salinidade. Em ambientes salinos, diversas comunidades halotolerantes se desenvolvem, apresentando adaptações fisiológicas e estruturais que permitem sua sobrevivência nas condições de alta salinidade. Essas comunidades mais resistentes ao sal exibem modificações tanto fisiológicas quanto estruturais, adaptadas às condições salinas (Freitas, 2016).

Alguns micro-organismos do gênero *Bacillus*, metabolizam aminoácidos não proteinogênicos e proteinogênicos, como arginina e tirosina como fonte de carbono, energia e nitrogênio (Warneke et al., 2023). Nesse estudo, arginina e tirosina também foram metabolizadas por 72,72% (16/22) e 100% (22/22) dos isolados, respectivamente. Os isolados MM_7, MM_8, MM_{10}, MM_{12}, MM_{19}, e MM_{20} não foram capazes de metabolizar a arginina.

Foi observado que 55,2% dos isolados foram capazes de produzir ácido a partir do manitol. A nitrato redutase é essencial para o metabolismo do nitrogênio. É uma enzima que regula a taxa de síntese de proteínas em plantas que utilizam o nitrato como principal fonte de nitrogênio (COELHO, 2001). Foi efetuado o teste de nitrato redutase para avaliar a capacidade dos isolados de realizar a bioconversão.

A observação da viragem de cor para vermelho em alguns isolados (MM_{15}, MM_{17}, MM_{18} e MM_{19}) indica a presença de nitrito, sugerindo que esses isolados têm a capacidade de reduzir nitrato a nitrito pela ação da enzima nitrato redutase (Figura 6).

Figura 6 – Fotodocumentação da microplaca após o teste da nitrato redutase.



Fonte: Soares (2025).

A ausência de coloração nos demais isolados pode indicar que elas não possuem essa capacidade. A adição de pó de zinco foi uma tentativa de verificar se essas amostras poderiam reduzir o nitrato a amônia, mas a falta de mudança de cor sugere que essa redução não ocorreu. Isso pode ser devido à incapacidade das bactérias de realizar essa redução.

No teste de catalase, a maioria dos isolados apresentou resultados positivos, indicando a presença da enzima catalase, que é capaz de decompor o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. No entanto, os isolados MM_5 e MM_{23} (*Bacillus pumilus*) foram exceções, apresentando resultados negativos, o que sugere que eles não possuem essa enzima. A catalase desempenha um papel importante na defesa celular. É uma enzima que a maioria das bactérias aeróbicas possuem. Esta enzima decompõe o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio.

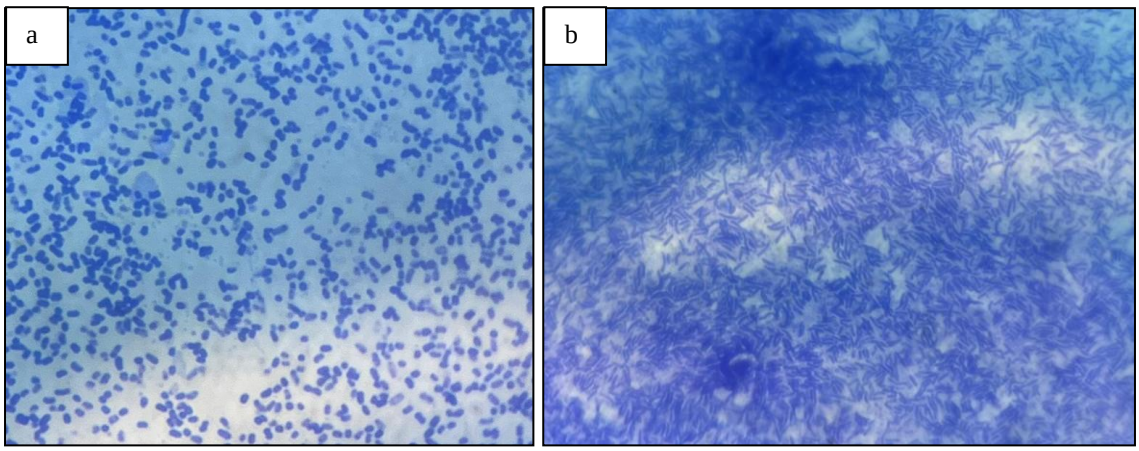
Essa enzima contribui para o aumento da tolerância ao estresse, ajudando a regular as respostas e a aclimatação às condições ambientais adversas (NAKAMURA, 2012).

A metodologia utilizada no estudo permitiu isolar e caracterizar 22 exemplares bacterianos, com predominância do gênero *Bacillus*, a partir de amostras de arroz expostas por 5 e 10 dias em um ambiente com menor ação antrópica. Isso sugere que o ambiente estudado teve um impacto limitado pela atividade humana, o que pode ter influenciado a diversidade e a composição das comunidades bacterianas presentes nas amostras de arroz.

3.3 Análise fenotípica das células e dos esporos

A análise fenotípica das células e esporos (Figura 6) revelou uma ampla variedade de morfologias e organizações celulares, refletindo diferenças estruturais significativas entre as amostras.

Figura 6 – Lâminas contendo esporos de *Bacillus* autóctones (a MM_{11} (Oval central); b *Chromobacterium subtsugae*, (Não esporula) 100x).



Fonte: Soares (2025).

Neste estudo, todas as bactérias autóctones mostraram capacidade esporulante. Todos os isolados foram caracterizados quanto à morfologia celular usando microscopia de luz. As células observadas apresentaram em sua maioria uma morfologia diferente entre os bacilos e algumas variações sobre os arranjos (Tabela 2) e esporos (Tabela 3).

Tabela 2 – Caracterização microscópica das células e esporos.

Isolados	Morfotipo	Arranjos
MM_1;MM_{15};MM_{17}; MM_{20}	Bacilos pequenos e grossos	Individuais e diplobacilos

MM_2	Bacilos médios e grossos	individuais e diplobacilos
MM_3	Bacilos médios e grossos	Diplobacilos e estreptobacilos
MM_4 e MM_5	Bacilos médios e grossos	Diplobacilos
MM_6	Bacilos pequenos e grossos	Estreptobacilos
MM_7; MM_8 e MM_9	Bacilos muito pequenos a pequenos e grossos	Diplobacilos e estreptobacilos
MM_{10}	Bacilos pequenos e estreitos	Diplobacilos
MM_{11}; MM_{14}; MM_{18} e MM_{19}	Bacilos pequenos a médios e grossos	Individuais e diplobacilos
MM_{10}	Bacilos pequenos e estreitos	Diplobacilos
MM_{12}	Bacilos muito pequenos e grossos	Individuais e diplobacilos
MM_{13}	Bacilos pequenos	Individuais e diplobacilos
MM_{16}	Bacilos médios e grossos	Individuais, diplobacilos e estreptobacilos
MM_{21}	Bacilos médios grandes e grossos	Individuais, diplobacilos e estreptobacilos
MM_{22}*(Bacillus amyloliquefaciens)*	Bacilos pequenos a grandes e grossos	Isolados, diplobacilos e estreptobacilos
MM_{23}*(Bacillus pumilus)*; MM_{25}*(Bacillus thuringiensis)* e MM_{28}*(Priestia megaterium)*	Bacilos médios a grandes e grossos	Isolados, diplobacilos e estreptobacilos
MM_{24}*(Bacillus subtilis)*	Bacilos muito pequenos a médios e grossos	Isolados, diplobacilos e estreptobacilos
MM_{26}*(B. Chromobacterium subtsugae)*	Bacilos médios e estreitos	Diplobacilos
MM_{27}*(Priestia aryabattai)*	Bacilos pequenos e médios grossos	Isolados e diplobacilos
MM_{29}*(Geobacillus stearothermophilus)*	Bacilos grandes	Isolados

Fonte: Soares (2025).

Tabela 3 – Características fenotípicas dos esporos.

Isolado	Localização do esporo	Morfologia do esporo
MM_1	Central/Subterminal	Esférico

MM_2	Central/Subterminal	Esférico
MM_3	Central/Subterminal	Esférico
MM_4	Subterminal	Esférico
MM_5	Subterminal	Oval
MM_6	Central	Oval
MM_7	Central	Oval
MM_8	Central	Oval
MM_9	Terminal	Oval
MM_{10}	Central	Oval
MM_{11}	Central	Oval
MM_{12}	Central	Oval
MM_{13}	Terminal	Esférico
MM_{14}	Central	Oval
MM_{15}	Central	Oval
MM_{16}	Central	Oval
MM_{17}	Central	Oval
MM_{18}	Central	Oval
MM_{19}	Central	Oval
MM_{20}	Central	Oval
MM_{21}	Central	Oval
MM_{22}*(Bacillus amyloliquefaciens)*	Central	Oval
MM_{23}*(Bacillus pumilus)*	Central	Oval
MM_{24}*(Bacillus subtilis)*	Subterminal	Oval
MM_{25}*(Bacillus thuringiensis)*	Central	Oval
MM_{27}*(Priestia aryabattai)*	Central	Oval
MM_{28}*(Priestia megaterium)*	Central	Oval
MM_{29}*(Geobacillus stearothermophilus)*	Central	Oval

Fonte: Soares (2025)

As amostras MM_1, MM_{15}, MM_{17}, MM_{20}, apresentaram bacilos pequenos e grossos dispostos isoladamente ou em diplobacilos. Além disso, a presença de esporos entre os isolados MM_{15}; MM_{17} e MM_{20} com localização Central/Oval e morfologia esférica. Em MM_1 a presença de esporos Central/Subterminal foi um aspecto distintivo.

De forma semelhante, MM_7, MM_8 e MM_9 também exibiram essas características, mas com dimensões celulares variando de muito pequenos a pequenos. As características dos esporos foram observadas em MM_7 e MM_8 localização central e morfologia oval e MM_9 terminal e oval.

Aos isolados MM_2, MM_3, MM_4, MM_5 e MM_{16} exibiram características celulares de bacilos médios e grossos, variando os arranjos em individuais, diplobacilos e estreptobacilos. A presença de esporos com localização subterminal e central com morfologia esférica e oval.

Diferenças quanto ao tamanho e arranjo dos bacilos foram observados para MM_6, MM_{10}, MM_{11}, MM_{14}, MM_{18}, MM_{19}, MM_{20}, MM_{21}, MM_{22} (*Bacillus amyloliquefaciens*), MM_{23} (*Bacillus pumilus*), MM24 (*Bacillus subtilis*), MM_{25} (*Bacillus thuringiensis*), MM_{27} (*Priestia aryabattai*), MM_{29} (*Geobacillus stearothermophilus*). Esses apresentaram tamanho pequenos, médios a grandes e grossos, arranjos isolados, diplobacilos, individuais e estreptobacilos. No entanto,

destacou-se as mesmas características dos esporos na localização central e morfologia oval, com exceção MM_{24} (*Bacillus subtilis*) a presença de morfologia esférica e oval com localização subterminal.

A localização do esporo dentro da célula é uma característica distinta que é frequentemente usada para identificar e classificar bactérias que formam esporos. Esses endósporos podem ser encontrados em diferentes posições dentro do esporângio, como central, subterminal, terminal e oval.

4 CONCLUSÃO

Diante desses resultados foi possível concluir que a presença de microrganismos regenerativos foi diretamente influenciada pelo tempo de exposição ao solo e pelas condições ambientais. Ambientes menos antropizados apresentaram maior diversidade e predominância de microrganismos benéficos, o que reforça a importância da preservação dessas áreas para a manutenção da microbiota do solo. O estudo também evidenciou que a técnica de exposição de arroz em suportes de bambu é uma alternativa para isolar e identificar microrganismos nativos para estudos sobre potencial biotecnológico e ecológico.

Agradecimentos

Centro de Excelência em Bioinsumos – Unidade de Transferência e Tecnologia da Universidade Federal de Catalão (CEBIO-UTT-UFCAT). Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás - FAPEG. Laboratório de Bioquímica e Microbiologia – (LABIM-UFCAT). Universidade Federal de Catalão (UFCAT)

Conflitos de interesses

Os autores declaram que não há conflitos de interesse. Todos os autores estão cientes da submissão do artigo.

Contribuições dos autores

Naylla Rafaela Mendes Soares responsável pelas análises laboratoriais e redação; Thais Marcolino Rodrigues responsável pelas análises laboratoriais; Gabriel de Melo Neto auxílio coleta de micro-organismo nativo no Ponto 1; Jupyracyara Jandyra de Carvalho Barros auxílio na coleta dos micro-organismos nativos no Ponto 1 e Ponto 2, orientação para as análises laboratoriais e redação científica.

REFERÊNCIAS

Alori, E. T., & Babalola, O. O. (2018). Microbial inoculants for improving crop quality and human health in Africa. *Frontiers in Microbiology, 9*, 2213.

Andrade, F. M. C. de. (2020). *Caderno dos microrganismos eficientes (EM): Instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM.*

Aquino, J. P. A. D., et al. (2019). Plant growth-promoting endophytic bacteria on maize and sorghum. *Pesquisa Agropecuária Tropical, 49*, e56241, 1–9.

Babalola, O. O., & Glick, B. R. (2012). The use of microbial inoculants in African agriculture: Current practice and future prospects. *Journal of Food, Agriculture & Environment, 10*(3–4), 540–549.

Cavalcante, D. de A. (2014). *Ultraestrutura e termorresistência de esporos e identificação de proteínas de bactérias aeróbias de solo do Distrito Federal.*

Dias, A. D. S., & Santos, C. C. S. (2022). *Bactérias promotoras de crescimento de plantas: Conceitos e potencial de uso.* Pantanal Editora.

Freitas, F. C. de M. (2016). *Atividade microbiana em função da salinidade do solo*.

Ladeira, F. S. B. (2012). A ação antrópica sobre os solos nos diferentes biomas brasileiros – Terras indígenas e solos urbanos. *Entre-Lugar, 3*(6), 127–139.

Mariano, R. de L. R., et al. (2004). Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica, 1*, 89–111.

Nakamura, K., et al. (2012). Microbial resistance in relation to catalase activity to oxidative stress induced by photolysis of hydrogen peroxide. *Microbiology and Immunology, 56*(1), 48–55.

Nakatani, A. S., et al. (2024). Consórcio de *Azospirillum* e *Pseudomonas* aumenta o desenvolvimento vegetal e produtividade da cultura da soja. *Revista Delos, 17*(62), e3176.

Narayanasamy, S., & Uthandi, S. (2024). Voláteis signatários promotores do crescimento de plantas emitidos por uma bactéria tolerante à seca *Bacillus altitudinis* FD48 e seu papel no alívio do estresse de umidade em arroz (*Oryza sativa* L.). *Plant Stress, 14*, 100621.

Nosoline, S. N., et al. (2010). *Caracterização morfocultural de bactérias isoladas de nódulos de espécies de Crotalária*.

Oliveira, A. L. M. de, et al. (2014). Aplicações da biodiversidade bacteriana do solo para a sustentabilidade da agricultura. *BBR – Biochemistry and Biotechnology, 1*(3), 56–77.

Orem, J. C. de. (2019). *Diversidades funcional e filogenética de bactérias aeróbias formadoras de endósporos isoladas de solo*.

Piggot, P. J., & Hilbert, D. W. (2004). Sporulation of *Bacillus subtilis*. *Current Opinion in Microbiology, 7*(6), 579–586.

Quevedo, H. D., Nishisaka, C. S., & Mendes, R. (2023). *O microbioma do solo e sua relação com a matéria orgânica*.

Silva, U. C., et al. (2011). *Biossolubilização de fonolito por microrganismos do solo solubilizadores de potássio*.

Tótola, M. R., & Chaer, G. M. (2002). Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In *Tópicos em ciência do solo* (Vol. 2, pp. 195–276). Sociedade Brasileira de Ciência do Solo.

Velloso, C. C. V. (2019). *Caracterização de cepas de Bacillus e avaliação do seu potencial de promoção de crescimento em genótipos de milho*. Universidade Federal de São João del-Rei.

Vieira Velloso, C. C., et al. (2020). Genome-guided insights of tropical *Bacillus* strains efficient in maize growth promotion. *FEMS Microbiology Ecology, 96*(9), fiaa157.

Warneke, R., et al. (2023). Ornitina é o intermediário central na via degradativa da arginina e sua regulação em *Bacillus subtilis*. *Journal of Biological Chemistry, 299*(7).

Yan, N., & Marschner, P. (2012). A resposta da atividade microbiana e da biomassa ao aumento da salinidade depende da salinidade final, não da salinidade original. *Soil Biology and Biochemistry, 53*, 50–55.